

**Urgent rescue of a germplasm bank in danger
of extinction: The sheep on the Island of Socorro**

Izquierdo, C.; Hummel, J. D. y Palma, J. M. / 3

**Biology and molecular regulation
of arbuscular-mycorrhizae**

Guzmán-González, S. y Farías-Larios, J. / 17

**Behaviour of growth and yield
of Valencia orange (*Citrus sinensis* L.)
grafted in several rootstock in vertic
and petric calcisols soils**

Pérez, O.; Becerra, S. y Medina, V. / 33

**The introduction of Colonial Hispanic
risk and its repercussions: The case
of the regantes of the Barrio de Tapias in
Santa María de Los Ángeles, Jalisco, México**

Realpozo, R. y González, C. / 53

**Organic fertilization, variety and
seasonal effects in the polyphenolic
profile of *Morus alba* (L.)**

García, D. E.; Medina, M. G. y Ojeda, F. / 69

**Fertilization levels, variety and seasonal
effects of steroidal saponin
contents in mulberry (*Morus alba* L.)**

García, D. E.; Medina, M. G. y Ojeda, F. / 87

Editorial

En cada ocasión que estamos previos a editar el siguiente número, nos embarga una enorme emoción de continuar en la lucha por mantener este proceso tan desafiante y halagüeño, pues vemos con gran beneplácito que diferentes colegas, suman esfuerzos para contribuir en la permanente mejora de la revista.

Por ello, y como dice el dicho, "no hay quinto malo", ya que, precisamente, con la edición del volumen 9 número 2, estaremos publicando en esta segunda época, cinco ejemplares de la revista *Avances en Investigación Agropecuaria* (Rev. AIA); en todos ellos hemos puesto nuestro mejor esfuerzo para brindar a la comunidad académica un espacio fértil para la difusión de los resultados científicos.

Es conocida, en el medio editorial, la importancia de la visibilidad; esto es, el que se dé a conocer el trabajo que se realiza científicamente, pues para las revistas resulta ser el punto álgido para su permanencia; su significado implica mayores oportunidades para todos en la divulgación de la información. Por ello, en Rev. AIA estamos en la búsqueda constante de la calidad académica y con profundo compromiso profesional en la edición de nuestra publicación. Ante ese reto, buscamos espacios para difundir el trabajo de todos; para ello, iniciamos el contacto con diferentes bases de datos que permitan una presencia más amplia de la revista en el ámbito mundial y, por consecuencia, el poder entrar cada vez con mayor fuerza e impacto en el ámbito académico.

Muestra de lo anterior, son dos eventos que queremos resaltar: por un lado, la evaluación y aceptación por parte de EBSCO, empresa de prestigio internacional, quien maneja diferentes bases de datos con múltiples revistas de renombre en el ámbito mundial; este organismo, después de un proceso de evaluación, aceptó la inclusión de nuestra revista en la base de datos bajo el rubro de *Fuente académica*, en forma de texto completo. Queremos compartir este logro, producto del trabajo de todos, ya que representa un aliciente que empresas como la citada, valoren positivamente nuestra labor editorial; es así como este importante suceso nos mantiene contentos y comprometidos con el proyecto de nuestra publicación cuatrimestral.

Por otra parte, con este quinto número, tendremos también el lanzamiento de la versión electrónica, lo cual permitirá establecer criterios y rutas para otras publicaciones hermanas de nuestra institución que todavía no tienen esta modalidad editorial. Esta versión electrónica constará de las siguientes partes: lo primero y fundamental

serán los artículos contenidos en esta segunda época y se complementará con los trabajos de la primera época; un módulo para la difusión de otros productos académicos con apoyo de seminarios, talleres, cursos con carácter local, nacional e internacional; también tendrá una sección llamada “Galería”, en la cual se difundirán imágenes de materiales fotográficos que ayuden a obtener una mejor comprensión de los artículos o inclusive, de interés general; en este espacio pueden ser incorporadas pequeñas producciones científicas en formato de video, un apartado de “Indicaciones para los autores” para acceder a las normas de publicación y con posibilidad de enviar, para su arbitraje, materiales inéditos, así como un sistema de seguimiento de la evaluación, a manera de administrador del proceso; lo anterior, con la finalidad de lograr una mejor ruta respecto de la evolución y continuidad, por parte de los autores, con relación a sus contribuciones.

Es necesario reconocer que este último esfuerzo se debe a un grupo de entusiastas jóvenes profesionales de la Universidad de Colima, quienes se unen a este proyecto de Rev. AIA para brindar un mejor y más provechoso vehículo del trabajo académico.

En este proceso de visibilidad quedan retos por cumplir, pues entrar —con firmeza y una mayor amplitud— en el vasto mundo de las publicaciones similares, implica acceder a otras bases, a otros foros, a otros espacios, tanto físicos como digitales. Queremos llegar a ellos y conseguir, así, el propósito de potencializar la difusión tanto en aquellos medios tradicionales como en los de reciente innovación tecnológica: continuamos en la búsqueda.

Asimismo, pretendemos finalizar este editorial indicando que los eventos reseñados nos llenan de entusiasmo, de energía, de optimismo para continuar este proceso, en donde es posible modificar y contribuir a nuestro medio, pues a pesar de las múltiples resistencias que aún perduran, son cada vez más los que se suman y creen en este proyecto; por ellos, seguimos siempre pa’delante.

José Manuel Palma García

Director, Revista AIA



Biología y regulación molecular de la micorriza arbuscular •

Biology and Molecular Regulation of Arbuscular-Mycorrhizae

Guzmán-González, S.* y Farías-Larios, J.

Laboratorio de Biotecnología. Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias.
Universidad de Colima. Tecomán, Colima. C. P. 28100. México.

*Correspondencia: sguzman@uacol.mx

• Artículo invitado

Resumen

Las micorrizas arbusculares son asociaciones simbióticas formadas entre un amplio rango de especies de plantas y hongos del orden Glomales. El hongo coloniza el apoplasto y células corticales de la raíz. El desarrollo de esta asociación, altamente compatible, requiere de la diferenciación celular y molecular coordinada de ambos simbioses, para formar una interface especializada en la cual ocurre la transferencia bidireccional de nutrientes. Esta revisión resume los resultados obtenidos con el uso de técnicas de biología molecular en el entendimiento del desarrollo de la simbiosis micorrízica arbuscular.

Palabras clave

Raíz, hongo, gen, expresión genética, simbiosis.

Abstract

Arbuscular mycorrhizae are symbiotic associations formed between a wide range of plant species and fungi in the order Glomales. The fungus colonizes the apoplast and cortical cells of the root. The development of this highly compatible association requires the coordinate the molecular and cellular differentiation coordinate of both symbionts to form a specialized interface over which bi-directional nutrient transference occurs. This review summarizes the results obtained using molecular biological techniques in the understanding of the development of arbuscular mycorrhizal symbiosis.

Key words

Root, fungus, gene, genetic expression, symbiosis.

Introducción



Hato de hembras Pelibuey

Sitio: Quesería

Municipio: Cuauhtémoc

Estado: Colima

País: México

Fotografía: José Manuel Palma García

Históricamente, los hongos son los microorganismos que han jugado un papel central en el establecimiento y mantenimiento de los ecosistemas y, como resultado, han desarrollado relaciones mutualísticas con muchos organismos diferentes. Tal es el caso del hongo micorrízico, el cual interacciona con otros microorganismos de la tierra y es un enlace clave entre suelo y raíz [Hodge, 2000; Marx, 2004]; de tal manera que, desde hace tiempo, su influencia ha sido demostrada, sobre la conservación de los suelos y el desarrollo eficiente de las plantas hospederas. Además, se dice que el hongo micorrízico arbuscular (MA), determina la biodiversidad de plantas y la variabilidad y productividad de los ecosistemas [Koide y Dickie, 2002]. Por ello, desde la década pasada se ha visto a la simbiosis micorrízica como una interacción biotrófica sostenible no-patogénica, entre un hongo y una raíz y se propuso —como una de las áreas que merece de investigación profunda— para mantener los ecosistemas de manera sostenible.

Uno de los problemas de los hongos MA, es la característica especial de ser un simbiote obligado y crecer sólo en raíces de plantas hospederas, lo cual limita su manipulación y, por tanto, aprovechar potencialmente los beneficios que proporciona a las plantas. Aunque se han obtenido crecimientos *in vitro*, en presencia de raíces transformadas [Karandashov *et al.*, 2000] y no transformadas [Bago *et al.*, 1998], los crecimientos y cantidades del hongo no son satisfactorios para fines de compensar las necesidades de su aplicación tecnológica. Esto muestra que, posiblemente, diversos genes de la planta proporcionan —de alguna manera— la función específica que requiere el hongo para su desarrollo durante las diversas etapas de la fase simbiótica.

De aquí la importancia de estudiar las bases moleculares que regulan la interacción hongo-planta en dicha asociación; su conocimiento es fundamental porque abre enormes posibilidades de mejorar eficiencia de la simbiosis micorrízica en diversos sistemas hongo-planta de importancia económica a través de la manipulación genética. El objetivo de esta revisión es mostrar el avance en el conocimiento de la biología y los mecanismos moleculares involucrados en el establecimiento, mantenimiento y el funcionamiento de la simbiosis micorrízica arbuscular.

La micorriza arbuscular

Las micorrizas son estructuras que se han observado entre las raíces de la mayoría de las plantas superiores (90%) y algunos

hongos del suelo [Harley, 1989]. Éstas presentan un amplio número de formas y tipos de hongo involucrados, lo que demuestra que no representan una simple clase evolutiva de asociación, sino más bien un tipo de sociedad desarrollada en respuesta a una presión de selección distinta. Por ello, los tipos existentes de micorriza son clasificados, principalmente, por el grupo taxonómico del hongo involucrado y la alteración morfogénica del hongo y la raíz, que ocurre durante el desarrollo de la nueva estructura conocida como micorriza.

La micorriza arbuscular es el tipo más abundante de micorrizas y se caracteriza porque coloniza las células corticales de raíces de las plantas y forma estructuras intracelulares llamadas arbuscúlos [Harrison, 1997]. Es una de las asociaciones benéficas más antiguas entre las plantas y microorganismos del suelo [Remy *et al.*, 1994], que tiene amplia dispersión y ocurrencia en la mayoría de las plantas terrestres, especialmente las que crecen en suelos áridos y semiáridos de las zonas tropicales, en lugares pobres en fósforo o con elevada capacidad de retención de este nutrimento.

La MA se reporta en más de 200 familias y más de 1,000 géneros de plantas, distribuidas en el grupo de las Briofitas, Pteridofitas, Angiospermas y Gimnospermas, dentro de las cuales se incluyen muchas especies de cultivos importantes en la agricultura [Daniell *et al.*, 2001], principalmente en gramíneas y leguminosas.

Se conocen más de 130 especies de hongo MA, que pertenecen a la clase Zygomycota, las cuales están ubicadas en el orden de los *Glomales*, en dos subórdenes, en tres familias y seis géneros (Cuadro 1) [Morton y Benny, 1990], distribuidas —en su mayor parte— en el género *Glomus* [Schwarzott *et al.*, 2001]. Estos hongos forman grandes esporas multinucleadas en el suelo, pero el estado de crecimiento de la hifa depende de la asociación con la raíz de la planta.

Cuadro 1. Clasificación del orden de los *Glomales* [Morton y Benny, 1990].

Orden: *Glomales* Morton y Benny

Suborden: *Glomineae* Morton y Benny

Familia: *Glomaceae* Pirozynski y Dalpe

Género: *Glomus* Tulasne y Tulasne

Género: *Sclerocystis* (Berkeley y Broome) Almeida y Schenck

Familia: *Acaulosporaceae* Morton y Benny

Género: *Acaulospora* (Gerdemann y Trappe) Berch

Género: *Entrophosphora* Ames y Schneider

Suborden: *Gigasporineae* Morton y Benny

Familia: *Gigasporaceae* Morton y Benny

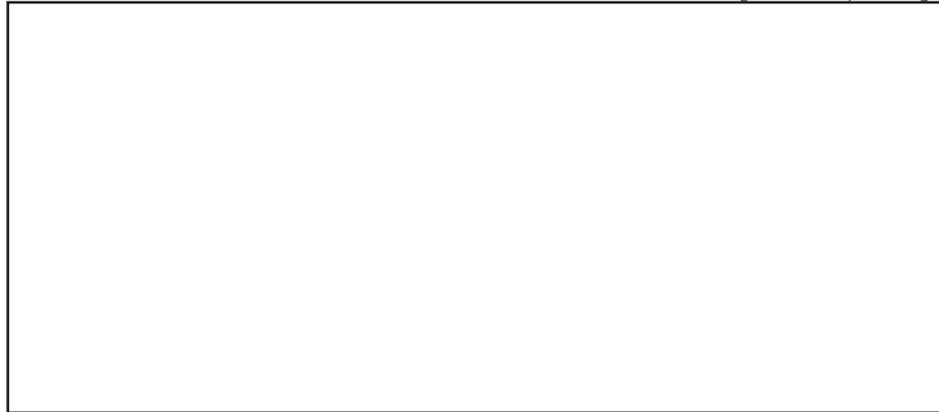
Género: *Gigaspora* (Gerdemann y Trappe) Walker y Sanders

Género: *Scutellospora* Walker y Sanders

Proceso de la colonización micorrízica

La asociación MA es del tipo endomicorrízica, porque el hongo coloniza, de manera obligada, intracelularmente las células corticales y epidérmicas de la raíz, pero no se introducen en el sistema vascular o en los meristemos de la raíz. Aunque los estados morfológicos de desarrollo son variables, pues depende, sobre todo, de la especie de planta involucrada; en general, las esporas del suelo germinan y la hifa fúngica crece desde la espora —en el suelo— hasta la superficie de las raíces, donde son diferenciadas para formar el apresorio. Ésta es la primera indicación de reconocimiento entre el hongo y la planta, ya que el apresorio no es formado sobre raíces no hospederas o sobre membranas o medios sintéticos. La penetración de la raíz ocurre por medio del apresorio, y el hongo, con frecuencia, se introduce forzando este camino entre las dos células epidérmicas. En el interior de la corteza, la hifa ramificada penetra la pared celular cortical y se diferencia dentro de la célula para formar estructuras terminales altamente ramificadas conocidas como arbuscúlos [Harrison, 1997].

Los arbuscúlos, son estructuras que no atraviesan o interrumpen las membranas celulares de la planta, sino que la membrana invagina a los arbuscúlos, formando un nuevo compartimiento denominado interface arbuscular; ahí, los simbiosntes están en contacto íntimo, separados sólo por sus membranas, entre las cuales hay una capa de matriz interfacial de la planta y una mínima pared celular fúngica [Harrison, 1997]. Esta interface es —supuestamente— el sitio de intercambio de carbono y fosfato entre los simbiosntes, y el arbuscúlo es observado como una estructura clave en la simbiosis [Harrison, 1999].



La amplia presencia de la micorriza en el reino vegetal, ha sugerido que el conjunto hongo-planta deben formar un par compatible, lo cual implica un cierto grado de reconocimiento entre ambos organismos [Gadkar *et al.*, 2001]. De hecho, las asociaciones MA no son interacciones estáticas, ya que se ha observado sobre una variedad de combinaciones planta-hongo, que —para su constitución— ocurre un diálogo molecular entre la planta y el hongo que empieza antes del contacto físico hasta su establecimiento, es decir, a nivel de

rizosfera, rizoplano, epidermis y corteza de la raíz, de tal manera que, algunas moléculas en diversas concentraciones, tales como fenoles, hormonas, lectinas y proteínas, producto de los cambios en la actividad transcripcional de las células del hospedero —invasadas por las estructuras del hongo—, han sido identificados como factores clave en las etapas de reconocimiento para regular la expresión y función de los genes; por tal razón, la ausencia o presencia de alguna molécula en una de las zonas de reconocimiento, puede resultar en incompatibilidad de la asociación simbiótica [Gianinazzi-Pearson *et al.*, 1996; Harrison, 1999; Harrier, 2001; Gadkar *et al.*, 2001; Franken y Requena, 2001].

Beneficio de la asociación planta-hongo MA

La importancia económica de la asociación micorrízica radica en la relación armónica de ayuda nutricional que se establece entre ambos organismos, con el flujo bidireccional de nutrimentos [Ferrol *et al.*, 2002]. Desde hace tres décadas se ha demostrado que el hongo absorbe, principalmente, P del suelo [Sanders y Tinker, 1971; Chiu *et al.*, 2001] y lo transporta a la planta [Pearson y Jakobsen, 1993; Solaiman y Saito, 2001], y de ésta se mueven una serie de compuestos carbonados hacia el hongo [Pfeffer *et al.*, 1999; Bago *et al.*, 2003]. Por esta razón, la planta —aunque es capaz de crecer de manera independiente—, generalmente, tiene mayor desarrollo cuando es colonizada por el hongo micorrízico; sobre todo, en condiciones de bajos niveles de nutrimentos en el suelo, característico de los suelos tropicales y que afectan la productividad agrícola.

La estructura de la micorriza arbuscular (MA), representa uno de los órganos absorbentes del subsuelo de la mayoría de las plantas en la naturaleza [Harrison, 1997] y ha sido una de las estrategias más antiguas y prósperas que han desarrollado los sistemas radiculares de las plantas para el establecimiento del beneficio recíproco con los microorganismos [Remy *et al.*, 1994].

Los hongos MA obtienen carbono de la planta hospedera [Pfeffer *et al.*, 1999], en forma de moléculas de hexosa, que es convertida a lípidos (triacilglicerol y carbohidratos —glicógeno— en el micelio intrarradical, los cuales son trasladados al micelio extrarradical y a partir de los cuales se sintetizan el carbohidrato estructural quitina y los carbohidratos de almacén trehalosa y glicógeno [Bago *et al.*, 2003].

El movimiento del ión fosfato —desde el suelo a la raíz— a través de la red de hifas externas, inicia con la absorción de la solución del suelo por transportadores de fosfato H⁺-ATPasa (localizados en la hifa extrarradical), seguido por la conversión a polifosfatos de cadena corta que son trasladados a las estructuras intrarradicales a través de vacuolas móviles del hongo y la subsecuente hidrólisis de los mismos por las fosfatasa localizadas en las hifas intrarradicales [Ferrol *et al.*, 2002]. Enseguida, el P es transferido del hongo al apoplasto interfacial por flujo, el cual es tomado (por planta) por transportadores de membrana, de tal manera que generan aumento del crecimiento, sanidad y resistencia al estrés, particularmente para plantas micorrizadas en condiciones limitantes de nutri-

mentos.

Regulación molecular de la simbiosis micorrízica

La compleja relación celular entre las raíces y los hongos MA necesitan de un continuo reconocimiento y cascada de señales de intercambio entre ambos simbioses, que influyen sobre la regulación de la expresión genética, cuyos productos inducen considerables cambios morfogénéticos y fisiológicos en ambos simbioses, los cuales regulan este tipo de relación mutualística [Gianinazzi-Pearson *et al.*, 1996; Harrison, 1999]. Diversos estudios del comportamiento de la colonización, sobre varias combinaciones planta-hongo, han demostrado que el desarrollo de MA involucra un número de etapas bien definidas y exactas, en las cuales, parece probable que ocurran alteraciones en la expresión de genes de la planta o del hongo [Franken y Requena, 2001]. Las estrategias que han sido utilizadas con el fin de explicar el proceso y regulación de la simbiosis micorrízica, es el análisis proteómico y la identificación de genes expresados, diferencialmente, durante el proceso de colonización y funcionamiento del hongo micorrízico.

Actividad de proteínas en la asociación micorrízica

Los estudios del análisis proteínas iniciaron en los años setenta (del siglo XX), con la investigación de las actividades enzimáticas relacionadas con la simbiosis, específicamente sobre la detección y localización de fosfatasa del hongo involucradas en la interacción, con base en la observación previa del importante papel que juega el metabolismo del fosfato en el proceso simbiótico [Gianinazzi *et al.*, 1979]. De este modo, a inicios de los años ochenta fue posible correlacionar la actividad de la fosfatasa alcalina con el funcionamiento simbiótico del hongo MA [Gianinazzi-Pearson y Gianinazzi, 1983] y diez años después, mediante un método mejorado que consistió en la detección de la fosfatasa alcalina del hongo por tinción inmunohistoquímica y la actividad del succinato deshidrogenasa en la planta, se corrobora la relación de la fosfatasa alcalina en la formación de la micorriza [Tisserant *et al.*, 1993], la cual también fue detectada en hifas intrarradicales extraídas del hongo MA [Joner y Johansen, 2000], lo que indica una posible utilización del P orgánico del suelo, por la acción hidrolítica del hongo.

Por otra parte, con base en Cox y Tinker [1976], quienes propusieron —inicialmente— que en el intercambio de nutrimentos en la simbiosis, podrían estar involucrados mecanismos activos que implican la intervención de ATPasas generadoras de energía, Marx *et al.* [1982], detectaron ATPasas en el plasmalema y en las vacuolas del arbusculo del hongo, cuya actividad se demostró que se debe a una H⁺-ATPasa que bombea protones, también presente en hifa extrarradical [Gianinazzi-Pearson *et al.*, 1991].

Otras proteínas, objeto de estudio, han sido aquellas con actividad lítica, las cuales podrían estar involucradas en el proceso de colonización de la raíz. Así, diferentes proteínas como pectinasas y celulasas han sido identificadas y caracterizadas en el hongo

Glomus mosseae [García-Romera *et al.*, 1992], y, posteriormente, una poligalacturonasa localizada en el citoplasma de la hifa intraradical de *Glomus versiforme*: [Peretto *et al.*, 1995], y una proteína con actividad lipolítica en esporas del mismo hongo [Gaspar *et al.*, 1997], así como una endoglucanasa de raíces de *Allium porrum* L. colonizadas por *G. mosseae* [García-Garrido *et al.*, 1996]. Más recientemente, se identificó una fosfolipasa A(2) dependiente del Ca²⁺ (TbSP1), asociada a la superficie del hongo micorrízico *Tuber borchii* en respuesta a una carencia de nutrientes [Soragni *et al.*, 2001]. Sin embargo, la relevancia de todas estas enzimas —para la función de la simbiosis— todavía no es clara.

También se han identificado proteínas que tal vez estén involucradas en la formación y degradación de los arbusculos, como son las isoformas ácidas de quitinasa clase I de 30 kD y punto isoelectrico de 5.2-5.85, en raíces de *Pisum sativum* L. colonizadas por *G. mosseae* [Slezack *et al.*, 2001], igual que las isoformas de esta misma proteína y de quitosinasas clase III, en raíces de *Medicago trunculata* L. inoculadas con el mismo hongo MA, con características similares a las mencionadas [Bestel-Corre *et al.*, 2002].

Genes de la planta en la asociación micorrízica arbuscular

Con base en la secuencias de nucleótidos de genes aislados de plantas colonizadas por hongos MA, comparadas con la secuencia de genes de otros sistemas biológicos, se han identificado productos de genes relacionados con la defensa de la planta involucrados en el metabolismo de la pared celular, como es la glicoproteína rica en hidroxiprolina, que se expresó en células que contienen arbusculos y fue localizada en la sustancia citoplasmática de la interface simbiótica [Balestrini *et al.*, 1997]. El gen *Prp1* de papa que codifica para una glutamina-S-transferasa se demostró, por hibridación *in situ*, que se expresa en ciertas células conteniendo arbusculos [Franken *et al.*, 2000], y podría estar involucrada en la degradación de arbusculos, porque esta enzima está involucrada en la remoción de material tóxico durante el proceso del envejecimiento celular [Hunaiti y Bassam, 1991]. El papel de tales genes podría ser el control de la dispersión de la hifa en las raíces o una reacción al estrés inducido por la colonización del hongo. Posteriormente, esto fue descrito para el gen *Mtaqp1*, inducido por la MA, el cual codifica una aquapurina transportadora de agua, localizada en el tonoplasto y podría compensar el decrecimiento del volumen de la vacuola en células con arbusculo [Krajinski *et al.*, 2000].

En la misma década de los años noventa, mediante la construcción de una librería de DNAC, obtenida de la interacción de raíces de tomate y el hongo *G. mosseae*, se han identificado genes que codifican para proteínas que son involucradas en varias rutas metabólicas, incluyendo la fijación de dióxido de carbono, metabolismo del azúcar, síntesis de proteínas, así como el control del ciclo celular [Tahiri y Antoniw, 1996]. Por el mismo mecanismo, a través de un tamizado diferencial de una biblioteca de cDNA, preparada

de partes de raíces de cebada, altamente colonizadas por *G. fasciculatum*, y el subsecuente análisis por “Northern”, se identificaron 4 clonas de DNAC expresadas diferencialmente [Murphy *et al.*, 1997]. Los transcritos de RNA de dos clonas (BMR6 y BMR78), mostraron un nivel mucho mayor en raíces colonizadas que las no colonizadas. Esto fue confirmado por hibridación de DNA, ya que las clonas que se expresan en mayor proporción son de la planta y no del hongo. La clona BMR6 presentó alta similitud en una pequeña porción del gen que codifica para el gen ATPasa de protones, lo que significa que este gen podría estar implicado con la actividad de la H⁺-ATPasa, asociada en la membrana periarbuscular durante el intercambio bidireccional de nutrientes, ya que, recientemente, se identificó la inducción de esta enzima por los genes *pma2* y *pm4* en células de *N. tabacum* [Gianinazzi-Pearson *et al.*, 2000], y a los transcritos del gen *Mtha1*, inducidos en células *M. trunculata*; en ambos casos conteniendo arbusculos [Krajinski *et al.*, 2002]. También podría ser similar a la H⁺-ATPasa, inducida por los genes *GmPMA1D* y *GmHA5* de *Glomus mosseae*, expresado durante el reconocimiento de la planta y en el estado de apresorio, respectivamente [Requena *et al.*, 2003].

La evidencia de la presencia de genes de expresión diferencial, ha sido obtenida en raíces de plantas de chícharo colonizadas por *Glomus mosseae*, a través de la técnica del despliegue diferencial, logrando identificar un DNAC nombrado *psam1* que —probablemente— codifica una nueva proteína con similitud en algunas partes con fofolamban, una proteína unida a la membrana que regula la actividad de Ca²⁺-ATPasa [Martin-Laurent *et al.*, 1997].

Otros trabajos posteriores fueron enfocados sobre los genes de las plantas cuyos productos pueden tener una función en el intercambio metabólico entre la planta y hongo. De una biblioteca de DNAC de *Medicago truncatula*, colonizada por el hongo micorrízico *Glomus versiforme*, se aisló una clona de DNAC (*Mtst1*) codificante para un transportador de hexosas de plantas, que mostró alta identidad con un transportador de glucosa en *Arabidopsis*, y es probable que esté implicado en el intercambio nutricional entre plantas y hongos [Harrison, 1996]. Más recientemente, de esta misma biblioteca, se identificó un gen (*Mt4*) de la planta, cuya expresión disminuye o es suprimida en respuesta a la colonización micorrízica y al estatus de fosfato en la planta [Burleigh y Harrison, 1997]; asimismo, Liu *et al.* [1998], identificaron el gen *MtPt2* y confirmaron el gen *MtPt1* en la misma planta, los cuales tuvieron alta afinidad con transportadores de *Arabidopsis*, papa, levadura y, en especial, con un gen del hongo *MA G. versiforme* [Harrison y Van Buuren, 1995], cuyo nivel de expresión aumenta en condiciones bajas de nutrición fosforada y con el desarrollo de la colonización, lo que sugiere que estos dos genes pueden no estar involucrados en la absorción de fosfato en la interface simbiótica de raíces micorrizadas.

Genes del hongo micorrízico arbuscular

El mayor problema para el análisis de expresión de genes del hongo MA es el crecimiento simbiótico obligado del hongo. Éste limita la cantidad de material fúngico aprovechable, el cual puede ser obtenido únicamente de esporas o de micelio extrarradical. Además, la cantidad de material fúngico de la MA viviendo dentro de la raíz es muy pequeño en comparación con otras interacciones planta-microorganismo. De hecho, se observó que durante el desarrollo de la micorriza en plantas *Medicago truncatula* colonizadas por *Glomus versiforme*, el nivel del RNAm del hongo se incrementó, relativamente, de 5-12% de acuerdo al progreso de la colonización [Maldonado-Mendoza *et al.*, 2002], lo cual impide el descubrimiento de genes fúngicos de baja expresión. Sin embargo, con la ayuda de la tecnología de la PCR, muchas de las limitaciones han sido superadas y pequeñas cantidades de RNA han servido como molde o templado para su clonación, basada en la PCR, análisis de acumulación de RNA o construcción de bibliotecas de DNAc.

a) Aislamiento de genes del hongo basado en la PCR

Algunos genes que se han obtenido mediante el uso de la PCR, han sido los que inducen proteínas modificadoras del citoesqueleto —como la tubulina y los microtúbulos— que juegan un papel de suma importancia en la forma y desarrollo de la célula, a través de su control en la organización en el citoplasma, división celular y orientación de componentes de pared celular. Precisamente, por medio de la reacción de RT-PCR, del mRNA de esporas no germinadas del hongo MA *Gigaspora rosea*, se obtuvo un gen que codifica para una *b*-tubulina [Franken *et al.*, 1997] y, posteriormente, por PCR de DNA genómico de esporas de *Glomus mosseae*; también se obtuvo otro fragmento de un gen de la *b*-tubulina [Butehorn *et al.*, 1999]. Más recientemente, en esporas germinadas y micelio extrarradical del hongo *Gigaspora rosea*, se observó que el patrón de acumulación de transcritos del gen *Btub1* es de expresión constitutiva, pero de baja expresión durante la simbiosis en *Glomus mosseae* y *Glomus intraradices*. En cambio, se observó que el patrón de acumulación de los transcritos del gen *Btub2* es constitutivo en las dos especies de *Glomus*, pero baja expresión en *G. roseae* [Rhody *et al.*, 2003].

Otros genes buscados y clonados con base en la RT-PCR, son los involucrados en el transporte de nutrientes, como el fragmento del gen que codifica para la apoproteína nitrato reductasa del hongo MA *Glomus intraradices*, amplificado por PCR y clonado posteriormente. Experimentos de hibridación *in situ* y por Northern blot, mostraron que los mRNA correspondientes fueron acumulados en arbusculos y su expresión correlacionaba inversamente a la actividad de nitrato reductasa de la planta, por lo que se piensa que el hongo podría ayudar a su hospedero en la asimilación de nitrato, por esta vía, en la simbiosis [Kaldorf *et al.*, 1998].

También se han identificado genes relacionados con el metabolismo de la pared ce-

lular; tales como las diversas copias de genes de quitina sintasa de *Gigaspora margarita*, encontrados por PCR con iniciadores degenerados, de los cuales, por análisis de expresión por RT-PCR, reveló la inducción de dos de ellos durante el estado simbiótico [Lanfranco *et al.*, 1999], los cuales podrían estar relacionados con los cambios en la distribución de quitina durante el desarrollo fúngico.

b) Aislamiento de genes del hongo por comparación de patrones de expresión

Estudios de expresión diferencial concernientes a genes del hongo MA, primero fueron realizados usando micelio presimbiótico de *Glomus mosseae*, después de la inducción de crecimiento *in vitro*. De este estudio, se aisló un fragmento de cDNA del hongo que codifica el homólogo de la oxidasa de ácido graso FOX2 de levadura y humano; también se aisló el gen *GmTOR2*, que codifica una proteína homóloga de levadura TOR2, involucrada en el ciclo celular y actina [Requena *et al.*, 2000].

Otros genes del hongo han sido aislados por métodos de comparación de patrones de acumulación de RNA entre raíces con y sin micorriza [Delp *et al.*, 2000]. Estos genes podrían ser expresados constitutivamente, así como se ha de mostrado para un gen del hongo en el sistema *Medicago truncatula*-*G. mosseae* [Franken *et al.*, 2000]. Otro fragmento de cDNA de *G. mosseae* sin ninguna similitud, con secuencias conocidas fue obtenido por análisis de despliegue diferencial entre raíces de *P. sativum* silvestre micorrizadas y mutantes de *P. sativum*, que mostraron desarrollo de arbusculos abortados [Lapopin *et al.*, 1999]. En este caso, los estudios de acumulación de RNA por RT-PCR, mostraron que el gen es altamente expresado en raíces de *P. sativum* silvestre colonizadas por *G. mosseae*, pero sólo débilmente inducidos en los mutantes inoculados. Un fragmento de cDNA de la fosfoglicerato cinasa (PGK) de *G. mosseae* fue identificado cuando interacciona con tomate [Harrier *et al.*, 1998]. Además, los estudios posteriores en este mismo sistema, revelaron una acumulación más alta de proteínas durante la simbiosis comparada con el desarrollo presimbiótico [Harrier y Sawczak, 2000]. Este gen, probablemente, es regulado por el metabolismo del azúcar, ya que al aislar y analizar el gen promotor de la PGK, se obtuvieron dos secuencias con homología a regiones activadoras del DNA de *Saccharomyces cerevisiae*, que son controlados por fuente de carbono [Harrier, 2001].

c) Biblioteca EST de genes del hongo

Los modelos de acumulación de RNA del desarrollo hifal presimbiótico en *Gigaspora rosea*, usando la técnica del despliegue diferencial de RNA, indicó que el RNA sintetizado durante la activación de la espora, podría ser suficiente para promover la germinación y desarrollo hifal, ya que no se pudieron observar cambios significativos [Franken *et al.*, 2000]. Dos bibliotecas de cDNAs (EST) de genes de expresión se han construido usando esporas activadas de *G. rosea* [Stommel *et al.*, 2001], o micelio presimbiótico de

G. margarita [Lanfranco *et al.*, 2002]. En ambos casos, el análisis de secuencias mostró similitudes a genes que codifican para proteínas involucradas en múltiples funciones de la célula; tales como: el procesamiento y traducción de proteínas, proceso de transporte y metabolismo primario, el ciclo de la célula, replicación del DNA, estructura de la cromatina, estructura de la célula y transducción de señales. Resulta muy interesante que, en ambos casos, una de las secuencias de aminoácidos deducida mostró homología a metalotioneínas, por lo que se especula que podrían estar involucradas en la captura de metales pesados y, por ello, la tolerancia incrementada de plantas con micorriza a suelos contaminados con metales pesados.

Estas bibliotecas son el principio del trabajo sistemático sobre la expresión de genes del hongo MA. No obstante, diversos estudios, indican que diferentes hongos MA podrían tener algunas características biológicas específicas, por lo que es necesario seleccionar un hongo modelo. Por ejemplo, especies de la familia Glomineae comparadas con aquellas de la Gigasporineae, difieren en la presencia de vesículas dentro de la raíz, en la ausencia de células auxiliares acompañando la germinación de esporas, en la fisiología de absorción de fosfato [Smith *et al.*, 2000], y en el modelo de acumulación de RNA durante la germinación [Franken *et al.*, 2000]. Por estas razones, se recomienda seleccionar un hongo que sea uno de los últimos representativos de cada suborden para el análisis de expresión y secuenciación sistemática.

Análisis funcional de los genes del hongo

El primer método para realizar estudios acerca de la función específica y regulación de los genes que se expresan en la simbiosis micorrízica, fueron realizados en el hongo [Forbes *et al.*, 1998], quien experimentó —por primera vez— la transformación del hongo MA. En este experimento, el gen reportero de la glucorinadasa, bajo el control del promotor heterólogo del gen que codifica la GAPDH (gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa) de *Aspergillus nidulans*, fue introducido por bombardeo de partículas dentro de esporas de *G. rosea*. Los resultados mostraron que la expresión fue relativamente débil y esto fue atribuido al uso de tal promotor heterólogo; por ello, recientemente, se están realizando estudios sobre el aislamiento de promotores del hongo MA, para mejorar el sistema de transformación [Harrier, 2001].

Conclusiones

Gracias a la rápida evolución de las técnicas moleculares y las metodologías de recombinación de DNA, se han identificado al menos tres diferentes clases de genes que pueden estar involucrados en la regulación del proceso de la asociación micorrízica. El primero, incluye genes implicados en la génesis de nuevos componentes celulares en las células de raíces colonizadas por hifas intracelulares y arbusculos; el segundo, contiene

genes implicados en el funcionamiento metabólico de la micorriza y, el tercer grupo, son genes implicados —de alguna forma— en la defensa de la planta. Sin embargo, tales hipótesis del papel de los genes se han basado en la similitud que tienen con genes de otros sistemas biológicos, por lo que éstas deben ser confirmadas por interrupción de la función del gen en la simbiosis MA. Pero como hasta el momento no ha sido posible eliminar o interrumpir los genes en la asociación micorrízica, sobre todo los genes en hongos MA, debido a que la espora contiene más de dos mil núcleos, parece ser que la metodología del antisentido, podría ser la ruta más probable para inactivar genes blanco en ambos hospederos en simbiosis micorrízica y, con ello, aportar más conocimientos sobre las bases moleculares de esta asociación que coadyuven a resolver el problema de la manipulación *in vitro* de los hongos MA.

Literatura citada

- Bago, B.; Pfeffer, P. E.; Abubaker, J.; Jun, J.; Allen, J. W.; Brouillette, J.; Douds, D. D.; Lammers, P. J. and Shachar-Hill, Y. 2003. Carbon export from arbuscular mycorrhizal roots involves the translocation of carbohydrate as well as lipid. *Plant Physiol.* 131:1496-1507.
- Bago, B.; Azcón-Aguilar, C. and Piché, Y. 1998. Architecture and development dynamics of the external mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* grown under monoxenic conditions. *Mycologia* 90:52-62.
- Balestrini, R.; Jose-Estanyol, M.; Puigdomenech, P. and Bonfante, P. 1997. Hydroxyproline-rich glycoprotein mRNA accumulation in maize root cells colonized by an arbuscular mycorrhizal fungus as revealed by *in situ* hybridization. *Protoplasma* 198:36-42.
- Bestel-Corre, G.; Dumas-Gaudot, E.; Gianinazzi-Pearson, V. and Gianinazzi, S. 2002. Mycorrhiza-related chitinase and chitosanase activity isoforms in *Medicago truncatula* Gaertn. *Symbiosis* 32:173-194.
- Burleigh, S. H. and Harrison, M. J. 1997. A novel gene whose expression in *Medicago truncatula* roots is suppressed in response to colonization by vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungi and phosphate nutrition. *Plant Mol. Biol.* 34:199-208.
- Buthorn, B.; Gianinazzi-Pearson, V. and Franken, P. 1999. Quantification of beta-tubulin RNA expression during asymbiotic and symbiotic development of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *Mycol. Res.* 103:360-364.
- Chiu, T. J.; Liu, H. and Harrison, M. J. 2001. The spatial expression patterns of a phosphate transporter (MtPT1) from *Medicago truncatula* indicate a role in phosphate transport at the root/soil interface. *Plant Journal* 25:281-293.
- Cox, G. and Tinker, P. B. 1976. Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas. I. The arbuscule and phosphorus transfer a quantitative ultrastructural study. *New Phytol.* 7:371-378.
- Daniell, T. J.; Husband, R.; Fitter, A. H. and Young, J. P. W. 2001. Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi colonizing arable crops. *FEMS Microbiol. Ecol.* 36: 203-209.
- Delp, G.; Smith, S. E. and Barker, S. J. 2000. Isolation by differential display of three partial cDNAs potentially coding for proteins from the VA mycorrhizal *Glomus intraradices*. *Mycol. Res.* 104:293-300.
- Ferrol, N.; Barea, J. M. and Azcón-Aguilar, C. 2002. Mechanisms of nutrient transport across interfaces in arbuscular mycorrhizas. *Plant Soil* 244:231-237.
- Forbes, P. J.; Millan, S.; Hooker, J. E. and Harrier, L. A. 1998. Transformation of the arbuscular mycorrhiza *Gigaspora rosea* by particle bombardment. *Mycological Research* 102:497-501.

- Franken, P.; Lapopin, L.; Meyer-Gauen, G. and Gianinazzi-Pearson, V. 1997. RNA accumulation and genes expressed in spores of the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora rosea*. *Mycologia* 89:295-299.
- Franken, P. and Requena, N. 2001. Analysis of gene expression in arbuscular mycorrhizas: new approaches and challenges. *New Phytol.* 150:517-523.
- Franken, P.; Requena, N.; Bütehorn, B.; Krajinski, F.; Kuhn, G.; Lapopin, L.; Mann, P.; Rhody, D. and Stommel, M. 2000. Molecular analysis of the arbuscular mycorrhiza symbiosis. *Archives of Agronomy and Soil Science* 45:271-286.
- Gadkar, V.; David-Schwartz, R.; Kunik, T. and Kalpunik, Y. 2001. Arbuscular mycorrhizal fungal colonization. Factors involved in host recognition. *Plant Physiol.* 127:1493-1499.
- García-Garrido, J. M.; García-Romera, I.; Parra-García, M. D. and Ocampo, J. A., 1996. Purification on an arbuscular mycorrhizal endoglucanase from onion roots colonized by *Glomus mosseae*. *Soil Biol. Biochem.* 28:1443-1449.
- García-Romera, I.; García-Garrido, J.M. and Ocampo, J.A. 1992. Cellulase production by the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *c:Glomus mosseae* (Nicol. and Gerd.) Gerd. and Trappe. *New Phytol.* 121:221-226.
- Gianinazzi-Pearson, V.; Arnould, C.; Oufattole, M.; Arango, M. and Gizninazzi, S. 2000. Differential activation of H⁺-ATPase genes by an arbuscular mycorrhizal fungus in root cells of transgenic tobacco. *Planta* 211:609-613.
- Gianinazzi-Pearson, V.; Dumas-Gaudot, E.; Gollote, A.; Tahiri-Alaoui and Gianinazzi S. 1996. Cellular and molecular defence-related root responses to invasion by arbuscular mycorrhizal fungi. *NewPhytol.* 133:45-57.
- Gianinazzi-Pearson, V.; Smith, S.E.; Gianinazzi, S. and Smith, F.A. 1991. Enzymatic studies on the metabolism of vesicular- arbuscular mycorrhizas. V. Is H⁺-ATPase a component of ATP-hydrolysing enzyme activities in plant-fungus interfaces? *New Phytol.* 117:61-74.
- Gianinazzi-Pearson, V. and Gianinazzi S. 1983. The physiology of vesicular-arbuscular mycorrhizal roots. *Plant Soil* 71:197-209.
- Gianinazzi, S.; Gianinazzi-Pearson, V. and Dexheimer, J. 1979. Enzymatic studies on the metabolism of vesicular arbuscular mycorrhiza. III. Ultrastructural localization of acid and alkaline phosphatase in onion roots infected by *Glomus mosseae* (Nicol. and Gerd.). *New. Phytol.* 82:127-132.
- Harrier, L.A. 2001. Isolation and sequence analysis of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd.) Gerdemann & Trappe 3-phosphoglycerate kinase (PGK) gene promoter region. *DNA Sequence* 11:463-473.
- Harrier, L. and Sawczak, J. 2000. Detection of the 3-phosphoglycerate kinase protein of *Glomus moseae*. *Mycorrhiza* 10:81-86.
- Harrier, L.; Wright, F. and Hooker, J. 1998. Isolation of the 3-phosphoglycerate kinase gene of mRNA transcript from the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd.) Gerdemann & Trappe. *Curr. Genet.* 34:386-392.
- Harrier, L.A. 2001. The arbuscular mycorrhizal symbiosis: a molecular review of the fungal dimension. *J. Experimental. Botany* 52:469-478.
- Harrison, M.J. 1999. Molecular and cellular aspects of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50:361-389.
- Harrison, M.J. 1997. The arbuscular mycorrhizal symbiosis: an underground association. *Trends Plant Science* 2:54-60.
- Harrison, M. J. and Van Buuren, M. L. 1995. A phosphate transporter from the mycorrhizal fungus *Glomus versiforme*. *Nature*,. 378: 626-629.
- Harrison, M.J. 1996. A sugar transporter from *Medicago truncatula*: altered expression pattern in roots during vesicular-arbuscular (VA) mycorrhizal associations. *Plant Journal* 9:491-503.

- Harley, J. 1989. The significance of mycorrhiza. *Mycol. Res.* 92:129-135.
- Hodge, A. 2000. Microbial ecology of the arbuscular mycorrhiza. *FEMS Microbiol. Ecology.* 32:91-96.
- Hunaiti, A.A. and Bassam, A.R. 1991. The induction of chickpea glutathione S-transferase by oxadiazon. *Phytochemistry* 30:2131-2134.
- Joner, E.J. and Johansen, A. 2000. Phosphatase activity of external hyphae of two arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycol. Res.* 104:81-86.
- Kaldorf, M.; Schmelzer, E. and Bothe, H. 1998. Expression of maize and fungal nitrate reductase genes in arbuscular mycorrhiza. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 11:439-448.
- Karandashov, V.; Kuzovkina, I.; Hawkins, H. J. and George, E. 2000. Growth and sporulation of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus caledonium* in dual culture with transformed carrot roots. *Mycorrhiza* 10:23-28.
- Koide, R.T. and Dickie, I.A. 2002. Effects of mycorrhizal fungi on plant populations. *Plant Soil* 244:307-317.
- Krajinski, F.; Biela, A.; Schubert, D.; Gianinazzi-Pearson, V.; Kaldenhoff, R. and Franken, P. 2000. Arbuscular mycorrhiza development regulates the mRNA abundance of Mtaqp1 encoding a mercury-insensitive aquaporin of *Medicago truncatula*. *Planta* 211:85-90.
- Krajinski, F.; Hause, B.; Gianinazzi-Pearson, V. and Franken, P. 2002. Mtha1, a plasma membrane H⁺-ATPase gene from *Medicago truncatula*, shows arbuscule-specific induced expression in mycorrhizal tissue. *Plant Mol. Biol.* 6:754-761.
- Kumria, R.; Verma, R. and Rajam, M.V. 1998. Potential applications of antisense RNA Technology in plants. *Current Science* 74:35-41.
- Lanfranco, L.; Bolchi, A.; Ros, E.C.; Ottonello, S. and Bonfante, P. 2002. Differential expression of a metallothionein gene during the presymbiotic versus the symbiotic phase of an arbuscular mycorrhizal fungus. *Plant Physiol.* 130:58-67.
- Lanfranco, L.; Vallino, M. and Bonfante, P. 1999. Expression of chitin synthase genes in the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita*. *New Phytologist* 142:347-354.
- Lapopin, L.; Gianinazzi-Pearson, V. and Franken, P. 1999. Comparative differential RNA display analysis of arbuscular mycorrhiza in *Pisum sativum* wild type and a mutant defective in late stage development. *Plant Mol. Biol.* 41:669-677.
- Liu, H.; Trieu, A.T.; Blaylock, L.A. and Harrison, M.J. 1998. Cloning and characterization of two phosphate transporters from *Medicago truncatula* roots: Regulation in response to phosphate and colonization by arbuscular mycorrhizal. *Mol. Plant-Microbe Interaction* 11:14-22.
- Maldonado-Mendoza, I.E.; Dewbre, G.R.; van Buuren, M.L.; Versaw, W.K. and Harrison, M.J. 2002. Methods to estimate the proportion of plant and fungal RNA in an arbuscular mycorrhiza. *Mycorrhiza* 12:67-74.
- Martin-Laurent, F.; van Tuinen, D.; Dumas-Gaudot, E.; Gianinazzi-Pearson, V.; Gianinazzi, S. and Franken, P. 1997. Differential display analysis of RNA accumulation in arbuscular mycorrhiza of pea and isolation of a novel symbiosis-regulated plant gene. *Mol. Gen. Genet.* 256:37-44.
- Marx, C.; Dexheimer, J.; Gianinazzi-Pearson, V. and Gianinazzi, S. 1982. Enzymatic studies on the metabolism of vesicular-arbuscular mycorrhizas IV. Ultracytoenzymological evidence (ATPase) for active transfer processes in the host-arbuscular interface. *New Phytol.* 90:37-43.
- Marx, J. 2004. The roots of plant-microbe collaborations. *Science* 304:234-236.
- Morton, J. B. and Benny, G.L. 1990. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): A new order Glomales, two new suborders, Glomineae and Gigasporineae, and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae. *Mycotaxon* 37:471-491.
- Murphy, P.J.; Langridge, P. and Smith, S.E. 1997. Cloning plant genes differentially expressed during colonization of roots expressed during colonization of roots of *Hordeum vulgare* by the vesicular arbuscular

- mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *New Phytol.* 135:291-301.
- Pearson, J.N. and Jakobsen, Y. 1993. The relative contribution of hyphae and roots to phosphorus uptake by arbuscular mycorrhizal plants, measured by dual labelling with ^{32}P and ^{33}P . *New Phytol.* 124:489-494.
- Peretto, R.; Bettini, V.; Favaron, F.; Alghisi, P. and Bonfante, P. 1995. Polygalacturonase activity and location in arbuscular mycorrhizal roots of *Allium porrum* L. *Mycorrhiza* 5:157-163.
- Pfeffer, P.E.; Douds, D.D.; Bécard, G. and Schachar-Hill, Y. 1999. Carbon uptake and metabolism and transport of lipids in an arbuscular mycorrhiza. *Plant Physiol.* 120:587-598.
- Requena, N.; Mann, P. and Franken, P. 2000. A homologue of the cell-cycle check-point TOR2 from *Saccharomyces cerevisiae* exists in the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *Protoplasma* 212:89-98.
- Requena, N.; Breuning, M.; Franken, P. and Ocón, A. 2003. Symbiotic status, phosphate, and sucrose regulate the expression of two plasma membrane H⁺-ATPase genes from the mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *Plant Physiol.* 132:1540-1549.
- Remy, W.; Taylor, T.N.; Hass, H. and Kerp, H. 1994. 400 million year old vesicular-arbuscular mycorrhizae. (VAM). *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 91:11841-11843.
- Rhody, D.; Stommel, M.; Roeder, C.; Mann, P. and Franken, P. 2003. Differential RNA accumulation of two *b*-tubulin genes in arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 13:137-142.
- Rosendahl, S. and Dodds, J.C. 1995. Arbuscular Mycorrhizal Fungi. In: CD-ROW of the BEG-Expert System. USA.
- Schwarzott, D.; Walker, C. and Schussler, A. 2001. *Glomus*, the largest genus of the arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales), is nonmonophyletic. *Mol. Phylog. Evol.* 21:190-197.
- Slezack, S.; Negrel, J.; Bestel-Corre, G.; Dumas-Gaudot, E. and Gianinazzi, S. 2001. Purification and partial amino acid sequencing of a mycorrhiza-related chitinase isoform from *Glomus mosseae*-inoculated roots of *Pisum sativum* L. *Planta* 213: 781-787.
- Smith, F.A.; Jakobsen, I. and Smith, S.E. 2000. Spatial differences in acquisition of soil phosphate between two arbuscular mycorrhizal fungi in symbiosis with *Medicago truncatula*. *New Phytol.* 147:357-366.
- Solaiman, M.D.Z. and Saito, M. 2001. Phosphate efflux from intraradical hyphae of *Gigaspora margarita* *in vitro* and its implication for phosphorus translocation. *New Phytol.* 151:525-533.
- Soragni, E.; Bolchi, A.; Balestrini, R.; Gambaretto, C.; Percundani, R.; Bonfante, P. and Ottonello, S. 2001. A nutrient-regulated, dual localization phospholipase A(2) in the symbiotic fungus *Tuber borchii*. *EMBO J.* 20:5079-5090.
- Tahiri-Aloui, A. y Antoniw, J.F. 1996. Cloning of genes associated with the colonization of tomato roots by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *Agronomie* 16:699-707.
- Tisserant, B.; Gianinazzi-Pearson, V.; Gianinazzi, S. and Gollotte, A. 1993. In planta histochemical staining of fungal alkaline phosphatase activity for analysis of efficient arbuscular mycorrhizal infections. *Mycol. Res.* 97:245-250.

Comportamiento de crecimiento y rendimiento de naranjo Valencia (*Citrus sinensis* L.) injertado en varios portainjertos en suelos calcisol vértico y pétrico

Behaviour of growth and yield of Valencia orange (*Citrus sinensis* L.) grafted in several rootstock in vertic and petric calcisols soils

Pérez, O.;* **Becerra, S. y Medina, V.**

Investigadores Campo Experimental Tecomán, km 34.5 Carr. Colima-Manzanillo.
CP 28100, Tecomán, Col.

*Correspondencia: perez.octavio@inifap.gob.mx

Resumen

Se evaluaron 16 portainjertos para naranjo Valencia (*Citrus sinensis* L.) en suelos Calcisol vértico y pétrico de textura migajón arcilloso y migajón arenosos, respectivamente. El objetivo fue comparar el potencial de sitio y los portainjertos en el crecimiento y rendimiento de naranja a 10 años de plantada. Los tratamientos (portainjertos) incluyeron limones, citranges, mandarinos, lima ácida y trifoliados; como testigo, se utilizó Naranjo agrio (*Citrus aurantium* L.). En los suelos utilizados, resultaron sobresalientes, con respecto a naranjo agrio: Volkameriana (*Citrus volkameriana*, Pasq.), Carrizo (*Poncirus trifoliata* [L.] Raf. x *Citrus sinensis* L.), Macrofila (*Citrus macrophylla* Wester), Amblicarpa (*Citrus amblycarpa* Ochse) y Sunki x Trifoliado (*Sunki* x *Poncirus trifoliata*). La altura, el diámetro de tronco y de copa, así como el volumen de copa fue 14%, 17%, 3% y 18.7% mayor en el suelo Calcisol vértico que en el Calcisol pétrico. El rendimiento en 2001 y el acumulado (de 5 años) fue 35% y 23% superior, respectivamente, en el suelo de textura migajón arcilloso que en el suelo de textura migajón arenoso.

Palabras clave

Citranges, mandarino, trifoliados, calcáreo.



Árbol primavera

Nombre común: Primavera

Nombre científico: *Reseodendron donell-smithii*

Uso: sombra, ornato y maderable

Municipio: Manzanillo

Estado: Colima

País: México

Fotografía: José Manuel Palma García

Abstract

Sixteen citrus rootstocks for Valencia orange (*Citrus sinensis* L.) were evaluated in two calcareous soils, vertic and petric Calcisols, with textures of clay loam and sandy loam, respectively. The objective of this work was to characterize the site potential behavior for growth, and yield for orange trees after 10 years of planted. Some rootstocks evaluated were lemons, citranges, mandarins, limes and trifoliolate; sour orange was used as a control (*Citrus aurantium* L.). For both soils used, were outstanding rootstocks respecting to sour orange: Volkamer (*Citrus Volkameriana*, Pasq.), Carrizo (*Poncirus trifoliata* [L.] Raf. x *Citrus sinensis* L.), Alemow (*Citrus macrophylla* Wester), Amblycarpa (*Citrus amblycarpa* Ochse) and Sunki x Trifoliado (*Sunki* x *Poncirus trifoliata*). Trees growing in vertic Calcisol soil had higher height (23%), a major trunks diameter (17%) and canopy diameter (3%), canopy volume (18.7%), higher yield (23%) in 2001 and to the five-year accumulated yield (35%) than those growing in the petric Calcisol soil.

Key words

Citranges, mandarin, trifoliolate, calcareous.

Introducción

En Colima, la naranja (*Citrus sinensis* L.) ocupa un lugar destacado, ya que tiene buen potencial productivo y calidad de jugo aceptable, aunque la calidad externa de la fruta no es muy buena; sin embargo, a diferencia del limón mexicano, no se ha caracterizado el potencial de sitio en cuanto a crecimiento, rendimiento ni eficiencia productiva [Pérez *et al.*, 2002; 2003].

En Venezuela y países del Caribe, se ha utilizado con resultados favorables la Volkameriana, como reemplazo de portainjertos de naranjo agrio, perdidos a causa de la enfermedad denominada como "tristeza de los cítricos" [Jackson, 1999]; en Florida también se observaron buenos resultados de Volkameriana como portainjerto para naranja de jugo [Castle y Gmitter, 1999; Castle *et al.*, 1993].

y Shekwasha (*Citrus depressa* Hayata), se reportan como los portainjertos más tolerantes a clorosis férrica ocasionada por suelos calcáreos [Zekri, 1995; Alva y Tucker, 1999].

Los naranjos trifoliados se reportan como bien adaptados a suelos arcillosos con drenaje pobre; sin embargo, no toleran condiciones calcáreas o salinas [Castle y Gmitter, 1999; Tucker *et al.*, 1995; Zekri, 1995; Goldschmidt y Spiegel-Roy, 1996].

Los portainjertos varían en habilidad para absorber Fe, siendo los naranjos trifoliado y sus híbridos Citrumelo Swingle (*Poncirus trifoliata* x *Citrus paradisi* L. Raf.) y citrange Carrizo (*Poncirus trifoliata* [L.] Raf. x *Citrus sinensis* L.) menos eficientes que los portainjertos tipo limón y mandarino [Zekri, 1995].

El objetivo del estudio fue caracterizar el comportamiento en crecimiento,

Asimismo, en Florida, la naranja injertada en Amblicarpa produce 10-20 % más fruto, sin detrimento de la calidad, que cuando se utiliza Cleopatra (*Citrus reshni Hort x Tan.*) como portainjerto [Castle y Gmitter, 1999]. Entre los mandarinos, Sun Chu Sha (*Citrus reshni Hort. x Tan.*)

rendimiento y eficiencia de producción de árboles de naranja injertados en diferentes portainjertos de cítricos en suelos Calcisol vértico y pétrico de texturas migajón arenosa y migajón arcilloso, respectivamente.

Materiales y métodos

Las etapas de la investigación fueron las siguientes:

1. Obtención de muestras de suelo en dos huertos plantados con 16 portainjertos de cítricos para naranja Valencia
2. Análisis químico de las muestras colectadas
3. Registro de variables de crecimiento, de rendimiento y eficiencia de producción y
4. Análisis estadístico e interpretación de resultados

Los sitios muestreados fueron suelos Calcisoles, pétrico y vértico, de texturas contrastantes; uno, el pétrico —ubicado en el rancho San José— tiene textura migajón arenosa y, el otro, el vértico de migajón arcilloso, en Tecomán, Colima en el espacio del INIFAP (Campo Experimental). En San José, las coordenadas son 18°52' 22" latitud norte y 103° 53' 21" longitud oeste; la temperatura media anual es 26.1°C y la precipitación anual de 808 mm; pendiente menor al 1%, 10 msnm, horizonte petrocálcico, de 20 cm de espesor, a 50-70 cm de la superficie; el suelo se clasificó como Calcisol pétrico (FAO-UNESCO). El Campo Experimental se encuentra ubicado a 18° 57' 7" N y 103°50' 30" O. La temperatura media anual es de 26 °C y la precipitación anual de 730 mm; el suelo es calcáreo (Calcisol vértico); pendiente menor al 1%, 40 msnm. En ambas localidades se colectaron 16 muestras compuestas de suelo, de 0 a 30 y de 30 a 60 cm de profundidad. Los suelos se secaron al aire y molieron; se les determinó textura, pH, contenido de carbono orgánico, N orgánico, P, K, Ca, Mg, carbonatos, Fe, Mn, y Cu, mediante métodos descritos por Etchevers-Barra [1971].

En San José, la conductividad eléctrica del agua de riego fue de 1.62 dS m⁻¹, con altos contenidos de Ca²⁺ (12 me L⁻¹) y Na⁺ (4.2 me L⁻¹) y HCO₃⁻ (7 me L⁻¹) y SO₄²⁻ (8.1 me L⁻¹); la clasificación del agua para fines de riego es C₃S₁, o sea, de alto riesgo de salinidad. En el Campo Experimental, la conductividad eléctrica fue de 1.32 dS m⁻¹, con concentraciones de Ca²⁺ (12 me L⁻¹), Mg⁺⁺ (1.1 me L⁻¹), HCO₃⁻ (5 me L⁻¹) y SO₄²⁻ (7 me L⁻¹), Cl⁻ (2 me L⁻¹); la clasificación del agua para fines de riego también fue C₃S₁, es decir, de alto riesgo de salinidad. Los riegos se suministraron a tensiones

de humedad de 75 kPa, al ser por micro aspersión y por inundación en el suelo vértico y pétrico, respectivamente.

Los portainjertos evaluados se muestran en el Cuadro 1. El testigo fue naranjo agrio. En todos los portainjertos se injertó naranjo Valencia (*Citrus sinensis* L.), que es de maduración tardía. Los portainjertos seleccionados son materiales reconocidos por minimizar los efectos de sitio (patógenos del suelo como gomosis [*Phytophthora parasitica* Dastur], calidad pobre del suelo, insuficiencia y calidad pobre de agua), y por mejorar el rendimiento y calidad de fruto [Ferguson *et al.*, 1990]. Los árboles injertados se establecieron en campo el 22 de diciembre de 1993; la distancia de plantación fue de 8 x 4 m. El arreglo experimental fue de bloques al azar con cinco repeticiones por tratamiento, utilizándose tres árboles como parcela útil. La fertilización usada del inicio de producción (1997), a la fecha de muestreo (2001), fue de 200 N -100 P₂O₅-250 K₂O kg, ha⁻¹, año⁻¹, respectivamente. Las aplicaciones de fertilizantes se fraccionaron en el año (febrero, junio y septiembre); como fuentes de fertilizantes se utilizaron nitrato de amonio, urea, superfosfato de calcio triple, ácido fosfórico y cloruro de potasio.

Cuadro 1. Portainjertos evaluados en suelos Calcisol vértico y pétrico.

Nombre comercial	Nómina científica	Tipo de citrico
Valencia agrio	(<i>Citrus valenciana</i> , Presl.)	limón
Carmelo	<i>Poncirus trifoliata</i> (L.) Raf. x <i>C. sinensis</i> L.	citrus agrio
Shobavale	<i>Citrus decurva</i> Hayati	mandarina
Chlopat	<i>Citrus rosini</i> Hort. x <i>Ts.</i>	mandarina
Naranja agria	<i>Citrus aurantium</i> L.	mandarina
Deo Chlopat	<i>Citrus rosini</i> Hort. x <i>Ts.</i>	mandarina
Flugpar	<i>Citrus decurva</i>	mandarina
Aradimpa	<i>Citrus aurantium</i> L.	mandarina
Flugpar x Trayor	<i>Citrus decurva</i> x <i>Trayor</i>	mandarina híbrida
Mandarin	<i>Citrus aurantium</i> L.	limón
Willis	<i>Poncirus trifoliata</i> L. Raf. x <i>C. sinensis</i> L.	citrus agrio
Rafé	<i>Poncirus trifoliata</i> L. Raf. x <i>C. sinensis</i> L.	citrus agrio
C-32	<i>Poncirus trifoliata</i> L. Raf. x <i>C. sinensis</i> L.	citrus agrio
Rabidax	<i>Poncirus trifoliata</i>	mandarina híbrida
Deo x Trifoliata	Deo x <i>P. trifoliata</i>	mandarina híbrida
Mandarin	<i>Poncirus trifoliata</i> L. Raf. x <i>C. sinensis</i> L.	citrus agrio

Se registró altura y diámetro de copa por árbol, diámetro del portainjerto; el volumen de copa se calculó asumiendo que la forma del árbol correspondía a una semiesfera [(volumen = $(2/3) \times \pi \times \text{altura} \times \text{radio de copa}^2$)] (Roose *et al.*, 1989). El rendimiento se obtuvo cosechando 15 árboles de cada portainjerto. El cociente de rendimiento / volumen de copa se le denominó “eficiencia de producción” (Roose *et al.*, 1989). La cosecha, 3 a 4 cortes de fruto, se efectuó cuando la fruta tuvo un índice de madurez mayor a 9 (°Brix/acidez titulable) de septiembre a enero.

Los datos obtenidos se procesaron mediante análisis de varianza, utilizando procedimientos de GLM con el paquete estadístico COHORT3, Berkeley, Ca, con la interacción portainjerto x repetición como término del error (repetición = 10) y la comparación de medias utilizando la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$); también se llevó a cabo un análisis de regresión polinomial para representar el crecimiento de cada portainjerto.

Resultados

Características de los suelos

En el Cuadro 2 se muestran las principales propiedades físicas y químicas de los suelos y del extracto de saturación de los suelos Calcisol vértico y pétrico.

Los resultados del análisis físico y químico mostraron que los suelos tienen pH alcalino, son pobres a medianamente pobres en P, Fe, Mn y Zn; el contenido de carbono orgánico es moderadamente pobre a mediano. Las concentraciones de Ca y Mg en ambos sitios fueron altas, lo cual tiene relación con el origen de los suelos [Pérez, 1999]. El extracto de saturación tiene pH de 8.2, conductividad eléctrica menor de 1 (no salinos) y sin problema de sodio intercambiable. Son contrastantes en textura, migajón arenoso y migajón arcilloso, así como en contenido de K, de mediano a pobre y rico en San José y Campo Experimental, respectivamente (Cuadro 2).

La relación Ca/Mg tuvo valores de 5.78 y 4.66 en Calcisol pétrico, mientras que en el suelo Calcisol vértico fue de 15.79 y 14.27 a las profundidades de 0 a 30 y 30 a 60 cm, respectivamente; siendo el valor de dicha relación 2.73 y 3.06 veces mayor en el Calcisol vértico que en el Calcisol pétrico a las profundidades indicadas arriba.

Cuadro 2. Análisis físico-químico de los suelos establecidos con 16 portainjertos de cítricos para naranja “Valencia”.

Propiedad	Cobicalpetro		Cobicalvetica	
	Profundidad (cm)		Profundidad (cm)	
	0 a 30	30 a 60	0 a 30	30 a 60
Textura	Migeja saca	A. saca	F. saca	Migeja saca
Arena (%)	60.92	90.92	44.92	32.92
Limo (%)	27.23	3.23	29.23	39.23
Arcilla (%)	11.80	5.80	25.80	39.20
pH _{so} (1:2)	8.4	8.5	8.5	8.5
Capacidad catiónica (%)	0.55 MP †	0.16 MP	1.24 M	0.70 P
PObs (mg kg ⁻¹)	14.0 P	3.5 MP	22.7 M	10.1 P
K (mg kg ⁻¹)	150.0 M	55.0 P	442.0 MR	290.0 R
Ca (mg kg ⁻¹)	2279.0 R	473.0 MP	4231.0 R	5022.0 MR
Mg (mg kg ⁻¹)	296.0 MR	64.0 R	124.0 MR	214.0 MR
Na (mg kg ⁻¹)	19.0 R	5.0 M	32.0 R	40.0 R
Calcio total (%)	3.75 M	4.15 M	12.92 R	12.92 R
P (mg kg ⁻¹)	3.1 MP	3.1 MP	3.1 MP	2.9 MP
Mn (mg kg ⁻¹)	5.6 5.6 P	1.1 MP	9.4 M	6.0 Med P
Zn (mg kg ⁻¹)	0.7 P	0.4 MP	0.5 P	0.3 MP
Cu (mg kg ⁻¹)	1.4 R	0.3 P	1.9 R	1.9 R
N total (%)	0.06 P	0.02 P	0.11 M	0.02 P
Estados de saturación:				
pH	8.2	8.2	8.2	8.2
CEC _{so} (cmol ⁺ kg ⁻¹)	0.61	0.32	0.72	0.34
Ca (me L ⁻¹)	3.96	2.17	3.76	3.95
Mg (me L ⁻¹)	1.59	0.30	1.92	2.97
Na (me L ⁻¹)	1.02	0.73	1.02	1.39
K (me L ⁻¹)	0.19	0.15	0.44	0.24
CO ₃ ²⁻ (me L ⁻¹)	0.39	0.39	0.39	0.39
HCO ₃ ⁻ (me L ⁻¹)	3.52	1.79	2.92	2.52
Cl ⁻ (me L ⁻¹)	1.99	1.29	1.71	2.09
SO ₄ ²⁻ (me L ⁻¹)	0.17	0.22	2.67	2.44
Fe ¹⁺	0.00	0.00	0.00	0.00

† P = Pobre; MP = Muy pobre; M = Mediano; R = Rico; MR = Muy rico; Med P = Medianamente pobre; Clasificación de suelo del Laboratorio de suelo, aguas y plantas. INIFAP-Bajío.

¹ Porcentaje de sodio intercambiable.

Adaptación al suelo

Todos los árboles de naranja mostraron síntomas de deficiencias de Fe y Zn; sin embargo, su comportamiento y sobrevivencia fue variable (Figuras 1 y 2); el efecto de mayor consideración en la plantación fue la muerte de árboles ocasionada por clorosis férrica (Cuadro 3); la pérdida de árboles fue 31% y 12.8% en Calcisol pétrico y Calcisol vértico, respectivamente. La diferencia en grado de mortandad se atribuyó, principalmente, al impedimento físico para la penetración y volumen de exploración de las raíces en el suelo Calcisol pétrico, debido a la presencia de tepetate, más que a los contenidos de CaCO_3 del suelo, ya que el Calcisol vértico tiene mayor concentración de carbonatos (Cuadro 2).

Cuadro 3. Número de árboles de naranjo “Valencia” muertos, debido a clorosis férrica y deficiencias de Zn en el suelo (Tecomán, Col.).

Plantación	Calcisol pétrico	Calcisol vértico
C-32	60	6
Fabidosax	40	33
Elavaca	20	13
Chapala	40	...
Sancho	20	...
Camino	20	...
Murillo	20	...



Figura 1. Contraste de crecimiento entre mandarino *Amblicarpa* y citrange Rusk en suelo Calcisol vértico.

(Fotografía:
Octavio Pérez Zamora)



Figura 2. Deficiencia de Zn en hojas de naranjo “Valencia”. De izquierda a derecha: hojas sanas a severa deficiencia.

(Fotografía:
Octavio Pérez Zamora)

Crecimiento

En el Cuadro 4 se muestra el crecimiento final, promedio de 16 portainjertos, de árboles de naranja en suelos Calcisol pétrico y Calcisol vértico.

Cuadro 4. Variables de crecimiento finales de árboles de naranjo “Valencia” en suelos Calcisol pétrico y Calcisol vértico.

Variable †	Localidad		D. M.S. _{var}	
	Calcisol pétrico	Calcisol vértico		
Altura (m)	3.90 b ††	4.02 a	0.25 (m)	†
Diámetro tronco (cm)	16.69 b	19.89 a	0.54 (cm)	+
Diámetro copa (m)	3.54 b	3.65 a	0.11 (m)	+
Volumen copa (m ³)	23.96 b	30.20 a	1.87 (m ³)	+

† Promedio de 16 portainjertos en cada una de las localidades.

†† Valores con la misma letra dentro de una misma hilera son estadísticamente iguales (D.M.S. $p \leq 0.05$)

§Significancia $p \leq 0.05$

Los coeficientes de las ecuaciones de regresión polinomial que representan el crecimiento en diámetro de portainjerto y volumen de copa de árboles de naranja se muestran en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Coeficientes de la ecuación $y = b_0 + b_1x + b_2x^2$ para de diámetro de portainjerto y volumen de copa de árboles de naranjo “Valencia” en función del tiempo de establecimiento.

Forma de injerto	Ecuación	Diámetro de copa		Volumen de copa	
		En 1 ^{er} año	En 2 ^{do} año	En 1 ^{er} año	En 2 ^{do} año
Cabeza de cerdo	b_0	0,00	0,07	0,00	0,00
	b_1	7,90 ***	1,00 ***	0,00 ***	0,00 ***
	b_2	0,0071 **	0,0000 ***	0,00 **	0,0011 **
	R^2	0,90	0,99	0,90	0,90
Uva	b_0	0,07	0,00	0,00	0,00
	b_1	7,90 ***	1,70 ***	0,00 ***	0,00 ***
	b_2	0,0000 **	0,0000 ***	0,0011 **	0,0000 **
	R^2	0,99	0,99	0,97	0,99
Cajón	b_0	0,00	0,00	0,00	0,00
	b_1	7,90 ***	0,00 ***	7,90 ***	0,00 ***
	b_2	0,0011 **	0,0000 ***	0,0000 **	0,0000 **
	R^2	0,90	0,99	0,97	0,90
Cabeza y detalle de uva	b_0	0,00	0,00	0,00	0,00
	b_1	0,0000	0,00 ***	7,90 ***	0,00 ***
	b_2	0,0000 **	0,0011 ***	0,0011 **	0,0011 **
	R^2	0,90	0,99	0,97	0,90
Cabeza	b_0	7,90	0,00	0,00	0,00
	b_1	0,00 ***	0,00 ***	0,00 ***	0,00 ***
	b_2	0,0011 **	0,0000 ***	0,0011 **	0,0011 **
	R^2	0,99	0,99	0,90	0,90
Cabeza	b_0	0,00	0,00	0,00	0,00
	b_1	0,00 ***	0,00 ***	7,90 ***	0,00 ***
	b_2	0,0011 **	0,0000 ***	0,0011 **	0,0011 **
	R^2	0,90	0,99	0,97	0,90
Cabeza	b_0	7,90	0,00	7,90	0,00

Sensibilidad de	t_1	0.71 ***	0.71 ***	0.71 ***	0.71 ***
	t_2	0.70 ***	0.69 ***	0.69 ***	0.69 ***
	t_3	0.70 ***	0.70 ***	0.70 ***	0.70 ***
	t_4	0.71 ***	0.71 ***	0.71 ***	0.71 ***
	t_5	0.71 ***	0.71 ***	0.71 ***	0.71 ***
Cosecha	t_1	0.71 ***	0.71 ***	0.71 ***	0.71 ***
	t_2	0.71 ***	0.71 ***	0.71 ***	0.71 ***
	t_3	0.71 ***	0.71 ***	0.71 ***	0.71 ***
	t_4	0.71 ***	0.71 ***	0.71 ***	0.71 ***
	t_5	0.71 ***	0.71 ***	0.71 ***	0.71 ***
Efectos	t_1	0.71 ***	0.71 ***	0.71 ***	0.71 ***
	t_2	0.71 ***	0.71 ***	0.71 ***	0.71 ***
	t_3	0.71 ***	0.71 ***	0.71 ***	0.71 ***
	t_4	0.71 ***	0.71 ***	0.71 ***	0.71 ***
	t_5	0.71 ***	0.71 ***	0.71 ***	0.71 ***
Efectos de los factores	t_1	0.71 ***	0.71 ***	0.71 ***	0.71 ***
	t_2	0.71 ***	0.71 ***	0.71 ***	0.71 ***
	t_3	0.71 ***	0.71 ***	0.71 ***	0.71 ***
	t_4	0.71 ***	0.71 ***	0.71 ***	0.71 ***
	t_5	0.71 ***	0.71 ***	0.71 ***	0.71 ***
Sensibilidad	t_1	0.01	0.00	0.00	1.00
	t_2	1.02 ***	1.23 ***	0.73 ***	3.04 ***
	t_3	0.01 **	0.014 ***	0.01 *	0.01 **
	t_4	0.00	0.00	0.00	0.00
	t_5	1.02 ***	0.00	0.00	3.31
Cosecha	t_1	1.02 ***	4.01 ***	1.01 ***	4.76 ***
	t_2	0.01 *	0.021 ***	0.11 **	0.01 **
	t_3	0.00	0.00	0.00	0.00
	t_4	1.41	0.04	0.04	3.31
	t_5	1.02 ***	1.13 ***	0.00 **	4.07 ***
Efectos	t_1	0.01 **	0.018 **	0.19 **	0.11 **
	t_2	0.01	0.00	0.00	0.00
	t_3	0.01	0.00	0.00	0.00
	t_4	1.70	0.09	0.09	3.41
	t_5	0.40 ***	4.10 ***	1.74 ***	6.04 ***
Efectos de los factores	t_1	0.07 *	0.021 ***	0.09 **	0.14 **
	t_2	0.00	0.00	0.00	0.00
	t_3	0.00	0.00	0.00	0.00
	t_4	0.00	0.00	0.00	0.00
	t_5	0.00	0.00	0.00	0.00

En la mayoría de los casos, el efecto lineal representó apropiadamente el crecimiento, mientras que algunos portainjertos mostraron significancia al efecto cuadrático; en todos los casos, el coeficiente de determinación de las ecuaciones de regresión polinomial fue superior a 0.95.

Un ejemplo de curva de crecimiento para volumen de copa en portainjertos seleccionados se muestra en la Figura 3; en ésta se corroboran los resultados del Cuadro 4. También el diámetro de copa y altura de árbol mostraron resultados de crecimiento similares a los observados en la Figura 3. De la misma manera, las ecuaciones de regresión para el diámetro y altura de árbol mostraron tendencias parecidas a las ecuaciones de volumen de copa, cuyos coeficientes de determinación fueron de 0.95 o mayores.

Figura 3. Crecimiento, volumen de copa, de árboles de naranjo “Valencia” en portainjertos seleccionados establecidos en dos tipos de suelo Calcisol vértico.

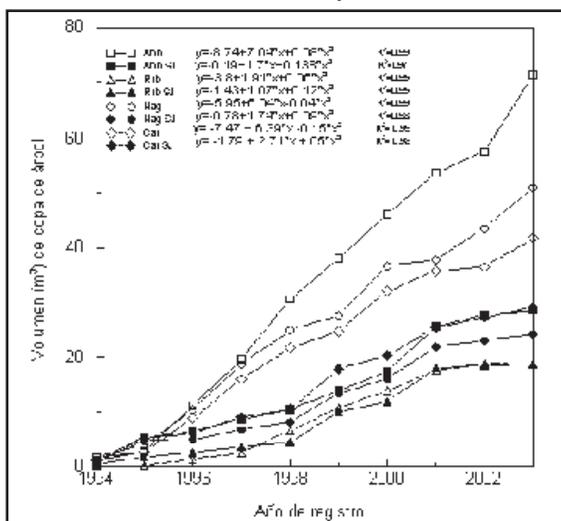
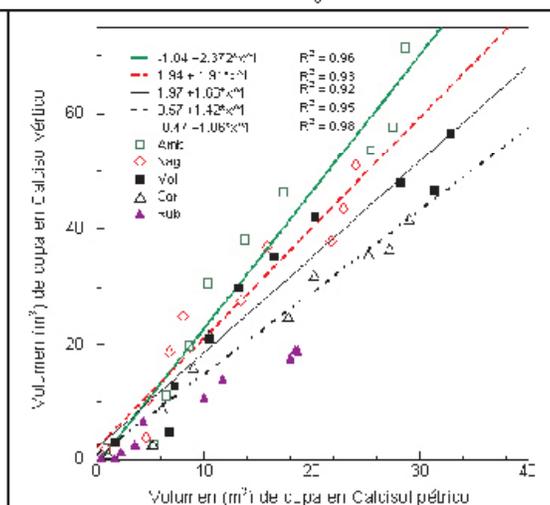


Figura 4. Relación entre volumen de copa de portainjertos seleccionados establecidos en suelo Calcisol vértico y el volumen de copa de árboles creciendo en Calcisol pétrico.



Por otra parte, la relación entre volúmenes de copa de árboles registrada en los suelos en estudio, para portainjertos seleccionados, se muestra en la Figura 4; en ésta se observa que los portainjertos lograron mayor volumen de copa cuando crecieron en el suelo Calcisol vértico que en el Calcisol pétrico, con excepción de Rubidoux. Estas diferencias en volumen de copa se atribuyeron al efecto de capas endurecidas (tepetates) y a la menor capacidad de retención de humedad debido a la textura migajón arenosa del suelo Calcisol pétrico [Pérez, 1999].

Las ecuaciones de regresión que relacionan el volumen de copa de árboles de naranjo creciendo en el suelo Calcisol vértico con el volumen de copa registrado en Calcisol pétrico se muestran en el Cuadro 6. El menor vigor de crecimiento se tuvo con valores del coeficiente b_1 de 0.83 a 1.1 (Rangpur x troyer y Rubidoux); en los cuales el volumen de copa fue similar en ambos suelos, mientras que valores de para b_1 de 1.91 a 2.37 (naranjo agrio y Amblicarpa) se relacionaron con unas condiciones más favorables de suelo (Calcisol vértico), para el crecimiento de naranja.

Cuadro 6. Relación entre volumen de copa registrado en Calcirol vértico con el obtenido en el suelo Calcirol pétrico.

Flore injerto	Y _v , Calcirol vértico	X _s , Calcirol pétrico		
		b _v	b _s	R ²
Limnoriales:				
Valbuena rosa	Y=	1.97	1.66	0.92
Miraflores	Y=	.340	1.81 *** †	0.96
Flanagan	Y=	2.27	1.28 ***	0.91
Citrus trifloros:				
Martha	Y=	-0.42	1.24 ***	0.91
C-32	Y=	4.09	1.11 ***	0.88
Paula	Y=	-3.22	1.65 ***	0.97
Willie	Y=	0.94	1.14 ***	0.89
Carmen	Y=	0.56	1.42 ***	0.95
Flanagan x Layan	Y=	4.47	0.83 ***	0.79
Dulce x trifloro	Y=	-2.55	1.39 ***	0.95
Fabáceas:				
Martha rosa	Y=	-1.03	2.37 ***	0.94
Dulce Citrus	Y=	3.26	1.58 ***	0.90
Dulce rosita	Y=	2.24	1.77 ***	0.91
Chapala	Y=	4.17	1.08 ***	0.87
Testigo:				
Naranja agria	Y=	1.94	1.91 ***	0.93

† Altamente significativo ($p < 0.001$).

Rendimiento de fruto

En el Cuadro 7 se muestra el rendimiento de fruta obtenido en 2001 y el rendimiento acumulado de cinco años de naranja “Valencia”.

Cuadro 7. Rendimiento de fruta de naranjo “Valencia” en suelos Calcisol pétrico y vértico.

Variable†	Localidad		D.M.S.‡	Signif.‡
	Calcisol pétrico	Calcisol vértico		
Número de frutos cosechados	649 ± 11	687 ± 10	160	ns
Rendimiento 2001 (t ha ⁻¹)	19.16 ± 0.6	17.19 ± 0.5	2.98 t ha ⁻¹	*
Eficiencia Productiva (kg m ⁻²)	1.10	1.58	0.48 kg m ⁻²	**
Rendimiento acumulado (t ha ⁻¹) ‡	42.96 ± 1.2	66.64 ± 1.5	23.68 t ha ⁻¹	**

† Promedio de 16 portainjertos en cada una de las localidades.

‡ Valores con la misma letra dentro de una misma hilera son estadísticamente iguales entre sí (D.M.S. $p \leq 0.05$).

§ ns, * y ** representan no significancia (ns) y significancia estadística a 0.05, 0.01, respectivamente.

‡ Rendimiento acumulado de fruta de 1997 a 2001.

No se observaron diferencias estadísticas entre localidades en el número de frutos cosechados (tres árboles); en suelo Calcisol vértico el rendimiento fue 23% superior que el registrado en suelo Calcisol pétrico en 2001 y 35.5% más para el rendimiento acumulado de cinco años (Cuadro 7). Estas observaciones, de mayor rendimiento de fruta en suelos vérticos, se encuentran en concordancia con lo reportado para el limón mexicano en estas clases de texturas [Medina, 1996].

En las Figuras 5 y 6 se muestran el rendimiento y la eficiencia productiva de algunos portainjertos seleccionados. En ambas localidades los portainjertos sobresalientes para naranja Valencia fueron Macrofila, Volkameriana, Amblicarpa, Sunki por trifoliado y Carrizo. El rendimiento y la eficiencia de producción fueron mayores en suelo Calcisol vértico que en el pétrico, al ser estos resultados similares a los obtenidos por Pérez *et al.*, [2003], y a los de Medina (1996), para limón mexicano.

Figura 5.
Rendimiento de
fruta de naranja
“Valencia” en suelos
de textura migajón
arenosa y migajón
arcillosa.

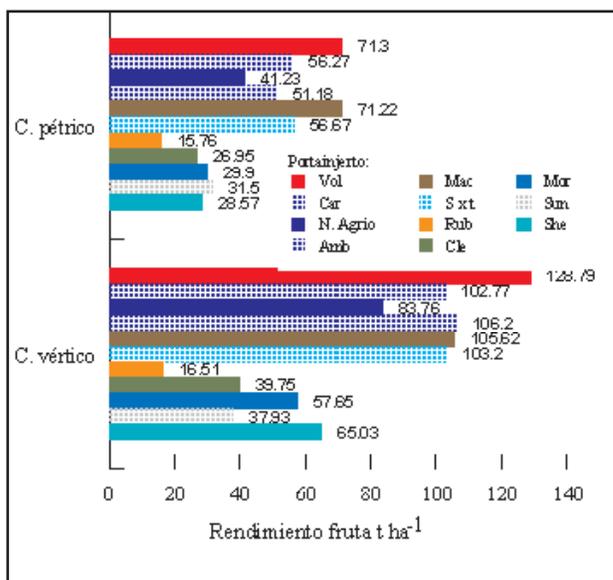
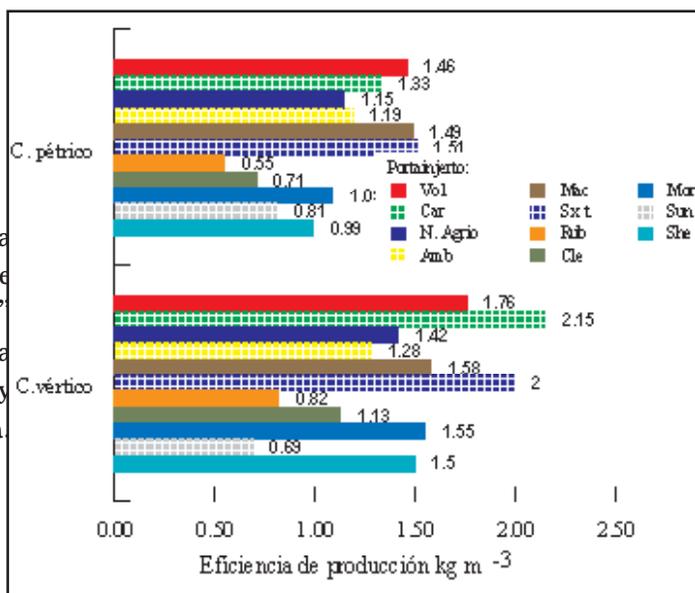


Figura 6. Eficiencia
productiva de
naranja “Valencia”
en suelos de textura
migajón arenosa y
migajón arcillosa.



Discusión

Características de los suelos

En los suelos calcáreos, el pH y la concentración de CaCO_3 afectan la disponibilidad de P, Fe, Mn, Zn y Cu [Pérez, 1999; Obreza *et al.*, 1998], siendo las de mayor impacto las deficiencias de Fe y Zn en portainjertos no tolerantes a suelos calcáreos, causando síntomas de clorosis férrica, detención de crecimiento e incluso la muerte del árbol [Pérez *et al.*, 2002; 2003].

Por lo que respecta a la relación $[\text{K}/(\text{Ca} + \text{Mg})]$ del suelo, los valores resultaron óptimos en ambas localidades y fueron similares a las encontradas por Maldonado *et al.* [2001], en suelos de texturas de migajón. En el suelo migajón arcilloso, la relación $[\text{K}/(\text{Ca} + \text{Mg})]$ fue de 22.2 y 37.0, mientras que en el migajón arenoso fue de 38.5 y 12.5 para las profundidades de 0 a 30 y 30 a 60 cm, respectivamente. Esto se relacionó con el mayor contenido de arcilla (Cuadro 2) y con el valor de CIC [Pérez, 1999], en el suelo vértico con respecto al pétrico; estos valores de Ca/Mg resultaron similares a los reportados por Maldonado *et al.* [2001], en el Valle de Apatzingán.

Las bajas concentraciones de Fe y Zn en el suelo se debieron a que el primero forma compuestos de baja solubilidad [Loeppert *et al.*, 1984] y en el caso del zinc, a formaciones de compuesto amorfos; el Cu estuvo en concentraciones elevadas en el suelo Calcisol pétrico y de rico a pobre en suelo Calcisol vértico; estas concentraciones se explican el porqué los productos asperjados para el control de enfermedades contienen Cu [Medina *et al.*, 2001; Perez *et al.*, 2002].

Adaptación al suelo

Los citranges (C-32 y Carrizo) y trifoliados (Rubidoux) fueron los más afectados, lo cual resultó congruente con lo reportado en la literatura, debido a que son ineficientes en la absorción de Fe [Zekri, 1995; Zekri y Parsons, 1989; Castle y Gmitter, 1999]. Shekwasha (mandarino) tuvo problemas de adaptación en ambos, mientras que los mandarinos Cleopatra y Sun Chu Sha, también reportados como tolerantes a clorosis férrica, así como el testigo (20%), mostraron muerte de árboles en el suelo Calcisol pétrico. Lo anterior se atribuye a que las condiciones edáficas y climáticas en Colima son diferentes a la de los lugares donde se evaluaron dichos mandarinos.

Crecimiento

Los árboles crecidos en el suelo Calcisol pétrico, tuvieron 14%, 17%, 3% y 20% menor altura, diámetro de tronco, diámetro de copa y volumen de copa, respectivamente, que aquellos establecidos en el suelo Calcisol vértico; estos resultados son congruentes con lo observado por Medina [1996] en limón mexicano, quien reporta que este cítrico fue

menos vigoroso en el suelo con textura arenosa que en uno de textura migajón arcillosa. Las variaciones en crecimiento reportadas por Medina [1996], para limón mexicano fueron tales, que árboles de 9 años, creciendo en suelos arenosos tuvieron vigor equivalente a árboles de 6 años establecidos en suelos de migajón arcilloso. Las diferencias entre localidades se atribuyeron a la mayor retención de humedad en el perfil del suelo con mayor contenido de arcilla, así como a la presencia de un horizonte B_{2t} a 30 cm de profundidad [Nef, 1997; Pérez, 1999].

Con base en estos resultados es factible estimar el crecimiento de naranjo "Valencia" en suelos de textura contrastante en la planicie costera de Tecmán, Colima.

Con excepción de Rangpur, los portainjertos tipo limón produjeron árboles de vigor comparable al testigo (naranjo agrio). Sunki x trifoliado y Morton resultaron con mejor adaptación que el resto de citranges en el Calcisol vértico con respecto al Calcisol pétrico. De los citranges y trifoliados, los que tuvieron el crecimiento más pobre fueron C-32, Rubidoux y Rangpur x troyer; esto se relacionó con su sensibilidad a las condiciones calcáreas de los suelos [Zekri, 1995; Perez *et al.*, 2003]; sin embargo, el citrange Carrizo resultó con buena adaptación a suelos calcimórficos; esto se encuentra en contraste con lo observado en otras regiones que también tienen problemas de $CaCO_3$ en el suelo, lo que podría deberse a la relación existente entre Ca y Na en los suelos de Sonora y Colima [Durón *et al.*, 1999; Pérez *et al.*, 2002]. De los mandarinos, con excepción de Cleopatra, todos mostraron buena adaptación en ambos suelos, pero su comportamiento fue mejor en el Calcisol vértico; Cleopatra no tuvo los atributos mostrados en los suelos calcáreas de Florida y California, lo cual demuestra que los resultados de portainjertos no son transferibles de una región a otra, ya que además del suelo, es necesario considerar el clima y otros componentes de manejo [Castle y Gmitter, 1999].

Rendimiento de fruto

Shekwasha produjo 56.1% más en el Calcisol vértico que en el Calcisol pétrico, seguido por Amblicarpa (51.8%), Naranjo agrio (50.8%), Morton (48%), Carrizo (45.2%), Volkameriana (44.6%) y Macrofila (32.5%). En suelo Calcisol pétrico, los 7 portainjertos más productivos fueron Volkameriana, Macrofila, Sunki por trifoliado, Carrizo, Amblicarpa, Rangpur y Naranjo agrio [Pérez *et al.*, 2003], mientras que en el Campo Experimental fueron Volkameriana, Amblicarpa, Macrofila, Sunki por trifoliado, Carrizo, Naranjo agrio y Rangpur. Estos resultados corroboran los encontrados por Pérez *et al.* [2002], en naranja y los de Medina [1996], en limón mexicano en suelos de textura contrastante, migajón arcillosa y arcillosa.

De todos los portainjertos, Carrizo sobresalió por su alta eficiencia productiva (2.15 $kg\ m^{-3}$), seguido por Sunki x trifoliado (2.0), Volkameriana (1.76), Macrofila (1.58); en contraste Sun Chu Sha, C-32 y Rubidoux tuvieron bajas eficiencias productivas en

cualquier tipo de suelo. Tales resultados se encuentran en concordancia, a excepción de Carrizo, con lo reportado por Durón [1999], en naranja en suelos arcillosos de Sonora, y los de Medina [1996], para limón mexicano. Lo anterior podría deberse a la mayor capacidad de amortiguamiento del suelo de textura arcillosa con respecto al suelo arenoso [Maldonado *et al.*, 2001; Obreza *et al.*, 1998], y al mayor contenido de Na y menor calidad de agua de riego de Sonora con respecto al agua de riego de Colima.

Conclusiones

Los dos suelos tienen características calcimórficas ($>1.0 \text{ CaCO}_3$), pH alcalino (>7.0), son pobres en materia orgánica, de medios a bajos en P, altos en Ca y Mg, bajos en Fe, Mn, Zn, que afectan la adaptación y nutrición de los portainjertos de cítricos, en especial de C-32, Shekwasha y Rubidoux en los dos sitios, y de Cleopatra y Sun Chu Sha en la textura migajón arenosa. La relación $[K/(Ca+Mg)]$ en el suelo es óptima para el crecimiento de los árboles de naranja con buena adaptación a suelos calcimórficos.

En los dos suelos utilizados, los portainjertos Volkameriana, Carrizo, Sunki x trifoliado, Macrofila y Amblicarpa son alternativas viables al testigo (Naranjo agrio). De estos portainjertos destaca el comportamiento de Carrizo, ya que se le reporta como un portainjerto sensible a suelos calcáreos. Macrofila, aunque tolerante a condiciones calcáreas, tiene la desventaja de ser sensible al virus de la “tristeza de los cítricos”.

Los árboles tuvieron mayor vigor, en crecimiento, en el suelo Calcisol vértico que en el Calcisol pétrico, así como mayor capacidad de producción de fruta y eficiencia productiva, lo cual se relacionó con el contenido de arcilla y la capacidad de almacenamiento de agua en el suelo Calcisol vértico.

Literatura citada

- Alva, A. K. and Tucker, D. H. 1999. *Soils and Nutrition*. In: *Citrus health management*. Timmer, L.W. and Duncan, L.W. (Eds.). The American Phytopathological Society Press. St. Paul MN. pp. 59-71.
- Castle, W. S. and Gmitter, F. G. 1999. *Rootstock and scion selection*. In: *Citrus health management*. Timmer, L.W. and Duncan, L.W. (Eds.). The American Phytopathological Society Press. St. Paul MN. pp. 21-34.
- Castle, W. S.; Tucker, D. P. H.; Krezdorn, A. H. and Youtsey, C. O. 1993. *Rootstocks for Florida citrus*.

- Publ. SP-42. University of Florida. Gainesville. FL.
- Durón, L. J. 1999. *Establecimiento de huertas*. En: *Cítricos para el noroeste de México*. Durón, L. J.; Valdez, B.; Núñez, J. H. y Martínez, G. (Eds.). Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias. SAGAR. Hermosillo, Sonora. México. pp. 21-56.
- Etchevers-Barra, J. D.; Espinoza, W. y Riquelme, E. 1971. *Manual de fertilidad y fertilizantes*. 2ª. ed. Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción Chillan, Chile. 30 pp.
- Ferguson, L.; Sakovich, N. and Roose, M. L. 1990. *California citrus rootstocks*. Publication 21477. University of California, Davis, CA. 18 pp.
- Goldschmidt, E. E. and Spiegel-Roy, P. 1996. *Biology of citrus*. Cambridge University Press. Great Britain. 230 pp.
- Jackson, L. K. 1999. *Citrus cultivation*. In: *Citrus health management*. Timmer, L.W. and Duncan, L.W. (Eds.). The American Phytopathological Society Press. St. Paul, MN. pp. 17-21.
- Loeppert, R. H.; Hoessner, L. R. and Amin, P. K. 1984. *Formation of ferric oxihydroxides from ferrous perchlorates in stirred calcareous systems*. Soil Sci. Soc. A. J. 48:677-683.
- Maldonado, T. R.; Etchevers-Barra, J. D.; Alcántar, G.; Rodríguez, J. y Colinas, M. T. 2001. *Estado nutrimental del limón mexicano en suelos calcimórficos*. Terra 19:163-174.
- Medina, V. M. 1996. *Comportamiento de portainjertos de limón mexicano en Colima*. Folleto técnico Núm. 3. Campo Experimental Tecomán. INIFAP. Colima, Col., México. 36 pp.
- Medina, V. M.; Robles, M. M.; Becerra, S.; Orozco, J.; Orozco, M. y Garza, J. G. 2001. *El cultivo del limón mexicano*. Libro Técnico Núm. 1. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Tecomán, Colima. México. 188 pp.
- Nef, E. 1997. *Rootstock: one size does not fit all*. Citrus Industry. 78(2):48-50.
- Obreza, A. T.; Ashok, A. K. and Calvert, D. V. 1998. *Citrus fertilizer management on calcareous soils*. Document CH086. University of Florida. Gainesville, FL. 9 pp.
- Pérez Z., O. 1999. *Distribución y acumulación de carbonato de calcio en los suelos de la llanura Costera de Tecomán, Colima*. Agrociencia 33(1): 11-20.
- Pérez Z., O.; Medina, V. M. y Becerra, S. 2002. *Crecimiento y rendimiento de naranja "Valencia" injertada en 16 portainjertos de cítricos establecidos en suelo calcimórfico y calidad de jugo*. Agrociencia 36:137-148.
- Pérez Z., O.; Becerra, S. y Medina, V. M. 2003. *Selección de portainjertos para naranja "Valencia" en suelos calcimórficos*. Terra 21:47-55.
- Roose, M. L.; Cole, D. A.; Atkin, D. and Kupper, R. D. 1989. *Yield and tree size of four citrus cultivars on 21 rootstocks in California*. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 114(4):678-684.
- Tucker, D. P.H.; Alva, A. K.; Jackson, L. K. and Wheaton, T.A. 1995. *Nutrition of Florida citrus trees*. Publ. SPI169. Coop. Ext. Serv. University of Florida. Gainesville, FL.
- Zekri, M. 1995. *Nutritional deficiencies in citrus trees: iron, zinc and manganese*. Citrus Industry 76: 16-17.
- Zekri, M. and Parsons, L. R. 1989. *Growth and root hydraulic conductivity of several citrus rootstocks under salt and polyethylene glycol stresses*. Physiol. Plant. 77:99-106.

Recibido: Agosto 26, 2004.

Aceptado: Julio 8, 2005.



Árbol de rosa morada

Nombre común: Rosa morada

Nombre científico: *Tabebuia rosea*

Uso: maderable

Municipio: Colima

Estado: Colima

País: México

Fotografía: José Manuel Palma García

Efecto de la fertilización orgánica, la variedad y la época en el perfil polifenólico de *Morus alba* (L.)

Organic fertilization, variety and seasonal effects in the poliphenolic profile of *Morus alba* (L.)

García, D. E.;^{1*} Medina, M. G.² y Ojeda, F.¹

¹Laboratorio de Evaluación de Alimentos, Estación Experimental de Pastos y Forrajes “Indio Hatuey”, Central España Republicana, Matanzas, Cuba, CP 44280

²Instituto de Investigaciones Agrícolas (INIA), Estado Trujillo, Venezuela

*Correspondencia: danny.garcia@indio.atenas.inf.cu

Resumen

Con el objetivo de detectar los principales grupos de fenoles en la biomasa de la morera y determinar el efecto del abonado (0, 100, 300 y 500 kg N/ha/año), la variedad (Cubana, Indonesia, Tigreada y Acorazonada) y la época (periodo lluvioso y poco lluvioso), en el perfil polifenólico, se llevó a cabo una investigación con un diseño de bloques (al azar) con arreglo factorial 4 x 4 x 2 y cinco repeticiones. Mediante el tamizaje fitoquímico se evaluó la presencia de siete grupos de compuestos, para posteriormente, determinar sus concentraciones. Únicamente se detectaron fenoles (FT), flavonoides (Flav) y cumarinas (Cum), con presencia leve, notable o cuantiosa. Sólo se encontraron interacciones significativas entre los factores fertilización y variedad para los FT y las Cum ($P < 0,05$). Los niveles máximos de FT y Cum encontrados en las hojas fueron de 2,86% MS (Tigreada abonada con 100 kg N/ha/año) y 0,65% MS (Cubana e Indonesia fertilizadas con 100 kg N/ha/año), respectivamente. Las mayores concentraciones de FT y Cum en los tallos tiernos se observaron en la variedad Acorazonada con 100 kg N/ha/año (1,55% MS) e Indonesia, con la aplicación de 500 kg N/ha/año (0,60% MS). En las hojas de las variedades (los contenidos de FT y Cum) tendieron a disminuir con el incremento de los niveles de fertilización, a excepción de las concentraciones de FT, en la variedad Cubana. En el caso de los Flav, no se observó un efecto significativo de los factores fertilización, variedad y época. Solamente en los FT de las hojas, se observó un efecto representativo de la época a favor del PLL. Los resultados permiten concluir que las concentraciones de los FT se ven afectadas por los niveles de fertilización, la variedad y la época. Los contenidos de Cum presentan variaciones significativas entre los niveles de abonado orgánico y las variedades. Los niveles de Flav no muestran fluctuaciones cuantiosas con ninguna de las variables estudiadas.

Palabras clave

Fenoles, fitoquímica, flavonoides, cumarinas, morera.

Abstract

With the objective to detect the principal polyphenolic groups of mulberry edible biomass and to determine the effect of organic fertilization (0, 100, 300 and 500 kg N/ha/year), variety (Cubana, Indonesia, Tigreada and Acorazonada), and season high rainy and low rainy period in the phenolic profile, a research was carried out using a randomized block design with 4 x 4 x 2 factorial arrangement and five repetitions. Through the use of phytochemical sieving, the presence of seven compound groups was evaluated, later to determine their concentrations. Phenols (FT), flavonoids (Flav) and coumarins (Cum), were detected solely, with slight presence, remarkable or numerous. Significant interactions between the factors fertilization and variety for the FT and the Cum were observed ($P < 0,05$). The maximum levels of FT and Cum in the leaves were 2.86% DM (Tigreada fertilized with 100 kg N/ha/year), and 0.65% DM (Cubana and Indonesia fertilized with 100 kg N/ha/year), respectively. The greater concentrations of FT and Cum in the fresh stems were observed in the Acorazonada variety with 100 kg N/ha/year (1.55% DM) and Indonesia with application of 500 kg N/ha/year (0.60% DM). In the leaves of the varieties, the contents of FT and Cum tended to diminish with the increase of the fertilization levels with the exception of the concentrations of FT in the Cubana variety. In the Flav case, a significant effect of the factors was not observed (fertilization, variety nor season). Only, in the FT of the leaves, a significant effect of season was observed. The concentrations of the FT were affected by the levels of fertilization, the variety and the season. The Cum contents showed significant variations between the levels of organic fertilization and the varieties. The levels of Flav did not show numerous fluctuations with any of the variables studied

Key words

Phenols, phytochemistry, flavonoids, coumarins, mulberry.

Introducción

Existen muchas plantas con buenas características forrajeras; en este sentido, la especie *Morus alba* (L.) sobresale como fuente de forraje por su excelente producción de biomasa, adaptabilidad a diversas condiciones de clima y suelo,

2001]; se tiene en cuenta que estos metabolitos, clásicamente, constituyen factores antinutritivos, o también pueden presentar propiedades beneficiosas como activadores del sistema inmune, aumentar el flujo de nitrógeno al tracto posruminal y controlar, de manera efectiva, las infecciones por parásitos gastrointestinales [García, 2003].

Por tales motivos, este trabajo tuvo como objetivos fundamentales, detectar los grupos mayoritarios de polifenoles presentes en la fracción comestible de *M. alba* y determinar el efecto de los niveles de fertilización orgánica, la variedad y la época en las concentraciones de dichos compuestos.

Materiales y métodos

El experimento se llevó a cabo en la Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey", situada a los 22° 48'7" de latitud Norte y 81° 2' de longitud Oeste, a 19 msnm, en el municipio de Perico, pro-

perennidad ante el corte, contenidos de PC superiores al 20% MS y elevadas concentraciones de minerales [Martín *et al.*, 2002]. Dadas estas propiedades, la especie se proyecta como una alternativa alimentaria con elevado potencial en los sistemas ganaderos actuales.

Después de su inclusión (en América Central) como arbusto forrajero, varios estudios se han llevado a cabo para determinar su valor nutritivo. No obstante, se ha investigado poco sobre las características de los principales metabolitos secundarios presentes en su biomasa, su repercusión en la fisiología digestiva, así como el efecto de los principales factores que pudieran influir en las variaciones de las concentraciones.

Al respecto, estudios sobre las características químicas de la morera, hacen alusión a la gran diversidad de estructuras polifenólicas que contiene la especie [Duke,

vincia de Matanzas, Cuba. Los muestreos se realizaron en dos periodos correspondientes a los años 2002 y 2003, enmarcados entre los meses de noviembre-abril como periodo poco lluvioso (PPLL) y entre mayo-octubre como periodo lluvioso (PLL).

**Características del suelo.* El suelo donde se llevó a cabo la investigación presentó topografía plana; éste se clasifica como Suelo Ferralítico Rojo lixiviado, según Hernández (1999).

**Diseño experimental y tratamientos.* En esta investigación se utilizó un diseño de bloques al azar con arreglo factorial 4 x 4 x 2 y cinco repeticiones. Los factores estudiados fueron:

- Fertilización orgánica con gallinaza equivalente a: 0, 100, 300 y 500 kg N/ha/año

- Variedad: Cubana, Indonesia, Tigreada y Acorazonada
- Época: PPLL y PLL

**Unidad experimental y manejo agronómico.* Las mediciones se realizaron en el tercer y cuarto año de evaluación agronómica de una plantación de morera con 4 años de edad y una densidad de 25,000 plantas/ha. Cada parcela estuvo integrada por 64 plantas, separadas a 0,4 m y 1 m entre los surcos; los cuales se orientaron de Este a Oeste. La fertilización orgánica se aplicó directamente en el tronco de cada planta y el control de malezas se realizó de forma manual, ambos después de cada corte.

Análisis cualitativo

**Muestreo.* El material vegetal de noventa días de edad formado por la fracción comestible (hojas-pecíolos-tallos tiernos) fue recolectado de forma manual a partir de 10 plantas por parcela seleccionadas al azar; luego de ser eliminado el efecto borde de las unidades experimentales, se llevaron de forma inmediata al laboratorio, se pesaron 25g del material fresco, fueron trituradas hasta tamaño homogéneo y, finalmente, maceradas con 250 ml de etanol (98%) durante 48 horas.

**Tamizaje fitoquímico.* A los extractos alcohólicos, provenientes de los diferentes tratamientos, se les aplicó el tamizaje fitoquímico descrito por García [2003]. En esencia, el extracto crudo inicial fue fraccionado mediante la utilización de mezclas de solventes selectivos (cloroformo, éter de petróleo, HCL [1%], cloroformo:etanol [3:2], cloroformo saturado con sulfato de sodio anhidro, H₂O), para la obtención de seis fracciones análogas, a las cuales se les aplicaron las pruebas cualitativas para la detección de cada grupo de compuestos.

**Metabolitos investigados.* Se investigaron siete grupos de metabolitos; éstos fueron: los FT, los taninos que precipitan las proteínas (TPP), las fitoquinonas, los Flav, las proantocianidinas/catequinas (monómeros de taninos condensados [TC]), los cardenólidos de tipo fenólico y las Cum.

Para la descripción de los ensayos se utilizó el sistema de cruces para especificar la presencia o ausencia de los metabolitos en los tratamientos. En todos los análisis se siguieron los criterios: presencia cuantiosa + + +, presencia notable + +, presencia leve + .

Control de reactivos. Previamente, para el control de los reactivos, se utilizaron soluciones de compuestos patrones en cada ensayo, con el fin de comprobar el estado de las soluciones a utilizar (Cuadro 1).

Cuadro 1. Disoluciones utilizadas para el control de los reactivos en el análisis cualitativo.

Grupo de metabolito	Reactivo*	Solución Control*
FT	FeCl ₃ 0%	Fenol 0%
TPP	Calcium 1%	Acido tricitico 0%
Fitoquinonas	Borax 0.5%	Quinal 2%
Flav	Quinone	Quercetin 2%
TC	Resorcinol	D(+)-Catequina 2%
Cardenólidos de tipo fenólico	Kidde	Digitalis 2%
Cum	Benjoil	Cumarina 2%

*Porcentajes expresados en relación masa/volumen FT: fenoles TPP: taninos precipitantes Flav: flavonoides TC: taninos condensados Cum: cumarinas

Análisis cuantitativo

**Muestreo, secado y conservación del material.* El material vegetal, dividido en el

conjunto hoja-pecíolo y tallos tiernos, fue tomado a partir de las muestras iniciales recolectadas para el análisis cualitativo. Éstas fueron secadas a temperatura ambiente, en un local ventilado y oscuro por espacio de 12 días. Posteriormente, fueron molinadas hasta un tamaño de partícula de 1 mm, y se almacenaron en frascos ámbar hasta el momento del análisis.

**Instrumentación y mediciones analíticas.* Las lecturas se llevaron a cabo en un espectrofotómetro U/V ULTROSPEC-2000 de doble haz, con cubetas de cuarzo. La cuantificación de FT se realizó mediante el método de Folin-Ciocalteu descrito por Makkar [2003]. En este procedimiento 0,5g de la muestra fueron extraídos con acetona (70%), para posteriormente, desarrollar color y realizar las lecturas a 720 nanómetros (nm). La concentración de Flav se determinó mediante la metodología de Kostennikova descrita por Gutiérrez *et al.* [2000], en la cual los fenilpropanoides son hidrolizados con calefacción en solución de etanol/H₂SO₄ y cuantificados en la región ultravioleta del espectro (258 nm).

La determinación de las Cum se realizó mediante el protocolo de Quirós descrito por Mochiutti [1995]. Los metabolitos libres fueron extraídos, sucesivamente, con diclorometano y la absorbancia de la solución se leyó a 273 nm.

**Patrones.* Para la obtención de las curvas de calibración de cada grupo de polifenoles, se prepararon soluciones madres a partir de los patrones comerciales siguientes: FT (Ácido tánico, Merck), Flav (Quercetina, BDH) y Cum (4-metil Umbeliferona, BDH).

**Métodos estadísticos.* Para el procesamiento de los datos del análisis cuantitativo se empleó la opción GLM (General Lineal Model) correspondiente al paquete estadístico SPSS, versión 10.0. Fue usada la dócima de comparación múltiple de Student-Newman-Keuls (SNK) y las medias fueron comparadas para P<0,05. A los resultados, provenientes de los ensayos cualitativos, no se le realizó análisis estadístico.

Resultados

La biomasa, que serviría como material vegetal de partida en los tratamientos donde no se fertilizó (parcelas control), fue nula, por lo que se prescindió de las muestras correspondientes para las determinaciones posteriores.

Análisis cualitativo

De los siete grupos de metabolitos fenólicos, en el conjunto hojas-pecíolos-tallos tiernos, se detectaron FT, Flav y Cum; éstos aparecieron en todos los tratamientos. El resto de los compuestos investigados mostraron resultados negativos en todos los casos. La presencia de los FT fue abundante en todas las combinaciones estudiadas, sin variaciones entre los tratamientos.

Las Cum presentaron una mayor variabilidad cualitativa y se encontraron en forma

más cuantiosa en el PLL.

Por su parte, los Flav sólo presentaron variaciones importantes de presencia en el PPLL.

En ese sentido, el Cuadro 2 muestra el comportamiento de los FT, las Cum y los Flav, desde el punto de vista cualitativo, con los factores en estudio.

Cuadro 2. Comportamiento cualitativo de los compuestos fenólicos presentes en la biomasa comestible de *M. alba*.

Familia	Variedad	E_poco					
		PPLL			PLL		
		100*	300*	500*	100*	300*	500*
FT	Cubana	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Indonesia	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Tigreada	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Acorazonada	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Cum	Cubana	++	++	++	+++	+++	++
	Indonesia	++	++	++	+++	+++	++
	Tigreada	++	++	++	+++	+++	++
	Acorazonada	++	++	++	+++	+++	+++
Flav	Cubana	+++	+++	+++	++	++	++
	Indonesia	+++	++	+	++	++	++
	Tigreada	+++	+++	++	++	++	++
	Acorazonada	+++	++	++	++	++	++

FT: fenoles Cum: cumarinas Flav: flavonoides *kg N/ha/año
 PPLL: periodo poco lluvioso PLL: periodo lluvioso.

Análisis cuantitativo

Solamente los FT y las Cum presentaron interacción Fertilización x Variedad significativa ($P < 0,05$). En el caso de los Flav no se observó interacción, de ningún orden, entre los factores evaluados.

*Efecto de los niveles de fertilización y la variedad en los contenidos de FT y Cum

Los niveles máximos de FT, en las hojas y los tallos tiernos, correspondieron a las variedades Tigreada y Acorazonada, fertilizadas con 100 kg N/ha/año, respectivamente. En las hojas, los contenidos de FT más bajos se observaron en la Indonesia y la Aco-

razonada, abonadas con 500 kg N/ha/año, y en los tallos tiernos correspondió con la Acorazonada, con 500 kg N/ha/año.

En las hojas, las variedades Cubana e Indonesia, con la aplicación de 100 kg N/ha/año, presentaron las mayores concentraciones de Cum; mientras que en los tallos tiernos fue la Indonesia fertilizada con 500 kg N/ha/año.

Los niveles más bajos de Cum, en las hojas y los tallos tiernos, correspondieron a la Tigreada con dosis de 300 y 500 kg N/ha/año y a la Cubana, Indonesia y Tigreada, con 300 kg N/ha/año, respectivamente.

En las hojas de las variedades, las tendencias de los niveles de FT y Cum con el aumento de la fertilización fueron homogéneas. En ese sentido, se observó una disminución de las concentraciones con el incremento de las dosis aplicadas al suelo. La variedad Cubana presentó un comportamiento diferente al resto.

En los tallos tiernos, los contenidos de FT presentaron la misma tendencia que en el caso de las hojas, y los niveles más bajos de Cum se observaron con la aplicación de 300 kg N/ha/año en todas las variedades.

El Cuadro 3 muestra el efecto de los grupos Variedad y Fertilización en la concentración de los FT y las Cum.

Cuadro 3. Efecto de los factores variedad y fertilización en el contenido de FT y Cum en *M. alba*.

Factores		Fertilización (kg N/ha)			
Variedad	Fertilización*	FT		Cum	
		Hojas	Tallos	Hojas	Tallos
Colombia	100	2,09 ^a	1,32 ^a	0,65 ^a	0,55 ^a
	300	2,69 ^b	1,35 ^a	0,56 ^b	0,45 ^b
	500	2,22 ^d	1,49 ^b	0,57 ^b	0,49 ^d
Indonesia	100	2,57	1,37 ^a	0,65 ^a	0,57 ^d
	300	2,44	1,26 ^d	0,54 ^a	0,42 ^c
	500	1,82 ^c	1,26 ^d	0,54 ^a	0,60 ^d
Tijuanca	100	2,26	1,42 ^b	0,59 ^b	0,57 ^d
	300	2,77 ^e	1,32 ^a	0,49 ^a	0,49 ^b
	500	2,47 ^d	1,32 ^a	0,46 ^d	0,57 ^d
Araucaria	100	2,62 ^b	1,55 ^b	0,59 ^b	0,54 ^b
	300	2,47 ^d	1,42 ^b	0,54 ^a	0,50 ^d
	500	1,82 ^c	1,12 ^c	0,54 ^a	0,59 ^b
EE±		0,10 ^a	0,06 ^a	0,04 ^a	0,03 ^a

(a,b,c,d,e,f) Valores con superíndices desiguales, en cada columna, difieren estadísticamente mediante la dócima de SNK a $P < 0,05$ *

FT: fenoles Cum: cumarinas *kg N/ha/año EE± error estándar

**Efecto de los niveles de fertilización y la variedad en los contenidos de Flav*

No se observó un efecto significativo de los factores fertilización y variedad en las concentraciones de Flav de las hojas y los tallos tiernos. En ese sentido, el Cuadro 4 muestra los niveles de Flav con las variables en estudio.

Cuadro 4. Efecto de la fertilización y la variedad en el contenido

Factor	Flav Hojas	Flav Tallos
Fertilización*		
100	1,68	0,98
300	1,65	1,02
500	1,68	1,08
EE±	0,12	0,10
Variedad		
Cuba	1,65	0,95
Indora	1,64	1,06
Tigarda	1,64	0,93
Aracantha	1,68	0,98
EE±	0,04	0,14

Flav: flavonoides *kg N/ha/año

EE± error estándar

**Efecto de la época en los contenidos de FT, Cum y Flav*

Solamente en el caso de los FT en las hojas, se observó un efecto significativo entre los periodos del año. La mayor concentración de FT coincidió con el PLL.

El resto de los metabolitos fenólicos, no presentaron variaciones sustanciales con la época. El Cuadro 5 muestra el comportamiento de los grupos de polifenoles con los periodos estacionales.

Cuadro 5. Comportamiento de los compuestos polifenólicos de *M. alba* con el factor época.

Compuesto (% MC)	Época		
	PPLL	PLL	EE±
		Hojas	
FT	2,71 ^a	2,11 ^b	0,36 ⁺
Cum	0,60	0,52	0,10
Flav	1,62	1,54	0,29
		Tallos tiernos	
FT	1,40	1,32	0,26
Cum	0,52	0,55	0,07
Flav	1,12	0,82	0,25

(a,b) Valores con superíndices desiguales, entre épocas, difieren estadísticamente mediante la dócima de SNK a $P < 0,05^*$

FT: fenoles Cum: cumarinas Flav: flavonoides PPLL: periodo poco lluvioso

PLL: periodo lluvioso EE± error estándar

Discusión

La necesidad que tiene la morera de ser fertilizada, es un consenso generalizado al cual han arribado los principales autores que investigan sobre este tema en diferentes partes del mundo.

Esta especie, en su condición de no leguminosa, presenta una gran dependencia a la fertilización química u orgánica cuando su biomasa es usada intensivamente en los sistemas de alimentación. Con relación a esto, en investigaciones realizadas con diferentes grados de fertilidad del suelo, se han obtenido resultados similares a los descritos en este experimento [Boschini *et al.*, 1999; Martín *et al.*, 2002; Benavides, 2002]. Por tales motivos, esta particularidad constituye la mayor limitante de la especie para ser utilizada de manera continua en los sistemas silvo-pastoriles, donde la fertilización (de manera manual) es engorrosa y poco práctica.

Análisis cualitativo

La abundante presencia de metabolitos polifenólicos en especies de morera, cultivadas en diferentes condiciones edafoclimáticas, ha sido señalada también por otros autores en la zona asiática [Chunlian *et al.*, 1999]. En este sentido, algunos de los metabolitos fenólicos presentes en plantas del género *Morus*, constituyen marcadores quimiotaxonómicos importantes, con probadas funciones metabólicas [Marles y Farnsworth, 1995].

Los compuestos polifenólicos se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal formando parte, en mayor o menor cuantía, de todas las plantas vasculares y su

presencia comúnmente ha sido señalada tanto en leguminosas de uso forrajero clásico [Pedraza *et al.*, 1997; Mupangwa *et al.*, 2000], como en especies no convencionales [Galindo *et al.*, 1991].

La mayor abundancia de FT en todos los tratamientos, con respecto a las Cum y los Flav, en algunos casos, se debe a que las Cum y los Flav son fenilpropanoides que contienen, también por definición, grupos hidroxilos (OH) que reaccionan, igualmente, con el reactivo de FeCl_3 (ensayo general para la detección de cualquier FT).

Las mayores variaciones cualitativas se observaron en el caso de los Flav y las Cum, relacionado, evidentemente, con las fluctuaciones de las concentraciones intrínsecas de cada tratamiento y la mayor sensibilidad de los ensayos cualitativos aplicados, comparados con el reactivo férrico (Fe^{3+}).

En ese sentido, una variabilidad marcada, en el caso de los Flav, también ha sido informada por Mengcheng *et al.* [1996], en variedades de morera en China. La presencia de Flav en *M. alba* es ventajosa, fundamentalmente para la alimentación de los animales monogástricos, ya que presentan propiedades antioxidantes, antisenescentes, tienen acción antiparasitaria y presentan una elevada capacidad de prevenir infecciones microbianas en el tracto gastrointestinal [García, 2003].

Asimismo, se ha señalado, en la biomasa comestible de *M. alba*, cantidades apreciables de Flav comunes, tales como Quercetina, Isoquercetina, Quercitrina, Rutina, Rutósidos y Kaenferol [Duke, 2001].

Estos metabolitos secundarios no constituyen factores antinutricionales tampoco en los rumiantes, porque se ha demostrado su degradación cuantitativa a moléculas más simples por la acción de microorganismos ruminales y su posterior eliminación en la orina [García y López, 2004].

Por otra parte, en el marco de la alimentación animal, no se conoce ninguna propiedad beneficiosa de las Cum más comunes presentes en los forrajes. En sentido general, estos fenólicos volátiles son inhibidores del consumo voluntario, provocan alteraciones irreversibles en los sistemas nervioso y cardiovascular, presentan propiedades anticoagulantes, inducen fotosensibilidad y ocasionan trastornos digestivos severos por su elevado potencial tóxico [Ramos *et al.*, 1998]. No obstante, algunos estudios realizados en la morera señalan a las Cum polihidroxiladas en el anillo aromático como el subgrupo mayoritario [Xiangrui y Hongsheng, 2001]; estas diferencias estructurales no le confieren propiedades deletéreas, como sí ocurre en el caso de Cum con radicales en los núcleos lactónicos, típicas en *Gliricidia sepium* y en especies de la familia Rutaceae [Mochiutti, 1995].

De esa manera, la presencia en *M. alba* de Cum con grupos OH adicionales ha sido informada por Marles y Farnsworth [1995], en estudios de actividad biológica en Norteamérica (Esculetina/monohidroxisustituida) y por Ho-Zoo y Won-Chu (2001), en genotipos coreanos (Umbeliferona/dihidroxisustituida).

Con relación a los grupos de fenoles que no se detectaron, la ausencia de proantocianidinas/catequinas y fitoquinonas también ha sido informada por Domínguez *et al.* [2001] en plantaciones cubanas, lo que corrobora la inexistencia evidente de TC mediante las pruebas con el reactivo de Roseheim.

La ausencia de TPP coincide con los resultados de pruebas realizadas por Makkar y Becker [1998], al emplear Albúmina de suero bovino como proteína precipitante.

Estos resultados no constituyen un hecho totalmente positivo —para el caso de la alimentación de poligástricos— ya que los metabolitos polifenólicos más comunes (taninos), en determinados rangos de concentración, favorecen el flujo de proteína (*by pass*) al compartimento posruminal, mediante acomplejamiento macromoleculares a pH neutro. Este fenómeno reversible, ocasionalmente, se traduce en una mayor respuesta animal en pequeños y grandes rumiantes.

No obstante, cuando las concentraciones sobrepasan el límite crítico señalado por algunos autores (4-6% MS), afectan el buen funcionamiento de los procesos digestivos e interfieren en la asimilación de otros nutrimentos esenciales [Kumar, 1992].

Por otra parte, la inexistencia de cardenólidos y fitoquinonas es muy positiva, ya que ocasionan trastornos nutricionales, baja palatabilidad de los forrajes, parálisis o aceleración del ritmo cardíaco y desbalance electroquímico en las reacciones de oxidación reducción de los sistemas enzimáticos [García, 2004].

Análisis cuantitativo

**Efecto de los niveles de fertilización y la variedad en los contenidos de FT y Cum*

En el caso de los FT y las Cum, el análisis estadístico mostró una interacción significativa entre los factores variedad y fertilización; lo que demuestra la fuerte influencia de los patrones genotípicos con el metabolismo y transporte de las moléculas nitrogenadas en las especies de morera.

Las variaciones homogéneas en los niveles de FT y Cum, fundamentalmente en las hojas, con el incremento de los niveles de fertilización se relacionan directamente con la biosíntesis de las entidades fenólicas y su dependencia clásica con las moléculas que forman parte en las reacciones anabólicas del nitrógeno en la planta [Valdés y Balbín, 2000].

En este sentido, basado en la teoría del balance carbono/nitrógeno (C/N), se ha demostrado que las variaciones en las concentraciones de los fenólidos más comunes (fenoles simples, Cum y taninos), dependen solamente de factores químicos imprescindibles en la biosíntesis de sus estructuras [Azcón-Bieto y Talón, 2000].

Al respecto, cuando aumenta la disponibilidad de nitrógeno en el suelo, y por ende, la adsorción radicular, la creciente necesidad de biotransformación metabólica hace que las rutas del metabolismo primario movilicen las cadenas carbonadas básicas (precursores de algunos grupos de compuestos fenólicos), los carbohidratos solubles y una parte del

agua remanente de la célula para la transformación de moléculas nitrogenadas sencillas a otras de mayor complejidad. Por tales motivos, quizá las concentraciones de FT y Cum hayan disminuido con el aumento del nitrógeno foliar.

La disminución en los contenidos de metabolitos polifenólicos con el aumento de la fertilización, específicamente FT y TC, también ha sido observada por Caygil y Mueller-Harvey [1999], en especies de leguminosas templadas del género *Lotus*, resultados que también son consistentes con esta postulación.

No obstante, este patrón no se observa en todas las especies que contienen apreciables fracciones fenólicas, ni tampoco con todas las dosis y tipos de fertilizantes; por lo que, sin duda, los mecanismos por los cuales ocurre la disminución en las cantidades de fenoles, no son comunes en todas las condiciones.

Estas inconsistencias de la teoría C/N, también se manifiesta por el hecho de que los niveles de Cum en los tallos tiernos y los Flav no hayan presentado dicho comportamiento. Con relación a la tendencia de los contenidos de fenoles con el incremento del abonado orgánico, la variedad Cubana presentó una tendencia diferente en comparación con el resto. Es evidente que dicha atipicidad se encuentra relacionada con las particularidades genotípicas de la variedad, ya que ésta no proviene del programa de mejoramiento genético del resto de las variedades, sino de la región africana (Angola), en donde las condiciones edafoclimáticas son diferentes y pudieron influir, de manera determinante, en sus características fitoquímicas.

A su vez, los contenidos de FT coinciden con los obtenidos en *M. alba* por Maldonado *et al.* [2000], y las concentraciones de las hojas son superiores a las informadas por Singh y Makkar [2002], y Datta *et al.* [2002], en plantas de morera cultivadas en varias regiones de la India.

El conjunto de resultados, recopilados por diferentes autores, en la cuantificación de FT por un método común de análisis en *M. alba*, denota variaciones probablemente ocasionadas por las diferentes variedades y ecotipos estudiados, el estado fisiológico y de conservación del material vegetal, las variaciones climáticas, los diferentes tipos de suelo y las ubicaciones geográficas de cada experimento.

Al compararla con otras especies forrajeras de interés, los resultados sitúan a la morera como una planta cuyos contenidos de FT son comparables con los cuantificados en especies de leguminosas tropicales, tales como: *Albizia lebeck*, *Cratylia argentea*, *Arachi pintoi* y *Centrocema* sp. [Valerio, 1994].

En el caso de las Cum, los resultados cuantitativos de este experimento, son similares a las obtenidos por Urriola [1994], el cual evaluó los niveles de estos compuestos en el follaje de cinco ecotipos de *G. sepium* de Costa Rica (0,55-0,66% MS), mediante el mismo método analítico empleado en esta investigación. Además, coincide con el rango de concentraciones reportado por Mochiutti (1995), cuando la arbórea fue sometida a pastoreo.

**Efecto de los niveles de fertilización y la variedad en los contenidos de Flav*

El contenido de Flav en las hojas y los tallos tiernos no mostró diferencias significativas con los niveles crecientes de nitrógeno ni entre las variedades estudiadas; resultados similares han sido obtenidos por García y Ojeda [2004], en la cuantificación de estos compuestos en un sistema intensivo de corte y acarreo, en dos periodos de evaluación.

La estabilidad en los niveles de la fracción de Flav con factores externos y entre variedades, quizá esté relacionada con la posibilidad de que estos polifenoles constituyan marcadores quimiotaxonómicos específicos y sus características cuantitativas sean invariantes en los miembros de la familia Moraceae [De Marcano y Hasegawa, 1991].

Los contenidos de Flav, en los cuatro tipos de morera evaluados, son superiores a los informados por Rusong *et al.* [2000], en la variedad “Lungiao” (1,17 %MS), e inferiores al ecotipo “Tong Xiang Ping” (2,66 %MS), comúnmente empleadas como forrajes en Asia. La concentración de Flav en los tallos tiernos coincide con la informado por Zhishen *et al.* [1999], al estudiar estos metabolitos en cuatro especies del género *Morus*.

**Efecto de la época en los contenidos de FT, Cum y Flav*

El hecho que únicamente los FT hayan presentado variaciones significativas con la época, quizá también esté relacionado con la disponibilidad del nitrógeno en vía de ser adsorbido por la planta.

En investigaciones relacionadas con la fisiología de la morera, se ha demostrado que en el periodo de estrés hídrico (PPLL), la actividad de su metabolismo primario disminuye considerablemente [Ramanjulu *et al.*, 1998; Ramanjulu y Sudhakar, 2000]; quizá por ese motivo los compuestos precursores de fenoles, relacionados, a su vez, con el metabolismo del nitrógeno, hayan podido ser cuantitativamente biotransformados en cadenas polifenólicas en la ruta del metabolismo secundario.

Consideraciones finales

Analizando el efecto de las variables en estudio, en el caso de los FT, todos los factores influyeron de forma determinante. En las Cum, el periodo del año no creó diferencias marcadas, mientras que la combinación de los factores variedad y fertilización propiciaron variaciones cuantiosas. En tanto, los Flav no presentaron variaciones sustanciales con los niveles de fertilización, la variedad ni la época.

Por otra parte, la concentración de los FT fue inferior al 4,2% MS, por lo que no debe existir una repercusión negativa en la alimentación de los rumiantes; ya que, investigaciones recientes, mediante estudios de actividad biológica, han señalado que niveles inferiores no causan problemas digestivos ni acción detrimental a corto y largo plazo [Makkar, 2003].

Por el elevado contenido de Flav (compuestos beneficiosos), los relativamente bajos

niveles de Cum y la ausencia de polifenoles estructuralmente complejos (TPP y TC), las variedades evaluadas pueden también ser utilizadas sin dificultad en la alimentación de monogástricos; aunque se deben realizar estudios de profundización sobre los niveles de otros metabolitos presentes en la biomasa, tales como alcaloides, lectinas, mucílagos y terpenoides, para poder aseverar con total solidez este planteamiento.

Conclusiones

- Las concentraciones de los FT presentes en *M. alba* se ven afectadas significativamente por las dosis de fertilización orgánica, la variedad y la época del año. Los mayores niveles, en las hojas y los tallos tiernos, corresponden a las variedades Tigreada y Acorazonada abonadas con 100 kg N/ha/año, respectivamente.
- En las hojas y los tallos tiernos de la morera, los factores fertilización y variedad influyen, marcadamente, en los contenidos de Cum. Las máximas concentraciones en las hojas se observan en las variedades Cubana e Indonesia, fertilizadas con 100 kg N/ha/año; mientras que en los tallos tiernos, la Indonesia abonada con 500 kg N/ha/año, presenta el valor más elevado.
- Los niveles de Flav en la biomasa comestible de *M. alba* fluctúan entre 0,93-1,68% MS y ninguno de los factores en estudio presenta un efecto marcado en la variación de sus concentraciones.

Literatura citada

- Azcón-Bieto, J. y Talón, M. 2000. *Fundamentos de fisiología vegetal*. Interamericana Mc. Graw-Hill. 555 p.
- Benavides, J.E. 2002. *Utilization of mulberry in animal production systems*. In: Mulberry for animal production. Animal Production and Health Paper No. 147. FAO, Rome. 291 p.
- Boschini, C.; Dormond, H. y Castro, A. 1999. *Respuesta de la morera (Morus alba) a la fertilización nitrogenada, dos distancias de siembra y a la defoliación*. Agronomía Mesoamericana. 10 (2):7.
- Caygil, J.C. y Mueller-Harvey, I. 1999. *Tannins: Their nature and biological significance*. In: Secondary plant products antinutritional and beneficial actions in animal feeding. Nottingham University Press. Nottingham, U.K. p. 17.
- Chunlian, L.; Donsheng, L. y Erjun, L. 1999. *The content polyphenol and anthelmintic material in different mulberry leaves*. J. Anhui Agric. Sci. 27 (4):356.
- Datta, R.K.; Sarka, A.; Rama Mohan Rao, P. & Singhvi, W.R. 2002. *Utilization of mulberry as animal fodder in India*. In: Animal Production and Health Paper No. 147. FAO, Rome. 183 p.
- De Marcano, D. y Hasegawa, M. 1991. *Fitoquímica orgánica*. Universidad Central de Venezuela. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico, Caracas, Venezuela, 451 p.
- Domínguez, A.; Telles, E. y Revilla, J. 2001. *Comportamiento inicial de dos especies de morera en fase de*

- establecimiento. *Pastos y Forrajes* 24 (2):147.
- Duke, J.A. 2001. *Morus alba* (L.). <http://newcrop.hort.purdue.edu/newcrop/duke-energy>. (Consultada el 3 de diciembre de 2001).
- Galindo, W.; Rosales, M., Murgueitio, E. y Larrahondo, J. 1989. *Sustancias antinutricionales en las hojas de árboles forrajeros*. Livestock Res. Rural Develop. 1 (1):36.
- García, D. E. 2003. *Evaluación de los principales factores que influyen en la composición fitoquímica de Morus alba* (L.). Tesis presentada en opción al título de Master en Pastos y Forrajes, EEPF "Indio Hatuey", Cuba. 97 p.
- García, D. E. 2004. *Principales factores antinutricionales de las leguminosas forrajeras y sus formas de cuantificación*. *Pastos y Forrajes*. 27(2):101.
- García, D. E y López, O. 2004. *Los fitoestrógenos: ¿mito o amenaza para la alimentación animal en el trópico?* *Pastos y Forrajes* 27 (4):375.
- García, D.E. y Ojeda, F. 2004. *Evaluación de los principales factores que influyen en la composición fitoquímica de Morus alba* (L.). III. Flavonoides totales. *Pastos y Forrajes* 27 (3):267.
- Gutiérrez, Y. I.; Miranda, M.; Varona, N. y Rodríguez, A.T. 2000. *Validación de 2 métodos espectrofotométricos para la cuantificación de taninos y flavonoides (Quercetina) en Psidium guajava* (L.). *Rev. Cubana Farm.* 34 (1):50-55.
- Hernández, A. 1999. *Clasificación genérica de los suelos de Cuba*. Instituto de Suelos. Ministerio de la Agricultura. AGRINFOR. Ciudad de La Habana, Cuba. 64 p.
- Ho-Zoo, L. y Won-Chu, L. 2001. *Utilization of mulberry leaf as animal feed: feasibility in Korea*. In: *Mulberry for animal feeding in China*. (Eds. Jian, L.; Yuyin, C.; Sánchez, M. & Xingmeng, L.). Hangzhou, China. 75 p.
- Kumar, R. 1992. *Antinutritional factors. The potential risks of toxicity and the methods to alleviate them*. In: *Legumes trees and other fodder trees as protein source for livestock*. (Eds. Speedy, A. W. & Pugliese, P.L.). FAO. Animal Production and Health Paper. No. 102. p. 145.
- Makkar, H.P.S. 2003. *Quantification of tannins in tree and shrub foliage. A laboratory manual*. Klumer Academic Publishers, Netherlands. 102 p.
- Makkar, H.P.S. y Becker, K. 1998. *Do tannins in leaves of trees and shrubs from Africa and Himalayan regions differ in level and activity?* *Agroforestry*. 40 (1):59.
- Maldonado, M.; Grande, D.; Aranda, E. y Pérez-Gil, F. 2000. *Evaluación de árboles forrajeros tropicales para la alimentación de rumiantes en Tabasco, México*. En: *Memorias IV Taller Internacional Silvo-pastoril "Los árboles y arbustos en la ganadería tropical"*. EEPF "Indio Hatuey". Matanzas, Cuba. p. 135.
- Marles, R.J. y Farnsworth, N.R. 1995. *Antidiabetic plants and their active constituents*. *Phytomedicine*. 2 (2):137.
- Martín, G.; Reyes, F.; Hernández, I. y Milera, M. 2002. *Agronomic studies with mulberry in Cuba*. In: *Mulberry for animal production*. Animal Production and Health Paper No. 147. FAO, Rome. p. 103.
- Mengcheng, T.; Zhishen, J. y Xiangrui, Z. 1996. *Study on flavonoid content in mulberry leaves*. *J. Zhejiang Agric. Univ.* 22 (4):394.
- Mochiutti, S. 1995. *Comportamiento agronómico y calidad nutritiva de Gliricidia sepium* (Jacq.) Walp. bajo defoliación manual y pastoreo en el trópico húmedo. Tesis Mag. Sc. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 144 p.
- Mupangwa, J.F.; Acamovic, T.; Topps, I.; Ngongoni, N.T. y Hamudikuwanda, H. 2000. *Content of soluble and bound condensed tannins of three tropical herbaceous forage legumes*. *Anim. Feed Sci. Tech.* 83:139.
- Pedraza, R.M.; García, A. y Pacheco, R. 1997. *Nutrientes y factores antinutritivos en el follaje de Leucaena leucocephala cv. Perú a diferentes edades de rebrote*. *Pastos y Forrajes*. 20:187.
- Ramanjulu, S. y Sudhakar, C. 2000. *Proline metabolism during dehydration in two mulberry genotypes with*

- contrasting drought tolerance. *J. Plant Physiology*. 157 (1):81.
- Ramanjulu, S.; Screenivasalu, N.; Kumar, S.G. y Sudhakar, C. 1998. *Photosynthetic characteristics in mulberry during water stress and rewatering*. *Photosynthetica*. 35 (2):259.
- Ramos, G.; Frutos, P.; Giráldez, F.J. y Mantecón, A.R. 1998. Los compuestos secundarios de las plantas en la nutrición de los herbívoros. *Arch. Zootec*. 47 (180):597.
- Rusong, Z.; Jinyi, X. y Yiping, Y. 2000. *Effect on the content of flavonol in mulberry leaf by different growing area*. *Chinese J. Modern Appl. Pharm.* 17 (1):11.
- Singh, B. y Makkar, H.P.S. 2002. *The potential of mulberry foliage as a feed supplement in India*. In: *Animal Production and Health Paper No. 147*. FAO, Rome. p. 139.
- Urriola, E.D.M. 1994. *Efecto de la edad de rebrote sobre la composición química y digestibilidad in vitro de cinco procedencias de Gliricidia sepium (Jacq) y su aceptabilidad por cabras adultas*. Tesis Mag. Sc. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 92 p.
- Zhishen, J.; Mencheng, T. y Jianming, W. 1999. *The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals*. *Food Chem*. 64 (4):555.
- Valdés, R. y Balbín, M.I. 2000. *Curso de fisiología y bioquímica vegetal*. (Ed. UNACH), La Habana. Cuba. 89 p.
- Valerio, S. 1994. *Contenido de taninos y digestibilidad in vitro de algunos forrajes tropicales*. *Agroforestería en las Américas*. Julio-Septiembre:10.
- Xiangrui, Z. y Hongsheng, L. 2001. *Composition and medical value of mulberry leaves*. In: *Mulberry for animal feeding in China*. (Eds. Jian, L.; Yuyin, C.; Sánchez, M. & Xingmeng, L.). Hangzhou, China. 75 p.

Recibido: Diciembre 1, 2004.

Aceptado: Julio 22, 2005.

Efecto de los niveles de fertilización, la variedad y la época en los contenidos de saponinas esteroidales en morera (*Morus alba* L.)

Fertilization levels, variety and seasonal effects of steroidal saponin contents in mulberry (*Morus alba* L.)

García, D. E.;^{1*} Medina, M. G.² y Ojeda, F.¹

¹Laboratorio de Evaluación de Alimentos, Estación Experimental de Pastos y Forrajes “Indio Hatuey”, Central España Republicana, Matanzas, Cuba, CP 44280

²Instituto de Investigaciones Agrícolas (INIA), Estado Trujillo, Venezuela

*Correspondencia: danny.garcia@indio.atenas.inf.cu

Resumen

Con el objetivo de determinar el efecto de la fertilización orgánica (0, 100, 300 y 500 kg N/ha/año), la variedad (Cubana, Indonesia, Tigreada y Acorazonada) y la época (periodo lluvioso y poco lluvioso) en el contenido total de saponinas esteroidales (SE) de la fracción comestible de la morera, se llevó a cabo una investigación con un diseño de bloques al azar con arreglo factorial 4 x 4 x 2 (n=5). No se observaron interacciones significativas de ningún orden entre los factores en estudio ($P < 0,05$) y, tanto en las hojas como en los tallos tiernos, los niveles de abonado no afectaron significativamente las concentraciones. La variedad Acorazonada presentó el máximo contenido de SE en las hojas (11,57^a mg/gMS), mientras que la Indonesia, Cubana y Tigreada mostraron niveles más bajos (11,00^{ab}; 10,65^b y 9,30^c mg/gMS, respectivamente). En los tallos tiernos no se observaron diferencias significativas entre las variedades. La mayor concentración de SE (en las hojas) se observó en el periodo lluvioso (14,38 mg/gMS), mientras que en los tallos tiernos el nivel más elevado correspondió con el periodo poco lluvioso (2,52 mg/gMS). Los resultados permiten concluir que, entre los factores evaluados en las hojas, la época y la variedad, mostraron la mayor importancia. En los tallos tiernos sólo la época ocasionó variaciones marcadas. En ambas partes de la planta, los niveles de fertilización no produjeron efecto en las concentraciones de las SE.

Palabras clave

Esteroides, fitoquímica, hormonas reguladoras, metabolitos.

Abstract

With the objective to determine the effects of the organic fertilization (0, 100, 300 and 500 kg N/ha/year), the variety (Cubana, Indonesia, Tigreada and Acorazonada) and the season (rainy



Árbol de cuastecomate

Nombre común: Cuastecomate, cuastecomate, tecomate, jícaro

Nombre científico: *Crecentia alata*

Usos: el fruto se utiliza como alimento para ganado y la madera se emplea para hacer fustes

Municipio: Colima

Estado: Colima

País: México

Fotografía: José Manuel Palma García

and little rainy period) in the esteroidal saponins (SE) contents of mulberry, a research was carried out using a randomized block design with 4 x 4 x 2 factorial arrangement (n=5). Significant interactions of any order between the factors were not observed ($P < 0,05$) and, as much in the leaves as in the stems, the fertilization levels did not affect the concentrations significantly. The variety Acorazonada showed the maximum content in the leaves (11,57^a mg/gDM) whereas Indonesia, Cubana and Tigreada showed lower levels (11,00^{ab}; 10,65^b and 9,30^c mg/gDM, respectively). The greater concentration in the leaves were observed in rainy period (14,38 mg/gDM); whereas in the fresh stems the highest level corresponded with the little rainy period (2.52 mg/gDM). The results allow concluding that, between the factors evaluated in the leaves, the season and the variety showed the greater importance. In fresh stems the season factor caused noticeable variations. In both parts of the plant, the fertilization levels did not produce effect in SE concentrations.

Key words

Steroids, phytochemistry, hormones, metabolites.

Introducción

La morera (*Morus alba* L.), dentro de un numeroso grupo de plantas, se distingue por presentar una rápida recuperación ante la poda, brotes abundantes y rápido desarrollo. Por tales motivos, en la última década, se han llevado a cabo numerosas investigaciones para conocer con profundidad la composición química de la especie, debido a su uso extensivo como forraje en países de América Central.

Estas particularidades se deben, en buena medida, a los esteroides reguladores del crecimiento, que, en su forma glicosilada, constituyen saponinas esteroidales (SE), las cuales presentan una elevada distribución en las especies del género [Ashok *et al.*, 2000].

En dependencia de las concentraciones y las estructuras químicas específicas, los compuestos saponínicos pueden constituir

nómico, no han sido realizadas. Por tales motivos, la investigación tuvo como objetivo fundamental determinar el efecto de los niveles de fertilización orgánica, la variedad y la época en el contenido de SE presentes en la biomasa comestible de la morera.

Materiales y métodos

Ubicación y características del área

El experimento se llevó a cabo en la Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey", situada a los 22° 48'7" de latitud Norte y 81° 2' de longitud Oeste, a 19 msnm, en el municipio de Perico, provincia de Matanzas, Cuba. Los muestreos se realizaron en dos periodos correspondientes a los años 2002 y 2003, enmarcados entre los meses de enero-abril como periodo poco lluvioso (PPLL) y mayo-septiembre, como periodo lluvioso (PLL). El suelo donde se

factores antinutricionales en rumiantes y monogástricos, por conferirles a los forrajes un sabor amargo, provocar espumas consistentes e interferir en la absorción de los alimentos [Kumar, 1992]. No obstante, también pueden producir efectos positivos en el metabolismo digestivo, al acomplejar otros metabolitos secundarios con características tóxicas [Makkar *et al.*, 1995].

En condiciones tropicales, la caracterización de las SE presentes en la biomasa comestible de *M. alba*, la determinación de su potencial anti o pro nutricionales, así como las variaciones asociadas con factores ambientales, genéticos y de manejo agro-

llevó a cabo la investigación presentó una topografía plana y se clasifica como Suelo Ferralítico Rojo lixiviado, según Hernández [1999].

Diseño experimental, factores y niveles

En esta investigación se utilizó un diseño de bloques al azar con arreglo factorial 4 x 4 x 2 con cinco repeticiones. Los factores estudiados fueron:

- Fertilización orgánica (gallinaza) equivalente a: 0, 100, 300 y 500 kg N/ha/año
- Variedad: Cubana, Indonesia, Tigreada y Acorazonada
- Época (PPLL y PLL)

Manejo agronómico de las unidades experimentales

Las mediciones se realizaron en el tercer año de evaluación agronómica de una plantación de morera con 4 años de edad y una densidad de 25,000 plantas/ha.

- El experimento se llevó a cabo en un área que abarcó 108 parcelas de 7 x 3 m, sin separación entre ellas y 12 parcelas control.
- Cada parcela estuvo integrada por 64 plantas, separadas a 0.4 m y 1 m entre los surcos, los cuales se orientaron de Este a Oeste.
- El corte de cada planta se realizó de manera manual (con tijera de poda), a la altura fija de 0.5 m sobre el nivel del suelo.
- La fertilización orgánica se aplicó directamente en el tronco de cada planta y el control de malezas se realizó de forma manual, ambos después de cada corte.

Muestreo, mediciones analíticas y procesamiento de datos

La biomasa de 90 días de edad, dividida en hojas-pecíolos y tallos tiernos, fue recolectada de forma manual a partir de 10 plantas por parcela seleccionadas al azar, luego de ser eliminado el efecto borde de las unidades experimentales.

Las muestras se secaron a temperatura ambiente, en un local ventilado y oscuro por espacio de 12 días. Posteriormente, fueron molinadas hasta un tamaño de partícula de 1 mm, y se almacenaron en frascos ámbar hasta el momento del análisis.

La cuantificación de las SE se realizó mediante el método de Liebermann y Buchard descrito por Galindo *et al.* (1989), utilizando colesterol como patrón en las determinaciones y éter de petróleo como solvente de extracción.

Para el procesamiento de los datos se utilizó un análisis factorial, para lo cual se empleó la opción GLM (General Linear Model), correspondiente al paquete estadístico SPSS versión 10.0. Fue usada la dócima de comparación múltiple de Student-Newman-Keuls (SNK) y las medias fueron comparadas para $P < 0,05$.

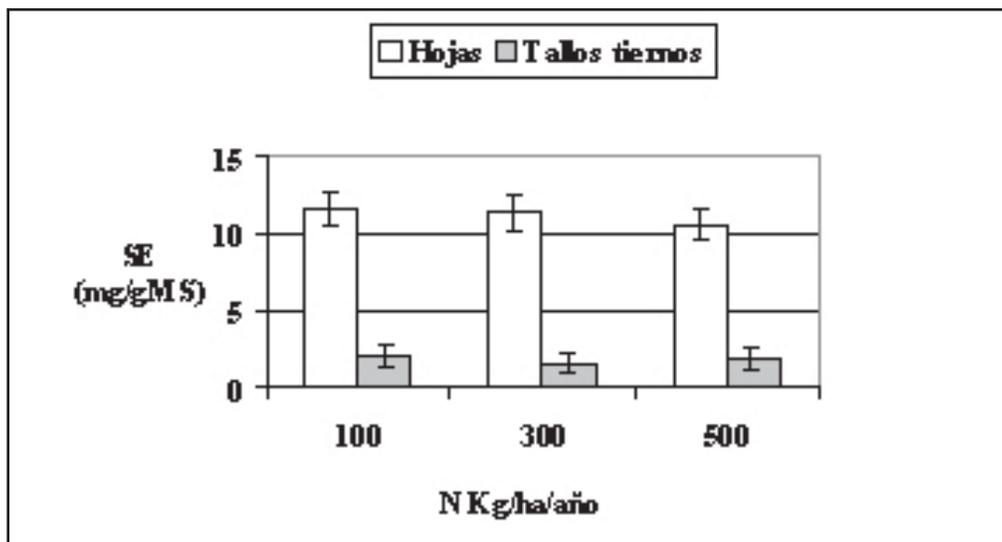
Resultados

Se debe señalar que las parcelas no fertilizadas carecieron de biomasa comestible para llevar a cabo la evaluación. Este comportamiento fue común en las dos épocas y en todas las variedades estudiadas. Por otra parte, los niveles de SE, en ninguno de los casos, presentaron interacciones significativas (dobles y triples) para $P < 0,05$.

Efecto de los niveles de fertilización orgánica en los contenidos de SE de las hojas y los tallos tiernos

La Gráfica 1 muestra el comportamiento de las SE con los niveles nitrogenados aplicados al suelo. Tanto en las hojas como en los tallos tiernos no se observó efecto significativo de los niveles de fertilización ($P < 0,05$).

Gráfica 1. Comportamiento de las SE con los niveles de fertilización orgánica en *M. alba*. SE: saponinas esteroidales.

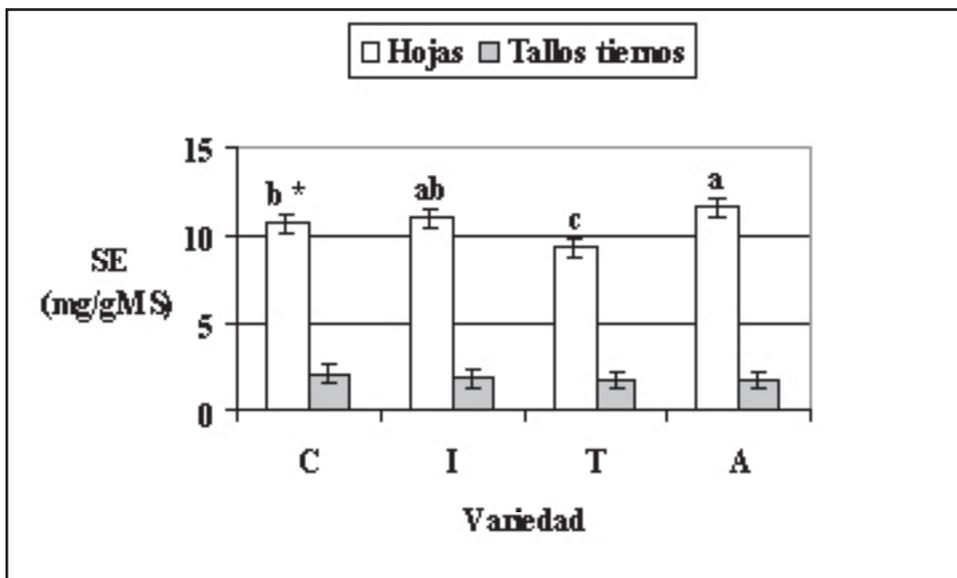


Efecto de la variedad en los contenidos de SE de las hojas y los tallos tiernos

En las hojas, los máximos niveles de SE, se encontraron en las variedades Acorazonada e Indonesia; la Cubana presentó una concentración intermedia (sin diferencias estadísticas con la anterior) y la más baja correspondió a la Tigreada.

En los tallos tiernos no se encontraron diferencias significativas entre ninguna de las variedades ($P < 0,05$). En este sentido, la Gráfica 2 muestra el comportamiento de las SE con el factor variedad.

Gráfica 2. Niveles de SE en cuatro variedades de *M. alba*.

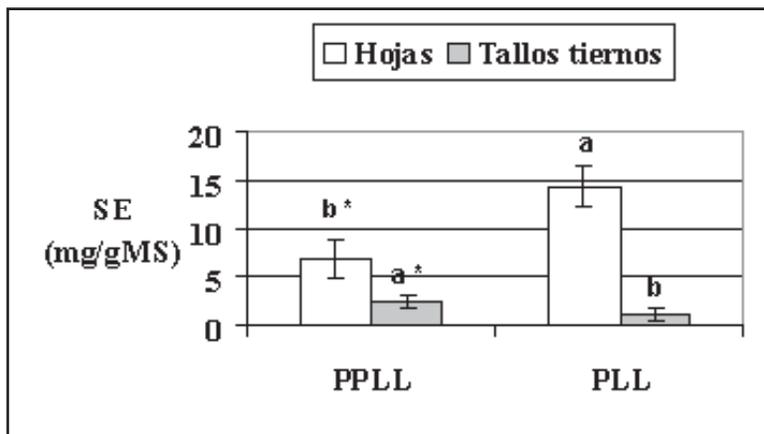


(a,b,c) Valores con superíndices desiguales difieren estadísticamente mediante la dócima de SNK a $P < 0,05$ *
SE: saponinas esteroidales C: Cubana I: Indonesia T: Tigreada A: Acorazonada

Efecto de la época en los contenidos de SE de las hojas y los tallos tiernos

La época proporcionó diferencias cuantitativas en los niveles de SE, tanto en las hojas como en los tallos tiernos. La mayor concentración en las hojas se observó en el PLL, mientras que un efecto contrario, con relación a la época, se observó en los tallos tiernos. La Gráfica 3 muestra el comportamiento de las SE con el factor época.

Gráfica 3. Efecto época en los contenidos de SE en *M. alba*



(a,b) Valores con superíndices desiguales entre periodos difieren estadísticamente mediante la dócima de SNK a $P < 0,05$ * SE: saponinas esteroidales PPLL: periodo poco lluvioso PLL: periodo lluvioso

Discusión

Que las variedades de morera sin fertilizar, en las condiciones experimentales descritas con anterioridad, no hayan producido follaje con cortes cada 90 días, demuestra las características particularmente extractivas que tiene la especie y su dependencia a las fuentes de nutrientes minerales y de materia orgánica; estos criterios coinciden con los resultados de evaluaciones agronómicas, con niveles crecientes de fertilización, donde se han demostrado incrementos cuantiosos en la producción de biomasa y en algunos indicadores de su calidad nutritiva [Benavides, 2002].

Efecto de los niveles de fertilización orgánica

Las pocas variaciones en los niveles de SE con el incremento de la fertilización, quizá se relacione con el hecho de que la síntesis de los esteroides en algunas especies, es

independiente de las necesidades de nitrógeno de la planta, así como de su disponibilidad en el suelo [Valdés y Balbín, 2000].

En este sentido, se ha demostrado que las variaciones en las concentraciones de los metabolitos secundarios solamente dependen de factores químicos específicos que forman parte de los procesos enzimáticos a nivel celular [Azcón-Bieto y Talón, 2000]. Al respecto, muchas investigaciones relacionadas con la biosíntesis de SE (isoprenoides glicosilados) en el reino vegetal, señalan al ácido mevalónico como principal precursor de sus estructuras. Este compuesto, a nivel celular, se forma por condensación de tres unidades de ácido acético y mediante transformaciones en cadena, genera las estructuras básicas de los triterpenos; reacciones que en la planta sólo dependen de los niveles energéticos, los esqueletos carbonados básicos, la concentración de fósforo (P) y los equivalentes de reducción [de Marcano y Hasegawa, 1991]. Por tales motivos, quizá en *M. alba*, la síntesis de los SE no dependan, como en otras especies, de los niveles de nitrógeno aplicados al suelo y, por ende, de su concentración foliar.

Efecto de la variedad

Los contenidos de SE, en las hojas de las variedades, fueron muy variables, lo que demuestra el posible dinamismo de transporte, síntesis y/o degradación de estos compuestos como activadores del crecimiento vegetal y las diferencias específicas en los patrones isoenzimáticos y la actividad del metabolismo secundario de cada variedad [Chappell *et al.*, 1991].

Es evidente que dichas variaciones se encuentren asociadas con las particularidades genotípicas, ya que las variedades Indonesia, Tigreada y Acorazonada, proceden de programas independientes de mejoramientos genéticos de la sericultura y, fenotípicamente, también presentan características muy diferenciadas.

Adicionalmente, las mismas variedades también muestran concentraciones diferentes de otros compuestos, tales como los polifenoles, las cumarinas y los carbohidratos solubles [García, 2003].

En sentido comparativo, los contenidos de SE cuantificados en estas plantas denotan resultados superiores al compararlas con las arbóreas forrajeras *Trichantera gigantea*, *Inga spectabilis* y *Gliricidia sepium*, investigadas por Galindo *et al.* [1989].

Con relación a los niveles de SE en los tallos tiernos de las variedades, las concentraciones encontradas fueron mucho menores que en las hojas. Este comportamiento se debe, probablemente, a que las SE en los tallos se sintetizan en menor cuantía porque quizá no presenten funciones directas como activadores del crecimiento vegetal [Chappell, 1995].

Por otra parte, las diferencias numéricas encontradas entre los niveles de SE de las hojas y los tallos en morera, apoyan los resultados obtenidos por numerosos autores sobre las diferencias que existen entre las concentraciones de los compuestos primarios

(grasa, proteínas y sacáridos) y los metabolitos secundarios, entre las partes de la planta [Boschini, 2002].

Asimismo, la cantidad de SE, en los tallos tiernos de las variedades, son superiores a las obtenidas por Mengzhao [1989], quien reportó contenidos de 0,03 y 0,04 mg/gMS de glicósidos de Estigmasterol y β -Sitosterol, respectivamente.

Efecto época

En investigaciones realizadas en morera, se ha demostrado que en el PLL, las concentraciones de carbohidratos solubles son superiores a las del PPLL [González *et al.*, 2002]. Estos niveles energéticos condicionan una mayor actividad y metabolismo de los compuestos reguladores del crecimiento, que, a su vez, se encuentran estrechamente correlacionados con la activación y la síntesis de las SE.

Por tales motivos, la duplicación de las concentraciones de SE en el PLL, con respecto al PPLL, posiblemente se encuentra debido al aumento de la actividad y la síntesis hormonal en las hojas, por el mayor protagonismo que tienen los esteroides en el metabolismo, cuando el crecimiento vegetativo es más rápido [Chappell, 1995].

En ese sentido, las condiciones climáticas favorables en el PLL proporcionaron una mayor disponibilidad de nutrientes, lo que trajo consigo la aceleración del crecimiento. Un aumento significativo en el desarrollo de la región aérea de *M. alba* en el PLL ha sido observado, en las mismas condiciones experimentales, mediante mediciones de respuesta al corte [García, 2003].

Por otra parte, el comportamiento inverso de las concentraciones de SE en los tallos tiernos con relación a la época, quizá se deba a que las saponinas se sintetizan, específicamente, en mayor cuantía en las hojas, o sean transportadas desde los tallos tiernos hacia éstas en el PLL.

El nivel máximo de SE cuantificado en este experimento fue de 14,38 mg/gMS, valor que dista numéricamente de las concentraciones encontradas en géneros de leguminosas forrajeras, tales como *Albizia* y *Cassia*, donde, empíricamente, se ha demostrado que causan disminución en el consumo voluntario y problemas digestivos severos en rumiantes [García, 2004].

Los resultados de esta investigación señalan que, debido al contenido de SE encontrado, este grupo de metabolitos no debe constituir un factor antinutricional en la especie, independientemente de que, en nuestras condiciones, las concentraciones hayan sido superiores a las informadas en la sericultura [Duke, 2001], e inferiores al límite crítico en que una saponina causa efectos adversos (39 mg/g MS), reportado por Makkar *et al.* [1997].

Por otra parte, las saponinas presentes en la fracción comestible de la morera son de tipo esterooidal y no triterpénicas [García *et al.*, 2002]; estas últimas se caracterizan por

tener los mayores índices de toxicidad en la alimentación animal. Por tales motivos, desde el punto de vista químico-estructural, las saponinas de *M. alba* no presentan potencial deletéreo para rumiantes y monogástricos.

Conclusiones

- Tanto en las hojas como en los tallos tiernos, la fertilización orgánica con gallinaza en dosis equivalentes a 100, 300 y 500 kgN/ha/año, no provoca variaciones en los contenidos de SE en *M. alba*.
- Solamente en las hojas de las variedades estudiadas, las concentraciones de SE son diferenciadas. En ese sentido, la variedad Acorazonada presenta el máximo valor numérico.
- Las mayores niveles de SE en las hojas de la morera se observan en el PLL.

Literatura citada

- Ashok, K.J.; Vincent, R.M. y Nessler, C.L. 2000. *Molecular characterization of a hydroxymethylglutaryl-CoA reductase gene from mulberry (Morus alba L.)*. Plant Mol. Biol. 42:559.
- Azcón-Bieto, J. y Talón, M. 2000. *Fundamentos de fisiología vegetal*. Interamericana Mc. Graw-Hill. 555 p.
- Benavides, J.E. 2002. *Utilization of mulberry in animal production systems*. In: Mulberry for animal production. Animal Production and Health Paper No. 147. FAO, Rome. p. 291.
- Boschini, C. 2002. *Nutritional quality of mulberry cultivated for ruminant feeding*. In: Animal Production and Health Paper No. 147. FAO, Rome. p. 171.
- Chappell, J. 1995. *The biochemistry and molecular biology of isoprenoid metabolism*. Plant Physiol. 107:1.
- Chappell, J.; Vonlanken, C. and Vogeli, U. 1991. *Elicitor inducible 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme. A reductase activity is required for sesquiterpene accumulation in tobacco cell suspension cultures*. Plant Physiol. 97:693.
- De Marcano, D. y Hasegawa, M. 1991. *Fitoquímica orgánica*. Universidad Central de Venezuela. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico, Caracas, Venezuela, 451 p.
- Duke, J.A. 2001. *Morus alba* (L.). <http://newcrop.hort.purdue.edu/newcrop/duke-energy>. (Consultada el 3 de diciembre de 2001).
- Galindo, W.; Rosales, M., Murgueitio, E. y Larrahondo, J. 1989. *Sustancias antinutricionales en las hojas de árboles forrajeros*. Livestock Research for Rural Development. 1(1):36.
- García, D.E.; Ojeda, F. y Pérez, G. 2002. *Comportamiento fitoquímico de cuatro variedades de Morus alba en suelo Ferralítico Rojo con fertilización*. En: Memorias V Taller Internacional Silvo-pastoril “Los árboles y arbustos en la ganadería tropical” y II Reunión Regional de Morera. EEPF “Indio Hatuey”. Matanzas, Cuba.
- García, D.E. 2003. *Evaluación de los principales factores que influyen en la composición fitoquímica de Morus alba* (L.). Tesis presentada en opción al título de Master en Pastos y Forrajes, EEPF “Indio

- Hatuey”, Cuba. 97 p.
- García, D.E. 2004. *Principales factores antinutricionales de las leguminosas forrajeras y sus formas de cuantificación*. Pastos y Forrajes. 27(2):101.
- González, E.; Martín, G.; Alvanell, E.; Cajas, G. y Rosas, N. 2002. Composición nutritiva del forraje de morera (*Morus alba* var. Tigreada) ante diferentes frecuencias de corte y niveles de fertilización nitrogenada. I. Contenido celular. En: Memorias V Taller Internacional Silvo-pastoril “Los árboles y arbustos en la ganadería tropical” y II Reunión regional de Morera. EEPF “Indio Hatuey”. Matanzas, Cuba.
- Hernández, A. 1999. *Clasificación genérica de los suelos de Cuba*. Instituto de Suelos. Ministerio de la Agricultura. AGRINFOR. Ciudad de la Habana, Cuba. 64 p.
- Kumar, R. 1992. *Antinutritional factors. The potential risks of toxicity and the methods to alleviate them*. In: Legumes trees and other fodder trees as protein source for livestock. (Eds. Speedy, A. W. & Pugliese, P.L.). FAO Animal Production and Health Paper. No. 102. p. 145.
- Makkar, H.P.S.; Blumer, M. and Becker, K. 1995. *In vitro effects and interactions of tannins and saponins and fate of tannins in rumen*. J. Sci. Food Agric. 69:481.
- Makkar, H.P.S.; Becker, K.; Abel, E. and Pawelzik, E. 1997. *Nutrient contents, rumen protein degradability and antinutritional factor in some colour-and white-flowering cultivars of Vicia faba beans*. J. Sci. Food Agric. 45:511.
- Mengzhao, Y. 1989. *Determination of sterol plant growing substance in mulberry leaves*. J. Zhejiang Agric. Univ. 15(4):335.
- Valdés, R. y Balbín, M.I. 2000. *Curso de fisiología y bioquímica vegetal*. (Ed. UNACH), La Habana. Cuba. 89 p.

Recibido: Diciembre 1, 2004.

Aceptado: Junio 13, 2005.

La introducción del riego hispano colonial y sus repercusiones: El caso de los regantes del Barrio de Tapias en Santa María de los Ángeles, Jalisco, México

The introduction of a system of colonial hispanic irrigation and the repercussions: the case of the *regantes* of the neighbourhood of Tapias in Santa María de los Ángeles, Jalisco, México

Realpozo, R.¹ * y Gonzáles, C.²

¹ Profesora Investigadora. Universidad de Guadalajara, Campus Universitario del Norte, Santiago Tlatelolco, Colotlán, Jalisco, México.

² Coordinador Ejecutivo y profesor. Universidad de Guadalajara, Campus Universitario del Norte candidog@cunorte.udg.mx

*Correspondencia: charitocz_1@cunorte.udg.mx / charitocz_1@hotmail.com

Resumen

Los sistemas de regadío vigentes desde la época colonial en la región Norte de Jalisco, son ejemplos vivos de la estructura social que hizo posible la producción de alimentos en una región con escasa precipitación.

La presencia de los colonizadores hispanos en la región Norte de Jalisco, sólo puede explicarse a partir de la construcción de obras hidráulicas para la producción de alimentos. Ejemplo de ello son las acequias de común, localizadas en la micro región Colotlán-Santa María de los Ángeles, las cuales, hasta mediados de los años 70's del siglo XX, hicieron famosa a la región por la producción de sus huertas para el abasto de frutas como: nogal, membrillo, granado, limas, ciruelas, aguacates, así como una amplia variedad de verduras en la región. La producción agrícola ha estado respaldada por una organización de regantes que tiene como patrono a San Miguel Arcán-

hidráulico, *Melino*, desarrollo sustentable.

Abstract

The present systems of irrigation from the colonial period in the northern region of Jalisco, are living examples of the social structure that has made possible the production of food in a region with low rainfall. The construction of hydraulics systems for the food production verifies that the Spanish colonizers had been present in the north part of Jalisco. An example of this, are the irrigation ditches in common use found in the micro region of Colotlán-Santa María de los Ángeles that, until the middle of the 70's of the XX century, made famous the region for the production of their gardens for their supply of fruits such as: walnut, quince, pomegranate, limes, plums, avocado, as well as an ample variety of vegetables in the region. The agricultural production has been supported for an organization of *regantes* that has as a Patron

gel. Esta institución, reconocida por su sólida estructura interna desde hace varias décadas, se encuentra en crisis debido a las modificaciones que ha sufrido en la toma de decisiones para dar paso a los cultivos forrajeros que están ganando terreno sobre los cultivos hortícolas. Todo ello, ha provocado fuertes conflictos en la organización interior de los citados regantes. Como resultado de esta crisis estructural, están desapareciendo las acequias, para dar lugar a los espacios urbanos y las implicaciones que ello conlleva.

Palabras clave

Acequia, acequia madre, huerto, sistema

Saint the Archangel Michael. This institution, known for its solid internal structure for various decades, is now in crisis due to the modifications that they have suffered in the decision making allowing the influx of forage crops that are gaining space from the horticulture. This has provoked strong conflicts in the internal organization of the *regantes*. As a result of the structural crisis, the irrigation ditches are disappearing to urban areas and the implications that they bring with them.

Key words

Irrigation ditches, main irrigation ditches,

gardens, hydraulic systems, *Melino*, sustainable development.

Introducción

El interés por dominar el territorio indígena llevó a los conquistadores hacia la denominada Aridoamérica.¹ Las primeras incursiones hispánicas en el norte de México se realizaron hacia 1526 al mando de Nuño de Guzmán con un carácter eminentemente militar. El propósito era eliminar la resistencia de los nativos indígenas norteños, habitantes de las tierras áridas de la Gran Chichimeca,² región localizada más allá de la confluencia del río Lerma-Santiago y habitada por tribus de diferentes pueblos. Los conquistadores españoles, ayudados por sus aliados indígenas, sostuvieron fuertes batallas en contra de los grupos nativos chichimecas que eran excelentes guerreros, a los que no fue fácil dominar. El ejemplo más conocido es la denominada Guerra del Mixtón, considerada como una de las batallas más crueles y sanguinarias después de la caída de Tenochtitlan y en la que, finalmente, los españoles y sus aliados indígenas vencieron a los chichimecas en 1541. Sin embargo, las rebeliones indígenas se prolongaron por más de cuarenta años, que coincidieron con el descubrimiento de los yacimientos minerales de Zacatecas, San Martín, Fresnillo y Sombrerete, entre 1546 y 1548. Estos acontecimientos generaron más levantamientos indígenas chichimecas en la región al tratar de impedir asentamientos hispanos y el abastecimiento de alimentos y mercaderías del centro de la Nueva España en su territorio.³ Por esa razón se construyeron presidios y fuertes militares como una táctica defensiva que, de manera temporal, apaciguó las rebeliones chichimecas. Asimismo, entre 1568 y 1580, se edificaron los primeros presidios a lo largo del camino real entre México y Zacatecas, para protección de los mercaderes y

comerciantes que transitaban por esa ruta.⁴ Así, en 1580 se estableció el último presidio en Colotlán, en el norte de Jalisco.⁵ Su ubicación tuvo características especiales por ser una zona de frontera. Casi al finalizar la guerra chichimeca —entre 1550 y 1590—, se establece el gobierno de Colotlán para proteger los asentamientos de los españoles y defender, de los indios bárbaros, los caminos de la plata, además de administrar y gobernar a los indios establecidos en la región. Pero no fue suficiente: la región estaba en conflicto permanente.⁶ Ubicada en los límites de la zona *cazcana*, habitada por uno de los grupos chichimecas más belicosos y resistentes de esta área, fue necesario buscar otras estrategias para la pacificación.⁷ Una de estas tácticas fue el envío de 400 familias indígenas tlaxcaltecas, reclutadas para la fundación de los pueblos en diferentes partes del territorio chichimeca. El éxito de estas fundaciones se debió al conocimiento hidráulico de los tlaxcaltecas, aumentado también por el relativo a las técnicas hispanas en el manejo agrícola: la introducción de nuevas especies vegetales y animales, las pequeñas industrias ganaderas para la elaboración de quesos y otros productos (jabón, cebo para velas, el manejo de pieles y lana), entre otros. Por esta razón fue muy significativa la permanencia de la agricultura prehispánica de la Aridoamérica.

El resultado de esta colonización agrícola se puede observar en algunas regiones del Norte de México: San Esteban de la Nueva Tlaxcala, en Saltillo, en el estado de Coahuila; San Miguel de Mezquitic, en San Luis Potosí; San Andrés del Teul, en Zacatecas; Colotlán y Santa María de los Ángeles, en Jalisco.⁸ Sobre la agricultura del norte de Jalisco aún no hay suficientes investigaciones, motivo por el cual intentamos realizar este estudio de los sistemas hidráulicos y su influencia en el desarrollo agrícola actual en el norte de Jalisco.

Antecedentes

El análisis de los sistemas hidráulicos nos lleva a buscar los antecedentes históricos. El descubrimiento de los yacimientos de plata, primero en Zacatecas y Guanajuato en el siglo XVI, y, posteriormente, en Bolaños —en las primeras décadas del siglo XVIII—, fueron el origen de la transformación de la región, al pasar de ser agrícola a concentrarse en el desarrollo minero.⁹ El abastecimiento de las minas dependía de la agricultura, la ganadería y la industria; de éstas obtenían alimentos, animales, forrajes y otros productos. Todo este desarrollo agrícola y minero fue favorable para los nuevos colonizadores. Con estas empresas lograron asegurar su subsistencia, no así los pueblos nativos de la región, que vieron alteradas sus formas de vida. El pastoreo intensivo, la sobre explotación del bosque, el uso intensivo de los suelos y la sobre-utilización de los mantos acuíferos, modificaron radicalmente el paisaje agrario y transformaron las zonas semiáridas en áridas, los bosques templados en llanuras semiáridas o semidesérticas.¹⁰ El valle de Colotlán fue uno de estos sitios, pues poseía características favorables para el establecimiento de

nuevas poblaciones de hispanos.¹¹ Esto provocó conflictos por el control de las tierras. Asentado en un largo y angosto valle, su clima tropical semi-seco, sus condiciones topográficas y pluviométricas eran poco favorables para el desarrollo de una agricultura de temporal. Aunque poco productiva, era una agricultura segura en todo el valle, sujeta a las condiciones de la escasa precipitación, entre 600-700 milímetros, según Shadow.¹² Aunado a ello, estas tierras eran favorecidas por los depósitos de los ríos Tlaltenango y Jerez-Colotlán, lo que hizo de este lugar un polo de atracción para la población española recién llegada. La utilización de la mano de obra local fue muy valiosa, pues estos indígenas nativos eran agricultores.¹³ Con la llegada de algunas familias tlaxcaltecas a Colotlán,¹⁴ se introdujeron nuevas técnicas agrícolas y el conocimiento sobre los sistemas hidráulicos ampliamente difundidos en toda la región fronteriza. Algunos pueblos cercanos como Santiago Tlatelolco, Santa María de los Ángeles y Huejúcar, son algunos de estos sitios en donde todavía podemos ver esta influencia agrícola.

Con estos precedentes podemos plantear que los sistemas hidráulicos en el norte de Jalisco tienen su origen en los sistemas agrícolas mesoamericanos —introducidos a finales del siglo XVI— como una de las estrategias de pacificación utilizada por los colonizadores hispanos y sus aliados tlaxcaltecas después de varios fracasos militares en la región. De esta manera, los antecedentes más inmediatos que hemos localizado respecto de los sistemas hidráulicos en el norte de Jalisco, tienen su origen en los sistemas agrícolas mesoamericanos y los de influencia hispana. Del origen prehispánico de los sistemas hidráulicos en el norte de Jalisco tenemos poca información, aunque [Weigand, 2000],¹⁵ hace referencia a algunos pueblos de Zacatecas y el norte de Jalisco como grupos sociales con una tradición cultural, una alta demografía e importantes comerciantes de minerales. Este autor cita el caso del valle de Malpaso en Zacatecas, la fortificación de La Quemada-Tuitlán (con el sistema de caminos más importante en toda Mesoamérica), o el complejo minero de Chalchihuites, también en el estado de Zacatecas, que disponía de una frontera natural semiárida en la que había núcleos de agricultura y minería. El mismo autor ha encontrado restos arqueológicos en Azqueltán en los que hace referencia a algunos sistemas hidráulicos prehispánicos en las márgenes del río Bolaños.¹⁶ Trabajos recientes de la arqueóloga Marie Aretti Hers, en el municipio de Huequilla el Alto, también nos hacen ver la importancia de otros asentamientos humanos en la región.¹⁷ Otros autores coinciden en opinar que el aprovechamiento de los ciclos naturales de la lluvia y el manejo de pequeños cursos de agua son característicos de las regiones áridas y semiáridas en el norte de México o el sur de los Estados Unidos y que, además, han dejado huellas muy claras, como es el caso de los pueblos chichimecas nómadas o sedentarios —también considerados como pueblos de agricultores— a pesar de formar parte de las culturas del desierto [Braniff, Beatriz];¹⁸ otros pueblos fueron los indios Anasazi o Pueblo, en Nuevo México, hoy frontera sur de los Estados Unidos.¹⁹ (Éstos son solamente algunos ejemplos). También A. Palerm y E. Wolf (1980),²⁰ nos indican, en sus investigaciones referentes a los sistemas

hidráulicos prehispánicos en el occidente de México, sobre la existencia de huertas para cacao en Colima y Nayarit: “Las huertas implican algún sistema de riego... Armillas”. En ese sentido, podemos decir que existen varios elementos hidráulicos prehispánicos en el Norte de Jalisco. Los autores de este trabajo únicamente hemos analizado, hasta ahora, los elementos hispánicos con influencia mesoamericana en la región.

De la presencia de estos elementos hispánicos y de la influencia mesoamericana en nuestra región, existen varios ejemplos que vale la pena mencionar por su importancia regional y que —en algunos casos— aún están vigentes; en otros, se encuentran en vías de extinción. Como muestra de ello, menciono los siguientes: las presas de calicanto, los muros de contención, los acueductos, los bordos para abrevaderos, las norias, los bimbabetes, las acequias de común y los huertos de humedad con hortalizas y frutales. La sola mención de estas obras nos permite imaginar la actividad humana que se generó en esta región semiárida del norte de México para transformar el paisaje agrícola regional. Esto nos lleva al estudio de una de las sociedades de regantes que aún conserva parte de su estructura social en torno al riego. Tal es el caso de los regantes en el Barrio de Tapias o de San Miguel, en el municipio de Santa María de los Ángeles.

Situación actual

El municipio de Santa María de los Ángeles forma parte del valle de Colotlán, que es largo y angosto, y abarca los municipios de Huejúcar, Santa María y Colotlán, en Jalisco. Se extiende hacia el estado de Zacatecas e incluye al valle de Jerez y Tlaltenango. El clima en el valle es tropical semi-seco, los suelos son fértiles. La precipitación es la más elevada en la región —alrededor de 700 milímetros— suficientes para el desarrollo de una agricultura de temporal. En las inmediaciones de Santa María de los Ángeles existen, al menos, tres cascos de haciendas coloniales: Huacasco, el Cuidado y Víboras, ello significó el acaparamiento de tierras y el control de las avenidas de agua de los arroyos; esto obligó a los hacendados a construir presas de almacenamiento y crear sistemas evolutivos de regadío para asegurar la producción agrícola y la reproducción del ganado.²¹ En Santa María de los Ángeles hemos localizado los restos de un antiguo molino de trigo cerca de un acueducto que, al parecer, se terminó de construir en 1841, y una cortina o muro de contención al final de un pequeño cañón, además de una derivadora y una red de acequias para regar las huertas del pueblo.²² Como resultado de esta limitación, la mayor parte de estas huertas ha sido abandonada y las acequias aterradas. El arroyo (o río Chiquito) que vertía sus aguas a la derivadora para regar las tierras de cultivo de Santa María y otras poblaciones aledañas, hace 6 años no lleva suficiente agua; esto ha provocado el exterminio de las huertas (aunque todavía podemos ver lo que queda de ellas). Algunas especies de plantas son: nogales, aguacates, olivos, vides, moras, guayabos, zapotes blancos, membrillos, granados, chabacanos, azafranes y capulines. Aunque el trigo, introducido en la época colonial, fue uno de los cultivos más importantes hasta los

años 80's del siglo XX, ahora ha desaparecido de la región. La falta de agua y la baja en los precios son las causas que provocaron la falta de interés. De las huertas, sobresalen los altos y frondosos nogales. Las hortalizas también se han perdido totalmente. La falta de agua en el arroyo ha desencadenado la cancelación de las tierras de cultivos para dar lugar a espacios urbanos.

El barrio de Tapias o de San Miguel, como mejor se le conoce, se encuentra ubicado en la parte nor-oriental del pueblo de Santa María de los Ángeles. Sus terrenos de cultivo se localizan en el margen izquierdo del río Jerez, siguiendo su curso normal hacia el sur. La ubicación de las tierras privilegia a los socios regantes del barrio; ellos



Acequia (Fotografía de Rosario Realpozo Reyes)

son los primeros en recibir las aguas del río Jerez para regar sus parcelas, para lo cual cuentan con un complejo y organizado sistema de acequias de común, hechas de tierra con las que riegan sus huertas de frutales y hortalizas. Poseen solamente 60 hectáreas que corresponden a 90 propietarios; esto nos da una idea del tamaño de las parcelas. La “Toma” es el lugar donde se inicia este sistema; se trata de una derivación del río

protegida con costales rellenos de arena para canalizar el agua por un canal labrado en piedra que, a su vez, es alimentado por unos veneros de agua caliente que nacen a la altura de esta toma; esto ayuda a aumentar el volumen de agua que ingresa a las parcelas de los socios regantes de Tapias. Allí se empiezan a regar las primeras propiedades de tales socios, quienes ostentan los derechos sobre esos veneros, los cuales han tenido bajo su control desde tiempo inmemorial hasta nuestros días. Esta situación ha provocado conflictos permanentes con los vecinos de Santa María, Colotlán y Santiago. Sin embargo, el problema se fue resolviendo con la formación de otras “Tomas”.²³ Así, a los regantes de Tapias les corresponde la número 1, son los primeros en regar sus tierras y aún en el periodo de estiaje a ellos no les afecta el bajo caudal del río. Con la “Toma 2”, se riegan pequeñas propiedades del pueblo de Santa María; anteriormente fueron huertos y ahora son tierras para el cultivo de forrajes. La “Toma 3”, la mayor, recibe las aguas sobrantes de las tomas 1 y 2, además de una parte del cauce del río Jerez. Con esta agua se regaban las huertas de Santiago Tlatelolco, la Cementera y el barrio de Chihuahua en Colotlán. Hoy día, esta toma conduce muy poca agua; como consecuencia, las huertas de Santiago y Chihuahua se encuentran en extinción. Por último, existe la “Toma 4”, para regar una sección de la cabecera de Santa María de los Ángeles. Aunque el caudal del río nunca ha sido excesivo, en otros tiempos alcanzaba para regar 200 hectáreas de huertas con frutales y hortalizas. No obstante, el bajo caudal del río se recupera con los esporádicos y abundantes temporales. A pesar del escaso caudal desde tiempos muy lejanos, el río siempre ha sido causa de conflictos entre los pueblos vecinos:

[...] y, por toda constancia, figura en el expediente, el contrato celebrado ante el Juez Receptor Pedro Antonio Trelles Villa de Moros, en el pueblo de Colotlán a 22 de marzo de 1798, entre los Gobernadores, Alcalde, Justicias y Principales, con sus respectivos escribanos de los barrios de Hascala, Goyatitan y Jochopa y los de los pueblos de Santa María y Santiago; en el que se comprometen estos a dar a los de [...] Santa María, una cuarta parte de las aguas del río Grande, y las otras tres cuartas partes se las reservan los vecinos de dichos Santiago y Colotlán.²⁴

En la actualidad, el río sigue siendo causa de pugnas entre los vecinos de Colotlán, Santiago Tlatelolco y Santa María de los Ángeles. Por ejemplo, los propietarios que poseen tierras entre Santa María de los Ángeles y Colotlán, hacen represas para detener el agua y regar sus propiedades sin importar que otros dueños no aprovechen la escorrentía del río. La solución a este problema es la reciente perforación de pozos profundos en las márgenes del río Jerez. Los intereses particulares se sobreponen a los de la mayoría. El río Jerez también ha sido causa de dificultad por otros motivos: ha provocado severas

inundaciones en las poblaciones vecinas desde hace varios cientos de años.²⁵

Cómo están organizados los regantes del Barrio

Los regantes del barrio poseen el diez por ciento de las tierras de riego de Santa María de los Ángeles. Las 60 hectáreas que poseen los 90 socios regantes son propiedades que han heredado de padres a hijos desde lejanos tiempos. Sin embargo, la venta de la tierra se ha agudizado a partir de los años ochentas, después de la pérdida de sus huertas de aguacate por problemas fitosanitarios. Con ello, también ha aumentado el desánimo para cuidar el riego y dar mantenimiento a las acequias. Las reuniones de asamblea en las que se exponían los problemas a los que se enfrentaban los regantes se realizaban cada mes; ahora se convocan cada dos meses. Los nuevos dueños no son habitantes del barrio y acaparan estas tierras. Es así como también se ha incrementado la siembra de cultivos forrajeros, como la avena y la cebada. Este nuevo patrón de cultivos implica novedosas prácticas agrícolas como la introducción de maquinaria agrícola, el uso de pesticidas y mayor cantidad de fertilizantes. Así, los policultivos y la diversidad vegetal están amenazadas por la presencia de plagas y enfermedades, como ya ocurrió una vez. La conservación de especies nativas como ciertas variedades de chiles, jitomates, aguacates, nogales, membrillos, granadas, chabacanos, limas o naranjas agrias —entre otras especies endémicas— están amenazadas, al ser sustituidas por los cultivos forrajeros. Por ejemplo, una variedad de “jitomatillo” y otra, el “chile del lugar”, son dos especies casi extintas que escasamente se ven en las parcelas.

Otra de las dificultades a las que se enfrentan los horticultores es la disminución del caudal en los veneros. Desde hace 10 años el problema es más agudo. Por tal motivo, tratan de ser más rigurosos con sus calendarios de riego.²⁶ En torno a ello existe una figura muy importante que es la del *Melino* o repartidor del agua. Internamente, los regantes de Tapias tienen un Consejo de Vigilancia constituido por un presidente, un secretario, un tesorero y un *melino*. Ellos consideran que el Consejo de Vigilancia es necesario solamente para determinadas funciones. Mediante este consejo se organizan para la realización de algunas tareas de limpieza y conservación de los canales, no requieren de esta figura



Huerto del barrio de Tapias (Fotografía de Rosario Realpozo Reyes)

organizativa con frecuencia. Los socios-regantes son socios por el manejo y control del agua. Sin embargo, la figura del *melino* es trascendental. Éste se elige por representación popular y debe tener una presencia moral muy fuerte. El *melino* era una persona mayor, conocida por todos: podía hacer esta función por muchos años, no recibía pago alguno por su trabajo. De él depende que la distribución del agua ocurra a tiempo y sean respetados los calendarios de riego. El *melino* conoce todas las parcelas, recorre las parcelas porque vigila que los usuarios cumplan con sus horarios de riego, a él recurren los regantes para pedir el agua, y también elabora el calendario de riegos. Finalmente, el *melino* es quien conoce a todos los nuevos y viejos propietarios. En la actualidad, esta persona solamente dura en el cargo un año, se le paga un salario y puede ser una persona joven. Este cambio en torno a la figura del repartidor del agua obedece a los cambios de propietarios en las parcelas. El *melino* ya no tiene el mismo compromiso con los regantes.

Los socios-regantes no reciben apoyo de las dependencias oficiales. Sin embargo, en varias ocasiones, funcionarios de la Secretaría de Agricultura y del Distrito de Riego, en Colotlán, han propuesto la posibilidad de revestir los canales para optimizar el uso

del agua y así repartir a otros agricultores. Los regantes de Tapias se han negado. Ellos pagan una cuota por el uso de agua a la Secretaría de Agricultura solamente; no hay otro tipo de compromiso. Esto les proporciona seguridad sobre sus propiedades y sobre el uso del agua de las acequias.

Durante el periodo callista, el propósito de la gran irrigación fue el de apoyar pequeños grupos de agricultores (empresarios privados) con lo que se logró desarrollar un modelo agro-exportador que generó fuertes divisas al país. Este esquema funcionó por cerca de 50 años, los que se aprovecharon en la construcción de la mayor parte de estas obras hidráulicas en el país; esta etapa fue interrumpida en el periodo cardenista, que fue cuando se dotó de este servicio a los campesinos, bajo la modalidad de los ejidos. En medio de este desarrollo de capitalistas privados, quedan algunos ejidos bajo ese mismo modelo agro-exportador, como el caso de la Comarca Lagunera.²⁷ No obstante, no todos los ejidos fueron beneficiados de la misma manera. En otros, se realizaron obras de pequeña irrigación; éstas se construyeron en las zonas de temporal donde predomina la agricultura campesina, es decir, en las zonas consideradas de baja eficiencia productiva y, por lo tanto, en las áreas más pobres.

El caso de Tapias, no es exactamente ése, pues sus antecedentes históricos nos remiten a la fundación de pueblos de indios, de tal manera que el régimen de la propiedad de la tierra de la comunidad indígena no fue afectado de esa manera.²⁸ Las tierras del barrio de Tapias son de régimen privado. Por esa razón las acequias del barrio de Tapias no se consolidaron como propiedad ejidal.

A manera de conclusión

En el barrio de Tapias o de San Miguel, se localiza el sistema de *acequias* más antiguo, completo y mejor conservado de la región. Estas *acequias* son de tierra y piedra, las fuentes documentales secundarias revisadas —hasta ahora— nos llevan a establecer que la existencia de tales *acequias* en la región, tiene sus orígenes desde el siglo XVIII. Por el momento, contamos con pocas fuentes primarias para atestiguar el hecho.²⁹ Hasta los años cincuentas del siglo XX, este barrio era conocido como *el barrio de los “hortelanos”*, porque allí se sembraba una amplia variedad de frutas y verduras; posteriormente, se convirtió en *el barrio de los “huerteros”*, conocido así por la introducción del cultivo de

aguacate mayero, de aceite o negro (llamado de las tres maneras). En los años setentas, se perdió la producción por falta de control sanitario.³⁰ Respecto a la propiedad de las tierras de cultivo y las acequias, esto depende de quienes sigan heredando las tierras, es decir, del poder que mantengan en la organización interna de los regantes, puesto que la venta de las parcelas, les va arrebatando poco a poco el poder de decisión sobre la tierra y el riego. Dicho de otra forma: que en la medida en que los propietarios o regantes sean los herederos, muy probablemente se mantendrá la continuidad de las huertas y las acequias. Pero también es necesario que esta organización adquiera mayor representatividad para buscar apoyos, puesto que la venta y el abandono de las tierras se han agudizado por la migración hacia los Estados Unidos en busca de mejores opciones para la supervivencia. Las quejas y reclamos más frecuentes de sus habitantes son: la desatención por parte de las instituciones oficiales, el escaso valor de los productos en el mercado, la falta de agua, el elevado costo de los insumos que vuelve incosteable la producción agrícola. Las plagas y enfermedades se consideran como la principal causa de la mala calidad de los productos. Toda esta problemática se refleja en la renuncia de las labores agrícolas y en el cambio de cultivos.

La venta de sus tierras y el cambio de cultivos, para dar paso a los cultivos forrajeros, ha provocado conflictos entre los regantes, lo que puede llevar a la extinción del sistema de acequias, como está ocurriendo en los barrios de Tapias y en el de Chihua-hua, en el municipio de Colotlán, para dar lugar a los espacios urbanos y las implicaciones que ello conlleva. Cabe recordar que este sistema de acequias es uno de los pocos que se conservan casi intactos a partir de de la introducción de técnicas de riego en el pasado colonial.

Notas

¹Se denomina así al Occidente de México. Se trata de una de las sub-áreas en que se divide Mesoamérica. Aridoamérica, la expansión norteña, la región limítrofe entre Mesoamérica y la parte árida y semiárida del norte de México y el sur de los Estados Unidos, hacia la cual se extendieron rasgos mesoamericanos cuando hubo condiciones favorables tanto climáticas como sociopolíticas. Esta división es atribuida a Paul Kirchhoff. Cfr. José María Muriá, *Historia de Jalisco*. Tomo I. México: Gobierno del Estado de Jalisco, 1980, p.115. Cfr. también: Andrés Fábregas *et al.* *Historia y nacionalidad en Guatemala y México*. Zapopan: El Colegio de Jalisco/El Archivo Histórico de la ciudad de Guatemala, 2001, pp. 27-38.

²La Gran Chichimeca es una región situada a 110 kilómetros al norte de lo que fuera la capital de la Nueva España. Sus límites se localizaban trazando una línea imaginaria en lo que actualmente es el estado de Querétaro, siguiendo hacia el oeste, a la ciudad de Guadalajara y de ahí hacia el norte, hasta Durango; por el noroeste, a Saltillo y, finalmente, hacia el sur, a lo largo de la cordillera de la Sierra Madre Oriental.



Acequia del barrio de Tapias (Fotografía de Rosario Realpozo Reyes)

La región estuvo habitada por numerosos grupos de indios; los más importantes eran: guachichiles, pames, cazcanes, zacatecos y guamares. Otros menos importantes: salineros, tepehuanes, tepeques, acaxeos, copuces y xiximes. Todos estos pueblos se caracterizaban por ser recolectores-cazadores, además de ser hábiles guerreros flecheros, razón por la que otros grupos indígenas más desarrollados les llamaban chichimecas. Cfr. Eugene B. Segó. *Aliados y adversarios: Los colonos tlaxcaltecas en la frontera septentrional de Nueva España*. México: El Gobierno de San Luis/Gobierno del Estado de Tlaxcala/Centro de Investigaciones Históricas de San Luis Potosí, 1998, pp. 19-21.

³⁴“La mano de obra nativa era difícil de obtener. Los españoles apenas podían vivir en aquellos poblados nuevos si no podían procurarse mano de obra indígena...” Phillip Powell W. *La Guerra Chichimeca (1550-1600)*. *Lecturas Mexicanas* 52. México: Fondo de Cultura Económica/SEP, 1984, p. 163.

⁴⁴“Las primeras cuatro décadas de la guerra hispano-chichimeca tendieron a salvaguardar el tráfico de los caminos”. *Ibid.*, pp. 153-164. También cfr. Segó, *op. cit.*, pp. 32-46.

⁵Segó, *op. cit.*, pp. 131-133.

⁶Surge como resultado de la venganza hispana después de la Guerra del Mixtón. Los grupos indígenas locales se refugiaron en las barrancas y cerros de la Sierra Madre Occidental. Esto les permitió permanecer independientes hasta principios del siglo XVIII. Cfr. Robert D. Shadow, “Conquista y Gobierno español”. En: Manuel Caldera y José María Muriá (compiladores). *Lecturas Históricas del Norte de Jalisco*. Zapopan: El Colegio de Jalisco/Universidad de Guadalajara, 2000, pp. 45-46.

⁷⁴“...en unos cuantos sitios los indios cultivaban maíz y calabazas, pero habitualmente dependían de productos de recolección como: las tunas, los mezquites, semillas y raíces, así como de la caza y la recolección. El hecho de que fueran cultivadores fue aprovechado por los expedicionarios españoles para sentar sus primeras bases de apoyo para la pacificación de la región”. Cfr. Powell, *op. cit.*, 47-55.

- ⁸Cfr. Tomás Martínez Saldaña, *La diáspora tlaxcalteca. Colonización Agrícola del Norte Mexicano*. Tlaxcala: Gobierno Constitucional del Estado de Tlaxcala, Ediciones del Gobierno del Estado de Tlaxcala, 1998, pp. 111-134. Observaciones realizadas en Colotlán y Santa María de los Ángeles como resultado del trabajo de campo: Dr. Tomás Martínez Saldaña y la Mtra. Rosario Realpozo Reyes, en los años 2001-2003.
- ⁹Los indígenas de la región fueron importantes abastecedores de productos agrícolas para la provisión de las minas. Bolaños recibía productos de los huertos de Colotlán, además de granos, carne y animales de tiro de ranchos y granjas de los alrededores... la región Bolaños es descrita como un área de tierras fértiles con abundante agua y buen clima, según informe del corregidor de Bolaños al virrey Matías de Gálvez en 1783... También se agregaba la producción de sal... En años posteriores se sembró tabaco para diversificar la economía del distrito. Cfr. Robert D. Shadow, *Conquista y Gobierno español en Colotlán. Relaciones* 32. Estudios de Historia y Sociedad. Zamora: El Colegio de Michoacán, 1987, pp.67- 68. "Las haciendas están enfocadas a la ganadería, la mayor parte de estos empresarios son mineros. Es la complementariedad de las minas, esta actividad toma mayor relevancia a principios del siglo XVIII". Cfr. Frederique Lange, F. Los señores de Zacatecas. *Una Aristocracia Minera del siglo XVIII Novohispano*. México: Fondo de Cultura Económica, 1999, p. 302.
- ¹⁰Cfr. Phil Weigand, *Estudio histórico y cultural sobre los huicholes*. México: Universidad de Guadalajara, Campus Universitario del Norte, 2002, p. 69.
- ¹¹Cfr. Peter Gerhard, P. *La Frontera Norte de la Nueva España*. México: UNAM, 1996, pp. 97-100.
- ¹²Cfr. Shadow, *op. cit.*, 1987, pp. 56-59.
- ¹³"De la Mota y Escobar apuntaba en 1605 que los indios de Colotlán no practicaban la agricultura hasta que la aprendieron de los tlaxcaltecas...". Cfr. P. Gerhard, *ibídem*. Cfr. Shadow, 1987, *op. cit.*, 54-57.
- ¹⁴En Colotlán se establecen 208 personas: solteros, casados y viudos. Salieron el 6 de junio de 1591 del vallecillo de Nuestra Señora de las Nieves, de San Juan Totolac, del señorío de Quiahuixtlán, de la Antigua Nación Tlaxcalteca. Cfr. Felipe Valdez Pacheco. *Compendio de la historia de Colotlán*. Guadalajara: Editorial Nueva Gráfica, pp. 43-47. Cfr. Tomás Martínez, *op. cit.*, 74.
- ¹⁵Cfr. Phil Weigand, *op. cit.*, 69-78.
- ¹⁶Comunicación personal de Phill Weigand.
- ¹⁷Recientemente se ha inaugurado un pequeño museo local en el municipio de Huejúcar, Jalisco, en el mes de diciembre de 2003.
- ¹⁸Cfr. Beatriz Braniff (Coordinadora). *La Gran Chichimeca. El lugar de las rocas secas*. México: Editoriale Jaca Book Spa, Milan/Consejo Nacional para la Cultura y las Artes, 2001, pp. 34-35.
- ¹⁹Cfr. José Rivera y Martínez, L. P. *Acequias de común y desarrollo sostenible: reflexiones desde la cuenca alta del Río Grande (E.U.)*. El norte de Jalisco. Sociedad, cultura e historia en una región mexicana. México: El Colegio de Jalisco/ Secretaría de Educación Pública y el Campus Universitario del Norte, Universidad de Guadalajara, 2000, pp.117-118.
- ²⁰Cfr. Angel Palerm y Eric Wolf, *Agricultura y Civilización en Mesoamérica*. México: SEP-SETENTAS Diana, octubre de 1980, p.87. Ver también: María Teresa Cabrero. *Civilización en el norte de México*. Arqueología de la cañada del río Bolaños (Zacatecas y Jalisco). México: Universidad Nacional Autónoma de México, 1989, pp.40-41.
- ²¹"Las haciendas tenían sus propias obras hidráulicas porque los propietarios invertían capital para asegurar la producción agrícola y la reproducción de ganado. Estas obras se realizaban con capital privado". Cfr. Jacinta Palerm, Tomás Martínez. *Antología sobre pequeño riego*. Volumen II. Organizaciones autogestivas. México: Plaza y Valdés, editores. Colegio de Posgraduados, 2000, p.33. Las haciendas del Cuidado y Víboras se localizan en el sur del estado de Zacatecas, en los límites con los municipios de Santa María de los Ángeles y Huejúcar, en el estado de Jalisco. Otra hacienda fue la de Huacasco perteneciente al municipio de Santa María de los Ángeles y en el municipio de Colotlán, se ubica la

hacienda El Epazote. Cada una de estas unidades de producción poseía obras de ingeniería hidráulica entre las que localizamos presas y bordos de diferente capacidad y materiales para el almacenamiento, así también ubicamos algunos sistemas de regadío mediante acequias o canales. Resultado del trabajo exploratorio realizado con el Dr. Andrés Fábregas, Dr. Mario Alberto Nájera, Dr. Arturo Chamorro y Mtra. Rosario Realpozo en el año 2003.

²²Archivo Histórico de Jalisco. F2-894, Jal./1039: Existen los censos de las cantidades de frutas encontradas en Colotlán y Santa María de los Ángeles en 1894. Cfr. Mariano Bárcena, 2000. "Ensayo estadístico del norte de Jalisco". En: *Lecturas Históricas del Norte de Jalisco*. Zapopan: El Colegio de Jalisco/Universidad de Guadalajara, pp. 283-290.

²³Esta información la han proporcionado algunos habitantes de las poblaciones vecinas; en otros casos, son resultado de entrevistas con los funcionarios del Distrito de Riego No. 13 de la Secretaría de Agricultura con sede en Colotlán, quienes nos han proporcionado documentos oficiales. A la fecha, no contamos con documentos oficiales en los que se mencionen las "Tomas". Mtra. Rosario Realpozo Reyes.

²⁴Archivo Histórico del Agua, expediente 6171, caja 257.

²⁵Algunos registros señalan los años de 1852, 1925, 1990 y 1991 con inundaciones severas en el pueblo de Colotlán. Cfr. Valdez Pacheco, *op. cit.*, p. 93.

²⁶Esta información la hemos obtenido mediante entrevistas de campo con los productores. Mtra. Rosario Realpozo Reyes, 2003.

²⁷*Ibid.*, Palerm, J. y Saldaña, T.

²⁸"El proceso de cambio de uso del suelo en la comunidad indígena de Mezquitán en el municipio de Zapopan, Jalisco". Marta Sánchez Macías. Maestría en Estudios sobre la Región, El Colegio de Jalisco, A.C., Zapopan, Jalisco, 2003.

²⁹Archivo Histórico de Jalisco, Ramo Fomento, Asunto: censo de frutas, Legajo 19, fojas 1-11, expediente 600, año 1894. Cfr. Archivo Histórico de Jalisco, Ramo Fomento, Legajo 29, Expediente 791, año 1897.

³⁰Esta información fue proporcionada por algunos habitantes del barrio de Tapias, quienes vivieron el infortunio de perder sus huertas. En esa época existía un Programa Nacional de Fruticultura de la Secretaría de Agricultura y Ganadería; a pesar de que se realizaron análisis de suelos para confirmar la infestación del suelo con organismos patógenos dañinos para el cultivo del aguacate, no se dio el seguimiento adecuado y se perdió la producción de aguacate en el barrio. Cfr. También, José M. Muriá y Angélica Peregrina (compiladores). *Viajeros anglosajones por Jalisco, siglo XIX*. México: INAH-Programa de Estudios Jaliscienses, 1992, pp.73-75.

Literatura citada

Fuentes documentales primarias

Archivo Histórico de Jalisco, foja 2-894, Jal./1039.

Archivo Histórico del Agua, expediente 6171, caja 257.

- Archivo Histórico de Jalisco, ramo Fomento. Asunto: Censo de frutas, legajo 19, fojas 1-11, expediente 600, año 1894.

- Archivo Histórico de Jalisco, ramo Fomento, legajo 29, expediente 791, año 1897.

Fuentes secundarias

Bárcena, M. 2000. *Ensayo estadístico del norte de Jalisco*. En: *Lecturas Históricas del Norte de Jalisco*. El Colegio de Jalisco/Universidad de Guadalajara. México. Pp. 269-291.

Braniff, B. (Coordinadora). 2001. *La Gran Chichimeca*. El lugar de las rocas secas. Editoriale Jaca Book

- Spa, Milan/Consejo Nacional para la Cultura y las Artes. México. Pp. 34-35.
- Cabrero, G. 1989. Civilización en el norte de México. Arqueología de la cañada del río Bolaños (Zacatecas y Jalisco). México: Universidad Nacional Autónoma de México. México. Pp. 40-41.
- Fábregas, P. et al. 2001. Historia y nacionalidad en Guatemala y México. Editado por El Colegio de Jalisco/ Archivo Histórico de la ciudad de Guatemala. México. Pp. 27-38.
- Frederique, L. 1999. Los señores de Zacatecas. Una aristocracia minera del siglo XVIII novohispano. Ediciones del Fondo de Cultura Económica. México. 302 p.
- Gerhard, P. 1996. La Frontera Norte de la Nueva España. Editorial: UNAM. México. Pp. 97-100.
- Martínez, S. T. 1998. La diáspora tlaxcalteca. Colonización agrícola del norte mexicano. Impreso en Ediciones del Gobierno del Estado de Tlaxcala. Gobierno Constitucional del Estado de Tlaxcala. México, 74. Pp. 111-134.
- Muriá, J. M. y Peregrina, A. (Compiladores). 1992. Viajeros anglosajones por Jalisco, siglo XIX. Editado por el INAH/ Programa de Estudios Jaliscienses. México. Pp. 73-75.
- Muriá, J. M. 1980. Historia de Jalisco. Ediciones del Gobierno del Estado. Tomo I. México. 115 p.
- Palerm, J. y Martínez, T. 2000. Antología sobre pequeño riego. Organizaciones autogestivas (Volumen II). Colegio de posgraduados. Editores Plaza y Valdés. México. 33 p.
- Palerm, A. y Wolf, E. 1980. Agricultura y civilización en Mesoamérica. Editorial SepSetentas Diana. México. 79 p.
- Phillip, P. W. 1984. La Guerra Chichimeca (1550-1600). Lecturas Mexicanas 52. Editorial Fondo de Cultura Económica/SEP. México. 163 p.
- Rivera, J. y Martínez, L. P. 2000. *Acequias de común y desarrollo sostenible: reflexiones desde la cuenca alta del Río Grande (E.U.)*. El norte de Jalisco. Sociedad, cultura e historia en una región mexicana. El Colegio de Jalisco/ Secretaría de Educación Pública y el Campus Universitario del Norte, Universidad de Guadalajara. México. Pp. 117-126.
- Sánchez, M. M. 2003. *El proceso de cambio de uso del suelo en la comunidad indígena de Mezquitán en el municipio de Zapopan, Jalisco*. Tesis de maestría. Maestría en Estudios sobre la Región. El Colegio de Jalisco, A.C., Zapopan, Jalisco.
- Sego, E. 1998. Aliados y adversarios: Los colonos tlaxcaltecas en la frontera septentrional de Nueva España. El Gobierno de San Luis/Gobierno del Estado de Tlaxcala/Centro de Investigaciones Históricas de San Luis Potosí. México. Pp. 19-21.
- Shadow, D. R. 2000. *Conquista y Gobierno español*. En: Manuel Caldera y José María Muriá (Compiladores). Lecturas Históricas del Norte de Jalisco. Editado por El Colegio de Jalisco/Universidad de Guadalajara. México. Pp. 45-46.
- Shadow, D. R. 1987. *Conquista y Gobierno español en Colotlán*. Relaciones 32. Vol. VII, Otoño. Estudios de Historia y Sociedad. Zamora: El Colegio de Michoacán. 55 p.
- Valdez, P. 2000. Compendio de la historia de Colotlán. Editorial Nueva Gráfica. México. 93 p.
- Weigand, P. 2002. Estudio histórico y cultural sobre los huicholes. Editado por la Universidad de Guadalajara, Campus Universitario del Norte. México. Pp. 68-78.

Recibido: Septiembre 7, 2004.

Aceptado: Junio 18, 2005.

Rescate urgente de un banco de germoplasma en riesgo de extinción: los borregos de la Isla Socorro •

Urgent rescue of a germoplasma bank in danger of extinction:
the sheep on the Island of Socorro

Izquierdo, C.;^{1*} Hummel, J. D.¹ y Palma, J. M.^{1,2}

¹FMVZ Universidad de Colima y ²CUIDA Universidad de Colima

*Correspondencia: cespinal@venus.ucol.mx

•Artículo invitado

Resumen

La población ovina de la Isla Socorro es un recurso biológico que, probablemente, por su aislamiento genético de más de 135 años, y por el proceso de adaptación a las condiciones ambientales insulares en las que ha vivido, hoy en día podría poseer características de resistencia y rusticidad importantes desde el punto de vista productivo para la ganadería ovina mexicana. Por lo anterior, y dado el inminente peligro de extinción debido a la existencia de un programa gubernamental para su erradicación, se considera necesario rescatar, preservar e iniciar una serie de estudios que permitan evaluar sus potencialidades productivas, así como su conservación genética. Motivo por el cual, el presente trabajo busca dar a conocer a la comunidad académica y al público en general, elementos de relevancia científica para sumar esfuerzos y rescatar este banco de germoplasma ovino.

Palabras clave

Ovinos, genética, conservación, feral, población, Colima.

Abstract

The sheep population on the Island of Socorro is a biological resource that probably for its genetic isolation for more than 135 years and for the adaptation process to the particular environmental conditions in which they have lived, could provide characteristics of resistance and adjustment to rustic surroundings that is important in the point of view of production for the sheep livestock industry in Mexico. Because of this and the imminent danger of extinction due to a Government Program for their eradication, it is considered necessary to rescue, preserve and begin a series of studies that would permit the evaluation of their productive potential, as well as their genetic conservation. With this in mind, the present work informs the academic community and the public in general relevant scientific elements, to recruit support and rescue this bank of ovine germplasm.

Key words

Ovine, genetic, conservation, feral, population, Colima.

Introducción

El monitoreo y evaluación productiva de los recursos genéticos es una de las demandas de investigación en la cadena de los ovinos, pues existe la necesidad de desarrollar grupos raciales adecuados a las condiciones de producción de las diferentes regiones del país. Precisamente, México cuenta con recursos genéticos desconocidos como la población ovina de la Isla Socorro, Colima; ésta se ha mantenido en aislamiento genético durante más de 135 años en condiciones difíciles de producción (disponibilidad baja de agua y alimentación, así como de un clima extremo). Desafortunadamente, esta población está en riesgo de ser erradicada, de ahí la necesidad de rescatarla, lo antes posible, para su evaluación genética y productiva, ya que podría poseer características de resistencia o rusticidad útiles para manejarla como raza pura o en cruza que beneficien a los productores del país. Una evaluación genética y productiva de esta población tendría una duración a mediano plazo y requeriría de estudios *in situ* y *ex situ*; pero dado el ultimátum para su exterminación, es inminente centrar los esfuerzos en rescatar el mayor número de ejemplares, antes de que arrasen con ellos.

Amenazas de extinción de la diversidad genética

A escala mundial, la diversidad genética de animales domésticos está declinando rápidamente por la práctica de cruzar, absorber o sustituir razas locales con un grupo reducido de razas exóticas. Al menos 300 de las 6,000 razas identificadas por la Food Agricultural Organization (FAO), se extinguieron en los últimos 15 años, y una proporción importante de las 1,350 que aún existen, declinaron su talla de población y en la actualidad están en peligro de extinción, perdiéndose un promedio de dos razas por semana [Anderson, 2003; FAO, 2003; Rege y Gibson, 2003].

Por ello, la FAO impulsa, desde 1990, un programa para la ordenación sostenible de los recursos zoogenéticos en los ámbitos mundial, regional y local; esta institución orienta a las naciones y grupos académicos para conservar, caracterizar, evaluar y planificar el uso de las razas domésticas, las poblaciones ferales y la fauna silvestre, con ellas emparentadas [FAO, 2001].

Por otro lado, el intenso comercio internacional de germoplasma de unas cuantas razas de animales domésticos, con supuesto alto potencial productivo, está generando que en la mayoría de las explotaciones ganaderas del mundo, solamente se produzca con individuos de razas introducidas o con animales producto del cruzamiento de tales razas con las locales; ello ocasiona una declinación del número de individuos de las poblaciones locales, e inclusive, su posible desaparición.

Los sistemas de producción animal intensiva introducidos en los países en desarrollo —si bien han sido exitosos en regiones con ambientes favorables—, en general, no han tenido el mismo éxito productivo en regiones tropicales y semidesérticas, porque entre

otros aspectos, con algunas excepciones, las razas importadas que se utilizan, no pueden sostener una alta producción en ambientes menos favorables, además de que exigen una gestión intensiva y elevados niveles de insumos [FAO, 2000; Weiner, 1994].

A pesar de estas limitaciones, los sistemas intensivos de producción y sus razas comerciales continúan siendo introducidos en los países en desarrollo, originándose con ello, un grave proceso de desaparición de las razas y poblaciones locales por la práctica de sustitución, absorción o cruzamiento [Anderson, 2003; FAO, 2003; Rege y Gibson, 2003]. Dicho proceso de erosión genética —según indica la FAO— debería controlarse, ya que las razas locales aún permanecen como una opción para producir en condiciones ambientales difíciles.

Desgraciadamente, la mayoría de las razas amenazadas en el mundo no son objeto de ninguna actividad ya establecida de conservación, ni de gestión, tampoco de políticas específicas, con lo cual, la tasa de extinción de estas razas se encuentra en aumento. El actual desgaste de la diversidad animal y de la variabilidad genética de las especies domésticas, se ha convertido en uno de los problemas científicos de mayor vigencia para asegurar la estabilidad de los sistemas alimentarios del mundo [MOPU, 1990].

La problemática antes señalada pone en relevancia la necesidad de realizar investigación en cada país, la cual tiende a conservar, evaluar y mejorar los recursos genéticos locales, para, a partir de ellos, intentar dotar —a los ganaderos— de animales mejorados, producidos bajo sistemas sostenibles.

¿Por qué es importante la conservación de razas locales?

La riqueza de una especie y su capacidad de permanencia, a lo largo de los siglos, reside en la gran cantidad de variantes genéticas (razas) que tenga; ello le permite enfrentarse a enfermedades, cambios climáticos y otros factores; mueren unas razas, pero sobreviven otras que constituyen una fuente de genes, con posibilidad de empleo en sistemas de producción de niveles bajos de insumos, en regiones con limitantes y dificultades para la producción de alimentos.

Es común establecer que su alimentación se conforma de insumos de baja calidad, que desarrollaron resistencia al estrés climático, a parásitos y a enfermedades locales; características que las hacen idóneas para su uso en sistemas de producción sostenible. También, estas razas constituyen una fuente de genes que puede ser utilizada para mejorar los caracteres de salud y de rendimiento de las razas usadas actualmente en la producción animal industrializada.

Asimismo, la conservación de razas locales es importante porque ante la posibilidad de futuros escenarios de cambio climático del planeta o la aparición de nuevas enfermedades, más de una de esas razas nativas o locales podrían sobrevivir y producir de mejor manera en comparación con las razas especializadas en boga [Alderson, 1990; Comte, 1991; FAO, 2000; NRC, 1993].

Los recursos genéticos se cuentan entre los bienes más valiosos y estratégicamente

importantes que posee una nación; por ello, varios países realizan esfuerzos importantes para su conservación, evaluación y aprovechamiento. Desafortunadamente, países como el nuestro, con menos desarrollo, poseemos más reservorios de razas autóctonas o de poblaciones locales y tenemos las mayores tasas de extinción por carecer de políticas de conservación y gestión específicas [FAO-UNEP, 2000].

¿Cómo se encuentra la conservación de razas locales en nuestro país?

México cuenta aún con poblaciones locales de animales domésticos que, por cuestiones de aislamiento geográfico o por procesos de marginación socio-económica de sus dueños, se han mantenido con nulo o escaso contacto genético con poblaciones foráneas especializadas. Tal es el caso de las poblaciones continentales de guajolotes nativos, gallinas criollas [Izquierdo *et al.*, 1999], cerdos pelones [Lemus *et al.*, 2001], ovinos de los altos de Chiapas [CONARGEN, 2000; Perezgrovas, 1995; Sierra, 1997], así como de poblaciones de ovinos y caprinos en algunas islas mexicanas [GECI, 2002; Ván Vuren y Coblentz, 1989].

Precisamente, la población ovina de la Isla Socorro, por su aislamiento geográfico y genético y por las condiciones difíciles de su desarrollo, podría representar una fuente de recursos genéticos para contribuir a la mejora de la producción ovina mexicana.

Desgraciadamente, la población ovina de la Isla Socorro está en riesgo de ser aniquilada, de ahí la necesidad de su rescate y evaluación desde el punto de vista genético y productivo, ya que podría poseer características de utilidad tanto en raza pura como en cruzamientos, además de ser organismos específicos de esta localidad mexicana.

Un ejemplo es el de Nueva Zelanda, país que adoptó una política nacional para rescatar y aprovechar a más de una docena de poblaciones ovinas ferales [RBCSNZ, 2003]; esto contrasta con lo hecho hasta ahora por México, en donde, por falta de programas de conservación *ex situ* de recursos genéticos ferales, se están perdiendo las cabras de origen ruso de la Isla de Guadalupe y ahora también se encuentra en riesgo la población de borregos de la Isla Socorro.

Por todo lo anterior, la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Colima, con base en los lineamientos de la “Estrategia Mundial para la Ordenación de los Recursos Genéticos de los Animales de Granja”, coordinada por la FAO, informa a la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales [SEMARNAT], específicamente a la Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas [CONANP], y a la Dirección General de Vida Silvestre (DGVS), de un estudio para rescatar y evaluar —*in situ* y *ex situ*— este recurso genético nacional, en lugar de destruirlo. Este planteamiento tiene acciones iniciales inmediatas de caracterización fenotípica de la población, así como también el de impulsar el diseño de un macroproyecto con participación interinstitucional y gubernamental que comprenda tanto acciones de conservación, como de investigación en los ámbitos sanitario, productivo, etológico y de caracterización genético-molecular, entre otros.

Biodiversidad y conservación (una visión parcial)

El hecho de declarar a la Isla Socorro “zona de reserva biológica”, dada su riqueza natural, tiene implicaciones de conservación; por esta situación, se ha determinado la erradicación de la población ovina feral ahí existente; ya que —según la CONANP— el sobrepastoreo que produce está contribuyendo, en forma directa e indirecta, a la declinación de la biodiversidad y a su cambio (en lo general). No obstante lo anterior, la CONANP no ha tomado en cuenta que la población ovina de la Isla Socorro también es un recurso biológico que, probablemente, por su aislamiento genético y por el proceso de adaptación, hoy en día podría poseer características interesantes de resistencia y rusticidad —desde los puntos de vista científico y productivo— para la ganadería ovina mexicana en lo particular, y como un recurso biológico en lo general, con las consecuencias nefastas que esto implica el llevar a cabo su sacrificio.

En tal contexto, se debería de ponderar el fenómeno de una destrucción violenta, dado que se desconocen las implicaciones de este exterminio, no sólo en términos de tipo zootécnico, sino de las relaciones establecidas en las cadenas tróficas a lo largo de más de una centuria que, seguramente, se desarrollaron con la presencia de los borregos en la Isla Socorro.

Por ello, se deben valorar las evidencias de tipo empírico, las cuales señalan las relaciones ecológicas que establecieron los borregos en las cadenas tróficas de la Isla Socorro. Por ejemplo, es conocido el consumo que hacen algunas aves de presa a los borregos, específicamente de crías recién nacidas o corderos jóvenes.

En este sentido, se desconoce cuáles son las implicaciones favorables y la forma en que contribuyen las bostas de los ovinos al ecosistema, pues se sabe de las relaciones importantes que se establecen con la biota edáfica y la presencia de los excrementos en sistemas silvo-pastoriles [Rodríguez *et al.*, 2003; Soca, 2005].

Es así como el estudio de los ovinos *in situ*, determinará el conocimiento de su relación con su ambiente actual y esto permitirá realizar un mejor enlace con la conservación *ex situ* en el área continental. Adicionalmente, se podría realizar una estimación del tamaño de la población, pues la información existente no es reciente y con ello se desconoce la magnitud del ecocidio.

Los ovinos de la Isla Socorro: importancia científica, riesgo de extinción y acciones para su rescate

La Isla Socorro pertenece al Archipiélago de las Islas Revillagigedo y se localiza a 720 km al oeste de Manzanillo, Colima, México; en ella se encuentra una población ovina (*Ovis aries*), descendiente de un núcleo de 100 reproductores merinos introducidos, en 1869, desde Australia [Hanna, 1926; Velasco, 1982], cuya talla poblacional actual se desconoce, aunque fue estimada en 2,000 individuos en el año de 1990 [Álvarez *et*

al., 1994].

Dicha población doméstica, ante la ausencia de un manejo y control zootécnico, se convirtió en silvestre (feral) y, por sí sola, fue ocupando el espacio isleño, en un proceso de adaptación a las condiciones ambientales tropicales, soportando, entre otros aspectos: penurias alimenticias, carencia de agua dulce, cacería constante, efectos directos e indirectos de la actividad del volcán “Evermann”, así como los ciclones y tormentas que, anualmente, pasan por la zona.

Es de suponerse, por el aislamiento genético prolongado y la pequeña talla efectiva del hato fundador, que en esta población se generaran procesos de endogamia, selección, deriva genética o alguna combinación de ellos, y que, posiblemente, permitieron fijar ciertas características o variantes genéticas nuevas, ausentes en los rebaños domésticos actuales; entre ellas, algunas características de adaptación a condiciones ambientales extremas. Al respecto, diferentes investigadores en el mundo, documentaron hallazgos de este tipo en otras poblaciones ferales [Baker y Maxwell, 1981; Berger, 1991; Bowman, 1993; Hall y Moore, 1986; Van Vuren y Hendrick, 1989]. De haber sucedido ello, los ovinos ferales de la Isla Socorro tendrían un valor potencial desde los puntos de vista científico y comercial [FAO-UNEP, 2000], similar al de las razas ovinas ferales de las pequeñas islas de Nueva Zelanda [RBCSNZ, 2003].

Por otra parte, es necesario resaltar que —en particular para la ovinocultura mexicana— el monitoreo y la evaluación productiva de los recursos genéticos, representan unas de las demandas de investigación más apremiantes, pues existe la necesidad de desarrollar grupos raciales adecuados a las condiciones de producción de las diferentes regiones agro-ecológicas del país [CONARGEN, 2000].

Por lo anterior, tanto la evaluación sanitaria, como las de potencial zootécnico de esta población feral deberían realizarse, ya que ello permitirá valorarla como fuente de material genético para introducir —en regiones continentales y con limitaciones ambientales— la producción animal.

Sin embargo, es importante mencionar que existen aspectos no muy afortunados, pues diferentes autores plantearon que la población ovina genera un sobrepastoreo, con la consecuente contribución a la erosión de la isla y, por ende, a la desaparición de vegetación y fauna endémica [Castellanos y Ortega, 1994; Ortega, 1992]. Para México es muy importante la Isla Socorro junto con las demás islas del Archipiélago de las Revillagigedo, por su gran riqueza biológica (ya que hay más de 50 especies endémicas de plantas y animales), así como por su importancia geológica; con ese fundamento y por decreto presidencial de 1994, fue declarada como Área Natural Protegida, con el carácter de Reserva de la Biosfera. A partir de entonces, se viene definiendo un programa de manejo integral con el objetivo de salvaguardar la riqueza natural y la biodiversidad [CONANP, 2003].

En lo que concierne a los ovinos, por el impacto ecológico generado, el programa

toma en cuenta la opinión de diversos investigadores [Álvarez *et al.*, 1994; Flores y Martínez, 1994; León de la Luz *et al.*, 1994], de tal forma que determinó la necesidad de erradicarlos; recientemente lograron que la Cámara de Diputados del Congreso de la Unión respaldara dicha decisión [Gaceta Parlamentaria, 2005]. De hecho, la última noticia que se tiene es que el “Grupo de Ecología y Conservación de las Islas, A. C”, organismo especializado en erradicación de fauna exótica en islas, a solicitud de diferentes dependencias de la SEMARNAT (Instituto de Ecología, DGVS y CONANP), tiene programado iniciar el aniquilamiento de los borregos a principios de abril de 2006 [comunicación personal]; tal y como ya lo hizo con los borregos, cerdos y otra fauna exótica en la Isla Clarión, otra de las islas del archipiélago Revillagigedo [GECI, 2002], así como con las cabras de origen ruso de la Isla de Guadalupe y la Isla Espíritu Santo, cercanas a la península de Baja California [Aguirre *et al.*, 2004].

La información presentada ilustra dos problemáticas mundiales de gran relevancia y actualidad: por un lado, el deterioro de los ecosistemas isleños y por otro, la pérdida de recursos zoogenéticos. En este caso particular de la Isla Socorro, tanto la conservación y restauración de la isla son importantes, como también lo es conservar el germoplasma ovino local. Si los ovinos en cuestión fueran de reciente introducción, no habría justificación científica alguna para conservarlos, pero por la antigüedad de su presencia en la isla y los procesos de adaptación y aislamiento genético que han tenido lugar, esta población tiene un valor genético real. Sacrificar esta raza sería perder un recurso genético inapreciable. El traslado al continente de muestras de la población de tamaño efectivo suficiente para su conservación *ex situ* y su evaluación *in situ*, con una reducción de la población, sería la decisión más adecuada y razonable, ante la amenaza de su extinción, pues los costos y dificultades son relativos [Bodó, 1995; FAO, 2000; FAO-UNEP, 2000; Van Vuren y Hedrick, 1989].

Por todo esto, la FMVZ de la Universidad de Colima plantea, como iniciativa, la conservación y rescate de los ovinos de la Isla Socorro (hasta el momento se iniciaron estudios de caracterización *in situ* de la población ovina). Lamentablemente, es un proyecto reciente con avances incipientes, con un ritmo de trabajo lento, ya que está supeditado al otorgamiento de permisos federales de larga tramitología, al acceso cada tres semanas a la isla, así como a la presentación de tormentas y ciclones que limitan la comunicación marítima, por lo que, el grupo de la Universidad está contra el tiempo, puesto que la sentencia ya fue dictada; solamente se esperan los recursos económicos para invertirlos en sacrificar a los ovinos. Este apoyo financiero bien puede ser dirigido para su conservación *ex situ*, en donde la Universidad de Colima puede ser depositaria de este material genético y, por otra parte, disminuir de manera apreciable el número de ovinos en la isla.

Con estos antecedentes, surgen de manera inmediata algunos cuestionamientos: ¿Cómo conservar exterminando?, planteamiento dicotómico, en donde, además, se evidencia una falta de coordinación institucional, pues a la SEMARNAT, quien tiene

que ver con la biodiversidad, en este caso, el recurso ovino no le interesa; y, por otra parte, la Secretaría de Ganadería, Agricultura, Desarrollo Rural Pesca y Alimentación (SAGARPA), quienes tienen la responsabilidad de velar por la conservación de los recursos zoogenéticos nacionales, no tiene injerencia en esta decisión de exterminio. Luego, entonces: ¿Cuál es el grado de integración institucional en la toma de decisiones trascendentales en bien de la nación?

Por otro lado, la Secretaría de Marina también debería fijar su postura al respecto, ya que la presencia de ovinos representa una fuente de proteína animal que asegura la alimentación de la milicia que resguarda la isla, ante cualquier eventualidad en el abastecimiento de víveres; de hecho, actualmente forma parte de su dieta. Por lo cual, al dejar una población reducida de borregos, el destacamento de la Marina puede lograr su control; en este aspecto cabe preguntarse: ¿También existe una coordinación institucional o se prepondera un solo criterio, una sola visión de la realidad?

Aspectos urgentes para el estudio in situ, así como para el rescate y conservación ex situ

A continuación se enumeran algunos aspectos necesarios a considerar en el rescate de los borregos de la Isla Socorro; destacan aspectos de tipo científico, político, de logística y administrativo, los cuales, en menor o en mayor magnitud, lentifican este proyecto de evaluación y conservación, entre los cuales se señalan:

- Expedición ágil y otorgamiento de permisos de mayor duración para acceder a la isla por parte de la DGVS, SEGOB y Secretaría de Marina (SEMAR) al grupo de la Universidad de Colima.
- Asesoría para la captura de la mayor cantidad de animales vivos.
- Permiso para construir cercos en varios puntos de la isla para intentar tener una captura continua.
- Permiso para introducir borregos en celo inducido para atraer machos.
- Apoyo para importación de equipo para captura (rifles proyectores de dardos, trampas de cebo, sistema de radiolocalización, etcétera).
- Auxilio en el traslado continuo (a Manzanillo) de animales que se capturen, en los barcos que normalmente efectúan los viajes de abastecimiento.
- Radicación de recursos económicos por parte de las autoridades respectivas para agilizar este proceso de conservación *in situ* y *ex situ*.
- Tiempo para realizar este rescate y conservación de los borregos de la Isla Socorro.

Perspectivas actuales

A la fecha ya se han realizado expediciones de reconocimiento y estudio preliminar de los ovinos; asimismo, para evitar la posible extinción de la población, se están realizando los trámites para trasladar muestras poblacionales de talla efectiva suficiente a explotaciones pecuarias al estado de Colima, donde se pretende evaluar (*ex situ*) dicho germoplasma.

Una tendencia innovadora para la ganadería, en la actualidad, es la promoción de ranchos de animales silvestres o ferales (Ntiamoa-Baidu, 1998; Government of Nepal, 2003), como una alternativa de desarrollo sustentable. Dicha opción fue pensada para recuperar un número importante de animales en peligro de extinción [Government of Nepal, 2003]; y también como posible solución para grupos humanos que viven en situaciones marginales [Ntiamoa-Baidu, 1998; Government of Nepal, 2003], se combinan aspectos de resistencia y auto-suficiencia del animal silvestre o feral ante condiciones adversas, para incrementar las tasas de producción y disminuir los costos [Buckner, 2005]. Por la problemática descrita, para los borregos de la Isla Socorro, este tipo de ranchos, aparece como una oportunidad para México, fenómeno que se puede ubicar en el estado de Colima y con ello tener una salida honrosa. Sin duda, es necesario entender las condiciones en las que actualmente viven para lograr un enlace apropiado con su conservación *ex situ*, pues muchos de los hábitos de este tipo de animales —en las áreas silvestres— están influenciados por su entorno y son necesarios de conocer para predecir apropiadamente la reacción de estos animales a un ambiente doméstico.

Otra opción es la conservación *ex situ* e *in vitro* de semen, ovocitos, embriones o tejidos de los ovinos de la Isla Socorro mediante crioconservación, como única opción viable de conservación ante la premura para su rescate. No obstante, habrá que reflexionar en los tiempos de operación para realizarla, ya que para asegurar, con alto grado de confianza, la conservación de una raza ovina en peligro (mediante crioconservación), se requiere una muestra mínima de 7,956 dosis de semen y de 516 embriones [FAO, 1998; Oldenbroek, 1999]. La crioconservación puede, a futuro, regenerar una raza y sería una medida de seguridad ante los riesgos de exterminio, como en el caso de los borregos de la Isla Socorro.

Por todo lo descrito aquí, es necesario cuantificar los costos para la colecta y conservación, además de la inversión tanto en equipo como en instalaciones, que no se tienen de momento. Aunque por las implicaciones, requerirá pensar en alianzas inmediatas con otras instituciones mexicanas que tengan posibilidades de realizarla.

No obstante lo anterior, es necesario puntualizar que, para la Convención de la Diversidad Biológica de la ONU, la crioconservación como único medio de preservación de una raza en peligro de extinción, es la última opción que debe tomarse; y, en cambio, recomienda que la conservación *in situ* sea el método prioritario, el cual debe ser complementado con esquemas de mantenimiento *ex situ* [FAO, 1998].

A manera de reflexión

- La conservación y restauración de la Isla Socorro son sumamente importantes; hay que concederle la más alta prioridad; pero también es necesario otorgarle consideración al germoplasma ovino local. Si los ovinos en cuestión fueran de reciente introducción, no habría justificación científica alguna para preservarlos, pero por la antigüedad de su presencia en la isla, esta población tiene un valor genético real, y debe ser estudiada, aprovechada y, por supuesto, conservada.
- Los borregos no tienen la culpa de estar ahí. Hagamos esfuerzos para darnos una salida digna; la erradicación no es la solución, busquemos las mejores opciones y sepamos construir un mejor entorno.
- En la actualidad, con el uso de modernos recursos tecnológicos y métodos de exterminio, erradicar una población feral —como los borregos de la Isla Socorro— no llevará más de 50 horas; pero los resultados de esta acción, a mediano y largo plazo en el ecosistema, son de pronóstico reservado, sin duda. Reflexionemos que las fuerzas selectivas de la naturaleza y el azar tardaron 135 años en darnos un material genético que el hombre pretende destruir en unas cuantas horas. Para la naturaleza, crear, construir, diseñar, lleva mucho tiempo, ¿cuánto tiempo necesitamos para darle un enfoque y solución diferente a este problema? ¿lograremos la restauración del ecosistema isleño destruyendo un material genético de esta índole?

Literatura citada

- Aguirre-Muñoz, A.; García-Gutiérrez, C.; Luna-Mendoza, L.; Casillas-Figueroa, F.; Rodríguez-Malagón, M.; Hermosillo-Bueno, M. A.; Villalejo-Murillo, A.; Maytorena-López, F. J.; Silva-Estudillo, N. y Samaniego-Herrera, A. 2004. Restauración ambiental de la Isla Guadalupe México: Avances en la erradicación de la población de cabras ferales. Reporte Técnico. Grupo de Ecología y Conservación de Islas, A. C. Ensenada, B. C. Diciembre de 2004. 11 pp.
- Alderson, L. 1990. Genetic conservation of domestic livestock. Wallingford, UK, CAB International. 238 p.
- Álvarez, C. A.; Castellanos, V. A.; Galina, T. P.; Ortega, R. A. y Arnaud, G. 1994. Aspectos de la población y el hábitat del borrego doméstico (*Ovis aries*). En: Ortega, R. A. y Castellanos, A. V. Eds. La Isla Socorro, Reserva de la Biosfera Archipiélago de Revillagigedo, México. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. pp. 301-317.
- Anderson, S. 2003. Animal genetic resources and sustainable livelihoods. *Ecological Economics*. 45: 331-339.
- Baker, C. and Maxwell, C. 1981. Fiercely feral: on the survival of domesticates without care from man. *Zeitschrift für Tierzucht und Züchtungsbiologie*. 98:241-257.

- Berger, J. 1991. Funding asymmetries for endangered species, feral animals, and livestock. *Bioscience*. 41:105-106.
- Bodó, I. 1995. Minimum number of individuals in preserved domestic animal populations. In: Proceedings of the third global Conference on Conservation of domestic animal resources (Crawford, R. and Lister, E., editors). Rare Breeds International. Pp. 57-65.
- Bowman, D.M. 1993. Rare and endangered: The Banteng. *Australian Natural History*. 24:79-82.
- Buckner, J. *Farming & Wildlife in Missouri*. Private Land Specialist, Missouri Department of Conservation: <http://www.conservation.state.mo.us/landown/cropland/farming> (Consultada: 21 de julio de 2005).
- Castellanos, A. V. y Ortega, R. A. 1994. Características Generales de la Isla Socorro. En: Ortega, R. A. y Castellanos, A. V. Eds. *La Isla Socorro, Reserva de la Biosfera Archipiélago de Revillagigedo, México*. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. pp. 19-29.
- CONANP (Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas). 2003. Programa de Manejo de la Reserva de la Biosfera Archipiélago de Revillagigedo. SEMARNAT. México, 129 p.
- Comte, M. 1991. La diversidad es supervivencia. No podemos perder nuestras opciones vitales. *CERES*. 23(6):15-19.
- CONARGEN (Consejo Nacional de los Recursos Genéticos Pecuarios, A. C.). 2000. Plan de Acción. México. 127 pp.
- Constantino, D. 1982. Observaciones sobre el aparato reproductivo de cabras gestantes sacrificadas en el rastro. *Veterinaria México*. 13(1):1-5.
- FAO (Food and Agriculture Organization). 1998. Gestión de pequeñas poblaciones en peligro. Segundo documento de líneas directrices para la elaboración de planes nacionales de gestión de recursos genéticos de animales de granja. 237 p. Roma, Italia.
- 2001. Preparación del primer informe sobre la situación de los recursos zogenéticos mundiales. Directrices para los países. *Animal Genetic Resources Information*. 30:1-40.
- 2003. Revista electrónica, *Biological Diversity in food and Agriculture*. In: http://www.fao.org/biodiversity/Domestic_en.asp. (Consultado: 1 de septiembre de 2004).
- FAO-UNEP (Food and Agriculture Organization-United Nations Environment Program). 2000. *World watch list for domestic animal diversity*. FAO, 3ed Edition. Edited By Beate Scherf. Roma, Italy. 726 p.
- Flores, A. y Martínez, J. 1994. El bosque de *Ficus cotinifolia* de Isla Socorro, Revillagigedo, México. Estructura y efectos de sobrepastoreo de borregos. En: L. Medrano, O. E. Holguín y A. Ortega (Eds.). *Reunión Internacional de Investigadores del Archipiélago Revillagigedo*. Instituto Oceanográfico del Pacífico. Manzanillo, Col. México. 16 p.
- Gaceta Parlamentaria. Año VIII, número 1730, martes 12 de abril 2005. <http://gaceta.diputados.gob.mx/Gaceta/59/2005/abr/20050412.html> (Consultada: 12 de abril de 2005).
- GECI (Grupo de Ecología y Conservación de las Islas). 2002. Reporte de actividades 2001-2002. Grupo de Ecología y Conservación de las Islas, A. C. 14 p.
- Government of Nepal. 2003. Working Policy on Wildlife Farming, Breeding and Research. Ministry of Forests and Soil Conservation, Singhdurbar, Katmandú. http://www.biodiv-nepal.gov.np/hmg_annouces_new_policy.html (Consultada: 21 de julio de 2005).
- Hall, S. y Moore, G. 1986. Feral cattle of Swona, Okney Islands. *Mammal Review*. 16: 89-96.
- Hanna, G. D. 1926. Expedition to the Revillagigedo Islands, México, in 1925. *Proceedings of the California Academy of Sciences*. 15(1):1-113.
- Izquierdo, E. C.; Segura, J.; Sánchez, F. and Arenas, M. 1999. Genotype and birth season on age at first egg and productive indicators of Criollo hens of Colima state. *Cuban Journal of Agricultural Sciences*. 33 (1):63-68.
- León de la Luz, J. L. 1994. La vegetación de la Isla Socorro. En: L. Medrano, O. E. Holguín y A. Ortega

- (Eds.). Reunión Internacional de Investigadores del Archipiélago Revillagigedo. Instituto Oceanográfico del Pacífico. Manzanillo, Col. México p. 17.
- Lemus-Flores, C.; Ulloa-Arvizu, R.; Ramos-Kuri, M.; Estrada, F. J. and Alonso, R. A. 2001. Genetic analysis of mexican hairless pig populations. *J. Anim. Sci.* 79:3021-3026.
- MOPU (Ministerio de Obras Públicas y Urbanismo). 1990. Desarrollo y medio ambiente en América Latina y el Caribe. Una visión evolutiva. Secretaría General del Medio Ambiente. España. pp. 212-224.
- NRC (National Research Council). 1993. Livestock/Committee on Managing Global Genetic Resources. National Academy of Sciences. Washington, D.C. 450 p.
- Ntiemoa-Baidu, Y. 1998. Wildlife utilization and food security in Africa. FAO Corporate Document Repository. http://www.fao.org/documents/show_cdr.asp?url_file=/docrep/W7540E/w7540e0h.htm. (Consultada: 21 de julio de 2005.)
- Oldenbroek, J. K. 1999. Genebanks and the conservation of farm animal genetic resources. DLO Institute for Animal Science and Health. The Netherlands. 120 p.
- Ortega, A. 1992. Recursos naturales de la Isla Socorro, Revillagigedo, México. *Ciencia*. 45:175-184.
- Perezgrovas, R.; Parry, A.; Peralta, M.; Pedraza, P. y Castro, H. 1995. Wool Production in Chiapas Sheep: Indigenous Knowledge Provides the Basis for Selection. In: Conservation of Domestic Animal Genetic Resources. R. D. Crawford, E. Lister y J. Buckley (Editors). Rare Breeds International (UK) and AgriFood Canada. pp. 240-244.
- RBCSNZ (Rare Breeds Conservation Society of New Zealand). 2003. About Feral Sheep in New Zealand. <http://www.rarebreeds.co.nz/ferals.html> (Consultada: 1 de septiembre de 2004).
- Rege, J. y Gibson, J. 2003. Animal genetic resources and economic development: issues in relation to economic valuation. *Ecological Economics*. 45:319-330.
- Rodríguez, I.; Crespo, G.; Fraga, S.; Rodríguez, C. y Prieto, D. 2003. Actividad de la mesofauna y la macrofauna en las bostas durante el proceso de descomposición. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 37:319.
- SEMAR (Secretaría de Marina). 2001. Elaboran las Secretarías de Marina y del Medio Ambiente el programa de recuperación ecológica en la Isla Socorro. Archipiélago Revillagigedo. Comunicado de prensa No. 111/01.
- Sierra, A. 1997. La conservación de los recursos genéticos animales en México. 1er. Congreso Nacional sobre Conservación de Recursos Genéticos Animales. Córdoba, España. Pp. 149-152.
- Soca, M. 2005. Los nemátodos gastrointestinales de los bovinos jóvenes. Comportamiento en los sistemas silvo-pastoriles cubanos. Tesis de Doctorado. Universidad Agraria de La Habana y Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey". La Habana, Cuba.
- Van Vuren, D. y Coblenz, B. E. 1989. Population Characteristics of feral sheep on Santa Cruz Island. *Journal of Wildlife Management*. 53(2):306-313.
- Van Vuren, D. y Hedrick, P. W. 1989. Genetic Conservation in Feral Populations of Livestock. *Conservation Biology*, 3: 312-317.
- Velasco, M. M. 1982. Colima y las Islas de Revillagigedo. Universidad de Colima, México. 150 p.
- Weiner, G. 1994. Animal breeding. Series the tropical agriculturalist. MacMillan Press Ltd. London, Vasingstoke, England. 208 p.