

AHORA
en línea!

scientia

CUCBA

DICIEMBRE DE 2006

VOLUMEN 8 NÚMERO 2



Universidad de
Guadalajara
Centro Universitario de
Ciencias Biológicas y
Agropecuarias

COORDINACIÓN DE
INVESTIGACIÓN

CONTENIDO

Colorantes orgánicos de hongos y líquenes
Martha Cedano Maldonado y Luis Villaseñor Ibarra **141**

Perspectivas de producción de hongos comestibles (*Pleurotus* spp.) en la región nordeste del estado de Nuevo León
Ramón Rodríguez Macías, Rigoberto González González, Mario A. Ruiz López, Pedro M. García López, Jesús Ruiz Moreno, Juan F. Zamora Natera y Eduardo Salcedo Pérez **163**

Variación en la tipología del cambio de uso del suelo en el área de protección de flora y fauna «La Primavera» para el periodo 1980-2002
Agustín Gallegos Rodríguez, Efraín Abundio Ramírez, Servando Carvajal, Juan Espinosa Aréchiga y Jesús Hernández Alonso **171**

Estudio de las poblaciones de *Fusarium* (Sección *Liseola*) aisladas de híbridos de maíz cultivados en México
Rosa Marina Figueroa-Gómez, María Marta Reynoso, César Enrique Castro-Zambrano y Waldina Patricia Reyes-Velázquez **181**

Diversidad genética de *Pinus ayacahuite* utilizando marcadores RAPDs en genoma diploide y haploide
Patricia Castro-Félix, Carmen Ramos Navarro, Jorge A. Pérez de la Rosa, Georgina Vargas Amado y Alma Rosa Villalobos-Arámbula **193**

continúa en la contraportada

CONTENIDO (continuación)

Identificación de polimorfismo entre hijuelos y plantas micropropagadas de *Agave tequilana* y *Agave cocui* usando ISTRs

Martha Isabel Torres-Morán, Moisés Martín Morales-Rivera, Lino de la Cruz Larios
y Alma Rosa Villalobos Arámbula **203**

Evaluación de variedades sintéticas y cruzas intervarietales de maíz para Poncitlán, Jalisco

Nicolás Solano Vázquez, Eduardo Rodríguez Guzmán, José Ron Parra, José de Jesús Sánchez González, Rogelio Lépiz Ildefonso, Salvador A. Hurtado de la Peña **207**

Estabilidad del rendimiento, triptofano y proteína en maíces de alta calidad de proteína tropicales

Florencio Recendiz Hurtado, †M. Abel García Vázquez, José de Jesús Sánchez González, José Ron Parra, Salvador Mena Munguía y Norberto Carrizales Mejía **217**

Distancias genéticas entre *Agave tequilana* Weber var. Azul y especies y variedades afines

Xochitl Marisol Cuevas Figueroa y Ericka Patricia Flores Berrios **231**

Diagnóstico sobre la producción de frijol y problemas asociados en el área de Colotlán, Jalisco, México

Rogelio Lépiz Ildefonso, J. Eleazar Sánchez Valenzuela, Juan Francisco Casas Salas
y Santiago Sánchez Preciado **251**



Consulte esta y otras publicaciones vía internet en
www.cucba.udg.mx/new/publicaciones

Colorantes orgánicos de hongos y líquenes*

Martha Cedano Maldonado y Luis Villaseñor Ibarra

Instituto de Botánica, Universidad de Guadalajara. Apartado postal 139, 45101 Zapopan, Jalisco, México
Correo electrónico: mcedano@cucba.udg.mx - lvillase@cucba.udg.mx

Resumen: Este documento es el resultado de una investigación bibliográfica de trabajos sobre colorantes orgánicos extraídos de hongos y líquenes. Se incluye información relativa al análisis de los pigmentos y colorantes, las técnicas de obtención de los tintes y los métodos de tinción. Además, se presenta la lista de las especies, que hasta el momento se utilizan con estos propósitos.

Abstract: This article is the product of a bibliographical revision of publications regarding natural dyes from fungi and lichens. The information included here relates to the analysis of pigments and colorants, the techniques used in the extraction of dyes, methods of dyeing and a list of the species presently know to have been used for dyes.

Introducción

El uso tintóreo, no se sabe con precisión cómo apareció. Lo más probable es que su origen haya tenido una connotación religiosa y su descubrimiento fuera a través del uso medicinal, ya que muchas de las plantas utilizadas para este propósito tienen propiedades curativas (Dean 1999).

Por otra parte, la usanza de los colorantes es un acto intrínseco al hombre. Pues ha desarrollado de manera simultánea el uso de las materias colorantes y la simbología mítica del color en relación con los objetos. De ahí que los usara para pintarse el cuerpo, teñir su vestimenta, su comida, sus accesorios, los códices y hasta las casas, constituyéndose necesarios para identificar y designar a las cosas con un valor o una característica propia.

De manera específica, los colorantes naturales ostentan gran importancia en la historia del hombre. En épocas pasadas, tuvieron tal demanda, que para algunos países fueron el mayor rubro de las exportaciones, después de los metales preciosos.

Hoy día, existe interés mundial por retomar el uso de los tintes orgánicos, para la tinción de alimentos, cosméticos, medicamentos e incluso textiles. A causa de la adición de sustancias químicas en dichos productos, es que estudios médicos reportan daños a la salud, que van desde simples alergias hasta cánceres en diferentes tejidos (Piña 1977).

PARTICULARIDADES SOBRE LOS COLORANTES NATURALES

Es probable que el uso de los colorantes naturales haya iniciado alrededor de los 15,000 años y, desde entonces, formen parte de la historia e identidad de diferentes culturas. Pues el hombre desde la prehistoria hasta la mitad del siglo XIX, a teñido con ellos todo lo que le rodea. La prueba de esto, son las pinturas encontradas en las cuevas de Lascaux en Francia, y Altamira en España, así como los objetos que han perdurado a través del tiempo y que se han descubierto en algunas excavaciones arqueológicas. Tal es el caso,

* El artículo corresponde a la traducción del capítulo: Cedano Maldonado, M. and L. Villaseñor Ibarra, 2005. Organic Dyes from Fungi and Lichens. Chapter 16. pp 375–406. In: Deshmukh, S.K and M. K. Rai (Editors). Biodiversity of Fungi: Their Role in Human Life. Oxford & IBH Publishing Co. Pvt. Ltd. New Delhi.

de algunas prendas encontradas en la India, China y Sudamérica que datan de 4,000 a 3,000 a.C., hasta hoy son las señales más antiguas sobre el uso de tintes para colorear textiles (Dean op. cit).

Por otra parte, los colorantes naturales se obtienen sólo de fuentes naturales. Por tradición, se extrajeron en principio de materiales de origen vegetal, mineral y animal. De ellos, se obtenían todos los colores deseables. De las plantas se utilizaron las hojas, tallos, maderas, cortezas, raíces, flores, semillas o frutos. Los minerales aprovechados con este propósito se adquirían de tierras y piedras. En cuanto a los colorantes provenientes de animales, eran obtenidos de organismos marinos invertebrados, como los crustáceos y moluscos. Tal es el caso de caracoles de los géneros *Purpura* (Turok et al. 1988), *Plicopurpura*, *Murex* o *Thais*, de los cuales se aprovechan las secreciones de sus cuerpos o se les extrae la glándula productora del tinte (Michel 2002). De los insectos se tienen datos sobre «la cochinilla» o «grana del nopal», del cual se usa la hemolinfa (Vigueras Guzmán et al. 2001). Así como de varias especies de «kermes», que presentan el colorante en los huevos de las hembras o en la resina que secretan en árboles del género *Acacia* (Dean op. cit.).

EL DESUSO DE LOS COLORANTES NATURALES

La mayoría de los tintes naturales se obtenían de plantas superiores y algas, por su alto contenido de los mismos. Gran cantidad de estos colorantes se utilizaban en el teñido de fibras en tintorería. La demanda era bastante, al grado de ser cultivadas a gran escala, convirtiéndose en una importante fuente de ingresos para los países productores de estas especies tintóreas (Lock Sing de Ugaz 1997).

Sin embargo, la importancia de estos colorantes naturales disminuyó a finales del siglo XIX, a causa del descubrimiento y perfeccionamiento de los colorantes derivados del alquitrán de hulla mejor conocidos

como anilinas. Dichos sucesos provocaron que los tintes orgánicos fueran reemplazados al cien por ciento por los sintéticos. Hasta el punto de que las empresas productoras de estos materiales se arruinaron totalmente antes de que finalizará el siglo. Dando inicio a la industria moderna de los colorantes sintéticos que fueron acogidos por el público, quién los consideró de mayor calidad y menor costo que los escasos colorantes naturales (Cedano et al. 2001).

Antecedentes del uso tintóreo en líquenes y hongos

Históricamente, los líquenes son los únicos organismos que han participado en este aspecto; se tienen registros que desde hace 2,000 años se utilizan para extraer colorantes de color púrpura y rojo (Dean 1999). En específico se cita a Freco, un florentino, que en el año 1300, utilizó varias especies del género *Roccella* para obtener la Orcina (Kok 1966), colorante que fue muy utilizado en tintorería. En esa misma época, se obtuvo el colorante llamado Tornasol, de los géneros *Roccella* y *Lecanora*. El cual no tuvo ninguna importancia en tintorería, pero actualmente su aplicación es como indicador; siendo el componente principal en la preparación de suero indicador de ciertas bacterias, o para teñir pasteles, licores, aceites y quesos (Rice y Beebee 1980).

En trabajos actuales, como el de Upton (1990) y Chambers (1990), citan a especies de los géneros: *Xanthoria*, *Cetraria*, *Dactylina* y *Thamnia*, como líquenes que en la actualidad pueden utilizarse por sus propiedades tintóreas. En investigaciones recientes, Cedano (1994) señala a *Parmelia* y Dean (1999) a algunas especies de *Roccella*, *Ochrolechia*, *Umbilicaria* y *Lasallia* (cuadro 1).

La introducción de los hongos a este campo en realidad tiene poco tiempo. Hasta el momento, se desarrollan solo dos líneas de investigación: una de ellas, regida por el interés en conocer la composición química

Cuadro 1. Especies tintóreas de líquenes. La lista de las especies sigue el orden taxonómico propuesto en el Index Fungorum.

SPECIES	COLOR
ARTHONIALES	
ROCELLACEAE	
<i>Rocella fuciformis</i> (L.) D.C.	Orcina: combinación de los colores púrpura, rosa, lila, fucsia, rojo
<i>Rocella montagnei</i> Bél.	Orcina: combinación de los colores púrpura, rosa, lila, fucsia, rojo
<i>Rocella peruensis</i>	Orcina: combinación de los colores púrpura, rosa, lila, fucsia, rojo
<i>Rocella tinctoria</i> D. C.	Orcina: combinación de los colores púrpura, rosa, lila, fucsia, rojo
LECANORALES	
<i>Thamnia subuliformis</i> (Ehrh.) W. L. Culb.	Amarillo, anaranjado, rojo y diferentes tonos de verde
<i>Thamnia vermicularis</i> (Sw.) Ach. ex Schaer.	Anaranjado brillante, verde y púrpura
LECANORACEAE	
<i>Lecanora</i> sp.	Orcina: combinación de los colores púrpura, rosa, lila, fucsia, rojo
PARMELIACEAE	
<i>Cetraria delisei</i> Bory ex Schaer	Amarillento al marrón oscuro
<i>Cetraria tilesii</i> Ach	Azul verde, amarillo, verde y amarillo fluorescente
<i>Dactylina artica</i> (Hook. f.) Nyl.	Lila
<i>Evernia</i> sp.	Orcina: combinación de los colores púrpura, rosa, lila, fucsia
<i>Parmelia</i> sp.	Marrón
UMBILICARIACEAE	
<i>Umbilicaria</i> sp.	No reportado
<i>Lasallia</i> sp.	No reportado
PERTUSARIALES	
PERTUSARIACEAE	
<i>Ochrolechia tartarea</i> (L.) A. Massal.	No reportado
TELOCHISTALES	
TELOSCHISTACEAE	
<i>Xanthoria ectaneoides</i> (Nyl.) Zahlbr.	Azul

de los pigmentos presentes en los hongos, como los trabajos de Arpin (1971), Sundstrom (1980) y Gill (1994), en los cuales se analizaron las sustancias naturales que se presentan y dan color a los tejidos de los carpóforos en algunas especies de Basidiomycetes.

La otra área de estudio va dirigida a la extracción de los colorantes naturales que se encuentran en estos organismos. A manera de informes, se señalan los resultados de Rice (1975, 1990) y Rice & Beebee (1980), quienes obtuvieron los colorantes en forma líquida y fueron probados a través del teñido de fibras. Para

ello, experimentaron con más de 100 especies pertenecientes a distintos grupos, logrando una gama completa de colores constituida por 54 tonos. Otros estudios similares, son los realizados por Cedano (1994), quien reportó cinco especies y en el de Cedano y colaboradores (2001), que probaron el potencial tintóreo de 14 taxa del grupo de los poliporáceos.

En el trabajo de Silva et al. (2002), se menciona la extracción un pigmento quinónico de *Ganoderma sessile*, a través de la técnica de Soxhlet, con el cual tiñeron un detergente para lavar trastes, sugiriendo la posibilidad de ser utilizados en otra área

de la industria, como es la de tinción de productos de limpieza.

Por último, se señala el trabajo de Cedano y Villaseñor (2002), quienes señalan que, a escala mundial, sólo se ha registrado el potencial tintóreo de 126 especies de hongos (cuadro 2), bajo la

técnica de tinción de fibras. Lo que significa que permanece una cantidad ingente de taxones pendientes de valorar su contenido y aprovechamiento como colorantes orgánicos en los diversos campos de la industria.

Cuadro 2. Colores obtenidos con los hongos probados en diferentes mordientes. (*) hongos frescos, (-) no se reporta. El orden taxonómico seguido en la tabla tiene como base el trabajo de Hawksworth et al. (1995), con excepción de los Agaricales, los cuales se arreglan de acuerdo con Singer (1986).

Especie	Sin mordiente	Mordientes				
		Sulfato Ferroso	Sulfato de Cobre	Dicromato de Potasio	Alumbre	Cloruro de Estaño
ASCOMYCOTA						
ASCOMYCETES						
HYPOCREALES						
HYPOCREACEAE						
<i>Hypomyces lactifluorum</i> (Schwein.) Tul. & Tul.	Durazno	Durazno	Durazno	Rosa salmón	Durazno	Durazno
HELOTIALES						
BULGARIACEAE						
<i>Bulgaria inquinans</i> Pers.	Negro marrón	Negro marrón	Negro marrón	Negro marrón	Negro marrón	Negro marrón
GEOGLOSSACEAE						
<i>Geoglossum viride</i> Pers.	Verde ligero	Verde ligero	Verde ligero	Verde ligero	Verde ligero	Verde ligero
XYLARIALES						
XILARIAACEAE						
<i>Daldinia concentrica</i> (Bolton) Ces. & De Not	Verde gris	Verde marrón	Verde marrón	Verde marrón	Verde gris	Verde
<i>Daldinia grandis</i> Child.	Verde marrón	Marrón	Verde marrón	Verde gris	Verde marrón	Verde marrón
PEZIZALES						
DISCINACEAE						
<i>Gyromitra infula</i> (Scaeff.) Quéf.	Beige	Marrón oscuro	Amarillo marrón	Amarillo naranja	Durazno	Anaranjado
BASIDIOMYCOTA						
BASIDIOMYCETES						
AGARICALES						
AGARICACEAE						
<i>Agaricus arvensis</i> Scaeff.	Beige	Gris cálido	Tostado	Tostado	Beige	Marrón oro
<i>Agaricus augustus</i> Fr.	Rosado tostado-amarillento	Gris tostado	Marrón oro	Gris	Tostado amarillento	Marrón oscuro
<i>Agaricus bisporus</i> (J.E. Lange) Pilát	Tostado	Tostado	Tostado	Tostado	Tostado	Tostado
<i>Agaricus campestris</i> L.	Tostado	Gris cálido	Tostado	Gris cálido	Beige	Tostado
<i>Agaricus crocodilinus</i> Murrill	Beige	Beige	Tostado verdoso	Beige	Beige	Beige
<i>Agaricus patternsonae</i> Peck	Beige	Marrón	Tostado	Tostado	Beige	Marrón
<i>Agaricus silvaticus</i> Scaeff.	Tostado	Tostado	Marrón	Marrón	Tostado	Marrón oscuro
<i>Agaricus subrufescens</i> Peck	Beige	Gris cálido	Tostado	Gris cálido	Beige	Tostado
PLUTACEAE						
<i>Amanita caesarea</i> (Scop.) Pers.	Amarillo y Gris	---	---	---	---	---
<i>Amanita muscaria</i> (L.) Hook	Amarillo y Gris	---	---	---	---	---
CLAVARIACEAE						
<i>Clavaria aurea</i> Schaeff.	---	Gris	Gris verde	---	---	---
<i>Clavulinopsis fusiformis</i> (Sowerby) Corner	Colores brillantes	---	---	---	---	---

Cuadro 2. Continuación.

Especie	Sin mordiente	Mordientes				
		Sulfato	Sulfato	Dicromato	Alumbre	Cloruro
		Ferroso	de Cobre	de Potasio		de Estaño
CORTINARIACEAE						
<i>Cortinarius annulatus</i> Peck	Amarillo	Oro	Amarillo verde	Oro	Amarillo	Oro
<i>Cortinarius aureifolius</i> Peck	Rosa salmón	Canela	Borgoña	Rosa polvoriento	Rosa salmón	Canela (ligeramente)
<i>Cortinarius californicus</i> A.H.Sm.	Durazno	Durazno	Malva	Malva	Rosa salmón	Durazno
<i>Cortinarius cinnamomeus</i> (L.) Fr.	Anaranjado* Anaranjado	Anaranjado Mostaza	Canela Anaranjado quemado	Canela Anaranjado quemado	Anaranjado Anaranjado	Anaranjado Anaranjado
<i>Cortinarius cotoneus</i> Fr.	Verde (ligeramente) * Beige	Verde aceituna Beige	Mostaza Beige	Verde amarillento ligeramente Verde aceituna	Verde (ligeramente) Beige	Verde aceituna Beige
<i>Cortinarius croceifolius</i> Peck	Rojo	Negro púrpura	---	Borgoña	Rojo vino	Rojo
<i>Cortinarius croceus</i> Fr.	Amarillo	---	---	--	Amarillo	---
<i>Cortinarius phoeniceus</i> var. <i>occidentalis</i> A. H. Sm.	Durazno *Durazno	Azul púrpura Negro azul	Gris borgoña Púrpura grisáceo	Borgoña Borgoña	Rojo vino Rosa	Rojo sangre Rojo
<i>Cortinarius sanguineus</i> (Wulfen) Fr.	Tostado	Tostado	Canela	Rosa	Anaranjado rojo	Rojo anaranjado
<i>Cortinarius semisanguineus</i> (Fr.) Gillet	Durazno	Tostado	Tostado	Canela	Durazno	Rosa Salmón
<i>Cortinarius violaceus</i> (L.) Fr.	Verde (ligeramente)	Gris cálido	Marrón gris	Tostado	Gris cálido	Tostado
<i>Dermocybe phoenicia</i> var. <i>occidentalis</i>	---	---	---	---	---	---
<i>Gymnopilus junonius</i> (Fr.) P. D. Orton	Amarillo limón pálido *Amarillo limón brillante	Amarillo limón pálido Mostaza	Amarillo limón pálido Marrón amarillo	Amarillo limón pálido Mostaza	Amarillo limón pálido Amarillo	Mostaza Oro
<i>Gymnopillus penetrans</i> (Fr.) Murrill	Oro	Amarillo grisáceo	Canela	Mostaza	Oro	Anaranjado amarillo
LYCOPERDACEAE						
<i>Lycoperdon caelatum</i> Fr.	Beige	Beige	Tostado grisáceo	Tostado grisáceo	Beige	Anaranjado
MARASMIACEAE						
<i>Omphalotus olivascens</i> H. E. Bigelow, O. K. Min & Thiers	Gris	Verde	Negro azul	Verde bosque	Lavanda	Verde azul
STROPHARIACEAE						
<i>Hypholoma capnoides</i> (Fr.) Quél.	Amarillo limón	Marrón verdoso	Marrón oro	Tostado	Beige amarillento	Anaranjado amarillo
<i>Naematoloma fasciculare</i> (Huds.) P. Karst	Amarillo *Amarillo	Marrón verdoso	Marrón amarillo	Canela Mostaza	Oro	Oro Marrón oro
<i>Pholiota kaufmaniana</i> A. H. Sm.	Limón fresco *Amarillo limón	Amarillo verdoso	Mostaza	Mostaza	Amarillo limón brillante	Anaranjado Amarillo
<i>Stropharia</i> sp.	Gris verde (ligeramente)	Gris verde	Verde sabio pálido	Gris verde	Gris verde	Tostado verdoso
TRICHOLOMATACEAE						
<i>Collybia acervata</i> Fr.	Rosa	Beige	Verde gris	Tostado verdoso	Tostado	Verde marrón
<i>Hygrophorus citrinus</i> Rea	Amarillo limón pálido	Amarillo limón pálido	Amarillo limón pálido	Amarillo limón pálido	Amarillo limón pálido	Amarillo limón pálido
<i>Hygrophorus conicus</i> (Scop.) Fr.	Beige	Beige	Verde marrón	Tostado	Beige	Mostaza
<i>Hygrophorus hypothejus</i> Fr.	Canela	Marrón	Marrón oscuro	Marrón rojo	Marrón rojo	-----

Cuadro 2. Continuación.

Especie	Sin mordiente	Mordientes				
		Sulfato Ferroso	Sulfato de Cobre	Dicromato de Potasio	Alumbre	Cloruro de Estaño
<i>Hygrophorus miniatus</i> (Fr.) Fr.	Amarillo limón	Amarillo limón	Amarillo verdoso	Amarillo verdoso	Amarillo limón	----
<i>Hygrophorus psittacinus</i> Fr.	----	----	----	Amarillo verdoso	----	Mostaza
<i>Hygrophorus puniceus</i> Fr.	----	Amarillo limón pálido	Amarillo verdoso	Amarillo verdoso	----	Amarillo limón
<i>Sarcodon imbricatus</i> (L.) P. Karst	Gris *Gris	Azul verdoso Gris verdoso	Verde Bosque Gris verdoso	Gris verdoso Gris azulado	Azul Verde Gris	Azul Azul
<i>Tricholomopsis rutilans</i> (Schaeff.) Singer	Mostaza	Negro marrón	Marrón oscuro	Marrón	Marrón	Mostaza
RUSSULALES						
EQUINODONTIACEAE						
<i>Echinodontium tinctorium</i> (Ellis & Everh.) Ellis & Everh.	Durazno	Tostado	Canela	Marrón	Anaranjado	Durazno
HERINACEAE						
<i>Hericum erinaceum</i> (Bull.) Pers.	Beige	Beige	Tostado verdoso	Beige	Beige	Tostado
<i>Inocybe maculata</i> Boerd.	Beige	Tostado	Tostado verdoso	Tostado oscuro	Beige	Marrón oro (ligeramente)
<i>Lactarius deliciosus</i> (L.) Fr.	Beige	Beige	Beige	Beige	Beige	Beige
<i>Lactarius sanguifluus</i> Fr.	Beige	Beige	Tostado	Beige	Beige	Tostado
CANTHARELLALES						
CANTHARELLACEAE						
<i>Cantharellus clavatus</i> (Pers.) Fr.	----	Lavanda	----	----	----	----
<i>Cantharellus infundibuliformis</i> (Scop.) Fr.	----	Gris tostado	Gris	Gris	Beige	Tostado
<i>Craterellus cornucopioides</i> (L.) Pers.	----	Beige	Tostado	Beige	Beige	Marrón verdoso
HYDNACEAE						
<i>Hydnum fennicum</i> P. Karst	Canela	Marrón	Marrón	Marrón oscuro	Marrón	Negro azul
<i>Hydnum fulgineoviolaceum</i> Kalchbr.	Gris	Gris cálido	Marrón gris	Marrón gris	Gris cálido	Marrón gris
<i>Hydnum fuscoindicum</i> K. A. Harrison	Gris cálido	Gris verde	Marrón verdoso	Verde	Gris verde	Verde
<i>Hydnum repandum</i> L.	---	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Ninguno
<i>Hydnum stereosarcinon</i> (Whem) K. A Harrison	Tostado	Azul gris	Azul verdoso	Azul verdoso	Azul gris	Azul gris
BOLETALES						
SCLERODERMATAEAE						
<i>Astraeus pteridis</i> Zeller	Tostado cálido	Tostado	Tostado anaranjado grisáceo	Tostado	Tostado anaranjado	Tostado anaranjado
	*Tostado cálido	Tostado verdoso	Tostado anaranjado	Tostado verdoso	Tostado anaranjado	Marrón oro
<i>Pisolithus tinctorius</i> (Pers.) Coker & Couch	Negro * Negro marrón	Negro Marrón oro	Negro marrón Negro marrón	Negro marrón Marrón	Negro Negro marrón	Negro marrón Marrón oscuro
<i>Scleroderma</i> sp.	Marrón	Marrón	Marrón	Marrón	Marrón	Marrón
BOLETAEAE						
<i>Boletus aereus</i> Secr.	----	Verde aceituna	Verde aceituna	Tostado	Amarillo limón	Anaranjado
<i>Boletus eastwoodiae</i> (Murrill) Sacc. & Trotter	Tostado	Verde aceituna	Marrón	Tostado	Tostado	----
<i>Boletus edulis</i> Bull	Amarillo	Mostaza	Marrón mostaza	Marrón oro	Amarillo verdoso	Anaranjado
<i>Boletus granulatus</i> L.	Beige	Beige	Tostado	Tostado	Tostado cálido	Anaranjado
<i>Boletus grevillei</i> Klotzsch	----	Tostado	Verde aceituna	Verde aceituna	Beige	Anaranjado quemado
<i>Boletus mirabilis</i> Murrill	Mostaza pálido	Verde aceituna	Verde aceituna	Tostado	Mostaza pálido	Anaranjado

Cuadro 2. Continuación.

Especie	Sin mordiente	Mordientes				
		Sulfato Ferroso	Sulfato de Cobre	Dicromato de Potasio	Alumbre	Cloruro de Estaño
<i>Boletus piperatus</i> Barla	Mostaza	Verde aceituna	Marrón verdoso	Marrón amarillo	Mostaza	Anaranjado quemado
<i>Gastroboletus turbinatus</i> (Snell) A.H. Sm. & Singer	Amarillo limón	Marrón	Amarillo	Canela	Mostaza	Anaranjado quemado
<i>Leccinum manzanitae</i> Thiers	----	Gris cálido	Tostado	----	Durazno	Naranja quemado
<i>Phylloporus rhodoxanthus</i> (Schwein.) Bres	Beige	Tostado	Tostado verdoso	Beige	Beige amarillento	Anaranjado amarillento
<i>Pulveroboletus ravenelli</i> (Berk. & M. A. Curtis) Murrill	Amarillo limón	Verde aceituna	Amarillo verdoso	Amarillo verdoso	Oro	Anaranjado
GOMPHIDIACEAE						
<i>Chroogomphus rutilus</i> (Schaeff.) Ok. Mill	Beige	Tostado	Verde gris	Tostado	Beige	Anaranjado quemado
<i>Chroogomphus vinicolor</i> (Peck) OK. Mill	Rosa	Marrón gris	Marrón oscuro	Marrón rojo	Rosa polvoriento	Canela
<i>Gomphidium glutinosus</i> (Schaeff.) Fr.	Tostado	Marrón gris	Marrón oscuro	Marrón	Marrón	Marrón
<i>Gomphidium subroseus</i> Kauffman	Beige	Beige	Tostado	Beige	Beige	Marrón
PAXILLACEAE						
<i>Paxillus atrotomentosus</i> (Batsch) Fr.	Verde marrón	Verde bosque	Negro púrpura	Verde marrón	Púrpura	Azul marino
<i>Paxillus involutus</i> (Batsch) Fr.	Beige	Tostado verdoso	Tostado	Anaranjado amarillo	Beige	Anaranjado
RHIZOPOGONACEAE						
<i>Rhizopogon</i> sp.	Anaranjado amarillo * Marrón	Anaranjado amarillo Marrón	Anaranjado amarillo Marrón	Anaranjado amarillo Marrón	Anaranjado amarillo Marrón	Anaranjado amarillo Marrón
HYMENOGYNETALES						
HYMENOGYNETACEAE						
<i>Coltricia perennis</i> (L.) Murril	Amarillo pálido	Rubio oscuro	Aceituna	Amarillo pálido	Amarillo pálido	----
<i>Phellinus gilvus</i> (Schwein.) Pat.	Gris mineral	Gris parduzco	Verde grisáceo	Gris mineral	Anaranjado parduzco	----
<i>Inonotus hispidus</i> (Bolton) P. Karst	Marrón (ligeramente)	----	----	----	----	----
<i>Inonotus radiatus</i> (Sowerby) P. Karst.	Anaranjado parduzco	Marrón grisáceo	Marrón	Gris abedul	Rubio rojizo	----
<i>Phellinus pseudosenex</i> (Murrill) Bondarsteva & S. Herrera	Mostaza	Marrón verdoso	Marrón amarillo	Marrón amarillo	Mostaza	Anaranjado quemado
TELEPHORALES						
BANKERACEAE						
<i>Hydnellum aurantiacum</i> (Alb. & Schwein) P. Karst.	----	Verde gris	Verde aceituna	Verde azul	Marrón amarillo	Verde bosque
<i>Hydnellum caeruleum</i> (hornem.) P. Karst.	Tostado	Verde bosque oscuro	Verde Marrón	Verde gris	Azul gris	Azul (ligeramente)
<i>Hydnellum peckii</i> Banker	* Tostado	Verde aceituna	Marrón verdoso	Marrón verde bosque	Gris	Verde bosque oscuro
<i>Hydnellum regium</i> K. A. Harrison	Marrón Gris cálido	Verde bosque Gris cálido	Marrón oscuro Verde sabio	Marrón oscuro Verde sabio oscuro	Gris cálido Verde sabio oscuro	Verde marrón Verde bosque
<i>Hydnellum scrobiculatum</i> (Fr.) P. Karst.	Marrón oscuro	Marrón	Marrón oscuro	Marrón oscuro	Marrón verdoso	Negro
<i>Hydnellum suaveolens</i> (Scop.) P. Karst	Gris cálido	Verde azul	Verde sabio	Verde sabio	Verde gris	Verde

Cuadro 2. Continuación.

Especie	Sin mordiente	Mordientes				
		Sulfato Ferroso	Sulfato de Cobre	Dicromato de Potasio	Alumbre	Cloruro de Estaño
<i>Hydnellum zonatum</i> (Batsch.) P. Karst	Marrón	Marrón	Marrón	Marrón verdoso	Marrón	---
<i>Phellodon atratus</i> K. A. Harrison	Verde gris	Azul gris	Verde	Verde azul	Verde gris	Verde sabio
<i>Phellodon niger</i> (Fr.) Karst	Azul gris	Azul gris	Verde aceituna	Gris verde	Gris verde	Gris verde
<i>Phellodon tomentosus</i> (L.) Banker	Marrón oro	Verde parduzco	Marrón oscuro	Marrón verdoso	Marrón	Marrón verde
<i>Sarcodon imbricatus</i> (L.) P. Karst.	Marrón	Marrón	Marrón	Marrón	Marrón	Marrón
TELEPHORACEAE						
<i>Telephora palmata</i> (Scop.) Fr.	Tostado	Tostado	Tostado	Tostado	Tostado	Verde aceituna
<i>Telephora terrestris</i> Ehrh.	Marrón	Marrón	Marrón	Marrón verdoso	Marrón	Marrón verdoso
POLYPORALES						
ALBATRELLACEAE						
<i>Albatrellus cristatus</i> (Schaeff.) Kotl & Pouzar	Aceituna	Aceituna	Aceituna	Marrón aceituna	Aceituna	---
GANODERMATACEAE						
<i>Amauroderma</i> sp.	Beige	Tostado	Tostado	Verde sabio	Tostado	Marrón oro
<i>Ganoderma applanatum</i> (Pers.) Pat.	Amarillo embotado	Rubio oscuro	Marrón aceituna	Amarillo grisáceo	Amarillo grisáceo	---
<i>Ganoderma curtisii</i> (Berk.) Murrill	Blanco amarillento	Amarillo embotado	Aceituna	Amarillo vino	Pálido	---
<i>Ganoderma resinaceum</i> Boud	Marrón	Marrón grisáceo	Marrón	Marrón	Marrón mostaza	---
GLOEOPHYLLACEAE						
<i>Gloeophyllum sepiarium</i> (Wulfen) P. Karst	Anaranjado parduzco	Marrón	Aceituna	Marrón grisáceo	Gris abedul	---
FOMITOPSIDACEA						
<i>Fomitopsis cajanderi</i> (P. Karst) Kotl. & Pouzar	Marrón	Marrón	Marrón	Marrón	Marrón	Marrón
MERULIACEAE						
<i>Merulius tremellosus</i> Schrad.	Beige	Verde azul	Verde	Verde gris	Verde azul	Verde azul
POLYPORACEAE						
<i>Hexagonia hirta</i> (Fr.) D. A. Reid	Blanco encerado	Marrón grisáceo	Aceituna	Blanco encerado	Blanco encerado	---
<i>Hydnopolyporus fimbriatus</i> (Fr.) D. A. Reid	Gris amarillento	Gris pardusco	Aceituna	Blanco encerado	Blanco encerado	---
<i>Laetiporus sulphureus</i> (Bull.) Baandarsev & Singer	----	Beige	---	Gris	----	Amarillo verdoso pálido
<i>Panus torulosus</i> (Pers.) Fr.	Marrón gris	Verde marrón	Negro púrpura	Verde marrón	Marrón gris	Verde azul
<i>Polyporus leucomelas</i> (Pers.) Pers.	Verde bosque	Verde bosque	Negro	Negro	Verde bosque	Negro
<i>Polyporus melanopus</i> (Pers.) Fr.	Beige	Tostado verdoso	Mostaza	Beige	Marrón amarillo (ligeramente)	Marrón verdoso (ligeramente)
<i>Polyporus perennis</i> (L.) Fr.	Beige	Beige	Tostado verdoso	Beige	Beige	---
<i>Phaeolus schweinitzii</i> (Fr.) Patt	Marrón aceituna	Gris aceituna	Marrón oscuro	Gris parduzco	Marrón linóleo	---
<i>Polyporus tomentosus</i> Rostk.	Marrón oro	Marrón oro	Marrón	Marrón oro	Marrón oro	Anaranjado quemado
<i>Pycnoporus sanguineus</i> (L.) Murrill	Gris anaranjado	Marrón grisáceo	Verde embotado	Gris abedul	Gris anaranjado	---
<i>Trametes maxima</i> (Mont.) A. David & Rajchenb.	Anaranjado grisáceo	Anaranjado parduzco	Verde embotado	Anaranjado parduzco	Anaranjado grisáceo	---
<i>Trametes versicolor</i> (L.) Lloyd	Gris cálido	Azul gris	Tostado verdoso	Gris verde plateado	Gris cálido	Gris cálido

Cuadro 2. Continuación.

Especie	Sin mordiente	Mordientes				
		Sulfato	Sulfato	Dicromato	Alumbre	Cloruro
		Ferroso	de Cobre	de Potasio		de Estaño
<i>Trametes versicolor</i> (a)	Amarillo grisáceo	Gris aceituna	Aceituna	Aceituna	Amarillo grisáceo	---
<i>Trametes versicolor</i> (b)	Aceituna	Amarillo embotado	Amarillo grisáceo	Amarillo grisáceo	Amarillo grisáceo	---
<i>Ungulina fomentaria</i> (L.) Pat.	Beige	Marrón oscuro	Marrón (ligeramente)	Marrón amarillo	Mostaza	Mostaza
PHALLALES						
GOMPHACEAE						
<i>Clavariadelphus truncatus</i> Donk	---	Lavanda	Beige	Gris	---	Tostado

Composición química de los pigmentos presentes en líquenes y hongos

Por lo general, se tiene la idea de que un pigmento es lo mismo que un colorante, lo cual no es cierto. Los pigmentos son sustancias naturales responsables del color que tienen los tejidos de los organismos. Mientras que los colorantes son los pigmentos que se extraen de un organismo (Barnhart 1986).

Esta línea de investigación intenta conocer la composición química de los pigmentos presentes en los líquenes y hongos, para lo cual se analizan las sustancias que dan color a los tejidos de los talos y carpóforos.

Los compuestos químicos presentes en los pigmentos naturales se clasifican en los siguientes grupos: tetrapirroles, carotenoides, flavonoides, santonas, quinonas, derivados indigoides e índoles y pirimidinas sustituidas (cuadro 3). Con base en esto, los líquenes se caracterizan por la presencia de quinonas, (específicamente, antraquinonas, naftoquinonas y terfenilquinonas), dibenzofuranos (como el ácido usnico y derivados), santonas, depsidos y depsidonas, carotenoides (Czeczuga y Richardson 1989) y xantofilas, así como fenoxazinas (Lock Sing de Ugaz 1997).

Dentro de las especies analizadas se cita a *Rocella tinctoria* de la que se obtiene

Grupo químico	Compuesto	Color del pigmento
Tetrapirroles (lineales o cíclicos)	Ficobilinas	Azul-Verde
		Amarillo-Rojo
		Verde (con clorofila)
Carotenoides (tetraterpenoides)	Carotenoides	Amarillo-Anaranjado
		Flavonoides
Flavonoides	Flavonas	Blanco-Crema,
	Flavonoles	Amarillo-Blanco
	Chalconas	AmarilloAmarillo
	Auronas	Rojo-Azul
	Antocianinas	
Xantonas	Xantonas	Amarillo
Quinonas	Naftaquinonas	Rojo-Azul-Verde
	Antraquinonas	Rojo-Púrpura
	Índigo	Azul-Rosado
Derivados indigoides e índoles	Betaleinas	Amarillo-Rojo
	Pterinas	Blanco-Amarillo
Pirimidinas sustituidas	Flavinas	Amarillo
	Feoxazinas	Amarillo-Rojo
	Fenazinas	Amarillo-Púrpura

Cuadro 3. Clasificación de los colorantes naturales con base en su composición química (según Lock Sing de Ugaz 1997).

un pigmento amarillo, ocasionalmente, azul y azul violeta por la presencia de fenazinas; tales como la orceína. Así como varias especies del género *Xanthoria*, las cuales muestran los colores naranja y naranja-rojizo brillantes por presentar antraquinonas (Fahselt y Krol 1989) y las de *Cladonia*, en las que se observa de rojo a rojo-sangre, por las naftoquinonas (cuadro 4).

En los hongos se presentan más de mil pigmentos que se distribuyen en el carpóforo. Algunos son de naturaleza química común a las plantas superiores, como las betaleínas y en menor presencia los carotenos y quinonas (cuadro 5). Sin embargo, muchas otras son sustancias que no se han encontrado en algún otro organismo. Como ejemplo en *Amanita muscaria* encontramos betacianina, muscapurpurina, betaxantinas y muxcantina (Arpin y Fiasson 1971; Lock Sing de Ugaz 1997).

Tinción de fibras naturales con líquenes y hongos

Hoy día, no se sabe como es que la gente de la prehistoria aprendió a aplicar los colorantes a las fibras textiles. El antecedente más antiguo sobre este uso data alrededor del año 1000 a.C., estableciéndose en India, China y partes de Sudamérica (Dean op. cit). La técnica de tinción fue muy simple, pues se aplicó el colorante de manera directa. Los resultados fueron una prenda con un color de escasa solidez, poca resistencia al lavado y a la luz.

Con el tiempo, las técnicas de teñidos se fueron haciendo más sofisticadas y se produjeron colores más duraderos. Pronto, los colorantes mostraron gran importancia en la tintorería, a tal grado que se desarrollaron gremios donde perfeccionaron los procesos de teñido y conservaron la información como secreto, estableciéndose centros famosos de producción y comercialización en Venecia, Florida, Génova, Frankfurt, Nüremberg y Londres (Lock Sing de Ugaz op. cit.).

En América, los primeros pueblos fueron muy hábiles en la tinción de diferentes fibras. Hoy día, en países como México, Guatemala, Perú y Bolivia por mencionar algunos, todavía existen comunidades nativas que utilizan los tintes naturales para el teñido de diferentes objetos y prendas artesanales, especialmente, los de fibra de lana (de oveja y alpaca). La fuente principal de obtención de esos colorantes son las plantas.

CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS COLORANTES NATURALES

De acuerdo con Igoe (1998), la mayoría de los colorantes naturales tienen en común las siguientes características:

1. Proviene solo de fuentes naturales.
2. Contienen varios pigmentos.
3. Poder de tinción bajo debido a la poca cantidad de pigmentos presentes y, por tanto se utilizan en niveles mayores que los colorantes sintéticos.
4. Estabilidad baja debido a que su color y tasa de degradación se ve afectada por el pH y la temperatura entre otras condiciones.
5. No tiñen las fibras artificiales.
6. Son solubles en agua.

MORDIENTES

El proceso de teñido consta de cuatro fases fundamentales que ocurren de manera simultánea: 1) penetración y difusión del colorante disuelto en el agua a la superficie de la fibra, 2) adhesión del colorante a la superficie exterior de la fibra, 3) difusión del colorante de la capa superficial al interior de la fibra y 4) fijación del colorante en la superficie interior de la fibra.

En la mayoría de los casos, para lograr la unión del colorante a la fibra, se utilizan los mordientes. Es decir, sustancias de origen natural o sintético que capturan y fijan el color a las fibras o prendas, dando solidez al lavado y a la luz, de ahí su necesidad de uso durante este proceso.

Cuadro 4. Compuestos químicos que se presentan en algunos pigmentos de los líquenes. El nombre de los autores en la tabla son tomados del Index Fungorum.

Espece	Compuesto químico	Color del pigmento
<i>Acrosyphus sphaerophoroides</i> Lév.	Quinonas, (+)-Squirin (5,5'-biemodina)	No se reporta
<i>Caloplaca</i> spp.	Quinonas: emodin-aldehído	No se reporta
	Xantorin 5-metil éter	Naranja
<i>Cetraria cucullata</i> (Bellardi) Ach.	Quinonas, endocrocina	No se reporta
<i>Cetraria ornata</i>	Quinonas, endocrocina	No se reporta
<i>Cladonia graciliformis</i> Zahlbr.	Quinonas, naftoquinonas	Rojo, rojo sangre
<i>Fulgensia</i>	Quinonas (emodin-aldehído)	No se reporta
<i>Lobaria pulmonaria</i> (L.) Hoffm.	Carotenoides	Naranja
<i>Lobaria virens</i> (With.) Laundon	Carotenoides	Naranja
<i>Menegazzia terebrata</i> (Hoffm.) Masal	Carotenoides	Naranja
<i>Ocellularia domingensis</i> (Fée) Müll. Arg.	Quinonas, endocrocina	No se reporta
<i>Pannaria rubigonosa</i> (Ach.) Bory	Carotenoides	Naranja
<i>Parmelia birulae</i>	Quinonas: biruloquinona	Violeta
<i>Peltigera horizontalis</i> (Huds.) Baumg.	Carotenoides	Naranja
<i>Pyxine endochrysin</i> Nyl.	Quinonas, (+)-Squirin (5,5'-biemodina)	No se reporta
<i>Rocella tinctoria</i> D.C.	Fenoxazinas	Púrpura
<i>Sticta sylvatica</i> (Huds.) Ach.	Carotenoides	Naranja
<i>Telochistes chrysophthalmus</i> (L.) Th. Fr.	Quinonas: Xantorin 5-metil éter	Naranja
<i>Telochistes flavicans</i> (Sw.) Norman	Quinonas: Xantorin 5-metil éter	Naranja
<i>Trypetheliopsis boninensis</i> Asahina	Quinonas, (+)-Squirin (5,5'-biemodina)	No se reporta
<i>Usnea rubicunda</i> Stirton	Carotenoides	Naranja
<i>Xanthoria</i> spp.	Antraquinonas	Naranja, naranja rojizo brillante
	Quinonas (emodin-aldehído)	No se reporta
	Xantorin 5-metil éter	Naranja

En la antigüedad, los mordientes que se empleaban eran productos naturales como cenizas o cáscara de aguacate, pero en el presente se utilizan diferentes productos químicos, en su mayor parte son sales metálicas. Las más empleadas son de aluminio, cobre y estaño. Pues al disolverse en agua caliente ocurre la separación del metal y la sal, uniéndose a los puentes de hidrógeno de las fibras, los cuales posteriormente, a la hora de introducirse al tinte atraerán el color.

Para el proceso de tinción de fibras de lana de oveja con hongos se señala el uso de los siguientes compuestos químicos:

alumbre, crémor tártaro, dicromato de potasio, cloruro de estaño, sulfato ferroso, sulfato de cobre y sulfato de sodio. Las cantidades que se requieren de cada mordiente se pueden apreciar en el cuadro 6.

MÉTODOS DE TINCIÓN

Una de las propiedades de los colorantes naturales es no teñir las fibras artificiales. Por eso, se usa en el proceso de teñido solo las fibras naturales. Las cuales son de dos tipos: con base de proteína (animales), y las de celulosa (vegetales), que tienen

Cuadro 5. Compuestos químicos que se presentan en algunos pigmentos de los hongos. El nombre de los autores en la tabla son tomados del Index Fungorum.

Especie	Compuesto químico	Color del pigmento
<i>Amanita muscaria</i> (L.) Hook	Betaínas	Amarillo-rojo
<i>Anthurus</i> spp.	Carotenoides	No se reporta
<i>Aspergillus aculeatus</i> Izuka	Quinonas: endocrocina,benzoquinona	No se reporta
<i>Aspergillus sulphureus</i> Desm.	Quinonas: viopurpurina	Púrpura, negro
<i>Boletinus cavipes</i> (Opat.) Kalchbr.	Antraquinona: Boletol	No se reporta
<i>Boletus appendiculatus</i> Schaeff.	Antraquinona: Boletol	No se reporta
<i>Boletus calopus</i> Fr.	Antraquinona: Boletol	No se reporta
<i>Boletus edulis</i> Bull.	Antraquinona: Boletol	No se reporta
<i>Boletus elegans</i> Bull.	Antraquinona: Boletol	No se reporta
<i>Boletus erythropus</i> (Fr.) Pers.	Antraquinona: Boletol, Pseudoboletol (isoboletol)	No se reporta
<i>Boletus flavidus</i> Krombh.	Antraquinona: Boletol o Pseudoboletol (isoboletol)	
	Pigmentos antraquinónicos	Amarillo
<i>Boletus luridus</i> Viv.	Antraquinona: Boletol	No se reporta
<i>Boletus luteus</i> Scop.	Antraquinona: Boletol o Pseudoboletol (isoboletol)	
	Pigmentos antraquinónicos	Amarillo
<i>Boletus pinicola</i> Sw.	Antraquinona: Boletol	No se reporta
<i>Boletus pulverulentus</i> Opat.	Antraquinona: Boletol	No se reporta
<i>Boletus reticulatus</i> Schaeff.	Antraquinona: Boletol	No se reporta
<i>Boletus rhodoxanthus</i> (Krombh.) Kallenb.	Antraquinona: Boletol	No se reporta
<i>Boletus tridentinus</i> Bres.	Antraquinona: Boletol Pigmentos antraquinónicos	Amarillo
<i>Calocera cornea</i> (Batsch) Fr.	Carotenoides	= <i>Calocera viscosa</i>
<i>Calocera viscosa</i> (Pers.) Fr.	Carotenoides	No se reporta
<i>Calodon ferrugineum</i> (Fr.) Pat.	Ácido telefóraceo	No se reporta
<i>Calodon suaveolens</i> (Scop) Quéf.	Ácido telefóraceo	= <i>Calodon</i>
<i>Cantharellus cibarius</i> Fr.	Carotenoides bicíclicos	No se reporta
<i>Cantharellus cinnabarinus</i> (Schewein) Schewein	Carotenoides bicíclicos	No se reporta
<i>Cantharellus cuticulatus</i> Corner	Carotenoides	No se reporta
<i>Cantharellus friesii</i> Welw. & Curr.	Carotenoides bicíclicos	No se reporta
<i>Cantharellus lutescens</i> (Pers.) Fr.	Carotenoides alifáticos	Pigmentos marrones
<i>Cantharellus tubaeformis</i> (Bull.) Fr.	Carotenoides alifáticos	Pigmentos marrones
<i>Clathrus</i> spp.	Carotenoides	No se reporta
<i>Clavaria helicoides</i> Pat. & Demange	Carotenoides monocíclicos	No se reporta
<i>Clavariadelphus pistillar</i> (L.) Donk	Carotenoides	No se reporta
<i>Clavariadelphus truncatus</i> Donk	Carotenoides	No se reporta
<i>Clavulinopsis corniculata</i> (Godey) Corner	Carotenoides	Amarillo
<i>Clavulinopsis miniata</i> (Berk.) Corner	Carotenoides	Anaranjado
<i>Clitocybe venustissima</i> (Fries) Sacc.		
= (<i>Laccaria twissillistata</i> (Ellis) Perk	Carotenoides	Anaranjado
<i>Cookeina sulcipes</i> (Berk.) Kuntze	Carotenoides	Rosado
<i>Coprinus similis</i> Berk & Broome	Benzoquinonas	No se reporta
<i>Corticium croceum</i> (Pat.) Sacc.	Corticocin	No se reporta
<i>Corticium salicinum</i> (Fr.) Fr.	Cortisalin	No se reporta
<i>Corticium sulphureum</i> (Fr.) Fr.	Corticocin	No se reporta
<i>Corticium sasakii</i> (Shirai) H. Matsumoto	Carotenoides	No se reporta
<i>Cortinarius armillatus</i> (Alb. & Schewin) Fr.	Quinonas: endocrocina	No se reporta
<i>Cortinarius atrovirens</i> Kalchbr.	Antraquinonas	No se reporta
<i>Cortinarius bulliardii</i> Fr. ex Pers.	Pigmentos antraquinónicos	Rojo
<i>Cortinarius cinnabarinus</i> Fr.	Pigmentos antraquinónicos	Rojo
<i>Cortinarius cinnamolutescens</i> Heym.	Antraquinonoides	No se reporta

Cuadro 5. Continuación.

Especie	Compuesto químico	Color del pigmento
<i>Cortinarius concinnus</i> P. Karst.	Antraquinonoides	En vacuola: rojo ladrillo
<i>Cortinarius conformis</i>	Antraquinonoides	No se reporta
<i>Cortinarius cotoneus</i> Fr. Sensu Quélet	Pigmentos antraquinónicos, xantonas	Amarillo, escarlata fluorescente
<i>Cortinarius croceus</i> Fr.	Antraquinonoides	No se reporta
<i>Cortinarius elegantior</i> Moser	Pigmentos antraquinonoides	No se reporta
<i>Cortinarius erichalceus</i> Batsch ex Fr.	Antraquinonoides	No se reporta
<i>Cortinarius ionochlorus</i> Maire	Quinonas: (+) skiryne 5,5' biomodina	No se reporta
<i>Cortinarius malicorinus</i> Fr.	Antraquinonoides: emodin	No se reporta
<i>Cortinarius melanotus</i> Kalchbr.	Pigmentos antraquinonoides, xantonas	Amarillo, escarlata fluorescente.
		En vacuola: marrón luminoso.
<i>Cortinarius nanceiensis</i> R. Maire	Antraquinonoides	No se reporta
<i>Cortinarius odoratus</i> (M. M. Moser) M. M. Moser	Quinonas: (+) skiryne 5,5' biomodina	No se reporta
<i>Cortinarius odorifer</i> Britz.	Pigmentos antraquinónicos	No se reporta
<i>Cortinarius olivaceofuscus</i> Kühner	Antraquinonoides	No se reporta
<i>Cortinarius percomis</i> Fr.	Antraquinonoides	No se reporta
<i>Cortinarius phoeniceus</i> (Bull.) Maire	Antraquinonoides	No se reporta
<i>Cortinarius pseudocolus</i> M. M. Moser	Quinonas: endocrocina	No se reporta
<i>Cortinarius sanguineus</i> (Wulfen) Fr.	Antraquinonoides: emodin y dermocybin	No se reporta
<i>Cortinarius semisanguineus</i> (Fr.) Guillet	Antraquinonoides	No se reporta
<i>Cortinarius sphagnetii</i> P. D. Orton	Antraquinonoides	No se reporta
<i>Cortinarius uliginosus</i> Berk	Antraquinonoides	No se reporta
<i>Cortinarius venetes</i> Fr.	Pigmentos antraquinónicos, xantonas	Amarillo, escarlata fluorescente
<i>Cortinarius violaceus</i> (L.) Fr.	Antraquinonoides	En vacuola: violeta
<i>Craterellus cornucopioides</i> (L.) Pers.	Pigmentos carotenoides	Oscuro
<i>Dacrymyces palmatus</i> (Schwein) Bres	Carotenoides	No se reporta
<i>Dermocybe cinnamomeolutea</i> (P. D. Orton) M. M. Moser	Quinonas: endocrocina	No se reporta
<i>Dermocybe</i> spp.	Antraquinonoides	Amarillo, amarillento, verde
<i>Dermocybe cinnabarina</i> (Fr.) Wünsche	Quinonas: endocrocina	No se reporta
<i>Eurotium echinulatum</i> Delaers	Quinonas: endocrocina	No se reporta
<i>Flamula hybrida</i> Fr.	Benzidina, bis-Noriangonina	No se reporta
<i>Fomes annosus</i> (Fr.) Cooke	Quinonas	Amarillo pálido hasta negro, anaranjado
<i>Galerina bulliformis</i> B.J. Rees	Styryl-pyrones	Descolorido
<i>Galerina camerina</i> (Fr.) Kühner	Bis-Noriangonina and hispidina	No se reporta
<i>Galerina eucaliptorum</i> E. Horak	Styryl-pyrones	Descolorido
<i>Galerina graminea</i> (Fr.) Velen	Bis-Noriangonina and hispidina	No se reporta
<i>Galerina incrustata</i> B.J. Rees	Styryl-pyrones	Descolorido
<i>Galerina sphagnum</i> (Fr.) Kühner	Bis-Noriangonina and hispidina	No se reporta
<i>Gerronema chrysophyllum</i> (Fr.) Singer	Carotenoides	Amarillo
<i>Gerronema venustissimum</i>	Carotenoides	Amarillo
<i>Gomphidius glutinosus</i> (Schaeff.) Fr.	Pseudoboletol (isoboletol)	No se reporta
<i>Gomphidius helveticus</i> Singer	Pseudoboletol (isoboletol)	No se reporta
<i>Gomphidius viscidus</i> (L.) Fr.	Pseudoboletol (isoboletol)	No se reporta

Cuadro 5. Continuación.

Especie	Compuesto químico	Color del pigmento
<i>Gymnopilus aurantiophyllus</i> Hesler	Styryl-pyronas	Amarillo a amarillo oxidado
<i>Gymnopilus auroginosus</i> (Peck.) Sing.	bis-Norgangonin + hispidin	No se reporta
<i>Gymnopilus bellulus</i> (Peck) Murrill	Bis-Noriangonin e hispidin	No se reporta
<i>Gymnopilus braendlei</i> (Peck) Hesler	Styryl-pyronas	Amarillo a amarillo oxidado
<i>Gymnopilus corticophilus</i> B.J. Rees	Bis-Noriangonin e hispidin	Marrón, amarillo
<i>Gymnopilus decurrens</i> Hesler	Styryl-pyronas: bis-Noriangonin	No se reporta
<i>Gymnopilus eucalyptorum</i> (Cleland) Singer	Bis-Noriangonin e hispidin	Oscuro, oro enmohecido
<i>Gymnopilus decipiens</i> (W.C. Smith) Orton	Styryl-pyronas: bis-Noriangonin e hispidin	No se reporta
<i>Gymnopilus hybridus</i> (Bull.) Singer	Styryl-pyronas: bis-Noriangonin e hispidin	No se reporta
<i>Gymnopilus junonius</i> (Fr.: Fr.) Orton	Styryl-pyronas: bis-Noriangonin e hispidin	No se reporta
<i>Gymnopilus luteofolius</i> (Peck) Sing	Styryl-pyronas	Amarillo a amarillo oxidado
<i>Gymnopilus moabius</i> Grgur.	Bis-Noriangonin e hispidin	Amarillo limón, amarillo
<i>Gymnopilus obscurus</i> Hesler	Styryl-pyronas	Amarillo a amarillo oxidado
<i>Gymnopilus odin</i> (Fr.) Maire	Styryl-pyronas: bis-Noriangonin e hispidin	No se reporta
<i>Gymnopilus penetrans</i> (Fr. ex Fr.) Murr.	Styryl-pyronas: bis-noriangonin	Ocre, maroon
<i>Gymnopilus picreus</i> (Pers.: Fr.)P. Karst	Styryl-pyronas: bis-Noriangonin e hispidin	No se reporta
<i>Gymnopilus punctifolius</i> (Peck) Sing.	Styryl-pyronas	Amarillo a amarillo oxidado
<i>Gymnopilus sapineus</i> (Fr.) Maire	Styryl-pyronas: bis-Noriangonin e hispidin	No se reporta
<i>Gymnopilus sub-bellulus</i> Hesler	Bis-Noriangonin e hispidin	No se reporta
<i>Gymnopilus tasmanicus</i> B.J. Rees	Bis-Noriangonin e hispidin	Amarillo pálido
<i>Gymnopilus tomentulosus</i> B.J. Rees	Bis-Noriangonin e hispidin	Amarillo limón, amarillo
<i>Gymnopilus tyallus</i> Grgur.	Bis-Noriangonin e hispidin	Amarillo oxidado
<i>Gimnosporangium</i> spp.	Carotenoides	No se reporta
<i>Gyrodon lividus</i>	Antraquinona: Boletol	No se reporta
<i>Hydnum aurantiacum</i> Batsch	Ácido Thelephórico: aurantiacin (dibenzoato de atromentin)	No se reporta
<i>Hygrophoropsis aurantiaca</i> (Wulfen ex Fr.) R. Maire	Carotenoides	Orange
<i>Hypomyces lactiflorum</i>	Quinonas: (+) skiryin 5,5' biemodin	No se reporta
<i>Hypomyces trichothecoides</i>	Quinonas: (+) skiryin 5,5' biemodin	No se reporta
<i>Lactarius deliciosus</i> Willstaedt	Lactarazulen	Azul
	Lactaroviolin	Cristales rojizo-violetas
<i>Lentinus degener</i> Kalchbr.	Benzoquinona: methoxy toluquinone o coprinin	No se reporta
<i>Leotia lubrica</i> Pers.	Pigmentos carotenoides	Verde azulado, amarillo
<i>Lysurus</i> spp.	Carotenoides	No se reporta
<i>Marasmius graminum</i> Lib.	Naftoquinonas	No se reporta
<i>Mutinus</i> spp.	Carotenoides	No se reporta
<i>Paxillus atromentosus</i> (Batsch) Fr.	Derivados de ácido polipórico: Atromentin	No se reporta
<i>Penicillium</i> spp.	Benzoquinonas	No se reporta
<i>Penicillium tardum</i> TOM	Quinonas: endocrocein	No se reporta
<i>Peniophora aurantiaca</i> Bres.	β-carotenos: echinenonen y astaxanthin	No se reporta
<i>Peniophora filamentosa</i> (Berk. & M.A. Curtis)		
Moffatt	Ácido polipórico: Xylethytrin	No se reporta
<i>Peniophora sanguinea</i> Bres.	Xylethytrin	No se reporta

Cuadro 5. Continuación.

Especie	Compuesto químico	Color del pigmento
<i>Peniophora</i> spp. section <i>Coloratae</i>	Carotenoides	No se reporta
<i>Phaeolus rutilans</i> (Pers.) Fr.	P-diphenyl benzoquinona	Violeta
<i>Phillipsia carminea</i> (Pat.) Le Gal.	Carotenoides	Rojo luminoso
<i>Pholiota squarrosa-adiposa</i> Lange	Styryl-pyronas	Amarillo
<i>Pholiota spectabilis</i> (Fr.) Gil	Benzidin, bis-Noriangonin	No se reporta
<i>Phylloporus pelletieri</i> (Lév.) Quél.	Antraquinona: Boletol	No se reporta
<i>Phyllotopsis nidulans</i> (Fr. ex Pers.) Donk	β -caroteno: echinenonen y astaxanthin	No se reporta
<i>Pistillaria micans</i> (Pers.) Fr.	Carotenoides monocíclicos	No se reporta
<i>Phlebia strigozonata</i> (Schewin) Lloyd	Ácido polipórico: Phlebiarubron	No se reporta
<i>Polyporus fumosus</i> (Pers.) Fr.	Dimethoxy-1, 4 benzoquinona	No se reporta
<i>Polyporus hispidus</i> Fr.	bis-Norgangonin + hispidin	No se reporta
<i>Polyporus leucomelas</i> Pers. ex Fr.	Pigmento llamado leucomelon	No se reporta
<i>Polyporus schweinitzi</i> Fr.	bis-Norgangonin + hispidin	No se reporta
<i>Puccinia</i> spp.	Carotenoides	No se reporta
<i>Pychopon cinnabarines</i> (Jack) Fr. = (<i>Polyporus cinnabarines</i>)	Fenoxaxinas	Púrpura
<i>Pyrenochaeta terrestris</i> (H. N. Hanser) Gorens, J.C. Walker & Larson	Quinonas: endocrocina	No se reporta
<i>Russula amoena</i> Quél.	Antraquinonas	Añil-rosa, amarillo, púrpura
<i>Russula atropurpurea</i> (Krombh.) Peck	Antraquinonas	Rojo a azul
<i>Russula betulorum</i> Hora	Antraquinonas	Rojo a azul
<i>Russula caerulea</i> (Pers.) Fr.	Antraquinonas	Rojo a azul
<i>Russula cyanoxantha</i> (Schaeff.) Fr.	Antraquinonas	Añil-rosa
<i>Russula claroflava</i> Grove	Antraquinonas	Rojo a azul, amarillo
<i>Russula emetica</i> Fr.	Antraquinonas	Rojo a azul
<i>Russula erythropus</i> Pelt.	Antraquinonas	Rojo a azul
<i>Russula fellea</i> Fr.	Picolin o pyridin	No se reporta
<i>Russula foetens</i> (Pers.) Fr.	Picolin o pyridin	No se reporta
<i>Russula fragilis</i> (Pers.) Fr.	Antraquinonas	Rojo a azul
<i>Russula grisea</i> (Batsch) Fr.	Antraquinonas	Añil-rosa
<i>Russula heterophylla</i> Fr.	Antraquinonas	Añil-rosa
<i>Russula lepida</i> Fr.	Antraquinonas	Rojo a azul
<i>Russula lutea</i> (Huds.) Fr.	Antraquinonas	Rojo a azul, durazno, amarillo
<i>Russula mairei</i> Singer	Antraquinonas	Rojo a azul
<i>Russula nigricans</i> (Bull.) Fr.	Picolin o pyridin	No se reporta
<i>Russula ochroleuca</i> (Pers.) Fr.	Antraquinonas	Añil-rosa, amarillo
<i>Russula rosea</i> Quél.	Antraquinonas	Rojo a azul
<i>Russula sardonía</i> Fr.	Antraquinonas	Rojo a azul
<i>Russula sororia</i> Fr.	Picolin o pyridin	No se reporta
<i>Russula velenovskyi</i> Melzer & Zvára	Antraquinonas	Rojo a azul
<i>Russula versicolor</i> Jul. Schäff.	Antraquinonas	
<i>Russula virescens</i> (Schaeff.) Fr.	Picolin o pyridin	No se reporta
<i>Russula vesca</i> Fr.	Antraquinonas	Añil-rosa
<i>Russula xerompelina</i> (Schaeff.) Fr.	Antraquinonas	Rojo-azul, púrpura, marrón
<i>Sowerbyella unicolor</i> (Gill) Nannfeldt	Carotenoides	No se reporta
<i>Streptomyces roseotulvus</i>	Quinonas: de oxifrenolicina	Anaranjado

Cuadro 5. Continuación.

Especie	Compuesto químico	Color del pigmento
<i>Suillus bovinus</i> (Pers.) Kuntze	Antraquinona: Boletol	No se reporta
<i>Suillus flavidus</i> (Fr.) Singer		No se reporta
<i>Suillus granulatus</i> (L.) Snell		No se reporta
<i>Suillus grevillei</i> (Klotzsch) Singer		No se reporta
<i>Suillus luteus</i> (L.) Gray	Antraquinona: Boletol	No se reporta
<i>Suillus piperatus</i> (Bull.) Kuntze	Antraquinona: Boletol, Pseudoboletol (isoboletol)	No se reporta
<i>Suillus placidus</i> (Bonord.) Singer	Antraquinona: Boletol, Pseudoboletol (isoboletol)	No se reporta
<i>Suillus tridentinus</i> (Bres.) Singer		No se reporta
<i>Suillus variegatus</i> (Sw.) Kuntze	Antraquinona: Boletol	No se reporta
<i>Suillus viscidus</i> (L.) Fr. = (<i>Suillus aeruginascens</i> Socr. Ex Snell)	Antraquinona: Boletol	No se reporta
<i>Thelephora caryophyllea</i> Schaeff.	Ácido telefóraceo	No se reporta
<i>Thelephora coralloides</i> Fr.	Ácido telefóraceo	No se reporta
<i>Thelephora crustacea</i> Schum.	Ácido telefóraceo	No se reporta
<i>Thelephora flabelliformis</i> Fr.	Ácido telefóraceo	No se reporta
<i>Thelephora intybacea</i> Pers.	Ácido telefóraceo	No se reporta
<i>Thelephora laciniata</i> Pers.	Ácido telefóraceo	No se reporta
<i>Thelephora palmata</i> Scop.	Ácido telefóraceo	No se reporta
<i>Thelephora terrestris</i> Ehrb.	Ácido telefóraceo	No se reporta
<i>Trametes cinnabarina</i> (Jack.) Fr.	Fenoxazina: Cinnabarin, ácido cinabarinico	No se reporta
<i>Trametes cinnabarina</i> var. <i>sanguinea</i> (L.) Pilát	Fenoxazina: Tramesanguin	No se reporta
<i>Tremella mesenterica</i> Retz.	Carotenoides	No se reporta
<i>Xerocomus badius</i> (Fr.) Kühner	Antraquinona: Boletol	No se reporta
<i>Xerocomus chrysenteron</i>	Antraquinona: Boletol	No se reporta
<i>Xerocomus parasiticus</i>	Antraquinona: Boletol, Pseudoboletol (isoboletol)	Rojo a azul
<i>Xerocomus piperatus</i> (Bull.) Anon.	Antraquinona: Boletol, Pseudoboletol (isoboletol)	Rojo a azul
<i>Xerocomus subtomentosus</i> (L.) Fr.	Antraquinona: Boletol	No se reporta

Cuadro 6. Fórmulas exclusivas para mordentar un kilogramo de lana de oveja.

Mordiente	Cantidad en gramos
Alumbre	189
Crémor tártaro	94
Dicromato de potasio	34
Crémor tártaro	47
Sulfato de cobre	125.5
Sulfato ferroso	157
Crémor tártaro	8
Sulfato de sodio	20
Cloruro de estaño	32
Crémor tártaro	160

diferente estructura molecular y no se preparan igual para el proceso de tinción.

Las más utilizadas son las de origen animal, como la lana, alpaca y la seda por ser de más fácil manejo. A diferencia de las fibras de procedencia vegetal como el algodón, lino, rayón, cáñamo, ixtle y otras más, pues se requieren un proceso más complicado para llevar a cabo dicho propósito. Por otra parte, cada una de estas fibras absorben él o los colores de diferente manera en el baño de teñido.

En el caso de los hongos y líquenes, el papel más importante como colorantes orgánicos son en el teñido de fibras de lana. A continuación se describen las técnicas de tinción más utilizadas en estos grupos:

MÉTODO DIRECTO: consiste en sumergir en agua la fibra y el colorante (hongo o líquen), permitiendo conocer el potencial tintóreo de la especie. Esta técnica es la que más se aplica en líquenes, por la razón de que los colorantes que presentan son capaces de fijarse a la fibra de lana o seda, debido a que poseen un gran cantidad de ácidos en el talo o cuerpo, que cumplen la función de un mordiente. La mayoría de los líquenes poseen más de un ácido, los cuales pueden manifestar una gama de colores con diferentes métodos o tratamientos (Cedano et al. 2001).

FERMENTACIÓN: es el segundo método utilizado para extraer los colorantes de los líquenes. Tradicionalmente, para la extracción del colorante Orcina, el líquen se remojaba en amoníaco (puro o diluido en agua), dejándose fermentar por espacio de unos cuantos días o semanas. El tiempo de obtención del colorante finalizaba cuando se obtienen la variedad de tonos en rosa, fucsia y lila (Chambers 1990).

PREMORDENTADO: antes del teñido se prepara la fibra con los mordientes. Esta técnica facilita la captación y fijación de él o los colorantes disueltos (Cedano et al. 2001).

POSMORDENTADO: como el nombre lo indica, el proceso se efectúa después del teñido. Pues primero la fibra se somete a un teñido directo y luego se sumerge en otro baño con los mordientes disueltos, o en el mismo baño del teñido agregándose las sustancias previamente disueltas. Este procedimiento tiene por objeto variar el color adquirido durante la tinción o reforzar la solidez al lavado y a la luz (Cedano 1994).

OBTENCIÓN DEL TINTE Y TEÑIDO

El procedimiento para obtener los tintes de líquenes y hongos es muy simple. Se utiliza directamente el líquen y en el caso de los hongos, se pueden probar con carpóforos frescos, secos o congelados. En ambos

casos se divide el cuerpo en trozos que se ponen a hervir en agua por 10 minutos, para lograr la humectación del cuerpo fructífero (cuando está deshidratado) y el desprendimiento del tinte. La cantidad de material tintóreo que siempre se propone es de 1:1 con base al peso de la fibra seca. Si después de 10 minutos de ebullición no se presenta ninguna coloración, se añade otra cantidad igual del material a experimentar. Aunque en el caso de algunas especies, se puede obtener el colorante con la mitad de la cantidad señalada con anterioridad, como ocurre con *Phaeolus schweinitzii*. Después de este paso, se añaden las fibras no tratadas o las mordentadas, dejándose al fuego por un tiempo de 30 minutos, durante el cual se agita constantemente, para permitir que el colorante penetre a todas las fibras de la lana. Posteriormente se dejan enfriar y se enjuagan secándose a la sombra. Se evalúan el potencial de las especies con los siguientes parámetros: cantidad de material tintóreo requerido para teñir las fibras; la diversidad de tonos obtenidos por cada taxon y la intensidad de los mismos (Cedano et al. 2001). Por otra parte, la calidad del colorante se valora a través de observar la solidez del color, la resistencia a la luz y al lavado de la fibra (Lock Sing de Ugaz op. cit.).

En la actualidad, la extracción del colorante Orcina, requiere de un tiempo menor que en años atrás, pues se acelera el proceso a través del manejo de la temperatura del agua. El primer paso consiste en hervir el líquen. Después, se cuele para obtener el concentrado, el cual se somete de nuevo al calor con temperatura más elevada y por un tiempo mayor. A continuación, a la solución se le agrega amoníaco y se vuelve a someter al fuego, pero en esta ocasión con una temperatura menor que no alcance la ebullición. La lana se agrega al tinte, ya mordentada con un 10% de alumbre y 2% de ácido tartárico (Rice y Beebe 1980).

El procedimiento para obtener el colorante Tornasol es diferente a los métodos antes señalados. Pues en

principio, se desecan y muelen los líquenes. Luego, se amasan con carbonato de amonio, potasa, cal y agua. Dando inicio a una fermentación que durante la primer semana se adquiere la tonalidad violeta, mientras que en la tercera, la azul. Durante este tiempo, debe agregarse amoniaco, creta y yeso, con la mezcla se hacen cubos que se desecan al aire. Se usa como indicador en tinturas o papel indicador, para teñir pasteles, licores, quesos, aceites, rara vez ropa y vinos (Rice y Beebee, 1980).

Observaciones y comentarios

La revisión bibliográfica realizada para este trabajo, señala que sólo 355 especies del reino Fungi, se han utilizado en trabajos sobre el conocimiento de los pigmentos o colorantes naturales presentes en estos organismos (cuadro 7). En el campo de los pigmentos, ya se conocen los compuestos químicos de 218 taxones, de los cuales 21 corresponden al grupo de los líquenes (cuadro 4), y los 197 restantes, a los hongos (cuadro 5). La mayoría de estas investigaciones tienen implicaciones en la taxonomía, a causa de que los pigmentos tienen un valor de diagnóstico, en parte, porque son responsables del color que se presentan en los talos de los líquenes y cuerpos fructíferos de los hongos. La otra, porque son distintivos en algunos géneros y especies, como es el caso de los carotenoides, que se presentan en *Menegazzia*, *Usnea* (Czeczuga y Richardson 1989) y *Xanthoria* (Fahselt y Krol 1989), por mencionar algunos taxa en líquenes.

En cuanto al campo de los colorantes orgánicos, el número de especies evaluadas es de 137. De las cuales, 16 son líquenes (cuadro 1), que muestran resultados favorables en tintorería y en la tinción de algunos alimentos. Las más aprovechadas son *Rocella tinctoria* y *Xanthoria ectanoides*, por sus coloraciones que van entre los tonos púrpura, rosa, lila, fucsia y azul. En el caso de las demás especies se obtienen los colores con base café, amarilla, naranja, rojo y azul.

Cuadro 7. Datos que muestran el número de especies de líquenes y hongos que se conocen sus pigmentos y colorantes orgánicos.

	Pigmentos	Colorantes	Total
Líquenes	21	16	37
Hongos	197	121	318
Total	218	137	355

De los hongos, se ha valorado el potencial tintóreo de los colorantes orgánicos de sólo 121 especies (cuadro 2), correspondientes a los grupos taxonómicos: Ascomycetes; con 6 especies y Basidiomycetes con 115 (cuadro 2). Este último grupo integrado por ocho taxa: el orden Agaricales (46 especies), el grupo de los Polyporáceos (21), Boletales (21), Telephorales (13), Hymenochaetales (5), Rusulales (5), Cantharelales (3) y Phallales (1).

Dentro del grupo de los Agaricales, se ha indagado más en las familias: Cortinariaceae (14) y Tricholomataceae (9) y en los géneros *Cortinarius* (11), *Agaricus* (8 especies) e *Higrophorus* (6). En menor proporción en *Collibia* (1), *Gymnopilus* (2) y *Stropharia* (1), por señalar sólo algunos.

En cuanto a la extracción de los colorantes presentes en dichas especies se llevó a cabo por dos metodologías: 1) la técnica tradicional de tinción de fibras, que consiste en sumergir los talos del líquen o los carpóforos de los hongos en agua para permitir que se liberen los colorantes y, 2) la extracción del pigmento mediante el sistema denominado Sohlet, utilizando como solvente el metanol al 50% v/v.

La mayoría de las especies de líquenes (16) y hongos (121), fueron manejadas a través de la técnica de tinción de fibras de origen animal (específicamente en lana de oveja), bajo la práctica del método directo y premordentado. Los resultados obtenidos fueron favorables. Se determinó que la mayoría de las especies usadas presentan colorantes, pues todos los hongos y líquenes manifestaron la capacidad de teñir. Por otra parte, se observó que de los

hongos se pueden obtener tonos de los colores básicos e incluso que de cualquier especie se puede obtener más de un tono. Sin embargo, entre las especies que se utilizan se determinaron alrededor de 70 tonos (cuadro 2).

La gama de colores se obtuvo a través de cinco compuestos químicos como: alumbre, dicromato de potasio, sulfato ferroso, cloruro de estaño y sulfato de cobre. Aunque se corroboró que la mayoría de las especies de los poliporáceos estudiados tienen la capacidad de fijar el colorante sin necesidad de un mordiente, lo que con probabilidad se debe a la presencia de taninos. Asimismo, Sundstrom (1980), señaló que los colores que manifestaron estas especies se deben a la presencia de ácido cinnámico y terfenilquinonas, estas últimas, presentes en el ácido polipórico. Los métodos de tinción usados con más frecuencia fueron el directo y premordantado

Respecto a la evaluación de la calidad de los colorantes y de la selección de las especies potencialmente tintóreas, sólo se observaron algunos parámetros en el trabajo de Cedano y colaboradores (2001), quienes manejaron los siguientes: cantidad de material tintóreo requerido para teñir la fibra, diversidad de tonos obtenidos por cada una de las especies y la intensidad de los mismos. Sin embargo, en este trabajo se evaluaron trece taxones del grupo de los poliporáceos, de los que concluyeron que de 33 colorantes obtenidos, el 70% de ellos no tienen gran importancia, debido a que muestran tonalidades de baja intensidad, logradas con cantidades superiores a la sugerida por la literatura. Pocas especies como *Albatrellus cristatus*, *Ganoderma resinaceum*, *Inonotus radiatus*, no requirieron mayor cantidad de lo recomendado, es decir 1:1, para teñir las fibras. Pero la mayoría de ellos mostró poca diversidad en tonos y tan solo nueve presentaron intensidad aceptable.

De las especies evaluadas, *Phaeolus schweinitzii* fue las que se consideró con mayor potencial como colorante, ya que se

obtuvieron cinco tonos con excelente intensidad los que son: marrón aceituna, aceituna, marrón oscuro, marrón luminoso y marrón amarillento, (según el catálogo de colores de Kornerup & Wanschler 1989). Incluso, señalaron que se puede reutilizar el colorante, por dos o tres veces. Además con este hongo, los tonos se pueden lograr con menor cantidad de material tintóreo de lo estipulado. Otras especies que pueden ser considerados para tal efecto son: *Inonotus radiatus* y *Ganoderma resinaceum*. Ambos muestran tonos con base marrón.

Perspectivas futuras y conclusiones

Hoy día, se observa un gran interés por «lo natural», en donde los colorantes orgánicos han adquirido, una vez más, gran demanda en los mercados internacionales. Por la razón de que ofrecen mejor calidad en la tinción de cosméticos, medicamentos, alimentos o bebidas sin manifestar efectos colaterales en la salud de quién los consume o utiliza, tal y como ocurre con algunos colorantes sintéticos que causan toxicidad. De igual manera, la industria textil muestra igual aceptación ante los colorantes orgánicos, pues proporcionan un teñido de buena calidad con colores duraderos y sin maltratar las fibras, lo que permite obtener un producto de mayor precio.

Como se mencionó antes, la mayoría de los colorantes naturales se extraen de plantas y animales, pero tiempos recientes se proponen a los hongos como una alternativa para tal efecto. Esta idea es viable por la diversidad y cantidad de especies presentes en las diferentes regiones del planeta, de las cuales se pueden encontrar un gran número de hongos con potencial tintóreo y algunas con probabilidad de ser cultivadas comercialmente. Dicha opción accede a competir con cualquier otra fuente de producción, pues esto hace posible la obtención de las cantidades necesarias de colorantes orgánicos que requiera cualquier industria.

Por otra parte, es necesario resaltar que el número de hongos tintóreos

probados, representan una mínima parte de la microbiota presente en La Tierra. De acuerdo con el trabajo de Hawksworth (1991), se registran 69 mil especies identificadas, de una estimación de 1.5 millones. Lo que significa que existe una cantidad ingente de taxones pendientes de evaluar su potencial y aprovechamiento como colorantes orgánicos en los diversos campos de la industria.

De los pocos taxones que se evaluaron sus colorantes, se proponen como posibles especie tintóreas a *Phaeolus schweinitzii*, seguida por *Albatrellus cristatus*, *Ganoderma resinaceum* e *Inonotus radiatus*. En cuanto a las otras especies (107) que no se les valoró sus propiedades tintóreas, se sugiere que se retomen en una próxima investigación, con la finalidad de determinar la calidad de los colorantes obtenidos en cada una de ellas, para definir cuáles pueden ser catalogadas como posibles especies tintóreas. Asimismo, se propone que se inicien trabajos en los que se estime la permanencia de los colorantes en las fibras, a través de medir la solidez al lavado y a la luz.

Por la información que se manejó en este documento, se insinúa que las investigaciones continúen en dos líneas: 1) sobre la tinción de fibras, con miras a abordar a la industria textil, pues en los últimos años, alrededor del 50% de la producción mundial de colorantes se destina a dicha área de producción (Lock Sing 1997), y 2) a la detección y aislamiento de los compuestos presentes en los pigmentos, ya que en los últimos 130 años se han sintetizado varios miles de compuestos químicos coloridos, de los cuales alrededor de 10 mil son o han sido producidos a escala industrial, tratando en muchos casos de sintetizar productos idénticos a los naturales como el β -caroteno. Mejor aún, sería abocarse al campo de los carotenos, pues de acuerdo con datos que reporta Lock Sing (1997), señala que el mercado en ese tiempo, fue de 19 mil millones de dólares para la producción de estos compuestos, de los

cuales el 70% se utiliza en la tinción de alimentos, el 21% en suplementos vitamínicos, el 5% en cosméticos y el restante 4% para otros productos.

Finalmente, se reconoce que la industria de los colorantes no ha alcanzado el desarrollo que tuvo en otras épocas. Sobre todo por el costo de obtención de los colorantes naturales puros, el cual se eleva el precio de 30 a 100 veces más que la producción de los sintéticos certificados. Sin embargo, no cabe duda que en un futuro se generen estrategias de diversa índole, que ayuden a superar estos inconvenientes. De tal manera, que los colorantes naturales, incluyendo los de hongos, represente una serie mayor de ventajas que los artificiales, entre ellas, las económicas.

Agradecimientos

Los autores expresan su gratitud a la Universidad de Guadalajara por el apoyo económico brindado al proyecto. A Laura Guzmán Dávalos, Roberto González Tamayo, Servando Carvajal y dos revisores anónimos sus comentarios y sugerencias para mejorar el documento.

Referencias bibliográficas

- Arpin, N. y J. L. Fiasson**, 1971. The pigments of basidiomycetes: Their chemotaxonomic interest. In: *Evolution in the higher Basidiomycetes* (ed. R.H. Petersen), pp. 63–69. An International Symposium. Univ. Tennessee Press, Knoxville.
- Barnhart, K.R.** 1986. *The American Heritage Dictionary of Science*. Houghton Mifflin. E.U.A.
- Cedano, M.** 1994. *Teñido con Hongos*. Folleto instructivo, Universidad de Guadalajara, Instituto de Botánica, Guadalajara.
- Cedano, M., y L. Villaseñor**. 2002. Hongos con potencial tintóreo en Jalisco, México. *Memorias del II congreso Internacional de Grana Cochinilla y Colorantes Naturales*. Guadalajara. p. 112.
- Cedano, M., L. Villaseñor & L. Guzmán-Dávalos**. 2001. Some Aphyllorphorales tested for organic dyes. *Mycologist* **15**(2): 81–85.

- Chambers, W.** 1990. Artie lichen dyes. In: *Dyes from Nature. Plants & Gardens*, Brooklyn Botanic Garden Record **46**(2): 46–48.
- Czczuga, B. y D. H. S. Richardson.** 1989. Carotenoids in some lichen species from Ireland. *Lichenologist* **21**(4): 363–367.
- Dangy-Caye, M. P. and N. Arpin.** 1974. Présence de styryl-6á pyrones, notamment the bisnoryangonine et d'hispidine chez *Gymnopilus penetrans* (Fr. ex Fr.) Murr., Travaux Mycologiques dédiés R. Kühner. *Nun. Sp. Bull. Soc. Linn. Lyon* **43**: 109–118.
- Dean, J.** 1999. *Wild Color*. Watson-Guptill Publications, New York.
- Fahsel, D. y M. Krol.** 1989. Biochemical comparison of two ecologically distinctive forms of *Xanthoria elegans* in the Canadian high Arctic. *Lichenologist* **21**(2): 135–145.
- Gill, M.** 1994. Pigments of fungi (Macromycetes). *Natural Products Reports* **11**: 67–90.
- Gill, M. y W. Steglich.** 1987. *Pigments of fungi (Macromycetes)*. Progress in the Chemistry of Organic Natural Products 51. Springer Verlag: Wien, New York.
- Hatfield, G. M. and L. R. Brady.** 1968. Isolation of bis-Noryangonin from *Gymnopilus decurrens*. *Lloydia* **31**(3): 225–228.
- Hawksworth, D. L.** 1991. The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. *Mycological Research* **91**: 641–655.
- Hendry, G., A. F. y J. D. Houghton.** 1992. *Natural food colorants*. AVI. New York.
- Hoilan, K.** 1990. The genus *Gymnopilus* in Norway. *Mycotaxon* **39**: 257–279.
- Igoe, R. S.** 1998. Diccionario de ingredientes alimentarios. AGT Editor, S.A., México. Index Fungorum: <http://www.speciesfungorum.org/names/names.gsp>
- Johannesson, H., S. Ryman, H. Lundmark y E. Danell.** 1999. *Sarcodon imbricatus* and *S. squamosus*- two confused species. *Mycol. Res.* **103**(11): 1447–1452.
- Kok, A.** 1966. A short history of the orchil dyes. *Lichenologist* **3**: 248–272.
- Kornerup, A. y J. H. Wanscher.** 1989. *Methuen handbook of colour*. Methuen. London.
- Lock Sing de Ugaz, O.** 1997. *Colorantes naturales*. Pontificia Universidad Católica del Perú y Fondo Editorial, Perú.
- Michel-Morfin, J. E.** 2002. El caracol del tinte en la costa del pacífico mexicano; esquema de aprovechamiento. *Memorias del II congreso Internacional de Grana Cochinilla y Colorantes Naturales*. Guadalajara. pp. 46–50.
- Piña L., I.** 1977. *La grana o cochinilla del nopal*. Publicación de los Laboratorios Nacionales de Fomento Industrial, México.
- Rees, B.J., D. A. Orlovich and P. B. D. Marks.** 1999. Trading the fine line between small statured *Gymnopillus* and excentrically stipitate *Galerina* species in Australia, *Mycological Research* **103**(4): 427–442.
- Rice, M.** 1974. *Let's Try Mushroom for Color*. Thresh Publications: Santa Rosa.
- Rice, M. C.** 1990. Mushrooms for color. In *Dyes from Nature. Plants & Gardens, Brooklyn Botanic Garden Record* **46**(2): 42–45.
- Rice, M. y D. Beebee.** 1980. *Mushrooms for color*. Mad River Press Ing. Eureka, California.
- Silva, S. C., A. L. Viguera y L. Portillo.** 2002. Utilización de *Ganoderma sessile* Murrill como colorante. *Memorias del II congreso Internacional de Grana Cochinilla y Colorantes Naturales*. Guadalajara. pp. 126–128.
- Sundstrom, E.** 1980. Appendix. In *Mushrooms for color*, Rice, M. y Beebee D. Mad River Press, Pp. 142–149.
- Turok, M., A. Singler M., E. Hernández C., J. Acevedo G., R. Lara C. y V. Turcott.** 1988. *El caracol púrpura*. SEP, Serie Conocimientos, México, D.F.
- Upton, J.** 1990. Blue dyes from *Xanthoria lichens*. In *Dyes from Nature. Plants & Gardens, Brooklyn Botanic Garden Record* **46**(2): 49–50.
- Viguera Guzmán, A. L., L. Portillo y M. Ayón.** 2001. *Manual de teñido de fibras naturales con grana cochinilla y otros tintes naturales*. Departamento de Botánica y Zoología, Universidad de Guadalajara, Guadalajara.
- Ye, Y., J. Josten, N. Arnold, B. Steffan y W. Steglich.** 1996. Isolation of a fluorine pigment from the Indian paint fungus, *Echinodontium tinctorium* and *Pyrofomes albomarginatus*. *Tetrahedron* **52**: 5793–5798.

Acceptado el 23 de enero de 2006

Perspectivas de producción de hongos comestibles (*Pleurotus* spp.) en la región nordeste del estado de Nuevo León

Ramón Rodríguez Macías¹, Rigoberto González González², Mario A. Ruiz López¹, Pedro M. García López¹, Jesús Ruiz Moreno¹, Juan F. Zamora Natera¹ y Eduardo Salcedo Pérez¹

¹Departamento de Botánica y Zoología. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara. Las Agujas, Zapopan, Jalisco, México. CP 45110. AP. 1-139. Teléfono y Fax (01-33) 3777-1192.

²Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Nuevo León, México.

Correo electrónico: ramonrod@cucba.udg.mx

Resumen: Se cultivaron tres cepas de *Pleurotus* spp. (IBUG-4, IBUG-8, CS-1) a temperaturas que oscilaron de 28 a 36 °C sobre tres sustratos lignocelulósicos: rastrojo de maíz, rastrojo de sorgo forrajero y pasto bermuda (*Cynodon dactylon* (L) Pers.). Con la cepa IBUG-8, cultivada en pasto, se obtuvo la mayor producción de carpóforos y eficiencia biológica de las tres cepas evaluadas, seguido por el rastrojo de maíz y rastrojo de sorgo. Se efectuó un análisis de proteína de los carpóforos y sustratos. El análisis de proteína del sustrato no presentó diferencias significativas sobre el contenido de la misma en los carpóforos. Los resultados de esta investigación demostraron que se puede producir alimento de alto valor proteico, mediante el cultivo del hongo comestible del género *Pleurotus*, en condiciones ambientales de la región nordeste del estado de Nuevo León, México.

Palabras clave: cultivo, setas, cepas, sustratos.

Abstract: Three *Pleurotus* spp. spawn (IBUG-4, IBUG-8 and CS-1) were cultivated at temperatures ranging from 28-36 °C, in three ligno-cellulosic substrata: corn stubble, sorghum stubble and Bermuda grass (*Cynodon dactylon* (L) Pers.). The spawn IBUG-8, grow on Bermuda grass, produced the best fruit-bodies and was biological efficiency, followed by the corn stubble and sorghum stubble. The analysis of the fruit-bodies protein content, indicated that there are no statistical differences in the three substrata. The results of this research demonstrate that it is possible to produce food high in protein by cultivating the edible *Pleurotus* mushrooms in conditions found in the northwest of the state of Nuevo Leon, Mexico.

Key words: cultivation, mushrooms, spawn, substratum.

Introducción

Se considera que alrededor de la mitad de la población mundial esta mal alimentada, no sólo en cuanto a energía que requiere, sino también en lo referente a los elementos nutritivos (aminoácidos, proteínas, vitaminas) que, al ser deficientes en los alimentos, ocasionan la desnutrición. Por esta razón, se han encaminado esfuerzos para desarrollar biotecnologías que generen alimentos de buena calidad, a

bajo coste y abundantes. Una, es el cultivo de diversas especies de hongos comestibles, ya que para su producción se emplean áreas muy reducidas, en comparación con las que se utilizan en la agricultura, y las cosechas son abundantes durante todo el año (Chang y Hayes 1978; Chang y Quimio 1982).

Sobre algunos desechos agrícolas crece una gran variedad de hongos que

poseen un alto contenido de proteínas, vitaminas y minerales; muchos de los cuales son comestibles y con aromas y sabores únicos, razón por la cual han sido muy aceptados por la población. Otra ventaja de los hongos es que contienen más proteína que la mayoría de los vegetales, poseen todos los aminoácidos esenciales; son bajos en calorías y ricos en vitaminas y minerales (Chang y Miles 1989).

El hongo *Pleurotus* spp. es uno de los géneros más importantes que prosperan con éxito en los residuos agroindustriales de México (Chang y Hayes op. cit.). Se desarrolla sobre la pulpa de café, en bagazo de agave tequilero y en la mayoría de rastrojos, entre otros materiales lignocelulósicos. Es comestible y susceptible de cultivo a escala industrial, lo que proporciona una alternativa excelente como alimento debido a su alto valor nutricional (Guzmán et al. 1993).

En México, el cultivo de *Pleurotus* se desarrolla en la región central y sur del país, debido a las condiciones climáticas más apropiadas para el cultivo de este género (Hernández et al. 1994; Martínez-Carrera et al. 1988). Hoy día, pocos estados de la región norte del país realizan estudios acerca del cultivo de este hongo, tal es el caso del estado de Nuevo León, sobre todo en la región nordeste, donde las altas oscilaciones térmicas han limitado el estudio y cultivo de hongos comestibles, por lo que se tiene poca información referente a esta actividad en el ámbito regional. Por otra parte, se sabe que *Pleurotus*, tiene aceptación entre los consumidores, como lo demuestra su venta en supermercados de la ciudad de Monterrey y regiones aledañas, el cual es llevado desde Jalisco o del sur de Texas. Sin embargo, para que su explotación se haga intensiva es necesario realizar pruebas de fructificación de cepas de *Pleurotus* para adaptarlas al cultivo en esa región de Nuevo León y conocer su comportamiento en sustratos lignocelulósicos.

En el presente estudio se evaluó el crecimiento de tres cepas del género *Pleurotus* sobre tres sustratos lignocelulósicos de bajo coste y abundantes; además, éstas cepas se seleccionaron por su alta producción de carpóforos adaptadas a las condiciones climáticas de la región.

Materiales y métodos

Para realizar esta investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología Microbiana, de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León, localizada en el municipio de Marín, N.L., México, que se encuentra situado entre las coordenadas geográficas 25° 53' del norte y 100° 03' del oeste, y a una altitud de 367 m.

Con base en la clasificación climática de Köppen modificada para la República Mexicana por García (1973), el municipio de Marín se encuentra bajo la influencia de dos tipos climáticos: Bso y Bs1. El clima se caracteriza por ser cálido, con temperatura media anual de 22 °C; enero es el mes más frío, con temperatura media de 13.2 °C y agosto es el mes más caliente, con temperatura media de 29.4 °C; además, es extremoso, con una amplia oscilación térmica. El régimen de precipitación se presenta principalmente en verano, con una media anual de 518 mm.

La actividad agrícola es de temporal y está basada en cultivos forrajeros como maíz, sorgo y pastos, además de granos, como trigo y maíz, para consumo humano. Con base en la disponibilidad de residuos agrícolas, se eligieron los más abundantes a escala regional para su utilización como sustrato de cultivo del hongo.

La metodología del cultivo se realizó de acuerdo con Guzmán et al. (1993). Se utilizaron tres cepas del género *Pleurotus*: *P. pulmonarius* IBUG-4 y CS-1 y *P. ostreatus* IBUG-8, las cuales se encuentran depositadas en el cepario de hongos comestibles del Departamento de Botánica y Zoología, de la Universidad de Guadalajara.

El inóculo se elaboró con granos de sorgo previamente humedecidos y esterilizados a 121 °C dentro de frascos de vidrio de un litro de capacidad.

Los sustratos empleados fueron: rastrojo de maíz, rastrojo de sorgo y pasto bermuda. Cada sustrato se fragmentó en segmentos de 5 a 8 cm, los cuales se hidrataron con agua fría durante 24 h. La pasteurización se realizó por inmersión en agua con una temperatura de 70-75 °C por 40 minutos.

Para el desarrollo del experimento se utilizó un área de 84 m², dividida en áreas de incubación y fructificación, la cual se construyó con material de concreto (tanto el techo, piso como paredes), con una altura de 4 m; la entrada de luz y ventilación se realizó con ventanas de 1 m² cubiertas con malla.

El sustrato inoculado dentro de bolsas se colocó en estantes metálicos en el área de incubación para permitir el crecimiento y colonización del micelio, hasta el inicio de la fructificación; durante este periodo se registró la temperatura interna del cuarto de incubación.

Cuando aparecieron los primordios sobre el sustrato se les retiró la bolsa de plástico para evitar deformaciones de los carpóforos y para permitir su desarrollo, y el riego. A diario se registró temperatura máxima y mínima; la humedad relativa se mantuvo por medio de riegos sobre las paredes y el piso de la sala; una vez que los carpóforos se desarrollaron en su totalidad, se procedió a su cosecha, y se pesaron. La producción total se determinó mediante la fórmula de eficiencia biológica propuesta por Tchierpe y Hartman (1977) la cual consiste en dividir el peso fresco de los hongos cosechados entre el peso seco del sustrato empleado expresada en porcentaje.

$$E.B. = \left(\frac{p.f.h.}{p.s.s.} \right) \times 100$$

Otro aspecto que se consideró como parte de esta investigación fue la determinación de proteína de los sustratos empleados y de los carpóforos cosechados de la cepa IBUG-8, ya que fue la que resultó con mayores rendimientos en cada esquilmo utilizado. Las muestras se analizaron por el método Kjeldahl, (Horwitz 1980). Para el caso de los sustratos lignocelulósicos se empleó el factor de conversión de N × 6.25 y para los carpóforos el de N × 4.38 de acuerdo con lo señalado por Lau (1982).

Para analizar estadísticamente los resultados obtenidos se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 3².

Resultados y discusión

Con los resultados obtenidos en esta investigación, se demostró que los sustratos utilizados permiten un buen crecimiento y desarrollo del micelio de las cepas de *Pleurotus spp.* En el cuadro 1 se señala el número total de días después de la

Cuadro 1. Eficiencias biológicas obtenidas en las cepas de *Pleurotus* estudiadas en cada uno de los sustratos utilizados.

Cepa	Sustrato (rastros)	A.P.†	N.C.	E. B.%
IBUG-8	Pasto	17	4	126.2 a
IBUG-8	Maíz	16	4	114.2 a
CS-1	Pasto	17	3	95.7 b
IBUG-4	Pasto	28	3	88.7 bc
IBUG-4	Maíz	23	3	80.3 bc
CS-1	Maíz	16	3	71.6 cd
IBUG-8	Sorgo	12	3	61.5 de
IBUG-4	Sorgo	20	3	53.6 e
CS-1	Sorgo	13	3	50.6 e

A.P. = aparición de primordios (†Días).

N.C. = número de cosechas.

E.B. = eficiencia biológica.

Medias con la misma letra son estadísticamente iguales (tukey, P ≥ 0.01).

inoculación hasta la aparición de los primordios (A.P.). Se tuvo fructificación temprana con la cepa IBUG-8 en rastrojo de sorgo a los 12 días, en hojas de maíz a los 16 y en pasto a los 17; del mismo modo ocurrió con la cepa CS-1, a los 13 días en rastrojo de sorgo, 16 en hojas de maíz y 17 en pasto bermuda. La cepa IBUG-4 presentó un promedio mayor de días para la aparición de primordios, en un caso hasta 28. Es importante señalar que se obtuvo fructificación temprana si se considera que, en estudios realizados previamente en Jalisco y con las mismas cepas, tuvieron periodos de fructificación de 20 a 25 días (Soto et al. 1989). Se hicieron tres cosechas, excepto para la cepa IBUG-8 en pasto y en rastrojo de maíz en que fueron cuatro. Las oscilaciones de temperatura y humedad relativa registradas dentro de la sala experimental, durante la incubación y hasta la fructificación de las cepas quedaron registradas en intervalos de 15 a 36 °C y de 60 a 90% de humedad relativa.

En cuanto a los datos de eficiencia biológica (E.B.) el análisis de varianza demostró la existencia de diferencias significativas con una probabilidad de $P > 0.01$; por lo que en la comparación de medias, de acuerdo con Tukey, se tuvo que la más alta eficiencia correspondió al tratamiento de la cepa IBUG-8 con el rastrojo de pasto, con un valor promedio de 126.2%, el cual resultó estadísticamente igual al obtenido con el rastrojo de maíz de 114.2%. La eficiencia biológica más baja la presentó el tratamiento de la cepa CS-1 con rastrojo de sorgo con un promedio de 50.6%; sin embargo, fue estadísticamente igual a los tratamientos de las cepas IBUG-8 e IBUG-4, con el mismo rastrojo, con valores de 61.5% y 53.6. La cepa IBUG-4 se comportó estadísticamente igual en rastrojo de maíz y pasto bermuda con valores promedio de 80.3 y 88.7% respectivamente (cuadro 1).

Los rendimientos considerados aceptables son de 100% de eficiencia biológica (Guzmán et al. 1993); dos de los nueve tratamientos probados fueron

superiores a este valor y tres más resultaron similares, con una producción favorable. Estos rendimientos son superiores a las de otros sustratos reportadas por diferentes autores (cuadro 2). La naturaleza química del sustrato está en relación directa con las necesidades de crecimiento del hongo. Además, se deben considerar los factores físico-químicos, como el pH, textura, y los factores ambientales, como la humedad y temperatura (Guzmán et al. 1993).

En lo que respecta al valor nutricional de estos hongos, Eger (1978) menciona que, dada la versatilidad de estos organismos, cada especie posee variaciones significativas en cuanto a su composición química proximal. Dichas variantes se ven afectadas por el sustrato y el método de cultivo, así como por el origen geográfico de la cepa.

De los componentes que se analizaron, las proteínas son el grupo más significativo para considerar el valor nutritivo de un alimento, ya que las grasas y los carbohidratos casi siempre están presentes en una dieta.

En la figura 1 se presenta el porcentaje de proteína ($N \times 4.38$) de los carpóforos obtenidos de la cepa IBUG-8, al emplear cada uno de los sustratos ya mencionados; destaca la cepa cultivada en rastrojo de sorgo, la cual alcanzó el valor más alto de proteína y fue diferente a los demás tratamientos, con una media de 27.56%, seguido por la cultivada en rastrojo de pasto bermuda con 26.7% y, por último, la que se cultivó en el rastrojo de maíz con 20.76% de proteína en los carpóforos.

Los resultados que se obtuvieron en el análisis de proteína coinciden con los que reportó Martínez (1990), al estudiar una cepa de *Pleurotus ostreatoroseus* cultivada en rastrojo de trigo en donde el valor más alto de proteína fue de 26%. Asimismo, en la figura 1 se aprecian los resultados del análisis de proteína de los sustratos empleados en el estudio. El mayor porcentaje lo presentó el rastrojo de pasto bermuda (13.25%) seguido por el rastrojo de sorgo (4.6%) y por último, el rastrojo de hojas de mazorca de maíz, con 3.7% de

Cuadro 2. Eficiencias biológicas obtenidas con cepas de *Pleurotus* spp. en diferentes sustratos (orden descendente).

Sustratos	Cepa	%E.B.	Autor
Hoja seca de maíz	<i>P. ostreatus</i>	144.85	Bernabé y Arzeta 1994
Rastrojo de pasto	<i>P. ostreatus</i> IBUG-8	126.2	†
Orégano	<i>Pleurotus</i> sp.	117.31	Téllez et al. 1991
Rastrojo de maíz	<i>P. ostreatus</i> BUG-8	114.2	†
Pulpa de café	<i>P. ostreatus</i> INIREB-26	103.60	Martínez-Carrera et al. 1988
Paja de cebada	<i>P. ostreatus</i> INIREB-26	96.04	Martínez-Carrera et al. 1988
Rastrojo de pasto	<i>P. ostreatus</i> CS-1	95.7	†
Rastrojo de pasto	<i>P. pulmonarius</i> IBUG-4	88.7	†
Cáscara de cacahuete	<i>P. ostreatus</i>	85.44	Bernabé y Arzeta 1994
Fibra de coco	<i>P. ostreatus</i> var. <i>florida</i>	80.6	Berbabé 1993
Rastrojo de maíz	<i>P. pulmonarius</i> IBUG-4	80.3	†
Vaina de frijol	<i>P. ostreatoroseus</i>	75.0	Bautista et al. 1991
Rastrojo de maíz	<i>P. ostreatus</i> CS-1	71.6	†
Paja de trigo	<i>P. ostreatus</i>	64.2	Acosta et al. 1988
Rastrojo de sorgo	<i>P. ostreatus</i> IBUG-8	61.5	†
Bagazo de maguey	<i>P. ostreatus</i> INIREB-8	60.2	Soto-Velazco et al. 1989
Pulpa de café	<i>P. ostreatus</i> INIREB-20	58.75	Martínez-Carrera et al. 1988
Zacate buffel	<i>P. djamour</i> INIREB-29	54.1	Gaitán 1993
Rastrojo de sorgo	<i>P. pulmonarius</i> IBUG-4	53.6	†
Bagazo de henequén	<i>P. ostreatus</i> comercial	51.46	Burgos et al. 1994
Rastrojo de sorgo	<i>P. ostreatus</i> CS-1	50.6	†
Olote de maíz	<i>P. ostreatus</i>	50.5	Acosta et al. 1994
Pulpa de café	<i>P. florida</i>	43	Bermúdez et al. 1994
Paja de cebada	<i>P. ostreatus</i> INIREB-20	36.69	Martínez-Carrera et al. 1988
Bagazo de henequén	<i>P. djamour</i>	27.26	Burgos et al. 1994
Viruta de encino	<i>P. djamour</i> INIREB-29	26.0	Gaitán 1993
Tamo de maíz	<i>P. ostreatus</i>	18.6	Acosta et al. 1994
Bagazo de caña	<i>P. ostreatus</i>	15.7	Acosta et al. 1994
Bagazo de henequén	<i>P. djamour</i> INIREB-29	0	Gaitán 1993

†Eficiencias biológicas obtenidas en el presente estudio.

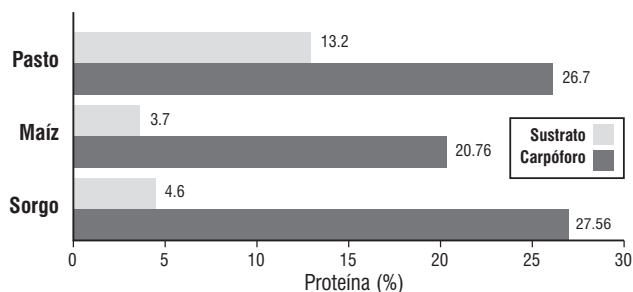


Figura 1. Porcentaje de proteína de los sustratos utilizados, así como de los carpóforos de *Pleurotus ostreatus* IBUG-8.

proteína. Los resultados mostraron que el contenido de proteína en los sustratos no tuvo un efecto directamente proporcional sobre el contenido de proteína de los carpóforos, que confirma los resultados reportados por Martínez (1990).

Conclusiones

Con base en los resultados, es posible realizar el cultivo de *Pleurotus* de forma intensiva bajo las condiciones climáticas del municipio de Marín, Nuevo León, lo que proporcionaría un alimento sano y nutritivo, a bajo coste y de manera sencilla, empleando como sustrato materiales forrajeros abundantes en la región.

Las cepas que se utilizaron poseen una alta adaptabilidad a condiciones extremas de temperatura, ya que tuvieron fructificación temprana y eficiencias biológicas aceptables de acuerdo con la literatura citada. Asimismo, para esta región, se recomienda el empleo de pasto bermuda y rastrojo de maíz como sustratos para el cultivo de *Pleurotus*, en especial, *P. ostreatus* IBUG-8.

El contenido de proteína de los carpóforos obtenidos en los sustratos empleados fue similar, por lo que en este aspecto, la calidad nutricional de las setas se encuentran dentro de los intervalos mencionados en la literatura.

Literatura citada

- Acosta, U. L., N. Bautista, V. M. Mora, L. López, D. Portugal y V. M. Bustos. 1994. Primer cultivo de una cepa silvestre de *Pleurotus ostreatus* de México. P. 64. In: *Memorias del V Congreso Nacional de Micología*. Universidad de Guanajuato. Guanajuato, México.
- Acosta-U. L., G. Bustos Zagal y D. Portugal. 1988. Aislamiento y caracterización de cepas de *Pleurotus ostreatus* y su cultivo en residuos agroindustriales en el estado de Morelos. *Rev. Mex. Mic.* 4: 13–20.
- Bautista, N., L. Acosta, V. Mora, E. Montiel y E. Martínez. 1991. Cultivo de *Pleurotus ostreatus* Sing. sobre vaina de frijol en el estado de Morelos. Pág. 98. In: *Memorias del IV Congreso Nacional de Micología*. 14–18 de octubre. Universidad Autónoma de Tlaxcala. Tlaxcala, México.
- Bermúdez, R. C., J. A. Traba, M. J. Verdecia y P. Gross. 1994. Producción de *Pleurotus ostreatus* var. *florida* sobre residuales de la agroindustria cafetalera en Cuba. *Micol. Neotrop. Apl.* 7: 47–50.
- Bernabé, G. T., M. S. Domínguez y S. A. Bautista. 1993. Cultivo del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* var. *florida* sobre fibra de coco y pulpa de café. *Rev. Mex. Mic.* 9: 13–18.
- Bernabé, G. T., y G. J. Arzeta. 1994. Cultivo de *Pleurotus ostreatus* sobre cáscara de cacahuete y hojas secas de maíz. *Rev. Mex. Mic.* 10: 15–20.
- Burgos, R. D., L. Ancona y G. Guzmán. 1994. Cultivo del hongo comestible *Pleurotus djamour* (Fr.) Boedijn y su comparación con el cultivo de *Pleurotus ostreatus* en bagazo de henequén. Pág. 75. In: *Memorias del V Congreso Nacional de Micología*. Universidad de Guanajuato. Guanajuato, México.
- Chang, S.T. y W.A. Hayes (eds.). 1978. *The biology and cultivation of edible mushrooms*. Academic Press. Nueva York. Pp. 25–34.
- Chang, S.T. y T. H. Quimio (eds). 1982. *Tropical mushrooms: biological nature and cultivation methods*. The Chinese University Press. Hong Kong. Pp. 68–87.
- Chang, S.T., y P.G. Miles. 1989. *Edible mushrooms and their cultivation*. CRC Press. Boca Raton, Florida. Pp. 145–187.
- Eger, G. 1978. *The biology and cultivation of edible mushroom*. Academic Press. Nueva York. P. 86.
- Gaitan, H. R. 1993. Cultivo de *Pleurotus djamour* en zacate buffel, viruta de encino y bagazo de henequén. *Reporte Científico N. Esp.* 13: 111–115. Fac. de Ciencias Forestales. Universidad Autónoma de Nuevo León. N.L., México.
- García, E. 1973. *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köeppen*. Instituto de Geografía, UNAM. México
- Guzmán, G., G. Mata, D. Salmones, C. Soto-Velazco y L. Guzmán Dávalos. 1993. *El cultivo de los hongos comestibles. Con especial atención a especies tropicales y subtropicales en esquilmos y residuos agroindustriales*. Instituto Politécnico Nacional. México.

- Hernández, I. H., J. E. Sánchez y L. A. Calvo.** 1994. Aislamiento de cepas nativas de *Pleurotus* en el Soconusco, Chiapas. Pág. 70. In: *Memorias del V Congreso Nacional de Micología*. Universidad de Guanajuato. Guanajuato, México.
- Horwitz, W., (ed).** 1980. *Official Methods of Analysis*. Assoc. Off. Anal. Chem. 13th. Washington, D.C.
- Lau, Oi-Wah.** 1982. *Tropical mushrooms: biological nature and cultivation methods*. The Chinese University Press, Hong Kong. Pág. 175
- Martínez-Carrera, D., P. Morales, y M. Sobal.** 1988. Cultivo de diversas cepas mexicanas de *Pleurotus ostreatus* sobre pulpa de café y paja de cebada. *Rev. Mex. Mic.* 4: 153-160.
- Martínez, M. M.** 1990. *Cultivo del hongo comestible Pleurotus ostreatoroseus Sing. en cuatro substratos lignocelulósicos y la influencia sobre su composición química proximal*. Facultad de Biología, Universidad de Guadalajara. Jalisco, México.
- Soto-Velasco, C., L. Guzmán-Davalos y O. Rodríguez.** 1989. Cultivo del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* sobre bagazo de maguay tequilero fermentado y mezclado con paja de trigo. *Rev. Mex. Mic.* 5: 97-101.
- Tchierpe, H. J. y K. Harman.** 1977. A comparison of different growing methods. *Mush. J.* 60: 404-416.
- Téllez, M. P., A. C. Guzmán, y J. G. Linerio.** 1991. Cultivo del hongo *Pleurotus* sp. sobre orégano. Pág. 97. In: *Memorias del IV Congreso Nacional de Micología*. 14-18 de octubre 1991. Universidad Autónoma de Tlaxcala. Tlaxcala, México.

Aceptado el 10 de marzo de 2006

Variación en la tipología del cambio de uso del suelo en el área de protección de flora y fauna «La Primavera» para el periodo 1980-2002

Agustín Gallegos Rodríguez¹, Efraín Abundio Ramírez¹, Servando Carvajal², Juan Espinosa Aréchiga¹ y Jesús Hernández Alonso¹

¹Departamento de Producción Forestal, CUCBA, Km 15.5 Carretera Guadalajara-Nogales, Las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jalisco.

²Instituto de Botánica, Departamento de Botánica y Zoología, Apartado 139, Zapopan, 45110, Jalisco, México.

Correo electrónico: gra09526@cucba.udg.mx - scarvajaj@cucba.udg.mx

Resumen: En el presente trabajo se evaluó el cambio de uso del suelo para el Área de Protección de Flora y Fauna La Primavera (APFFLP) en un periodo de 25 años, a través de Sistemas de Información Geográfica y Percepción Remota. Se realizó un análisis multitemporal de las capas de uso forestal, agrícola, pastizal y urbano de los años 1977, 1986, 1993 y 2002. Los resultados muestran una tendencia constante en relación de 90% de cobertura arbórea y del 10% de agrícola-pastizal. La cobertura de urbanización incrementó 1.49% en un periodo de 9 años (1993 - 2002). En la zona de uso restringido, según el Programa de Manejo del APFFLP se detectaron actividades agrícola, pastizal, urbanismo y recreativas (motorcross).

La tasa de cambio para la ocupación forestal, agrícola y pastizal es mínima, mientras que la urbanización fue mayor.

Palabras claves: Cambio de uso del suelo, Sistemas de Información Geográfica.

Abstract: In the present work, the change in land use during the last 25 years for the Area of Protection of Flora and Fauna La Primavera (APFFLP) was evaluated using remote perception and GIS. A multitemporary analysis of the forest, agricultural areas, pastures and urban zones was made for the years 1977, 1986, 1993 and 2002. The results showed the relation of land use has been constant: 90% of arboreal cover and 10% of agricultural-pasture. The urban areas increased only 1.49% in a period of 9 years (1993 - 2002). In the zone of restricted use, according to the Management Program of the APFFLP, activities such as agriculture, grazing, urbanization and recreation (motorcross) were detected. The rate of change in the forest to agriculture and grazing was minimal, whereas urbanization was greater.

Key words: Change in land use, GIS

Introducción

En todo ecosistema forestal ocurren una serie de procesos biológicos y antropogénicos que rigen la dinámica del mismo. Entre estos procesos se pueden mencionar el envejecimiento y muerte de los árboles, la regeneración natural y los incendios forestales, entre otros. La sucesión natural involucra el reemplazo de una comunidad vegetal por otra en un tiempo variable, el cual implica cambios en la composición

florística, fisionómica y estructural de la comunidad (Budowski 1956). El impacto global de estos procesos se han evaluado desde diversas perspectivas entre las que destacan la pérdida de biodiversidad y el calentamiento global o cambio climático, entre muchas otras consecuencias ambientales de mayor relevancia regional tales como la alteración de ciclos hidrológicos, introducción de especies

exóticas y pérdida de hábitat, entre otros (Vitousek et al. 1997).

Una manera confiable para medir el grado de conversión ambiental antropogénica es a través del estudio de la dinámica espacio temporal de la cubierta vegetal (Berry et al. 1996). Diversos autores han enfatizado la necesidad de cuantificar dicho grado de conversión y expresarlo en términos de los factores desencadenadores del cambio y hacen énfasis en aquello producto de la acción antrópica. La dinámica de la cubierta vegetal y su uso están íntimamente relacionadas (Turner y Meyer 1994; Lambin et al. 2001).

Los estudios sobre los procesos dinámicos de los cambios en la cobertura del suelo y la deforestación son importantes y necesarios porque proporcionan la base para conocer las tendencias de los procesos de degradación, desertificación y pérdida de la biodiversidad de una región determinada (Velázquez et al. 2002).

En el caso particular del Área de Protección Natural del Bosque la Primavera, desde hace algunos años se inició con el estudio sobre el cambio de uso del suelo; sin embargo, hasta hoy no se han reportado resultados contundentes sobre este proceso. Por tal motivo, el Departamento de Producción Forestal del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara, preocupado por la incertidumbre de datos confiables sobre la dinámica de la deforestación del Bosque La Primavera, presentó este proyecto a la Comisión Nacional Forestal (CONAFOR) de la SEMARNAT y al Comité para la Administración del APFF la Primavera para su consideración, y fue aprobado para su realización.

Localización del área de estudio

La Primavera es el bosque más cercano a la ciudad de Guadalajara, se localiza al poniente de la misma. Fue declarado como Zona de Protección Forestal y Refugio de la Fauna Silvestre una superficie aproximada

de 30,500 hectareas, que comprende los municipios de Tala, Zapopan y Tlajomulco (Diario Oficial del 6 de marzo de 1980). El 7 de junio de 2000 se publicó en el Diario Oficial de la Federación el acuerdo mediante el cual se dota al Área Natural Protegida con una categoría acorde con la legislación vigente, quedando con el carácter de Área de Protección de Flora y Fauna «La Primavera» (APFFLP), figura 1.

En el APFF La Primavera convergen dos provincias florísticas: la Sierra Madre Occidental y las Sierras Meridionales o Eje Neovolcánico Transversal, y está constituida por áreas montañosas aisladas, donde se distribuyen diferentes comunidades vegetales conformadas por bosques de encino-pino, encino, pino, vegetación riparia y bosque tropical caducifolio. Según Gallegos (1997), el Bosque La Primavera se caracteriza por ser un bosque fragmentado con un nivel productivo forestal muy bajo. Desde el punto de vista fisiográfico es uno de los relieves volcánicos con mayor diversidad de manifestaciones ígneas ácidas, cuyos suelos presentan una alta proporción de arenas pomáceas, lo que le confiere una alta vulnerabilidad a la erosión (Programa de manejo del APFF 2000).

Según la clasificación climática de Köppen, modificada por García (1973) para la República Mexicana, el clima predominante en el APFFLP está representado por dos tipos: templado subhúmedo S(w₁)(w) y semicálido subhúmedo (A)C(w₁)(w), ambos con lluvias en verano e invierno con precipitaciones anuales que fluctúan entre 800 y 1,000 mm, considerando que las precipitaciones invernales son del orden de 5% de la precipitación total. La temperatura media anual es de 20.6 °C, con una desviación estándar alrededor de 6.5 °C, siendo el mes más frío enero y el más cálido junio. De acuerdo a la clasificación FAO/UNESCO, los suelos presentes en el APFFLP están representados por en su mayoría regosol (92%) y litosol (8%).

El 50% de la superficie dentro del polígono que comprende el APFF La

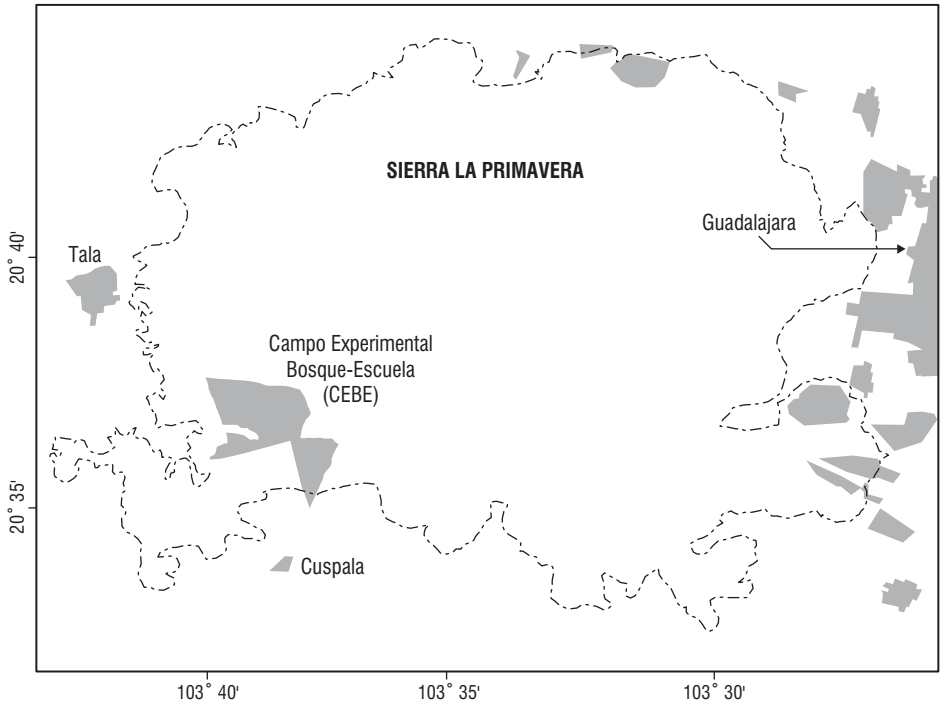


Figura 1. Localización del Bosque La Primavera, Jalisco.

Primavera, es de propiedad privada, el 35% es propiedad ejidal o comunal; y el 15% restante de la superficie es propiedad del Gobierno del Estado.

Antecedentes

Desde hace algunos años se han realizado investigaciones que contribuyen al conocimiento de este problema. Sánchez (1992), realizó una evaluación del cambio de uso de suelo en la Sierra La Primavera durante el período 1972-1986, encontró que la superficie deforestada fue 2,222 hectáreas, también mencionó que las masas de pino se están transformando en masas mezcladas de pino-encino, en ese período el área agrícola aumentó 357 hectáreas. Por otra parte, Curiel (1988), reportó que las pérdidas causadas por la erosión en el Bosque de la Primavera son de 50 a 100

toneladas por hectárea por año, lo que se considera como erosión moderada; asimismo, señaló que los principales agentes destructores del bosque son los incendios forestales y el sobrepastoreo. A causa de que el Bosque La Primavera es un ecosistema muy dinámico en cuanto a su composición y estructura, Gallegos (1994) estableció 70 sitios de muestreo de 1000 m² bajo la metodología de sitios permanentes en el área del Bosque-Escuela de la Universidad de Guadalajara, con el fin de obtener datos sobre la dinámica a través del espacio y el tiempo.

Objetivo general

Determinar y cuantificar grado del cambio de uso del suelo del Bosque La Primavera en el período 1977 - 2002.

Materiales y métodos

MATERIALES UTILIZADOS

Carta topográfica 1:50,000 F-13-D-65 y F-13-D-64 de Guadalajara, ortofoto escala 1:20,000 de 1993 que comprenden las cartas F-13-D-65 a, b, d y e del área APFF. Fotografías aéreas del año 1986 escala 1:37,000 pancromáticas B&N. Recorrido de reconocimiento y verificación en toda el APFF de octubre a diciembre, se tomaron puntos GPS (Garmin 12 XL). Se uso una imagen de satélite SPOT 2002, con solo bandas visibles, propiedad de la Comisión Nacional Forestal (CONAFOR).

La fotointerpretación se efectuó con estereoscopio de espejos y la restitución se realizó en un restituidor binocular. La digitalización de los mapas temáticos de uso del suelo, se realizó en el programa ARC-INFO, el procesamiento, análisis y operaciones de cartas digitales e imágenes se desarrolló en el programa Arcview 3.2.

METODOLOGÍA

El presente trabajo se basa en la fotointerpretación, digitalización, cuantificación y análisis estadístico del cambio de uso del suelo de los años 1977, 1986, 1993 y 2002 para el polígono del APFF La Primavera que comprende una superficie de 30,500 ha, según el Programa de Manejo.

LAS FASES DE ESTE TRABAJO FUERON:

- Digitalización de mapa de uso potencial del suelo del Comisión de Estudio del Territorio Nacional (CETENAL) del año 1977, escala 1:50,000.
- Fotointerpretación y restitución de fotos aéreas del año 1986.
- Digitalización de los polígonos de uso agrícola, pastizal, urbano y forestal en el mosaico de ortofotos del 1993.
- Digitalización de los polígonos de uso agrícola, pastizal, urbano y forestal en la imagen de satélite SPOT del 2002. El límite de la APFF fue digitalizado del Programa de Manejo del APFF la Primavera, 2000.
- Clasificación supervisada en las imágenes

para categorizar las superficies que han sufrido cambios.

- Verificación en campo con puntos de GPS.
- Mapificación de las los polígonos de uso forestal, agrícola, pastizal y urbano. Para el caso del uso forestal solo se clasificó con cubierta arbórea, con una densidad mayor al 20%, sin diferenciar la composición y el grado de espesura de los rodales.
- Comparación estadística y cartográfica para diferentes fechas.
- Con base en las superficies correspondientes a los diferentes tipos de uso del suelo para las diferentes fechas, se calculan tasas de cambio de acuerdo a la ecuación utilizada por FAO (1996) para el cálculo de tasas de deforestación. Esta tasa expresa el cambio en porcentaje de la superficie al inicio de cada año. Resultando que los valores negativos son una pérdida en superficie y los valores positivos una ganancia.

$$t = \left(1 - \frac{S_1 - S_2}{S_1} \right)^{1/n} - 1$$

donde: t es la tasa de cambio (para expresar en porcentaje hay que multiplicar por 100), S_1 superficie en la fecha 1, S_2 superficie en la fecha 2, n es el número de años entre las dos fechas.

Resultados

Se compararon las superficies para diferentes tipos de uso en diferentes fechas, dando como resultado las superficies que tuvieron algún tipo de cambio de uso. Asimismo, se obtuvo un mapa de cambios para un periodo de 25 años. La figura 2 muestra el comportamiento dinámico del uso agrícola y de pastizal por superficie para los años 1977 a 2002. En 1986 la actividad agrícola reporta un repunte de 2,729 hectáreas en comparación con el pastizal. A excepción de este cambio en los otros años se observa una tendencia más o menos similar.

Para la cubierta arbórea (bosque), en 1986 se registró una baja en la superficie

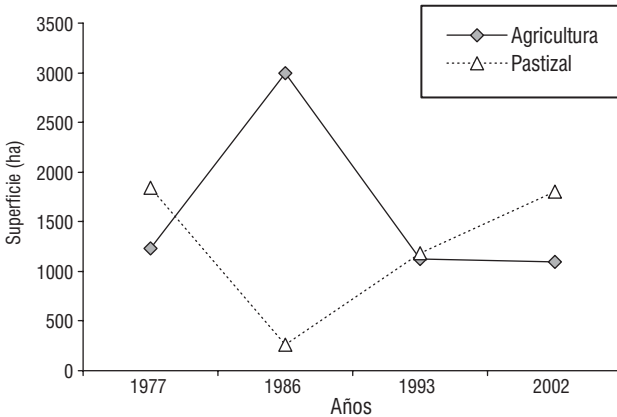


Figura 2. Relación de la superficie de uso agrícola y pastizal.

cubierta por bosque, mientras que para 1993 se registró la máxima superficie cubierta de vegetación arbórea. La tendencia entre la máxima y la mínima superficie registrada es de 944 hectáreas (figura 3).

En la tabla 1 se muestra el cálculo de ocupación porcentual del uso por fecha. El análisis de la tendencia para los usos agrícola, pastizal y bosque los 25 años presentan una relación constante.

En la figura 4 se muestran los mapas temáticos de ocupación correspondientes a cada uno de los años de estudio.

Los resultados de la tasa de cambio T1 (1977) y T3 (2002) para los usos agrícola, pastizal muestran una reducción en superficie que no llega al 1%, mientras que la cobertura forestal muestra una reducción mínima para este periodo. Sin embargo, la capa de urbanización para un periodo más

Tabla 1. Porcentaje de ocupación y uso

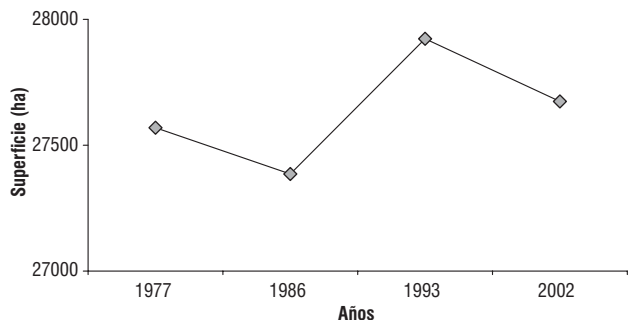
Uso	1977	1986	1993	2002
Agricultura	4.1	9.8	4.0	3.6
Pastizal	6.0	0.9	3.9	5.9
Bosque	89.9	89.3	91.9	90.3
Urbanización	s.d	s.d	0.2	0.2

s.d. Sin datos

corto T1 (1993) y T2 (2002) de 9 años, si presenta una tasa de cambio significativa de 1.49 % (figura 5).

De acuerdo a los resultados de la sobre posición de tipos de uso del 2002 y la carta de la zonificación para el área protegida, se observó que la zonas de recuperación reportan la mayor presencia agrícola con 636 ha. En la zona de uso restringido se registraron 634 ha de pastizal

Figura 3. Relación de la superficie con cobertura de bosque.



y agricultura, pero también se detectaron 20 ha urbanizadas (figura 6).

En el cruzamiento de todas las capas temáticas 1977, 1986, 1993 y 2002, se observa la dinámica a nivel polígono con un incremento o disminución en la ocupación espacial, resultando que solo los polígonos de uso agrícola y de pastizal más o menos permanecen, mientras que la capa de la urbanización incrementa su presencia en polígonos (ver figura 7).

Conclusiones

A partir de los resultados de este tipo de estudios se derivan una serie de aspectos para entender ciertas tendencias y

mecanismos desencadenadores de procesos ambientales tales como la pérdida de la productividad, vulnerabilidad o erosión, deforestación, fragmentación, pérdida del valor de opción de bienes y servicios ambientales, entre otros aspectos necesarios para apoyar la planeación y administración de los recursos naturales.

Los resultados encontrados aportan una metodología coherente y replicable para la evaluación y análisis de la dinámica en otras áreas.

A continuación se enlistan las principales deducciones encontradas a partir de este estudio.

De acuerdo al análisis Multitemporal 1977-2002 de las capas forestal, agricul-

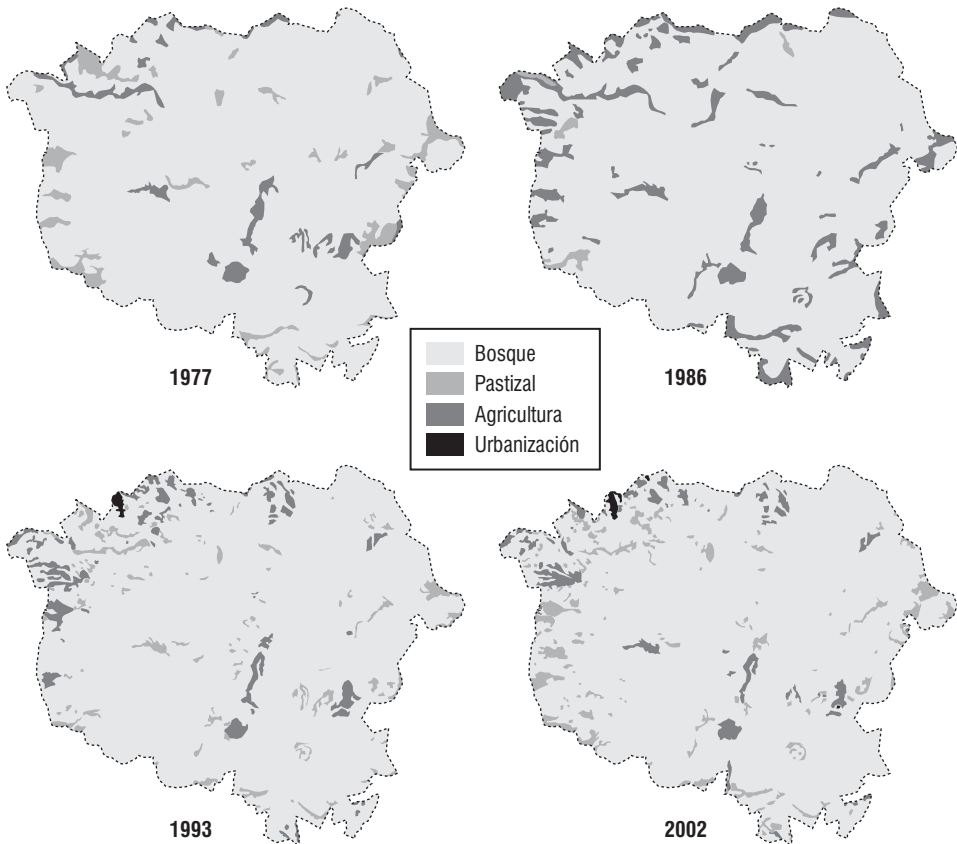


Figura 4. Mapas de uso del suelo del APFF La Primavera.

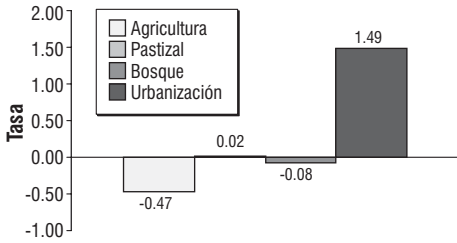


Figura 5. Tasas de cambio para T1 (1997), T2 (1993) y T3 (2002)

tura-pastizal, se observó una tendencia marcada de 9/1. Esto significa que la cobertura arbórea se mantuvo en un promedio del 90% y la agricultura y el pastizal en un 10%. Lo que indica que desde antes de que se declarará el Bosque La Primavera como Área Protegida, este ecosistema ya tenía esta dinámica. Sin embargo para 1986 la cobertura agrícola registro la mayor superficie en 25 años con 2,995 hectáreas pero a su vez en el mismo año el pastizal reportó la mínima cobertura.

La cobertura agrícola-pastizal mostró una dinámica alternada, esto es que en algún tiempo el pastizal tuvo mayor ocupación espacial que la agricultura y viceversa sin rebasar en promedio el 10% de ocupación en el área protegida. La cobertura forestal se ha mantenido en un rango que oscila entre 89 al 91%. De acuerdo al cálculo de la tasa de cambio T1 (1977) y T3 (2002) para los usos agrícola, pastizal y bosque se reportó una reducción en superficie que no llega al 1%, mientras que la cobertura forestal muestra una tasa mínima de cambio de 0.08 en el periodo de 25 años.

La cobertura de urbanización para una tasa de cambio de 9 años reportó 1.49%. Por lo que se puede concluir que para el APFF La Primavera el principal agente de cambio es la urbanización.

Se observó dentro las zonas de Uso Restringido una ocupación de 634 hectáreas de pastizal-agricultura y 20 hectáreas urbanizadas.

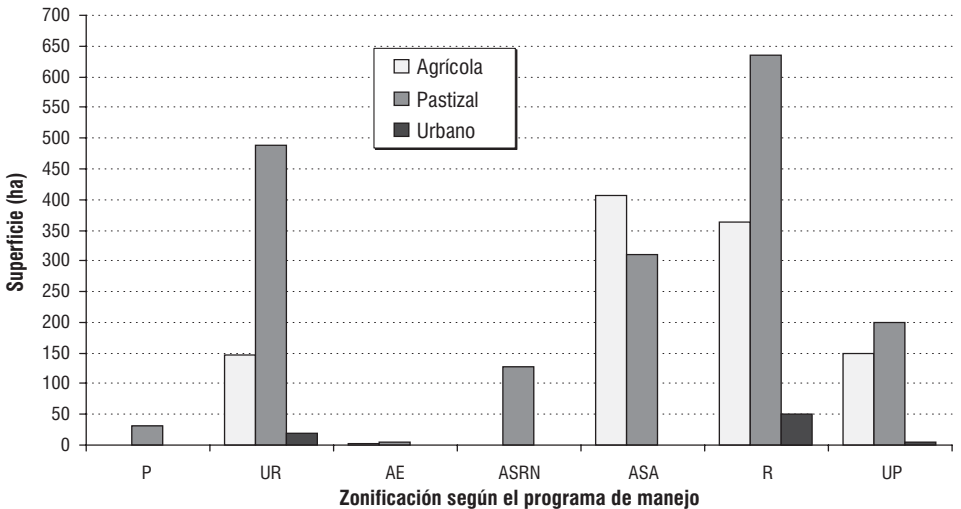


Figura 6. Relación espacial de los diferentes usos del suelo del 2002 con las zonas del área de protección. P= Zonas de Protección; UR= Zonas de Uso Restringido, AE= Zonas de Aprovechamiento Especial; ASRN= Zonas de Aprovechamiento Sustentable de los Recursos Naturales; ASA= Zonas de Aprovechamiento Sustentable de Agroecosistemas; R= Zonas de Recuperación; UP= Zonas de Uso Público.

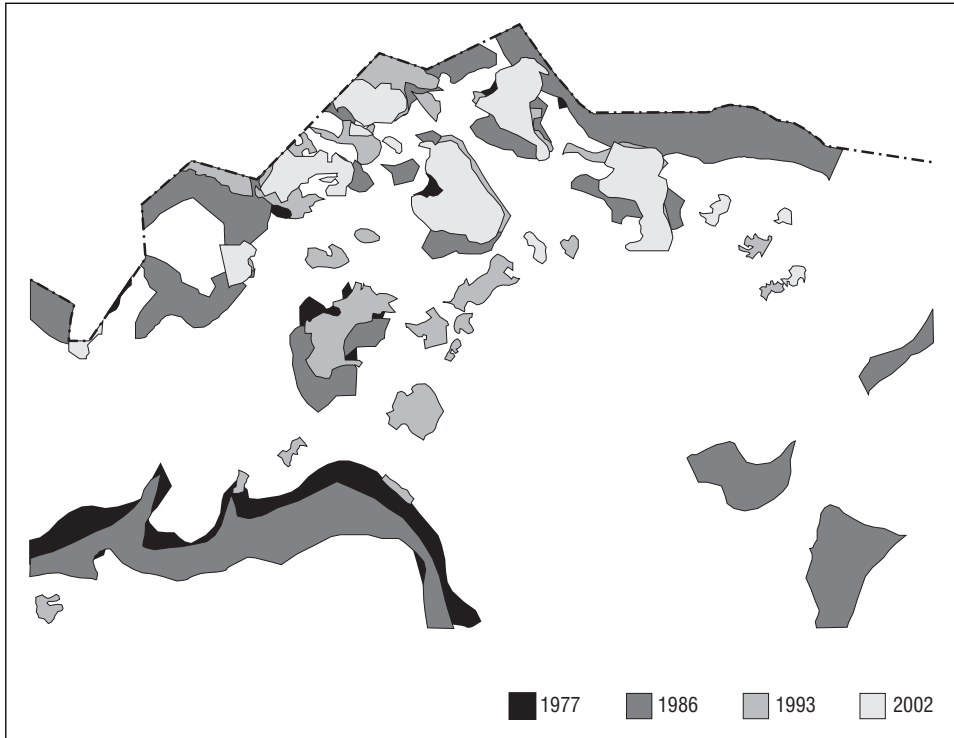


Figura 7. Polígonos de la dinámica espacial y temporal de agricultura.

Agradecimientos

A la CONAFOR por el financiamiento y al Comité para la Administración del BLP por su apoyo para la realización del trabajo. A dos revisores anónimos por sus comentarios acertados para mejorar el presente documento.

Literatura consultada

- Berry MW, Hazen BC, MacIntyre RL, Flamm RO.** 1996. Lucas: A system for modeling land-use change. *IEEE COMPUTATIONAL SCIENCE & ENGINEERING* 3 (1): 24–35 SPR.
- Budowski, G.** 1956. Regeneration systems in tropical American lowlands. *The Caribbean Forester* 17: 76–91.
- Curiel B., A.** 1988. *Plan de Manejo del Bosque La Primavera*. Universidad de Guadalajara, Facultad de Agronomía, Guadalajara, Jalisco, México.
- García, E.** 1973. *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen*. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F.
- Gallegos R., A.** 1997. *Erfassung und Herleitung von planungsrelevanten Relief- und Vegetationsparametern mit Hilfe von terrestrischen und aerophotogrammetrischen Methoden unter Verwendung eines*

- Geographischen Informationssystem (GIS): Modellstudie am Beispiel des Lehrwaldes der Universität Guadalajara/Mexiko.* Tesis Doctoral, Universidad de Göttingen, Alemania.
- Sánchez, A.** 1992. *Evaluación del cambio del uso en la Sierra La Primavera durante 1972-1986.* Tesis de Licenciatura, Facultad de Agronomía, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jalisco, México.
- SEMARNAT.** 2000. *Programa de Manejo Área de protección de Flora y Fauna La Primavera.* CONANP, México D.F.
- Turner II, S. Cortina, D. Foster, J. Geoghegan, E. Keys, P. Klepeis, D. Lawrence, P. Macario, S. Manson, Y. Ogneva-Himmelberger, A. Plotkin, D. Pérez, R. Roy, B. Savitsky, L. Schneider, B. Schmoock y C Vance.** 2001. Deforestation in the Southern Yucatán Peninsular region: an integrative approach. *Forest Ecology and Management* **154**: 353–370.
- Velázquez, Alejandro, Jean F. Mas y José Luis Palacio.** 2002. *Análisis del cambio de uso del suelo.* Convenio INE-IGg (UNAM). Instituto de Geografía, UNAM.
- Vitousek, Peter M., Harold A. Mooney, Jane Lubchenco, Jerry M. Melillo.** 1997. Human Domination of Earth's Ecosystems. *Science* 25 July 1997: Vol. 277. no. 5325, pp. 494–499.

Aceptado el 28 de septiembre de 2005

Estudio de las poblaciones de *Fusarium* (Sección *Liseola*) aisladas de híbridos de maíz cultivados en México

Rosa Marina Figueroa-Gómez¹, María Marta Reynoso², César Enrique Castro-Zambrano¹
y Waldina Patricia Reyes-Velázquez¹

¹Departamento de Salud Pública. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara. Km 15.5 Carretera a Nogales. Las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jalisco, México.

²Departamento de Microbiología e Inmunología. Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta Nacional 36, Km 601 (5800) Río Cuarto, Córdoba, Argentina.
Correo electrónico: waldinar@cucba.udg.mx

Resumen: Con el propósito de conocer las poblaciones de *Fusarium* (Sección *Liseola*) aisladas del maíz (*Zea mays* L.), uno de los cultivos de mayor importancia en la economía nacional, así como los niveles de contaminación por fumonisinas, se analizaron diversos híbridos de maíz obtenidos de parcelas experimentales del CUCBA durante el ciclo de cosecha 2003. En este estudio se aislaron tres especies, *Fusarium verticillioides* (*Gibberella fujikuroi*) población de apareamiento A, *G. moniliformis*, *F. proliferatum* (*G. fujikuroi*) población de apareamiento D, *G. intermedia*) y *F. subglutinans* (*G. fujikuroi*) población de apareamiento E, *G. subglutinans*). Todas las muestras estuvieron contaminadas con fumonisinas, aunque ninguna mostró niveles superiores a 4 $\mu\text{g g}^{-1}$. En las tres poblaciones encontramos ambos tipos de apareamiento, *MAT-1/MAT-2* aunque la proporción de los alelos dependió de cada población en particular. Se determinó el número efectivo de la población (N_e) de la población de apareamiento A y se encontró que el N_e basado en el tipo de apareamiento [$N_{e(mt)}$] fue 20% de la población total y el N_e con base a la frecuencia de cepas hermafroditas [$N_{e(f)}$] de 91%. Los resultados indican que la población A tendría mayores posibilidades de recombinación sexual y por lo tanto, mayores ventajas de adaptación a las presiones de selección. Las cepas de la población de apareamiento A, produjeron altos niveles de fumonisinas, mientras que los miembros pertenecientes a la población de apareamiento D y E produjeron niveles más bajos. El presente trabajo contribuye con nueva información sobre estudios de especies de *Fusarium* (complejo *Gibberella fujikuroi*) aisladas de maíz en México.

Palabras claves: *Fusarium* sección *Liseola*, complejo *Gibberella fujikuroi*, maíz, fumonisinas, diversidad genética.

Abstract: Populations of *Fusarium* species (Section *Liseola*) isolated from maize (*Zea mays* L.), one of the main crops in the national economy, and levels of fumonisins contamination, were analyzed. Several maize hybrids collected from experimental plots of CUCBA during the 2003 harvest were employed. Maize (Three species, *Fusarium verticillioides* (*Gibberella fujikuroi*) mating population A, *G. moniliformis*, *F. proliferatum* (*G. fujikuroi*) mating population D, *G. intermedia*) and *F. subglutinans* (*G. fujikuroi*) mating population E, *G. subglutinans*) were isolated. All of the maize samples were contaminated with fumonisins. None of the maize samples showed levels of FB₁ contamination higher than 4 $\mu\text{g g}^{-1}$. In the three populations both mating types were observed *MAT-1/MAT-2*, although the allele frequency depended on the mating population evaluated. The effective population number for mating population A (N_e) was determined and found that the N_e for mating type [$N_{e(mt)}$] was 20% of the count (total population) and that the N_e for hermaphrodite status [$N_{e(f)}$] was 91%. Thus, the mating population A will be able to recombine by sexual reproduction so that will have more adaptive advantages to the selection pressures. The *Fusarium* strains, mating population A, produced high fumonisin levels while strains of mating population D and E produced

low fumonisin levels. The present work contributes new information on studies on *Fusarium* species population (*Gibberella fujikuroi* complex) isolated from maize in Mexico.

Key words: *Fusarium* section *Liseola*, *Gibberella fujikuroi* complex, maize, fumonisins, genetic diversity.

Introducción

El maíz es el cultivo de mayor importancia en México, representa el 43% de la superficie cultivada, correspondiendo al estado de Jalisco el primer lugar en producción, en el año 2002 se obtuvo 3,029,144 toneladas en una superficie de 651,077 hectáreas (SAGAR, 2003). Hasta el presente no se han evaluado la incidencia de micotoxinas, principalmente fumonisinas, beauvericina y fusaproliferina en maíz cosechado en México para el consumo de animales y humanos. Esto es necesario porque dicho cereal es el alimento básico para la población y se usa como el principal componente en tortillas, tostadas y otros alimentos populares.

Estudios previos en México mostraron que las especies de *Fusarium* son los hongos predominantes en maíz cosechado. La especie dominante en dicho cereal es *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg (= *F. moniliforme* Sheldon = *Gibberella fujikuroi* población de apareamiento A; teleomorfo, *G. moniliformis* Wineland), aunque *F. proliferatum* (Matsushima) Nirenberg (= *G. fujikuroi* población de apareamiento D; teleomorfo, *G. intermedia* (Kuhlman) Samuels et al.) y *F. subglutinans* (Wollenweber et Reinking) Nelson, Toussoun, et Marasas (= *G. fujikuroi* población de apareamiento E; teleomorfo, *G. subglutinans* (Edwards) Nelson, Toussoun, et Marasas) también fueron aislados en menor frecuencia en este país (Desjardins et al. 1994; Reyes, 2002; Cortez-Rocha et al. 2003; Sánchez-Rangel et al. 2005).

Las poblaciones de apareamiento que se conocen dentro del complejo de especies

Gibberella fujikuroi son todas heterotálicas típicas. El tipo de apareamiento es dimítico, es decir, está controlado por un locus único, llamado locus de tipo de apareamiento (*MAT*) localizado en el cromosoma 6, con dos alelos idiomórficos (*MAT-1* y *MAT-2*). Este mecanismo es común para la mayoría de los Ascomycetes (Coppin et al. 1997). Los metabolitos tóxicos producidos por estas especies son química y biosintéticamente diversos e incluyen compuestos tales como fumonisinas (FBs), ácido fusárico, moniliformina, fusaproliferina y beauvericina (Bottalico, 1998). Las fumonisinas son las más predominantes de dichas toxinas y son producidas principalmente por *F. verticillioides* y *F. proliferatum* (Nelson et al. 1983). Dicha micotoxina es un contaminante natural de maíz (Munkvold y Desjardins 1997) y se ha relacionado al cáncer esofágico en Sudáfrica (Rheeder et al. 1992) y la responsable de varias enfermedades en animales, por ejemplo, leucoencefalomalacia equina (Kellerman et al. 1990) y edema pulmonar porcino (Harrison et al. 1990). Las fumonisinas pueden presentarse en forma natural en maíz y se producen en condiciones de laboratorio a partir de cepas de *F. verticillioides* aisladas de maíz cosechado en México (Sánchez-Rangel et al. 2005).

El número efectivo de la población (N_e) es un concepto que se aplica a las poblaciones que se reproducen sexualmente, siendo un parámetro crítico usado para estimar los efectos del flujo genético e «inbreeding» entre los miembros de dicha población. En los Ascomycetes hetero-

táticos, la frecuencia absoluta de cepas fértiles femeninas y la frecuencia relativa de cepas de diferentes tipos de apareamiento determinan el N_e . La evaluación de la frecuencia de hermafroditas junto con los cruzamientos sexuales es de valor para determinar la importancia en el ciclo de vida del hongo, de la reproducción sexual y asexual (Leslie y Klein 1996). Nosotros hipotetizamos que las especies de *Fusarium* (sección *Liseola*) aisladas en el estado de Jalisco (México) tienen una distribución cosmopolita en maíz, pero desde el punto de vista genético y de estudios de poblaciones tiene particularidades en la región geográfica que se evalúa.

Los objetivos de este estudio fueron (i) determinar la frecuencia de infección de las especies de *Fusarium* en diferentes híbridos de maíz cosechados en una localidad del estado de Jalisco, (ii) determinar la incidencia natural de fumonisinas en dichos híbridos, (iii) determinar las poblaciones de apareamiento y caracterizar las cepas de *F. verticillioides* a través del análisis del número efectivo de la población (N_e) con base al tipo de apareamiento y fertilidad femenina, (iv) determinar el perfil de producción de fumonisinas de las poblaciones de apareamiento aisladas.

Materiales y métodos

MUESTREO

Se sembraron trece híbridos de maíz con un diseño aleatorio, en cuatro parcelas experimentales del CUCBA (Departamento de Producción Agrícola) ubicadas en el Km 15 de la carretera a Nogales (Estado de Jalisco) durante la cosecha agrícola 2003. Cada parcela constó de cuatro surcos de 100 m, cinco plantas por metro, con una separación entre surcos de 70 cm. Las muestras de maíz de cada una de las parcelas se obtuvieron de manera aleatoria con una intensidad de muestreo del 0.7% (Delp et al. 1986). Las mazorcas de cada

híbrido de maíz obtenidas de cada parcela se desgranaron y se obtuvieron las submuestras (cuatro repeticiones de cada híbrido). Del total de híbridos sembrados, se eligieron al azar siete (54%), a partir de los cuales se aislaron las especies de *Fusarium*

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE LAS ESPECIES DE *FUSARIUM*

De cada una de las cuatro submuestras de los siete híbridos de maíz se tomaron cien granos, los cuales fueron desinfectados superficialmente con una solución de hipoclorito de sodio al 1% durante 1 minuto. Los granos se lavaron tres veces con agua destilada estéril y se colocaron en el medio de Nash-Snyder, selectivo para el aislamiento de especies de *Fusarium* (Nelson et al. 1983). Las muestras se incubaron a 24 °C durante 7 a 10 días bajo ciclos de 12horas/12horas de luz blanca y luz negra, respectivamente. Se observaron macroscópicamente las colonias desarrolladas y se determinó el porcentaje de infección con especies de *Fusarium*. Las colonias pertenecientes a dicho género fueron transferidas al medio Agar hojas de clavel (AHC) e incubadas durante siete días a 24 °C bajo ciclos de 12horas/12horas de luz blanca y luz negra, para su identificación posterior.

A partir del medio AHC se realizaron aislamientos monospóricos en agar agua al 1.5%. Un conidio se transfirió a AHC en placas de Petri de 6 cm y otro a tubos de ensayos con Agar papa glucosado (APG). Los cultivos se incubaron durante dos semanas con ciclos alternativos de luz blanca/luz negra de 12 horas a 24 °C. La identificación de las cepas se realizó siguiendo la metodología propuesta por Nelson et al. (1983).

Las especies de *Fusarium* aisladas e identificadas fueron liofilizadas y almacenadas a 4 °C en la colección de cultivos del Departamento de Salud Pública, Universidad de Guadalajara, Jalisco, México.

TIPO DE APAREAMIENTO Y FERTILIDAD

FEMENINA

Se determinó la población y tipo de apareamiento de las especies de *Fusarium*, población de apareamiento A (117 cepas), población de apareamiento D (14 cepas) y población de apareamiento E (23 cepas) a través de cruzamientos sexuales en agar zanahoria siguiendo la metodología propuesta por Klittich y Leslie (1988). En los cruzamientos sexuales se utilizaron cepas testigos como parentales femeninas: M-0999 (*MATA-2*) y M-0149 (*MATA-1*); M-6992 (*MATD-2*) y M-6993 (*MATD-1*); M-3693 (*MATE-2*) y M-3696 (*MATE-1*) y como parentales masculinos, las cepas de *Fusarium* aisladas de los diferentes híbridos. Se consideró un cruzamiento positivo cuando en tres repeticiones se obtuvo formación de peritecios con ascos y ascosporas, y liberación de las ascosporas a través de un cirro.

La fertilidad femenina de las cepas de *F. verticillioides* (*G. moniliformis*, población de apareamiento A) aisladas de los diferentes híbridos se determinó realizando los cruzamientos sexuales recíprocos. Las diferencias en las frecuencias de los tipos de apareamiento y de las cepas hermafroditas observadas se analizaron usando la prueba *t*-test con el programa estadístico Sigma Stat para Windows versión 2.03 (SPSS, Chicago). El número efectivo de la población (N_e) se calculó a partir de la proporción de los tipos de apareamientos [$N_{e(mt)}$] y la proporción de cepas fértiles femeninas [$N_{e(f)}$] usando las ecuaciones propuestas por Leslie y Klein (1996), y también para determinar el número de generaciones asexuales por generación sexual. El número de mutaciones por cepa se calculó usando la frecuencia de cepas hermafroditas como el término cero en la distribución de Poisson (Leslie y Klein 1996).

PRODUCCIÓN DE FUMONISINAS

Para evaluar la capacidad de las cepas de *Fusarium*, población de apareamiento A (133 cepas), población de apareamiento D

(10 cepas) y población de apareamiento E (29 cepas) para producir fumonisinas se colocaron 100 g de maíz amarillo en frascos Erlenmeyer de 250 mL, se hidrataron con 35 ml de agua destilada y se esterizaron en autoclave a 121 °C durante 30 minutos (dos días consecutivos). Posteriormente se inoculó el maíz con 1 ml de una suspensión de conidios en agua destilada estéril (1×10^7 esporas ml^{-1}) de la cepa en estudio, desarrollada previamente durante siete días en el medio de cultivo AHC. Las muestras se incubaron a 25 °C durante 28 días en oscuridad. Luego del período de incubación las muestras se secaron a 60 °C, se molieron y se almacenaron a 4 °C hasta el análisis por Cromatografía Líquida de Alta Precisión (HPLC).

EXTRACCIÓN Y DETECCIÓN DE FUMONISINAS

A partir de 15 g de cada muestra de maíz inoculadas con las cepas de *Fusarium* previamente molidas, se extrajeron las toxinas con 50 ml de acetonitrilo:agua (1:1, v/v). Se agitó el extracto 30 minutos en un agitador rotatorio y luego se filtró a través de papel de filtro Whatman N° 4. Los extractos se guardaron a 4 °C hasta el momento del análisis por HPLC.

Para la detección y cuantificación de las fumonisinas se siguió la metodología propuesta por Shephard et al. (1990) modificada por Doko et al. (1995). Una alícuota de 50 μl de cada extracto se derivatizó adicionándole 200 μl de una solución de O-ptaldialdehído (OPA). Las fumonisinas derivatizadas (20 μl de la solución) se analizaron usando un sistema de detección de fluorescencia/HPLC fase reversa. El sistema HPLC consiste de una bomba Hewlett Packard 1100, conectado a un detector de fluorescencia Hewlett Packard 1100 y a una estación de trabajo Hewlett Packard. Las separaciones cromatográficas se llevaron a cabo en una columna de fase reversa de C_{18} (150 \times 4.6 mm, 5 μm de tamaño de partícula; Supelcosil LC-ABZ, Supelco) conectada a una precolumna Supelguard LC-ABZ (20 \times 4.6 mm, 5 μm de tamaño de partícula,

Supelco). Como fase móvil se usó metanol:fosfato de sodio dihidrogenado 0.1 M (3:1, v/v), el pH de la solución se ajustó a 3.35 con ácido ortofosfórico. El flujo de la fase móvil fue de 1.5 ml min⁻¹. El rango de excitación y emisión usados fueron 335 y 440 nm, respectivamente. Las soluciones testigos fueron preparadas disolviendo FB₁ y FB₂ puras adquiridas de SIGMA en acetonitrilo:agua (1:1, v/v) en concentraciones de 10, 5 y 2.5 para FB₁ y de 5, 2.5 y 1.25 mg ml⁻¹ para FB₂.

El límite de detección de la técnica es de 1 µg g⁻¹ y el porcentaje de recuperación de dichas toxinas fue del 85%. La cuantificación de las fumonisinas se basó en las alturas de los picos comparados con la altura de los picos de las soluciones testigos de referencia de FB₁ y FB₂. Los tiempos de retención típicos para dichas toxinas fueron 3.1 y 6.6 respectivamente. Todos los análisis se realizaron por duplicado y sólo se reportan los valores medios, la desviación estándar en todos los casos fue menor al 5%.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se usó el programa estadístico Sigma Stat Versión 2.03 para Windows 95 y NT para el análisis de los datos. Se aplicó la prueba de Tukey ($P < 0.05$) para determinar si existía diferencias significativas entre las medias de la concentración de fumonisinas producidas por las cepas de *Fusarium* aisladas de los diferentes híbridos de maíz.

Resultados

INCIDENCIA DE LAS ESPECIES DE *FUSARIUM* Y CONTAMINACIÓN NATURAL DE FUMONISINAS

La evaluación del grado de contaminación con especies de *Fusarium*, de las muestras de los siete diferentes híbridos de maíz cosechados en las parcelas experimentales del CUCBA, ubicadas en las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jalisco, mostró un porcentaje de infección promedio del 52% (39 a 63%) considerando granos dañados y asintomáticos (Cuadro 1). *F. verticillioides*

fue la especie predominante en todos los híbridos evaluados con un porcentaje promedio del 65% (44 a 80%), seguida por *F. subglutinans* (15 a 37%) y *F. proliferatum* (2 a 16%) (Cuadro 1). Ocasionalmente se aislaron otras especies de las muestras de maíz: *F. graminearum* (2.5 a 7.5 %), *F. oxysporum* (2.5 a 4 %), y *F. semitectum* (4 %).

Todas las muestras de maíz presentaron contaminación con fumonisina B₁, los niveles oscilaron entre 16.5 y 606.0 ng g⁻¹ y fumonisina B₂, de 4.1 a 277.3 ng g⁻¹ (Cuadro 1).

TIPO DE APAREAMIENTO Y FERTILIDAD FEMENINA

Entre las cepas de *Fusarium*, población de apareamiento A (= *G. moniliformis*) aisladas de maíz, los tipos de apareamiento MATA-1 y MATA-2 se distribuyeron en una proporción 7:110, mientras que en una proporción 13:1 y 20:3 para las poblaciones D (= *G. intermedia*) y E (= *G. subglutinans*), respectivamente. Del total de cepas pertenecientes a la población de apareamiento A (117 cepas) se eligieron al azar 53 y encontramos que 28 de ellas fueron fértiles cuando se las usó como parentales femeninas en los cruzamientos sexuales.

El N_e se calculó usando la proporción de los tipos de apareamiento y la frecuencia de cepas fértiles femeninas de las cepas de *F. verticillioides*, población de apareamiento A. El tamaño de las poblaciones D (14 cepas) y E (23 cepas) fueron muy pequeños para estimar dicho parámetro. La proporción de los tipos de apareamiento MATA-1 y MATA-2 de las cepas fue diferente significativamente de 1:1 ($P < 0.05$), dando como resultado una marcada disminución del $N_{e(mt)}$ al 23% mientras que el $N_{e(f)}$ fue 91%. En dicha población se observa una tasa de mutación de 0.63 de cepas fértiles femeninas a estériles femeninas por generación.

La frecuencia de cepas hermafroditas fue del 28 al 73% (valor observado: 53%), dicha frecuencia se utilizó para estimar la longitud, en generaciones asexuales, y el

Cuadro 1. Incidencia de *Fusarium* (Sección *Liseola*) y contaminación natural con fumonisinas (ng g^{-1}) en diferentes híbridos de maíz cosechados en las parcelas experimentales del CUCBA, localizadas en el municipio de Zapopan, Jalisco durante 2003.

Híbrido	% Inf. F. (A)	Distribución de las especies (%)				Concentración (ng g^{-1}) (F)		
		Fv (B)	Fp (C)	Fs (D)	Otras (E)	FB ₁	FB ₂	FBS
Alsa 036W	63	65	14	16	5	80.6	18.9	99.5
Lince	60	80	2	13	5	422.8	129.0	551.8
Lucero 801	60	74	11	15	nd	43.5	18.2	61.7
Lucero 807	40	63	11	22	4	40.4	13.2	53.6
Lucero 808	42	44	16	37	3	16.5	4.1	20.6
Lucero 901	63	59	9	26	6	37.5	8.9	48.4
UDG 600	39	68	2	23	7	606.0	277.3	883.3

(A) % de infección con *Fusarium* spp.

(B) *F. verticillioides*

(C) *F. proliferatum*

(D) *F. subglutinans*

(E) Especies de *Fusarium* no pertenecientes a la Sección *Liseola*: *F. graminearum*, *F. semitectum*, *F. oxysporum*.

(F) FB₁ = fumonisina B₁; FB₂ = fumonisina B₂; FBS = fumonisinas totales (FB₁ + FB₂); nd = no detectado.

intervalo de frecuencias de hermafroditas que podrían encontrarse en un ciclo en equilibrio. El número medio de generaciones asexuales por generación sexual fue de 16 a 62. Si la población recién completó la fase sexual del ciclo, la frecuencia de hermafroditas esperada variaría entre el 53 y el 73% antes del próximo ciclo de reproducción sexual, por el contrario, si la población fuera hacia la reproducción sexual, el número de hermafroditas podría incrementarse del 28 al 53%.

PRODUCCIÓN DE FUMONISINAS POR LAS CEPAS DE *FUSARIUM* AISLADAS DE MAÍZ

Las cepas previamente caracterizadas en cuanto a sus características morfológicas y población de apareamiento, fueron evaluadas para determinar su capacidad de producir fumonisinas. Entre las 133 cepas de *Fusarium*, población de apareamiento A (= *G. moniliformis*) evaluadas, todas fueron capaces de producir fumonisinas en niveles que variaban entre 16.8 y 7,190 $\mu\text{g g}^{-1}$ (media= 1,422.5 $\mu\text{g g}^{-1}$) (Cuadro 2). En general, las cepas aisladas del híbrido Lucero 807 produjeron los más altos

niveles de FBS (media= 2,673.0 $\mu\text{g g}^{-1}$) aunque no se observaron diferencias significativas entre la producción de dicha toxina y los híbridos a partir de los cuales se aislaron las cepas de *F. verticillioides* ($P < 0.050$), excepto entre los híbridos Lince y Lucero 807.

En general, las cepas de *F. verticillioides* productoras de fumonisinas ensayadas se distribuyeron en 3 grupos: productoras de niveles bajos (<500 $\mu\text{g g}^{-1}$) donde se ubicaron el 19% de las cepas; productoras de niveles intermedios (500–2000 $\mu\text{g g}^{-1}$) y productoras de niveles altos (>2000 $\mu\text{g g}^{-1}$) donde se ubicaron el 63% y el 18% de las cepas, respectivamente (Figura 1).

Todas las cepas de *F. proliferatum*, población de apareamiento D (= *G. intermedia*) analizadas también fueron capaces de producir fumonisinas en niveles que variaban entre 247.6 y 6,048 $\mu\text{g g}^{-1}$ (media= 2,652.4 $\mu\text{g g}^{-1}$) (Cuadro 2).

De las 29 cepas de *F. subglutinans*, población de apareamiento E (= *G. subglutinans*) aisladas de los diferentes híbridos de maíz, 27 produjeron fumonisinas. La

Cuadro 2. Producción de fumonisinas ($\mu\text{g g}^{-1}$) por cepas de *Fusarium* sección *Liseola* aisladas de diferentes híbridos de maíz cosechados en las parcelas experimentales del CUCBA, localizadas en el municipio de Zapopan, Jalisco durante 2003.

Híbrido	MT ^a (número) ^b	FB ₁ media ($\mu\text{g g}^{-1}$) (rango)	FB ₂ media ($\mu\text{g g}^{-1}$) (rango)	FBs totales media ($\mu\text{g g}^{-1}$) ^c (rango)
Alsa 036W	MAT-A (25/25)	1442.5 (59.3 - 3997.0)	446.0 (26.5 - 1090.5)	1852.8 (107.5 - 1455.5)
	MAT-D (6/6)	2449.2 (691 - 4175.2)	1129.1 (95.5 - 1872.8)	3578.9 (786.5 - 6048.0)
	MAT-E (2/3)	300.4 (161.1 - 439.7)	nd	302.6 (165.4 - 439.7)
	MAT-A (27/27)	745.2 (13.8 - 2583.5)	258.8 (3 - 916.5)	936.9 (16.8 - 3500)
Lucero 801	MAT-A (30/30)	1011.3 (116.4 - 3058.5)	216.8 (16.8 - 1049.5)	1220.8 (133.2 - 3517.0)
	MAT-A (6/6)	1810.3 (759.5 - 4861.5)	862.8 (65 - 2328.5)	2673.0 (824.5 - 7190.0)
Lucero 807	MAT-A (10/10)	991.6 (387.5 - 2332.0)	377.5 (120.5 - 893)	1331.4 (521.5 - 3225.0)
	MAT-E (1/1)	125.5	nd	125.5
Lucero 808	MAT-A (33/33)	1165.8 (153.6 - 3813.5)	349.2 (8.5 - 1206.0)	1483.3 (176.4 - 4607.8)
	MAT-D (3/3)	995 (209.1 - 1482.0)	342.7 (38.5 - 772.0)	1337.7 (247.6 - 2254.0)
	MAT-E (17/18)	378.5 (128 - 539.4)	14.9 (1.7 - 31.0)	387.7 (128 - 539.4)
	MAT-A (2/2)	1133.6 (1005.6 - 1261.5)	385.2	1326.2 (1005.6 - 1646.7)
UDG 600	MAT-D (1/1)	1041.0	nd	1041
	MAT-E (5/5)	365.4 (68.2 - 698.5)	104.1 (2.2 - 301.5)	427.9 (68.2 - 1000)

^a Terminología propuesta por Kérenyi et al. (1999); las letras A, D y E indican las poblaciones de apareamiento (especies biológicas) dentro del complejo *G. fujikuroi*.

^b Cepas productoras / número total de cepas.

^c Límite de detección para FBs: $<1 \mu\text{g g}^{-1}$.

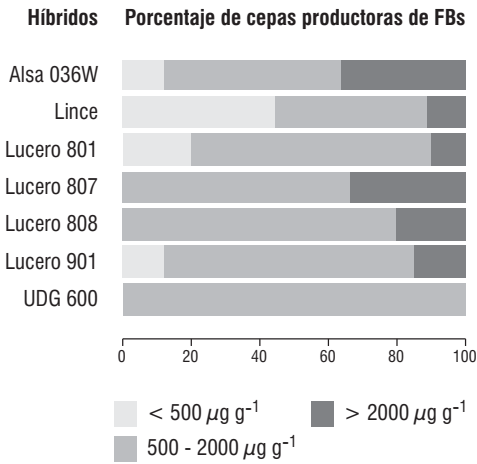


Figura 1. Producción de fumonisinas por cepas de *Fusarium verticillioides*, población de apareamiento A ($n = 133$) aisladas de diferentes híbridos de maíz. Límite de detección para FBs: $< 1 \mu\text{g g}^{-1}$.

mayoría de las cepas sólo produjeron FB₁. Los niveles de toxina producidos fueron bajos en comparación con las otras dos poblaciones variando entre 68.2 y 1,000 $\mu\text{g g}^{-1}$ (media= 366 $\mu\text{g g}^{-1}$) (Cuadro 2).

Discusión

México es una región en la cual existen pocos estudios sobre la incidencia de las especies de *Fusarium* en maíz, a pesar de la gran importancia de dicho cereal en este país. Los datos reportados en el presente estudio muestran que *Fusarium verticillioides* (= *Giberella moniliformis*) fue la especie predominante en todas las muestras evaluadas, seguida por *F. subglutinans* (= *G. subglutinans*) y *F. proliferatum* (= *G. intermedia*). La incidencia y prevalencia de las especies de *Fusarium* aisladas de maíz en diferentes regiones y años depende de las condiciones ambientales (Bottalico 1998). La alta incidencia de *F. verticillioides*, coincide con los escasos estudios realizados en México. Desjardins et al. (1994) evaluaron la incidencia de *Fusarium* en muestras de maíz del estado

de Nuevo León (noreste de México) durante 1992, *F. verticillioides* fue aislado a partir de 34 de las 55 mazorcas de maíz; no se encontró ninguna otra especie perteneciente al género. Reyes (2001) analizó 90 muestras de tres variedades de maíz cosechadas en Huejotitán y Ameca, Jalisco y también encontró que la incidencia de *F. verticillioides* (media= 90%) fue elevada en ambas localidades independientemente de la variedad de maíz y del daño visual de las mazorcas. Por otro lado, Cortez-Rocha et al. (2003) reportaron que *Fusarium* fue el género que se aisló con mayor frecuencia del maíz (67 - 70%) en Sonora, siendo *F. verticillioides* la especie de mayor prevalencia. Recientemente, Sánchez-Rangel et al. (2005) demostraron también que *F. verticillioides* fue la especie más frecuente en muestras de maíz cosechadas en Noreste y Centro de México (80%).

La infección significativa por *Fusarium* en todas las muestras de maíz sugiere que dichas muestras podrían estar contaminadas con al menos una de las micotoxinas producidas por las especies de este género. Los resultados indican que los niveles de FB₁ en las muestras de maíz de México fueron generalmente más bajos que los esperados con base a la alta incidencia de *F. verticillioides*. Ninguna de las muestras de maíz mostraron niveles de FB₁ superiores a 4 $\mu\text{g g}^{-1}$ (Cuadro 1), el cual es el límite recomendado para alimentos destinados al consumo humano por US FDA (FDA home page: <http://vm.cfsan.fda.gov>).

En México, las fumonisinas se reportaron en Oaxaca y Sonora en niveles de 0.67 a 13.3 $\mu\text{g g}^{-1}$ y 0.5 a 6.8 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente (Rosiles et al. 1998; Cortez-Rocha et al. 2003), los cuales fueron superiores a los detectados en este estudio. En conclusión, las condiciones ambientales del área de cultivo desempeñarían un rol importante en la formación de fumonisinas en maíz.

Todas las cepas evaluadas fueron fértiles y pertenecieron a las poblaciones de apareamiento A (= *Giberella moniliformis*), D (= *G. intermedia*) y E (= *G. subglutinans*).

Los resultados coinciden con reportes previos que consideran a estas poblaciones como las más predominantes en maíz (Leslie 1995).

Hasta el momento, en México se conoce sólo un reporte sobre las poblaciones de apareamiento aisladas de maíz. Desjardins et al. (1994) evaluaron muestras de maíz cosechado en el estado de Nuevo León. En dicho estudio sólo se observó la presencia de la población de apareamiento A entre las cepas de *Fusarium* aisladas, la proporción de los tipos de apareamiento *MATA-1*:*MATA-2* se distribuyeron en una proporción 21:10, siendo diferente a lo que se encontró en la presente investigación.

Estudios previos de poblaciones aisladas de Estados Unidos y Europa muestran que los tipos de apareamiento *MATA-1* y *MATA-2* se distribuyen por igual (Leslie et al. 1992a b; Moretti et al. 1995a), o que *MATA-1* es significativamente más frecuente que *MATA-2* (60-65% y 40-35%, respectivamente) (Leslie 1995; Leslie y Klein 1996). Reynoso et al. (2006) evaluaron cepas de *F. verticillioides* aisladas de maíz cosechado en la zona núcleo maicera de Argentina y encontraron que los tipos de apareamiento *MATA-1* y *MATA-2* se distribuyeron en una proporción 129:74.

Por otro lado, Mansuetus et al. (1997); Park et al. (1999); Chulze et al. (2000) y Srobarova et al. (2002) observaron una proporción *MATA-1* menor que *MATA-2* en poblaciones de Tanzania, Corea, Argentina y Eslovaquia, respectivamente.

En nuestro estudio, la proporción de los tipos de apareamiento *MATA-1*:*MATA-2* fue diferente significativamente de 1:1 ($P < 0.05$). En teoría, en los Ascomycetes filamentosos, el tipo de apareamiento está controlado por un locus único con dos alelos y la distribución de los alelos debería ser 1:1 (Leslie y Klein 1996). Una desviación de dicha relación estaría influyendo el proceso de reproducción sexual, dicho efecto puede evaluarse a través del estudio del número efectivo de la población basado

en el tipo de apareamiento, $N_{e(mt)}$. El valor de $N_{e(mt)}$ fue muy diferente a los valores obtenidos para otras cepas pertenecientes a la población de apareamiento A aisladas de maíz de Costa Rica, Estados Unidos y Argentina (Chulze et al. 2000, Danielsen et al. 1998, Leslie y Klein 1996; Reynoso et al. 2006). Por el contrario, la alta frecuencia de cepas hermafroditas (53%), favorecería a dicha población ya que estaría aportando gametas femeninas y una fracción de las gametas masculinas a la próxima generación. La alta frecuencia de hermafroditas y la presencia de ambos tipos de apareamiento, sugiere que la reproducción sexual en esta población estaría favorecida en condiciones de campo, obteniendo dicha población diversidad genotípica por recombinación sexual y mayores ventajas de adaptación a las presiones de selección. El número efectivo de la población con base a la frecuencia de hermafroditas indicaría que dicha población estaría establecida en condiciones de campo.

Con respecto a la producción de fumonisinas, cada población de apareamiento del complejo *Giberella fujikuroi* se considera por tener su propio perfil toxicogénico (Leslie et al. 1992a, b; Moretti et al. 1996; Reynoso et al. 2003). En este trabajo, todas las cepas de *Fusarium verticillioides*, población de apareamiento A, fueron capaces de producir fumonisinas independientemente del híbrido a partir del cual se aislaron las mismas, aunque se encontraron diferencias en cuanto a los niveles producidos. En general, las cepas aisladas del híbrido Lucero 807 produjeron los más altos niveles de dicha micotoxina en comparación a los otros híbridos. Aunque son numerosos los factores que podrían influir en el comportamiento diferente de las cepas in vitro para producir mayores niveles de toxinas, se puede estimar que parámetros tales como la región geográfica, el tipo de suelo, el inóculo, las prácticas culturales, la humedad ambiental, desempeñan un papel importante sobre las características fisiológicas de las cepas. No se conocen estudios fehacientes que

expliquen las diferencias en la capacidad de producción de fumonisinas, solamente se han registrado datos de incidencia natural en diversas regiones geográficas.

Nuestros resultados de producción son comparables a los reportados por Desjardins et al. (1994) quienes evaluaron la capacidad de producir fumonisinas por cepas de *Fusarium verticillioides* aisladas de maíz cosechado en el noreste de México, donde el 97% de las cepas produjeron la toxina en niveles que variaron entre 10 y 9,000 $\mu\text{g g}^{-1}$. Reyes (2001) encontró que cepas de esta especie aisladas de maíz en Huejotitán y Ameca, Jalisco, produjeron fumonisinas en niveles que variaron entre 700 y 2,280 $\mu\text{g g}^{-1}$. En otro estudio realizado por Sánchez-Rangel et al. (2005) el 44% de las cepas de *F. verticillioides* aisladas de maíz cultivado en el noroeste y centro del país produjeron fumonisina B₁ en niveles que variaron entre 0.1 y 4,047 $\mu\text{g g}^{-1}$.

Este reporte es el primero sobre la producción de fumonisinas por cepas de *Fusarium proliferatum* (= *Giberella moniliformis*) y *F. subglutinans* (= *G. subglutinans*) aisladas de México. Los niveles de fumonisinas producidos por *F. proliferatum* fueron superiores a los reportados por otros autores en cepas aisladas de Sudáfrica (Thiel et al. 1991), Italia (Logrieco et al. 1995) y Argentina (Chulze et al. 1998a, b; Reynoso et al. 2003). Los bajos niveles de fumonisinas producidos por *F. subglutinans* concuerdan con los datos obtenidos por cepas aisladas en USA, Sudáfrica, Europa, Nepal, Argentina y España (Chulze et al. 1998a, b; Leslie et al. 1992a, b; Moretti et al. 1995a; Nelson et al. 1992; Reynoso et al. 2003; Thiel et al. 1991, Visconti y Doko 1994). Sin embargo, de acuerdo con Logrieco et al. 1998, la presencia de *F. subglutinans* en las muestras de maíz no debería ser desestimada, si se considera la potencialidad de dicha especie de producir otras toxinas como moniliformina (MON) y beauvericina (BEA).

Agradecimientos

Este trabajo recibió financiamiento del Programa de Apoyo a Proyectos Estratégicos de Investigación (PROPESTI No. 7388274) de la Universidad de Guadalajara. Colaboraron en él investigadores del Cuerpo Académico "Calidad e Inocuidad de los Alimentos UDG-BCA 06", del Departamento de Salud Pública.

Se agradece el apoyo brindado por el Cuerpo Académico "Producción y Tecnología de semillas UDG-CA 54", Departamento de Producción Agrícola.

La presente investigación fue posible gracias a la valiosa colaboración de la Dra. M. M. Reynoso, durante la estancia en el Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, como Profesor Investigador Huésped del Departamento de Salud Pública.

Literatura citada

- Bottalico, A.** 1998. *Fusarium* diseases of cereals: species complex and related mycotoxin profiles, in Europe. *J. Plant Pathol.* **80**: 85–103.
- Chulze S., M. C. Farnochi, M. L. Ramirez, M. M. Reynoso, A. Torres and M. I. Rodriguez.** 1998a. Ecophysiology, fumonisin production and some genetics aspects of *Fusarium* Section *Liseola* on maize in Argentina. 8th International *Fusarium* Workshop. 17-20 August, 1998. Egham, U.K.
- Chulze, S., M. L. Ramirez, M. Pascale and A. Visconti.** 1998b. Fumonisin production by, and mating population of, *Fusarium* Section *Liseola* isolates from maize in Argentina. *Mycol. Res.* **102**: 141–144.
- Chulze, S. N., M. L. Ramirez, A. Torres and J. F. Leslie.** 2000. Genetic variation in *Fusarium* Section *Liseola* from no-till maize in Argentina. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**: 5312–5315.
- Coppin, E., R. Debuchi, S. Arnais and M. Picard.** 1997. Mating types and sexual development in filamentous Ascomycetes. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **61**: 411–428.

- Cortez-Rocha, M. O., W. R. Ramírez-Asrudillo, R. I. Sanchez-Mariñez, E. C. Rosas-Burgos, F. J. Wong-Corral, J. Borboa-Flores, L. G. Castellón-Campaña and M. Tequida-Meneses.** 2003. Fumonisin and fungal species in corn from Sonora, México. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **70**: 668–673.
- Danielsen, S., U. M. Meyer and D. Funk Jensen.** 1998. Genetic characteristics of *Fusarium verticillioides* isolates from maize in Costa Rica. *Plant Pathology* **47**: 615–622.
- Delp, B. R., L. J. Stwell and J. Marois.** 1986. Evaluation of field sampling techniques for estimation of disease incidence. *Phytopathology* **76**:1299–1305.
- Desjardins, A. E., R. D. Plattner and P. E. Nelson.** 1994. Fumonisin production and other traits of *Fusarium moniliforme* from maize in northeast Mexico. *Appl. Environ. Microbiol.* **60**: 1695–1697.
- Doko, B., S. Rapior, A. Visconti and J. Schjoth.** 1995. Incidence and levels of fumonisins contamination in maize genotypes grown in Europe and Africa. *J. Agric. Food Chem.* **43**: 429–434.
- Harrison, L. R., B. M. Colvin, I. T. Greene, L. E. Newman and J. R. Cole.** 1990. Pulmonary edema and hydrothorax in swine produced by fumonisins B₁, a toxic metabolite of *Fusarium moniliforme*. *J. Vet. Diagn. Invest.* **2**: 217–221.
- Kellerman, T. S., W. F. O. Marasas, P. G. Thiel, W. C. A. Gelderblom, M. Cawood and J. A. W. Coetzer.** 1990. Leucoencephalomalacia in two horses induced by oral dosing of fumonisin B₁. *Journal Veterinary Residues* **57**: 269–275.
- Kerényi, Z., K. Zeller, L. Hornok and J. F. Leslie.** 1999. Molecular standardization of mating type terminology in the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Appl. Environ. Microbiol.* **65**: 4071–4076.
- Klittich, C. J. R. and J. F. Leslie.** 1988. Nitrate reduction mutants of *Fusarium moniliforme*. *Genetics* **118**: 417–423.
- Leslie, J. F.** 1995. *Gibberella fujikuroi*: available populations and variable traits. *Can. J. Bot.* **73**: S282–S291.
- Leslie, J. F., F. J. Doe, R. D. Plattner, D. D. Shackelford and J. Jonz.** 1992a. Fumonisin B₁ production and vegetative compatibility of strains from *Gibberella fujikuroi* mating population A (*Fusarium moniliforme*). *Mycopathologia* **117**: 27–45.
- Leslie, J. F., R. D. Plattner, A. E. Desjardins and C. J. R. Klittich.** 1992b. Fumonisin B₁ production by strains from different mating population of *Gibberella fujikuroi* (*Fusarium* section *Liseola*). *Phytopathology* **82**: 341–345.
- Leslie, J. F. and K. K. Klein.** 1996. Female fertility and mating-type effects on effective population size in filamentous fungi. *Genetics* **144**: 557–576.
- Logrieco, A., A. Moretti, A. Ritieni, A. Bottalico and P. Corda.** 1995. Occurrence and toxigenicity of *Fusarium proliferatum* from preharvest maize ear rot, and associated mycotoxins, in Italy. *Plant Disease* **79**: 727–731.
- Logrieco, A., A. Moretti, G. Castella, M. Kostecki, P. Golinski, A. Ritieni and J. Chelkowski.** 1998. Beauvericin production by *Fusarium* species. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**: 3084–3088.
- Mansuetus, A. S., G. N. Odvody, R. A. Frederiksen and J. F. Leslie.** 1997. Biological species of *Gibberella fujikuroi* (*Fusarium* section *Liseola*) recovered from sorghum in Tanzania. *Mycol. Res.* **101**: 815–820.
- Moretti, A., A. Logrieco, A. Bottalico, A. Ritieni, V. Fogliano and G. Randazzo.** 1996. Diversity in beauvericin and fusaproliferin production by different populations of *Gibberella fujikuroi* (*Fusarium* section *Liseola*). *Sydowia* **48**: 44–56.
- Moretti, A., G. A. Bennett, A. Logrieco, A. Bottalico and M. N. Beremand.** 1995a. Fertility of *Fusarium moniliforme* from maize and sorghum related to fumonisin production in Italy. *Mycopathologia* **131**: 25–29.
- Munkvold, G. P. and Desjardins A. E.** 1997. Fumonisin in maize. Can we reduce their occurrence?. *Plant. Dis.* **81**: 556–565.
- Nelson, P. E., R. D. Plattner, D. D. Shackelford and A. E. Desjardins.** 1992. Fumonisin B₁ production by *Fusarium* species other than *Fusarium moniliforme* in Section *Liseola* and by some related species. *Appl. Environ. Microbiol.* **58**: 984–989.
- Nelson, P. E., T. A. Tousoun and W. F. O. Marasas.** 1983. *Fusarium species An Illustrated Manual for Identification.* The Pennsylvania State. University Press. University Park.

- Park, S.-Y., Y-W. Lee and Y-H. Lee.** 1999. Population genetic analyses of *Gibberella fujikuroi* isolates from maize in Korea. Proceeding of the 1999 Agricultural Biotechnology Symposium: Biology and Chemistry of Fungal Secondary Metabolites (Seoul, Korea), pp. 101–116.
- Reyes, V. W. P.** 2001. *Detección del hongo Fusarium verticillioides y de fumonisinas en maíz y efecto de la nixtamalización sobre la producción de sus hidrolizados*. Tesis Doctoral, Universidad de Guadalajara. Las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jalisco, México.
- Reynoso, M. M., A. M. Torres, S. N. Chulze.** 2003. Fusaproliferin, beauvericin and fumonisin production by different mating populations among the *Gibberella fujikuroi* complex isolated from maize. *Mycol. Res* **108**: 154–160.
- Reynoso, M. M., A. M. Torres, S. N. Chulze.** 2006. Biological species in the *Gibberella fujikuroi* species complex isolated from maize kernels in Argentina. *Plant Pathol. J.* (en prensa).
- Rheeder, J. P., W. F. O. Marasas, P. G. Thiel, E. W. Sydenham, G. S. Shephard and D. J. Van Schalwyk.** 1992. *Fusarium moniliforme* and fumonisins in corn in relation to human esophageal cancer in Tanskei. *Phytopathology* **82**: 353–357.
- Rosiles, M. R., J. Bautista, V. O. Fuentes and Ross F.** 1998. An outbreak of equine leukoencephalomalacia at Oaxaca, Mexico, associated with fumonisin B₁. *J. Vet. Med. A* **45**: 299–322.
- SAGARPA, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.** 2003. <http://www.sagarpa.gob.mx>.
- Sánchez-Rangel, D. A. Sanjuán-Badillo and J. Plasencia.** 2005. Fumonisin production by *Fusarium verticillioides* strains isolated from maize in Mexico and development of a Polymerase Chain Reaction to detected potential toxicogenic strains in grains. *J. Agric. Food Chem.* **53**: 8565–8571.
- Shephard, G. S., E. W. Sydenham, P. G. Thiel and W. C. A. Gelderblom.** 1990. Quantitative determination of fumonisins B₁ and B₂ by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J. Liq. Chromatogr* **13**: 2077–2080.
- Srobarova, A. A. Moretti, R. Ferracane, A. Ritieni and A. Logrieco.** 2002. Toxigenic *Fusarium* species of *Liseola* section in pre-harvest maize ear rot, and associated mycotoxins in Slovakia. *Eur. J. Plant Pathol.* **108**: 299–306.
- Thiel, P. G., W. F. O. Marasas, E. W. Sydenham, G. S. Shephard, W. C. A. Gelderblom and J. J. Nieuwenhuis.** 1991a. Survey of fumonisins production by *Fusarium* species. *Appl. Environ. Microbiol.* **57**: 1089–1093.
- Visconti, A. and M. B. Doko.** 1994. Survey of fumonisin production by *Fusarium* isolated from cereals in Europe. *J. AOAC. Int.* **77**: 546–550.

Acceptado el 14 de marzo de 2006

Diversidad genética de *Pinus ayacahuite* utilizando marcadores RAPDs en genoma diploide y haploide

Patricia Castro-Félix¹, Carmen Ramos Navarro¹, Jorge A. Pérez de la Rosa², Georgina Vargas Amado² y A. R. Villalobos-Arámbula¹

¹Laboratorio de Genética, Departamento de Biología Celular y Molecular. ²Instituto de Botánica, Departamento de Botánica y Zoología. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara. 45110, Zapopan, Jalisco, México. Correo electrónico: avillal@cucba.udg.mx

Resumen: En este trabajo se utilizaron marcadores RAPDs para obtener los niveles de diversidad y diferenciación genética en *Pinus ayacahuite* de las poblaciones de «Las Palmas» en el estado de Michoacán y «San Rafael» en el Estado de México. La amplificación por PCR del material diploide de 20 árboles y 36 genomas haploides de 6 árboles de cada una de las poblaciones, generó un total de 20 fragmentos con los iniciadores OPA-11, OPA-08 y OPC-06. Se estimaron las frecuencias alélicas por dos métodos: 1) indirecto, utiliza la frecuencia de los individuos con ausencia del fragmento (genoma diploide) y 2) directo, utiliza las frecuencias genotípicas inferidas de los patrones de segregación de los gametofitos (genoma haploide). Los valores de diversidad genética (porcentaje promedio de loci polimórficos y heterocigosis promedio) derivados del método indirecto fueron de $P=65\%$ y $H=0.25$ para «Las Palmas» y de $P=60\%$ y $H=0.26$ para «San Rafael», el valor de F_{ST} fue de 0.1. Se obtuvieron valores de $P=62\%$ en ambas poblaciones por el método directo y los valores de H fueron ligeramente menores a los producidos por el método indirecto. El análisis de marcadores RAPDs en material haploide de *P. ayacahuite* permitió determinar los patrones de segregación y el equilibrio Hardy-Weinberg. Los índices de fijación ($F_{IS}=0.0024$, $F_{IT}=0.0829$ y $F_{ST}=0.089$) mostraron ausencia de endogamia y una diferenciación poblacional moderada. Los niveles de diversidad genética de *P. ayacahuite* se encuentran dentro de los valores reportados para otras especies de pinos.

Abstract: In this work RAPD markers were used to obtain genetic diversity and differentiation levels of *P. ayacahuite* populations from «Las Palmas», Michoacán and «San Rafael», Estado de México. PCR amplification of diploid material from 20 trees, and 36 haploid genomes from 6 trees of each population, produced a total of 20 fragments with OPA-11, OPA-08 and OPC-06 primers. Two methods were applied to estimate allelic frequencies: 1) indirect, which uses the frequency of individuals without the fragment (diploid genome); and 2) direct, which uses genotypic frequencies inferred from segregation patterns in gametophytes (haploid genome). Genetic diversity measurements (average percentage of polymorphic loci and average heterozygosity) derived from the indirect method were $P=65\%$ and $H=0.25$ in the population of «Las Palmas» and $P=60\%$ and $H=0.26$ in «San Rafael». The F_{ST} value was 0.1. Estimated values of $P=62\%$ were obtained in both populations from the direct method while H values were lightly lower than the ones produced from the indirect method. Analysis of RAPD markers in haploid material of *P. ayacahuite* allowed facilitated the determination of segregation patterns and demonstrated the Hardy-Weinberg equilibrium. Fixation indices ($F_{IS}=0.0024$, $F_{IT}=0.0829$ and $F_{ST}=0.089$) showed no inbreeding and moderate population differentiation. Genetic diversity levels of *P. ayacahuite* are within the range reported for other pines.

Introducción

La variabilidad genética, como componente de la diversidad biológica, se ha constituido en un aspecto clave y fundamental de la biología de la conservación, debido a que le confiere eficacia biológica a la especie y le permite adaptarse a diferentes condiciones ambientales (Hartl y Clark 1989). *Pinus ayacahuite* Ehrenb. ex Schltdt. es uno de los pinos blancos más utilizados en México como fuente de madera (Farjon y Styles 1997). La especie presenta una amplia distribución geográfica (Martínez 1948, Critchfield y Little 1966, Eguiluz 1985), aunado a esto muestra una variación morfológica significativa entre localidades. Tal es el caso de la población de «Las Palmas», municipio de los Reyes, Michoacán, considerada el área donde la especie produce los conos femeninos más largos (Pérez de la Rosa 1993). Por otra parte, la población aislada de «San Rafael», municipio de Tlalmanalco, Estado de México considerada como *P. ayacahuite* var. *veitchii* (Roezl) Shaw, presenta como carácter distintivo sus apófisis largas pero no encorvadas (Farjon et al. 1997). Aunque se han realizado estudios de variabilidad genética con aloenzimas en algunas poblaciones de *P. ayacahuite* (Ledig 1998), es importante considerar que la variación isoenzimática representa solamente una pequeña fracción de la variación genética en una población (Conner y Hartl 2004).

Los marcadores de DNA polimórfico amplificado al azar (RAPD), han sido ampliamente utilizados en el estudio de la diversidad genética de especies vegetales (Ritland y Ritland 2000). Los RAPDs son marcadores moleculares dominantes, generados por la amplificación de segmentos aleatorios de DNA. La técnica de RAPD es una de las técnicas moleculares consideradas como multilocus, ya que permite el análisis de varios loci a la vez, se basa en la posibilidad estadística de que se presenten sitios complementarios a un iniciador de 10 b, a lo largo del genoma (Harris 1999). La gran ventaja de esta técnica es que permite

el análisis de la variación genética sin secuenciar o caracterizar el genoma de interés, su uso en forma adecuada permite resolver una gran cantidad de marcadores neutros y detectar polimorfismo.

Cuando se dispone solamente de material diploide para el análisis genético, las frecuencias de los marcadores RAPDs se estiman indirectamente, utilizando las frecuencias de los individuos en los que el fragmento está ausente. En este tipo de análisis se asume que los marcadores segregan mendelianamente y que las poblaciones presentan el equilibrio Hardy-Weinberg. Sin embargo, la desviación de las expectativas de estricta herencia mendeliana ha sido reportada como una de las limitantes básicas del empleo de RAPDs (Wolfe y Liston 1998). Éstas pueden ser producto de artefactos (variación no genética), de la localización de los marcadores en organelos y de interacciones epigenéticas. De esta forma, en estudios realizados con RAPDs es importante registrar solamente marcadores altamente reproducibles que presenten un patrón de herencia mendeliana, ya que la confiabilidad de los resultados dependerá de la robustez de los marcadores. En el caso de las coníferas es posible determinar la herencia de los marcadores sin necesidad de cruza controlada, las cuales son costosas y con frecuencia imposible de llevar a cabo. Se considera que son el material genético ideal para estudios genéticos, ya que la naturaleza del gametofito permite analizar el tipo de segregación de los marcadores genéticos. Desde el punto de vista genético, el gametofito es idéntico al gameto materno que forma el embrión, por lo tanto es equivalente a la progenie haploide de la planta. Cualquier locus en el genoma de la planta que presente herencia mendeliana, segregará 1 a 1 en los gametofitos (O'Malley et al. 1997). El estudio de los RAPDs en los gametofitos de varias semillas del mismo árbol permite determinar el patrón de segregación de cada marcador, identificar heterocigotos, estimar directamente las frecuencias

alélicas y aplicar los modelos clásicos de genética de poblaciones utilizados para alelos codominantes.

Los objetivos de este trabajo consistieron en estimar y comparar los niveles de diversidad genética en dos poblaciones de *Pinus ayacahuite* revelados por el cálculo de las frecuencias alélicas de marcadores RAPDs a través de: 1) el método indirecto y, 2) el método directo.

Materiales y métodos

DESCRIPCIÓN DE LAS POBLACIONES

La población de *Pinus ayacahuite* de San Rafael, municipio de Tlalmanalco, Estado de México se localiza a 19° 12' 38" de latitud Norte, y 98° 44' 10" de longitud Oeste; a una altitud de 2721 metros sobre el nivel del mar, la temperatura anual es de 15 °C y las precipitaciones pluviales de 744 milímetros por año. Hoy día, la población se encuentra en un bosque muy perturbado de *P. ayacahuite*, *Pinus* spp. y *Cupressus lusitana* y se considera como una población aislada. Los árboles presentan un tamaño de 25 a 35 m. La época de dehiscencia de las semillas inicia en octubre. La población de *P. ayacahuite* de Las Palmas, municipio de los Reyes, Michoacán se ubica a 19° 40' de latitud Norte y 102° 25' de longitud Oeste, a una altitud de 2260 m, la temperatura anual es de 15 °C y las precipitación pluvial de 634 milímetros por año. En la actualidad la población está reducida y aislada.

RECOLECCIÓN DE LAS MUESTRAS DE ACÍCULAS Y SEMILLAS

Se colectaron muestras de acículas de 20 árboles de cada población. Los árboles se encontraban separados uno del otro al menos por 50 metros. Se colectaron además conos maduros de seis árboles de cada población. Las acículas se mantuvieron en un ambiente fresco hasta su llegada al laboratorio donde se congelaron a -20 °C hasta la extracción de DNA. Las semillas colectadas entre julio y agosto de

2003 se almacenaron en bolsas de papel a 4 °C hasta la extracción de DNA.

OBTENCIÓN DE GAMETÓFITOS

Se germinaron de seis a diez semillas de cada cono. Para la germinación, las semillas se lavaron tres veces con agua destilada (permanecieron 12 horas en agua durante cada lavado). Se añadieron 250 ml de agua oxigenada comercial y un volumen igual de agua destilada, se mantuvieron en esta solución por 30 minutos y se lavaron por cuarta vez con agua destilada. Se eliminó el exceso de agua y las semillas se almacenaron en bolsas de papel a 4° C. Para obtener el gametofito, se diseccionó la semilla germinada con la ayuda de un bisturí, se localizó visualmente el megagametofito (n) y se separó de la cubierta con unas pinzas de disección. Se efectuó un corte en forma vertical en el gametofito y se localizó y extrajo el embrión (2n). Se eliminó del gametofito el suspensor del embrión (ver figura 1). Finalmente se colocaron los gametofitos en tubos Eppendorf de 2 ml y se almacenaron a -80 °C hasta la extracción de DNA.

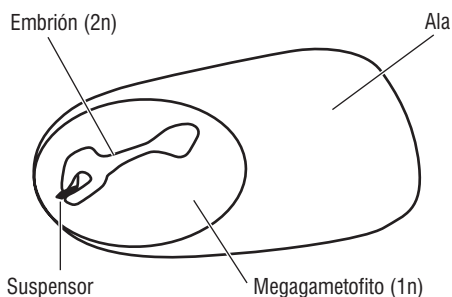


Figura 1. Semilla germinada de pino.

EXTRACCIÓN DE DNA

La extracción de DNA a partir de acículas (genoma diploide) y gametofitos (genoma haploide) se llevó a cabo mediante el método descrito por Doyle y Doyle (1990),

con algunas modificaciones. En el caso de las acículas se adicionó polivinilpirrolidona 10 al 1% al amortiguador de extracción; mientras que en gametofitos fue necesario el uso de fenol para eliminar la gran cantidad de grasa del tejido (Palomera 2002). Finalmente, se determinó la concentración y la calidad del DNA por espectrofotometría y electroforesis en geles de agarosa, respectivamente (Sambrook et al. 1989).

MARCADORES RAPDs

Para la amplificación de los marcadores RAPDs se siguió el procedimiento de Williams et al. (1990) con ligeras modificaciones (Arvizu 2003). Las reacciones de PCR se desarrollaron en un volumen final de 25 µl. Las concentraciones finales de los componentes de la reacción fueron: Tris HCl 10 mM, pH 8.3; KCl 50 mM; gelatina 0.001 %; dNTPs 100 µM; iniciador 0.2 µM; 25 ng de DNA y 0.5 U de TaqPol. Se utilizaron tres cebadores seleccionados con base en la calidad de la amplificación de muestras DNA de *Pinus ayacahuite*, las características de los iniciadores y las concentraciones óptimas de MgCl₂ por iniciador se muestran en el cuadro 1. Las reacciones de amplificación se llevaron a cabo en un termociclador MJ Research modelo PTC 100. El programa de amplificación consistió de un paso inicial de tres minutos a 94 °C seguido de 45 ciclos de un minuto a 94 °C, dos minutos a 72 °C, dos minutos a 36 °C, y un paso final de siete minutos a 72 °C. Los productos de la reac-

Cuadro 1. Secuencia y concentraciones de cloruro de magnesio de los iniciadores utilizados en *Pinus ayacahuite*.

Iniciador	Secuencia	MgCl ₂ cc final
	5' ----- 3'	
OPA-08	GTGACGTAGG	4.5 mM
OPA-11	CAATCGCGGT	2.5 mM
OPC-06	GAACGGACTC	3.5 mM

ción se mezclaron con solución de carga (Sambrook et al. 1989) y se separaron por electroforesis en geles de agarosa al 1.8% (4 V/cm). Se utilizó un marcador de 100 pb (Gibco) en el gel para determinar el tamaño de los fragmentos amplificados. Los geles se tiñeron mediante inmersión en bromuro de etidio a una concentración de 0.5 µg/ml por 30 minutos y se destiñeron en agua destilada. Los marcadores se visualizaron y fotografiaron bajo luz ultravioleta usando el sistema de fotodocumentación EDAS (Kodak).

ANÁLISIS DE DATOS

El tamaño de cada fragmento se determinó utilizando un marcador de 100 pb y el sistema de fotodocumentación EDAS. Las bandas se registraron como presentes (1) o ausentes (0). Se definieron los patrones de bandeado para cada iniciador, en particular el tamaño en pares de bases (pb) y el grado de intensidad de las bandas.

En el análisis de datos de marcadores RAPDs se asume que cada fragmento representa un locus y que existen solamente dos alelos para cada locus. Así, se formaron dos matrices de datos, en una se registró la presencia (1) o ausencia (0) de los fragmentos RAPDs en el genoma diploide de las acículas de cada población (matriz 1) y en la otra la presencia o ausencia en los genomas haploides de cada población (matriz 2).

MÉTODO INDIRECTO

Los fragmentos registrados en la matriz 1 se analizaron como marcadores dominantes con el programa PopGene versión 1.31 (Yeh et al. 1997). Las frecuencias génicas se calcularon en forma indirecta a partir de la frecuencia de los individuos con ausencia del marcador. Se obtuvo el porcentaje de loci polimórficos (P) y el valor de heterocigosis promedio (H) (Nei 1973) en cada población. Se realizó también un análisis multipoblacional en el que se estimaron los índices de diversidad total y diferenciación genética (F_{ST}).

MÉTODO DIRECTO

A través del análisis de la matriz 2 se localizaron los loci que segregaron y se identificaron los individuos heterocigotos. Se contabilizó el total de gametofitos con presencia o ausencia del marcador (alelos nulos). Se calculó el porcentaje de desviación de las relaciones esperadas (1:1) en la segregación mendeliana y se identificaron aquellos loci que presentaron una fuerte desviación. A partir del análisis de los gametofitos, se formó una nueva matriz poblacional (matriz 3), con los genotipos diploides de los loci monomórficos (AA) y los loci que segregaron en forma mendeliana: AA, BB o AB. Se alimentó con esta matriz el programa PopGene y se analizaron los RAPDs como marcadores codominantes (análisis genotípico). Se comparó la distribución genotípica observada en las poblaciones con la distribución genotípica esperada bajo el equilibrio Hardy-Weinberg. Finalmente, se calcularon los índices de diversidad y se analizaron las poblaciones con estadísticas F (Wright 1951).

Resultados y discusión

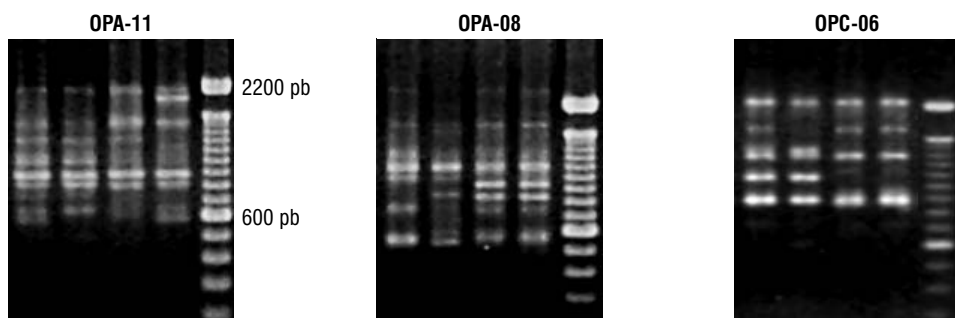
PERFIL DE MARCADORES RAPDS

Los iniciadores OPA-08, OPA-11 y OPC-06 produjeron un total de 20 fragmentos. El perfil de amplificación (número, tamaño e intensidad de las bandas) por iniciador se muestra en el cuadro 2. El iniciador OPA-11, con un total de nueve bandas produjo el mayor número de fragmentos, cuyo tamaño varió de 1900 a 750 pb. Los otros dos iniciadores generaron seis y cinco fragmentos de un tamaño de 1700 a 550 pb para OPA-08 y de 2200 a 900 pb para OPC-06 (cuadro 2; figura 2). El DNA de las acículas y de los gametofitos presentó el mismo perfil de amplificación para cada iniciador.

DIVERSIDAD GENÉTICA

En un estudio de reproducción de fragmentos RAPDs en *Pinus ayacahuite* se observó que los fragmentos OPA-11₉₀₀ y OPA-11₇₅₀ no fueron reproducibles (Ramos 2006).

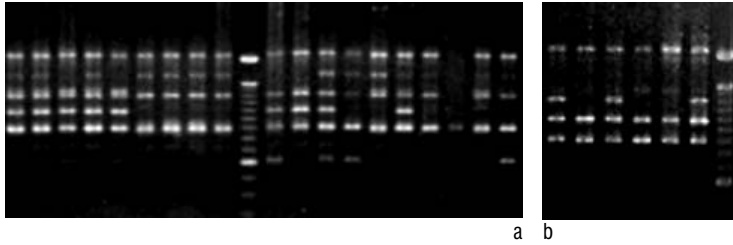
Figura 2. Perfil de amplificación de marcadores RAPDs obtenidos con los iniciadores OPA-11, OPA-08 y OPC-06 en *Pinus ayacahuite*.



Cuadro 2. Perfil de bandas obtenidos con cada cebador en material haploide y diploide de *Pinus ayacahuite*. Intensidad de las bandas: F = fuerte, I = intermedia y D = débil.

Iniciador	Bandas									
OPA-08	1700 I	1100 F	950 F	850 F	750 I	550 I				6
OPA-11	1900 I	1800 I-D	1500 I	1300 I	1200 I	1050 D	900 F	850 I	750 I	9
OPC-06	2200 F	1700 I	1300 F	1100 F	900 F					5

Figura 3.
Marcadores RAPDs
(OPC-06) en
genoma diploide (a)
y haploide (b) de
Pinus ayacahuite.



Debido a esto, se eliminaron dos loci y los análisis de diversidad genética se realizaron solamente con 18 fragmentos (figuras 2 y 3). Es probable que los fragmentos OPA-11₁₉₀₀ y OPA-11₇₅₀ sean artefactos producidos durante la amplificación. La confiabilidad del análisis de variación genética de poblaciones naturales con RAPDs depende en gran parte de que no se consideren los productos cuya variación sea artificial.

MÉTODO INDIRECTO

El análisis del material diploide mostró un porcentaje ligeramente más alto de polimorfismo promedio en la población de Las Palmas en relación a la de San Rafael (cuadro 3). Sin embargo, los niveles de heterocigosis (H) fueron similares en ambas poblaciones. El análisis multipoblacional mostró un 75 % de loci polimórficos, un valor de H de 0.29 y de F_{ST} de 0.1. El valor de F_{ST} indica el grado de diferenciación poblacional, para la mayoría de los organismos los valores de F_{ST} son iguales o menores a 0.15, valores entre 0.05-0.15 indican una diferenciación moderada, entre 0.15-0.25 una gran diferenciación y mayores a 0.25 una diferenciación aún más grande (Ouborg et al. 1999). Así, el valor de F_{ST} observado en las dos poblaciones de *P. ayacahuite* indica

una diferenciación moderada. La distancia genética de Nei en las poblaciones analizadas fue de 0.08.

MÉTODO DIRECTO

El tamaño de la muestra (n= 6 en cada población) en el análisis de material haploide, fue determinado por el número de árboles en los que se disponía de conos maduros. El desconocimiento de la fenología de la mayoría de las poblaciones de *Pinus ayacahuite* dificulta el muestreo de acículas y conos en buenas condiciones. Sin embargo, el número de gametófitos analizados por árbol en este estudio, fue suficiente para la identificación de individuos heterocigotos, ya que la probabilidad de no detectarlos cuando se analizan de seis a ocho megagametofitos, es de 3 a 1% (Isabel et al. 1999).

Del total de fragmentos analizados, siete resultaron monomórficos (OPA-08₁₇₀₀, OPA-08₁₁₀₀, OPA-08₇₅₀, OPA-11₁₉₀₀, OPC-06₂₂₀₀, OPC-06₁₃₀₀ y OPC-06₉₀₀) mientras que el resto fue polimórfico de acuerdo al criterio de definir un locus como polimórfico cuando el alelo más común presenta una frecuencia menor a 0.95 (Hartl y Clark 1989). El locus OPC-06₁₁₀₀ mostró una clara distorsión en la segregación alélica, el análisis de cinco individuos heterocigotos reveló un 28.8%

Población	n	No. de loci polimórficos	% P	H	F_{ST}	Distancia genética
Las Palmas	20	13	65	0.25		
San Rafael	20	12	60	0.26		
Ambas	40	15	75	0.29	0.1	0.08

Cuadro 3. Diversidad genética con marcadores RAPDs en material diploide de *Pinus ayacahuite*.

de exceso de alelos positivos en relación a alelos nulos. Los loci OPA-11₁₉₀₀, OPA-11₁₅₀₀, OPA-11₁₀₅₀, OPA-11₉₀₀ y OPA-08₁₇₀₀ presentaron un exceso de alelos segregantes, sin embargo el tamaño de la muestra (uno o dos individuos heterocigotos), no fue suficiente para la definición de estos resultados, por lo que es necesario analizar un mayor número de individuos heterocigotos para estos marcadores.

En pinos es frecuente encontrar una distorsión de la segregación alélica o desviación de la relación esperada (1:1) en genes que codifican para proteínas, esta distorsión puede estar en la población o en árboles individuales. Una probable explicación para este tipo de observaciones es la existencia de alelos egoístas que afectan la meiosis incrementando la frecuencia con la cual se transmiten; el ligamiento de un locus determinado a este tipo de alelos resultará en una desviación de las relaciones mendelianas esperadas. La selección en contra de uno de los alelos durante los procesos de gametogénesis o embriogénesis o el origen citoplasmático del marcador producirían también una distorsión en la segregación (Ledig 1998). En el caso del análisis de segregación de los RAPDs es importante considerar la competencia que ocurre entre los sitios a los cuales se unen los iniciadores, un marcador en particular puede amplificar cuando el genoma se encuentra en un ambiente determinado y no en otro, esta competencia puede explicar en parte, la presencia de bandas no parentales en los segregantes (Wolfe y Liston 1998).

Con excepción del locus OPA-11₁₂₀₀ en la población de San Rafael ($\chi^2 = 0.4$, $p >$

0.05), las poblaciones mostraron el equilibrio Hardy-Weinberg para el resto de los RAPDs. El análisis de los 16 loci válidos (monomórficos y polimórficos), reveló el mismo valor de P en las dos poblaciones y los niveles de H fueron muy similares. En conjunto el análisis genotípico mostró valores de 68.75% y 0.23 para P y H respectivamente (cuadro 4). El índice de fijación intrapoblacional (F_{IS}) fue de 0.0024, este estimado mide la reducción proporcional en heterocigotos dentro de una población debido al efecto de la endogamia, por lo tanto el valor observado indica la ausencia de endogamia. El promedio del índice de fijación total (F_{IT}) fue de 0.0851 y el promedio estimado de F_{ST} de 0.0829. Similarmente a lo observado en el análisis de marcadores RAPDs por el método indirecto, el valor de F_{ST} indica un grado de diferenciación moderada en las poblaciones de *Pinus ayacahuite*. La distancia genética de Nei fue de 0.09.

Los valores de diversidad poblacional obtenidos en este trabajo se encuentran dentro de los descritos en otros pinos con marcadores RAPDs. Niveles de diversidad similares a los nuestros fueron reportados por Wu et al. (1999) en *Pinus radiata* (0.23), los mismos autores encuentran valores más bajos para *P. muricata* y *P. attenuata* (0.16 y 0.17). Niveles más altos han sido descritos en *P. oocarpa* (Díaz et al. 2001), *P. sylvestris* (Szmídt et al. 1996) y *P. contorta* (Thomas et al. 1999). En las especies de pinos que se han estudiado hasta ahora utilizando aloenzimas, el promedio de heterocigosis esperada es de 0.198 y de diferenciación genética de 0.129 (Delgado et al. 2002). El promedio de

Cuadro 4. Diversidad genética utilizando RAPDs en material haploide de *Pinus ayacahuite*.

Población	n	No. de loci polimórficos	%P	H	F_{ST}	F_{IS}	F_{IT}	Distancia genética
Las Palmas	6	10	62	0.21				
San Rafael	6	10	62	0.21				
Ambas	12	11	69	0.23	0.082	0.0024	0.085	0.09

heterocigosis obtenido en *P. ayacahuite* (H entre 0.23 y 0.29) utilizando marcadores RAPDs es mayor al observado en el análisis de la diversidad genética de pinos con aloenzimas, probablemente esta diferencia sea resultado del mayor número de polimorfismos detectado con marcadores RAPDs en relación a las aloenzimas (Díaz et al. 2001). El valor de F_{ST} es menor al reportado con aloenzimas, esta diferencia puede ser explicada por la cercanía geográfica de las dos poblaciones analizadas.

En el método indirecto las frecuencias alélicas se estiman a partir de las frecuencias de los individuos en los que el marcador está ausente. Sin embargo, la ausencia de un marcador RAPD puede ser producto de más de un evento, de tal forma que el cálculo de las frecuencias alélicas por este método puede ser impreciso. Aunque han surgido propuestas para la resolución de este problema (Lynch y Milligan 1994), los mismos autores señalan que sus estimadores no representan la solución completa. El análisis genotípico de marcadores RAPDs en los gametofitos de *P. ayacahuite* permitió además del cálculo directo de las frecuencias alélicas, determinar los patrones de herencia, el equilibrio genético y realizar el análisis poblacional con estadísticas F. A diferencia de lo reportado por Szmidt et al. (1996) en *P. sylvestris*, nosotros no observamos grandes diferencias entre los resultados de la aplicación del método indirecto y el método directo para el cálculo de frecuencias alélicas. Sin embargo, sí obtuvimos un valor ligeramente más alto de diferenciación poblacional (F_{ST}) con el primer método en relación al segundo. Lo anterior es similar a lo reportado por Isabel et al. (1999) en *P. strobus*.

Conclusiones

1. Los niveles de diversidad genética de *Pinus ayacahuite* con marcadores RAPDs

utilizando el método indirecto y directo para el cálculo de las frecuencias alélicas fueron similares.

2. Los índices de diversidad genética de *Pinus ayacahuite* se encuentran dentro de los valores reportados para otras especies de pinos.

3. Las poblaciones de *Pinus ayacahuite* de Las Palmas, Michoacán y San Rafael, Estado de México, presentan una diferenciación moderada. El análisis de diferenciación poblacional utilizando el método indirecto mostró un índice de diferenciación ligeramente mayor.

4. Con excepción de los loci OPC-06₁₁₀₀ y OPA-11₁₂₀₀ el resto de los loci RAPDs analizados en este trabajo presentaron segregación mendeliana y equilibrio Hardy-Weinberg en las poblaciones estudiadas.

5. El equilibrio Hardy-Weinberg en las poblaciones de *Pinus ayacahuite* y el análisis con estadísticas F mostraron ausencia de endogamia.

Agradecimientos

Los autores agradecen a Verónica Palomera Ávalos por la asistencia técnica prestada para la elaboración de este trabajo. Esta investigación fue financiada por SEP-CONACYT Proyecto 33129-B, Universidad de Guadalajara P3E-2005 Proyecto 32980 y PROMEP-CA03 Biología Celular y Molecular (CGA/III/1179/04) apoyos otorgados para A.R.V.A. A dos revisores anónimos sus comentarios para mejorar el documento y a Servando Carvajal la corrección de estilo.

Literatura citada

- Arvizu, L. 2003. *Caracterización de marcadores RAPDs en Pinus chiapensis y en el complejo Pinus ayacahuite-P. strobiliformis*. Tesis de Licenciatura en Biología. Universidad de Guadalajara. Jalisco, México. 53 pp.
- Conner, J. K., and D. L. Hartl. 2004. *A Primer of Ecological Genetics*. Sinauer Associates, Inc., U.S.A. Pp. 15-16.

- Critchfield, W. B. and E. L. Little.** 1966. *Geographic distribution of the pines of the world*. USDA Forest Service Miscellaneous Publications 991.
- Delgado, P., A. Cuenca, A. Escalante, F. Molina-Freaner and D. Piñero.** 2002. Comparative genetic structure in pines: evolutionary and conservation consequences. *Revista Chilena de Historia Natural* **75**: 27–37.
- Díaz, V., M. Muñiz and E. Ferrer.** 2001. Random amplified polymorphic DNA and amplified fragment length polymorphism assessment of genetic variation in Nicaraguan populations of *Pinus oocarpa*. *Molecular Ecology* **10**: 2593–2603.
- Doyle, J. J. and J. L. Doyle.** 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* **12**: 13–15.
- Eguiluz P., T.** 1982. Clima y distribución del género *Pinus* en México. *Ciencia Forestal* **38**: 30–44.
- Ellsworth, D.L., K. D. Rittenhouse and L. R. Honeycutt.** 1993. Artifactual variation in Random Amplified Polymorphic DNA banding patterns. *Biotechniques* **14**: 214–217.
- Farjon, A., B. T. Styles.** 1997. *Pinus* (Pinaceae). Flora Neotropica *Pinus* (Pinaceae). Monograph 75. The New York Botanical Garden. New York.
- Farjon, A., J. A. Pérez de la Rosa and B. T. Styles.** 1997. *Guía de campo de los Pinos de México y América Central*. Royal Botanic Gardens, Kew. Universidad de Oxford.
- Harris, S. A.** 1999. RAPDs in systematics - a useful methodology? En: P. M. Hollingsworth, R.M. Batesman, R.J. Gornall (eds.), *Molecular systematics and plant evolution*. Taylor y Francis. London and New York. Pp. 211–228.
- Hartl, D. L. and A. G. Clark.** 1989. Population structure of multilocus associations. *Proceedings of National Academy of Science USA* **78**: 5913–5916.
- Isabel, N., J. Beaulieu and J. Bousquet.** 1999. Complete congruence between gene diversity estimates derived from genotypic data, alloenzyme and random amplified polymorphic DNA loci in black spruce. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **92**: 6369–6373.
- Ledig, F. T.** 1998. Genetic variation in *Pinus*. En: Richardson D. M. (ed), *Ecology and biogeography of Pinus*, Cambridge University Press, Cambridge. Pp. 251–280.
- Lynch, M. and B. G. Milligan.** 1994. Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Molecular Ecology* **3**: 91–99.
- Martínez, M.** 1948. *Los Pinos Mexicanos*. Ediciones Botas. México.
- Nei, M.** 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **70**: 3321–3323.
- O' Malley, D. M. and R. Whetten.** 1997. Molecular markers and forest trees. DNA markers En: Caetano-Anollés G., Gresshoff, P. M. (eds), *Protocols and Overviews*. Pp. 237–257.
- Ouborg, N.J., Y. Piquot and J. M. van Groenendael.** 1999. Population genetics, molecular markers and the study of dispersal in plants. *Journal of Ecology* **87**: 551–568.
- Palomera, V.** 2002. *Comparación de métodos de extracción de ADN en diferentes tejidos de tres especies de pinos blancos (Pinus spp.)*. Tesis de Licenciatura en Biología. Universidad de Guadalajara. Jalisco, México. 42 pp.
- Pérez de la Rosa, J. A.** 1993. *Taxonomía de Pinus ayacahuite y Pinus strobiformis*. Tesis Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Montecillos, Méx, México. 100 pp.
- Ramos, C. L.** 2006. *Diversidad genética de Pinus ayacahuite Ehrenberg ex Schlechtendal: Reproducibilidad y segregación de marcadores RAPDs*. Tesis de Licenciatura en Biología. Universidad de Guadalajara. Jalisco, México. 48 pp.
- Ritland, C., and K. Ritland.** 2000. DNA Fragments Markers in Plants. En: Baker, A.J.(ed.), *Molecular Methods in Ecology*, Blackwell Science Ltd. Pp. 208–234.
- Sambrook, J., E. F. Fritsh and T. Maniatis.** 1989. *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor. 612 pp.
- Szmidtl, A.E., X. R. Wang and M. Z. Lu.** 1996. Empirical assessment of allozyme and RAPD variation in *Pinus sylvestris* (L.) using haploid tissue analysis. *Heredity* **76**: 412–420.
- Thomas, B. R., S. E. McDonald, M. Hicks, D. L. Adams and R. B. Hodgetts.** 1999. Effects of reforestation methods on genetic diversity of lodgepole pine: an assessment using microsatellite and randomly amplified polymorphic DNA markers. *Theoretical. Applied. Genetics*. **98**: 793–801.
- Williams, J. G. F., A. R. Kubelik, K. J. Livak, J. A. Rafalski and S. V. Tingey.** 1990. DNA polymorphisms amplified by

- arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acid Research* **18**: 6531–6535.
- Wolfe, A. D. and A. Liston.** 1998. Contributions of PCR- based methods to plant systematics and evolutionary biology. En: Soltis D. E., Soltis P. S., Doyle J. J., (eds), *Molecular Systematics of Plants II*, Kluwe Academic Publishers, Massachusetts USA. Pp. 43–86.
- Wright, S.** 1951. The genetical structure of populations. *Annals Eugenics* **15**: 323–354.
- Wu, J., K. V. Krutovski and S. H. Strauss.** 1999. Nuclear DNA diversity, population differentiation, and phylogenetic relationships in the California closed-cone pines based on RAPD and allozyme markers. *Genome* **42**: 893–908.
- Yeh, F. C., T. Boyle, Y. Rongcai, Y. Zhihong and J. M. Xiyang.** 1997. PopGene ver. 1.32. Freeware software for population genetics analysis. Dept. of renewable resources. www.ualberta.ca/~fyeh/fyeh.

Acceptado el 26 de abril de 2006

Identificación de polimorfismo entre hijuelos y plantas micropropagadas de *Agave tequilana* y *Agave cocui* usando ISTRs

Martha Isabel Torres-Morán¹, Moisés Martín Morales-Rivera¹, Lino de la Cruz Larios¹ y Alma Rosa Villalobos Arámbula²

¹Instituto de Manejo y Aprovechamiento de Recursos Fitogenéticos. ²Departamento de Biología Celular y Molecular. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara.
Correo electrónico: tmm08531@cucba.udg.mx

Resumen: En plantas del género *Agave*, es importante detectar y documentar la fidelidad, uniformidad y estabilidad genética de las plantas que se propagan por cultivo de tejidos, así como la diferencia entre plantas regeneradas por esta vía y la planta madre de la que provienen. De la misma manera, es necesario generar información acerca de estas diferencias cuando la propagación es por métodos convencionales. En el presente trabajo, se verificó la capacidad de 4 combinaciones de iniciadores para el marcador ISTR (Inverse Sequence-Tagged Repeat) con el objetivo de detectar polimorfismo entre 5 muestras del género *Agave*. El marcador utilizado, mostró efectividad para detectar diferencias entre plantas de *Agave tequilana* Weber y *Agave cocui* Trel, así como capacidad para detectar posible variación somaclonal o epigenética entre brotes producidos por micropropagación.

Abstract: In plants of *Agave* genus, it is important to detect and assess genetic fidelity, uniformity, stability and true-to-typeness among donor plants and tissue culture regenerants as much as plants derived for conventional propagation. We have investigated the capability of 4 ISTRs (Inverse Sequence-Tagged Repeat) primer combinations for detecting polymorphism among 5 samples of *Agave* genus. ISTR demonstrated its effectiveness to detect differences between *Agave tequilana* Weber and *Agave cocui* Trel, and was also possible to detect somaclonal variation or epigenetic differences within the shoots produced by micropropagation.

Introducción

La propagación asexual de las plantas, es una práctica que se lleva a cabo de manera tradicional para numerosas especies, ya que en teoría permite obtener clones fenotípica y genéticamente idénticos a la planta madre. En la actualidad, la biotecnología permite obtener una gran cantidad de individuos a partir de tejido, por micropropagación. Sin embargo, se han encontrado diferencias fenotípicas y genéticas entre individuos propagados asexualmente, tanto en forma tradicional como por cultivo de tejidos (Aravanopoulos 2003).

En el género *Agave* se reportan diferencias entre plantas micropropagadas,

entre hijuelos de rizoma y brotes micropropagados en *Agave tequilana* (Torres-Morán et al. 2005), en *Agave fourcroydes* (Infante et al. 2003); como entre individuos adultos en *Agave ferox* K Koch, *Agave americana* L, *Agave filifera* Salm-Dyck, *Agave attenuata* Salm-Dyck y *Agave heteracantha* Zucc. (Margitay 2005).

Los marcadores moleculares, han encontrado un vasto campo de aplicación y se han convertido en un auxiliar en investigaciones de diversa índole, entre ellas identificar las características genéticas entre individuos. En cultivo de tejidos vegetales pueden utilizarse para determinar

la fidelidad genética entre explantes y brotes regenerados in vitro, en investigaciones sobre el origen y mecanismos de la variación somaclonal, en la identificación de fenotipos mutantes y como control de la propagación vegetativa y de la embriogénesis somática.

Los ISTR (Inverse Sequence-Tagged Repeat) son marcadores basados en secuencias de retrotransposones y estos son elementos genéticos que se mueven dentro del genoma de un organismo vía ARN. Existen en la mayoría de las plantas y son secuencias que se auto-repican y reinsertan en diferentes partes del genoma (Rohde 1996).

Demey et al. (2004), realizaron un estudio comparativo entre ISTRs y AFLPs en *Agave fourcroydes* y encontraron que los ISTRs proporcionan una mayor capacidad discriminatoria y son de mayor valor que los AFLPs para realizar análisis genéticos intra e interespecíficos. Con base en los antecedentes indicados, el objetivo del presente trabajo, fue evaluar si cuatro diferentes combinaciones de iniciadores (primers) de ISTRs pueden detectar polimorfismo entre hijuelos y plantas micropropagadas de las especies *Agave tequilana* y *Agave cocui*.

Metodología

El material genético que se usó en esta investigación consistió de tres muestras obtenidas por micropropagación, dos de *A. tequilana* (A1H1 y A15H2) y una de *A. cocui* (B13). Además dos muestras de hijuelos de rizoma de ambas especies (A10H4-H y M13), que fueron colectadas de la zona centro del estado de Jalisco, México y la provincia de Choroni, Venezuela respectivamente.

La micropropagación se efectuó con el protocolo descrito por Robert et al. (1992). La extracción de ADN se hizo con el método Keb-Llanes et al. (2002) a partir de brotes para las muestras micropropagadas y de hoja para los hijuelos de rizoma. Se cuantificó la concentración por el método descrito por Hoisington (1994).

Los polimorfismos ISTR se obtuvieron de acuerdo a las condiciones descritas por Rohde (1996). La amplificación se llevó a cabo en un volumen final de 20 μ l utilizando las combinaciones de iniciadores F9/B1, F9/B6, F10/B1 y F10/B6.

Los productos de la reacción de PCR se separaron en geles de poliacrilamida 4% y se tiñeron con plata.

Se registraron 100 bandas obtenidas con cada par de iniciadores, en una matriz de presencia/ausencia elaborada en forma individual para cada combinación de iniciadores.

Para estimar la similitud entre brotes micropropagados e hijuelos de rizoma se usó el coeficiente de Jaccard; estimado como $S_j = V_{ij} / (V_{ij} + W_{ij} + X_{ij})$, cabe señalar que este coeficiente mide la proporción de bandas entre dos unidades taxonómicas, excluyendo aquellas ausentes en ambas unidades (Jaccard, 1908).

Con la matriz de coeficientes de Jaccard se llevó a cabo un análisis de agrupamiento con el método Promedio de Grupo (UPGMA) contenido en el programa NTSYS 2.11 y los resultados se presentan de manera gráfica en un dendrograma.

Resultados y discusión

Se observaron fragmentos ISTR con las cuatro combinaciones de iniciadores (figura 1), donde la combinación F9/B1 mostró el menor número de bandas polimórficas.

En las figuras 2 a la 5 se muestran los dendrogramas que se obtuvieron a partir de los análisis de datos de similitudes para las cinco muestras y se observa que entre *A. tequilana* y *A. cocui* existe un porcentaje muy reducido de bandas en común lo que separa claramente los grupos de diferente especie.

Como puede observarse en las figuras 2 a la 5, existe una diferencia marcada entre las muestras de *Agave tequilana* y las de *Agave cocui*, lo cual es consistente con los resultados publicados por Torres-Morán et al., (2005) con respecto a la capacidad discriminatoria del marcador ISTR para



Figura 1. Patrones de ampliación con cuatro combinaciones de iniciadores para ISTR en muestras de *A. tequilana* (1-3) y de *A. cocui* (4-5).

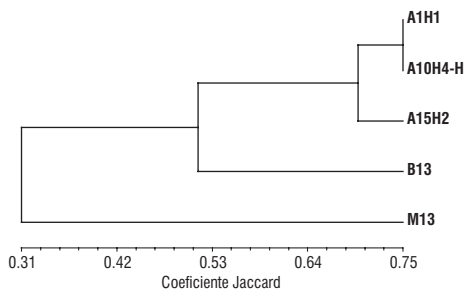


Figura 2. Dendrograma generado con la matriz desarrollada con la combinación F9/B1 de iniciadores de ISTR para 2 brotes de *A. tequilana* micropropagado (A1H1 y A15H2) un hijuelo de rizoma de *A. tequilana* (A10H4-H), un brote micropropagado de *A. cocui* (B13) y un hijuelo de rizoma de *A. cocui* (M13).

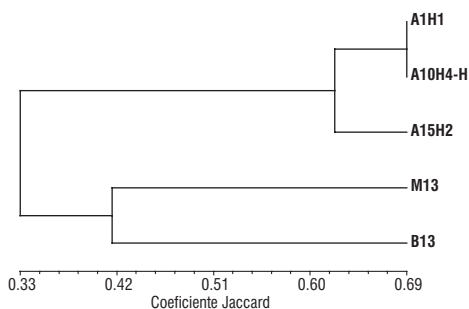


Figura 3. Dendrograma generado con la matriz desarrollada con la combinación F9/B6 de iniciadores de ISTR para 2 brotes de *A. tequilana* micropropagado (A1H1 y A15H2) un hijuelo de rizoma de *A. tequilana* (A10H4-H), un brote micropropagado de *A. cocui* (B13) y un hijuelo de rizoma de *A. cocui* (M13).

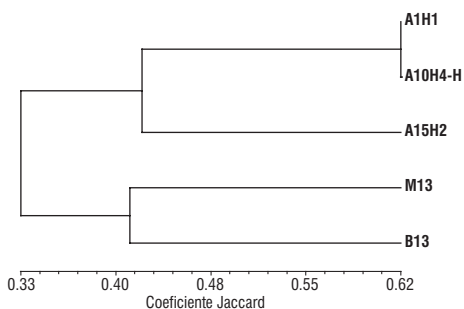


Figura 4. Dendrograma generado con la matriz desarrollada con la combinación F10/B1 de iniciadores de ISTR para 2 brotes de *A. tequilana* micropropagado (A1H1 y A15H2) un hijuelo de rizoma de *A. tequilana* (A10H4-H), un brote micropropagado de *A. cocui* (B13) y un hijuelo de rizoma de *A. cocui* (M13).

detectar diferencias interespecíficas dentro del género *Agave*.

Por otra parte, las muestras se sitúan en el mismo orden en tres dendrogramas, en donde la relación de similitud entre el brote micropropagado A1H1 y el hijuelo de rizoma A10H4-H es alta, con coeficiente de 0.69 (figura 1), 0.62 (figura 2) y 0.77 (figura 3), lo cual puede deberse al parecido genético entre ambas muestras. Asimismo, puede observarse que la similitud entre el

brote micropropagado de *A. cocui* y su hijuelo de rizoma no es muy alta (0.42) a causa, tal vez de variación somaclonal o variación epigenética producida durante el proceso de micropropagación. Lo anterior fue reportado por Torres-Morán et al., (2005) entre muestras de las mismas especies de *agave*.

Los resultados reportados en el presente trabajo, demuestran que las cuatro combinaciones de iniciadores fueron

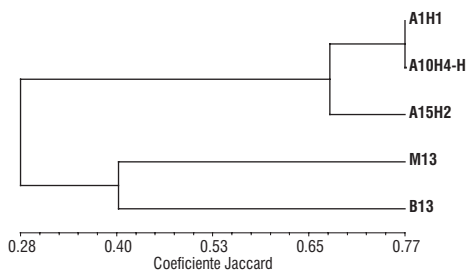


Figura 5. Dendrograma generado con la matriz desarrollada con la combinación F10/B6 de iniciadores de ISTR para 2 brotes de *A. tequilana* micropropagado (A1H1 y A15H2) un hijuelo de rizoma de *A. tequilana* (A10H4-H), un brote micropropagado de *A. cocui* (B13) y un hijuelo de rizoma de *A. cocui* (M13).

efectivas para detectar las diferencias entre muestras de *A. tequilana* y de *A. cocui*, de manera similar a lo reportado por Infante et al. (2003) en *A. fourcroydes* y apoya lo mencionado por Demey et al. (2004) sobre la capacidad discriminatoria de los ISTR.

Conclusiones

Los marcadores ISTR son efectivos para discriminar entre muestras de ADN de *A. tequilana* y de *A. cocui* y por medio de ellos, también es posible detectar la variación somaclonal y/o epigenética ocurrida tanto entre hijuelos de rizoma producidos por una planta madre, como entre los clones producidos en un proceso de micropropagación.

Las combinaciones de iniciadores utilizadas, fueron efectivas en este estudio para detectar polimorfismo entre las muestras de agave utilizadas.

Agradecimientos

Los autores agradecen a J. J. Sánchez-González su apoyo en el análisis estadísticos de los resultados y a dos revisores anónimos sus sugerencias para mejorar este documento.

Literatura citada

- Aravanopoulos, F.A.** 2003. Molecular Identification of Micropropagated plants. *Acta Hort, ISHS*. **616**: 25–47.
- Demey, J. R., E. Gamez, S. Molina y D. Infante.** 2004. Comparative study of the discriminating capacity of AFLP and ISTR markers for genetic analysis of *Agave fourcroydes*. *Plant Molecular Biology Reporter* **22**: 29–35.
- George, E.** 1993. *Plant Propagation by Tissue Culture*. 2° ed. Exegetics Ltd. Londres, Part 1, 574 p.
- Hoisington, D., Khairallah, M. and González de León, D.** 1994. *Laboratory Protocols: CIMMYT Applied Molecular Genetics Laboratory*. Second Edition. Mexico, D.F.:CIMMYT.
- Infante, D., G. González, L. Peraza-Echeverría, M. Keb-Llanes.** 2003. Asexual genetic variability in *Agave fourcroydes*. *Plant Science* **164**: 223–230.
- Jaccard, P.** 1908. Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bull. Soc. Vaud. Sci. Nat.* **44**: 223–270.
- Keb-Llanes, M., G. González, B. Chi-Manzanero, y D. Infante.** 2002. A rapid and simple method for small scale DNA extraction in Agavaceae and other tropical plants. *Plant Mol. Biol. Rep.* **20**: 299.
- Margitay L., y O. Terek.** 2005. *Ivan Franco Aviv Nacional University*, Aviv, Ukraine web site. <http://franko.Iviv.ua>
- Robert, M. L., J. L. Herrera, J. L. Chan y F. Contreras.** 1992. Micropropagation of *Agave* spp. En: Bajaj, Y. P. S. (ed.), *Biotechnology in agriculture and forestry*, vol. 19. High-tech and Micropropagation III. Springer-Verlag, Berlin, Alemania, 306–309 p.
- Rohde, W.** 1996. Inverse sequence tagged-repeat (ISTR) analysis, a novel and universal PCR-based technique for genome analysis in the plant and animal kingdom. *J. Genet. & Breed.* **50**: 249–261.
- Torres-Morán, M. I., D. Infante, J.J. Sánchez-González, M.M. Morales-Rivera y A. Santerre.** 2005. diversidad genética en *Agave tequilana* Weber var. azul proveniente de micropropagación. *Bol. NAKARI* Vol. 16, en CD-rom. (ISSN: 1405-1613).

Acceptado el 4 de mayo de 2006

Evaluación de variedades sintéticas y cruzas intervarietales de maíz para Poncitlán, Jalisco

Nicolás Solano Vázquez^{1,2}, Eduardo Rodríguez Guzmán³, José Ron Parra³, José de Jesús Sánchez González², Rogelio Lépiz Ildelfonso³, Salvador A. Hurtado de la Peña³

¹Departamento de Desarrollo Sustentable. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad de Guadalajara. Km. 15.5 Guadalajara-Nogales, Predio Las Agujas, Zapopan, Jalisco. ²Autor responsable. ³Instituto para el Manejo y Aprovechamiento de los Recursos Fitogenéticos. Departamento de Producción Agrícola. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad de Guadalajara. Km. 15.5 Guadalajara-Nogales, Predio Las Agujas, Zapopan, Jalisco. México.

Resumen: El presente estudio fue diseñado para evaluar la respuesta en rendimiento de grano de cruzas intervarietales y variedades sintéticas formadas a partir de híbridos comerciales. Los materiales genéticos incluyeron seis cruzas intervarietales y tres sintéticos derivados a partir de cuatro híbridos comerciales y de las seis cruzas entre ellos. Sintéticos y cruzas intervarietales se produjeron en Cerro de Ortega, Municipio de Tecomán, Colima en el Ciclo OI-2002-2003. La evaluación de los materiales genéticos incluyendo cuatro testigos comerciales se realizó durante 2003 en tres localidades en el estado de Jalisco: Santa Cruz y Casa Blanca en el Municipio de Poncitlán y Las Agujas en Zapopan, bajo condiciones de temporal. Se registraron el rendimiento y ocho características agronómicas y se incluyeron en el análisis. Los resultados muestran que la mayoría de las cruzas experimentales y los sintéticos fueron estadísticamente similares a los testigos comerciales. Estos resultados indican que cruzas entre híbridos comerciales pueden ser una opción muy importante para que los agricultores obtengan semilla a un bajo costo, similares en rendimiento y estabilidad.

Palabras clave: *Zea mays*, genotecnia vegetal, rendimiento, caracteres agronómicos.

Abstract: The present study was designed to evaluate grain yield response of intervarietal crosses and synthetic varieties derived from commercial hybrids. Genetic material included six crosses and three synthetic varieties among four commercial hybrids and three synthetic varieties derived from the commercial hybrids and from the six crosses among them. Synthetics and crosses among hybrids were produced in Cerro de Ortega, Tecomán, Colima, in the Cycle Autumn-Winter 2002-2003. Evaluation of the genetic materials including four commercial checks was carried out during 2003 in three locations in the state of Jalisco: Santa Cruz and Casa Blanca in Poncitlán and Las Agujas in Zapopan, under rainfed conditions. Grain yield and eight agronomic traits were recorded and included in the analysis. Results show that most experimental crosses and synthetics were statistically similar to the commercial checks. These results indicate that crosses among commercial hybrids may be a very important option to farmers to obtain seed at low cost, similar yield and stability.

Key words: *Zea mays*, crop breeding, grain yield, agronomy characters.

Introducción

En muchas áreas donde el maíz ha sido cultivado tradicionalmente durante siglos, las variedades primitivas o las variedades locales mantenidas y mejoradas por los

propios agricultores continúan siendo cultivadas. Estas variedades parecen tener una estructura de la población con características que son importantes para los

agricultores por su estabilidad y sostenibilidad económica (CIMMYT 1994).

Los agricultores usan para su siembra diferentes tipos de semilla: variedades nativas (criollos) y variedades comerciales de polinización abierta e híbridos. Por regla general, los agricultores en tierras marginales o en ambientes desfavorables para su cultivo usan semillas de sus propias variedades bajando así el costo de este insumo. Los agricultores en zonas de lluvias seguras o en cultivos bajo riego adoptan más rápidamente el uso de híbridos y usan mayores niveles de insumos; gran parte del maíz de invierno es sembrado con híbridos. La comprensión de los aspectos socio-económicos de los ambientes del maíz es esencial para una adecuada planificación y para llevar a cabo programas de mejoramiento y producción (Beck y Vasal, 1993).

CIMMYT (1996) señala que el maíz híbrido tendrá cada vez más lugar en el incremento de la productividad y producción del maíz, pero aún así, las variedades de polinización abierta mantendrán una participación importante. Los nuevos germoplasmas mejorados podrán ser más aceptables para los agricultores, y se espera que muestren tolerancia a los estreses bióticos y abióticos, mejor eficiencia en el uso de nutrimentos y agua y una madurez y arquitectura de la planta que se ajusten a rotaciones específicas y esquemas de siembra de cultivos alternados. Estos cultivares no solo tendrán mayor potencial de rendimiento sino también mejor estabilidad en su comportamiento.

Generar una variedad de polinización libre es más fácil que crear híbridos debido a que su producción de semilla es más sencilla y barata, además los productores que las cultivan pueden guardar su propia semilla para la siembra del siguiente ciclo, reduciendo así su dependencia de fuentes externas de semilla (CIMMYT 1999).

Aprovechando el alto porcentaje de polinización cruzada que tiene el maíz (90% o más), se puede sembrar una mezcla de semilla de materiales criollos, de líneas homocigóticas o de variedades comerciales,

siempre que presenten buenas características agronómicas y diversidad genética, para producir variedades sintéticas de polinización libre con buen potencial para la producción de grano. El método es sencillo y dado que no requiere desespigamiento, resulta económico, por lo que puede ser utilizado por los productores para la producción de su propia semilla (Ron 2002, comunicación personal).

La hibridación en cultivos alógamos, como el maíz, permite explotar el vigor híbrido, formar ideotipos (arquetipos) específicos para determinados ambientes, provocar variabilidad y selección de nuevos materiales y elegir la cruce adecuada de acuerdo a las exigencias del consumidor. Un procedimiento para lograr lo anterior son las cruces intervarietales e inter-específicas y la utilización de líneas endogámicas de amplia aptitud combinatoria. Los genotipos que intervienen en los diferentes cruzamientos híbridos pueden ser líneas, híbridos, variedades, especies, razas, clones, etcétera (Chávez y López 1987).

Ron y Hurtado (1999) señala al método de cruces intervarietales como uno de los más sencillos, eficientes y económicos para la obtención de semilla mejorada de maíz, utilizando para ello criollos e híbridos comerciales, entre otros. El método consiste en elegir las mejores variedades de una región, realizar las cruces posibles entre ellas y evaluarlas en diversos ambientes. En la evaluación se comparan las cruces entre sí y con sus progenitores; las hibridaciones deberán realizarse en lotes aislados.

El comportamiento desigual de genotipos en diferentes ambientes (interacción genotipo \times ambiente, $G \times A$) en ensayos de rendimientos es un reto para los fitomejoradores. La interacción $G \times A$ ha mostrado que reduce el progreso en la selección y complica la identificación de cultivares superiores en ensayos regionales (Kang y Miller 1984; Eskridge 1990). La estabilidad del material que se encuentra en las últimas etapas de un programa de mejoramiento es un requisito básico para

su liberación final. El conocimiento de los parámetros de estabilidad es una herramienta útil para distinguir diferencias genéticas ó ambientales entre variedades, híbridos, clones, etc., debido a que sólo el valor de la media del carácter como único dato, resulta insuficiente para definir el comportamiento del material en estudio (Kang 1998).

Varios métodos estadísticos han sido usados para el análisis de la interacción $G \times A$ (Lin et al. 1986; Crossa 1990; Flores et al. 1998). Plaisted y Peterson (1959) utilizaron un análisis combinado de varianzas en pares de cultivares, sugiriendo que líneas con la interacción $G \times A$ más pequeñas, serían las más estables. Campbell y Kern (1982) usaron este análisis para estudiar la estabilidad en cultivares de remolacha azucarera (*Beta vulgaris* L.). El coeficiente de regresión (b), la desviación de la regresión (s^2d) y el valor medio del genotipo han sido los parámetros más usados para detectar genotipos estables (Finlay y Wilkinson 1963; Eberhart y Russell 1966; Crossa 1990). Eberhart y Russell (1966) consideran una variedad estable aquella con $b_i = 1$ y $S^2d_i = 0$; otras consideraciones de valores para estos parámetros serán inestables.

El objetivo de este estudio es evaluar la respuesta en rendimiento de grano de cruzas intervarietales y variedades sintéticas formadas a partir de híbridos comerciales sobresalientes para el municipio de Poncitlán, Jalisco.

Materiales y métodos

Para fines del presente estudio, se entiende como híbrido a la primera generación filial F_1 de la cruce entre dos progenitores genéticamente diferentes provenientes de líneas puras; la cruce intervarietal es el producto de la cruce entre dos de los híbridos señalados, participando como progenitores; el sintético como el producto del entrecruzamiento de los cuatro híbridos comerciales mencionados de manera libre o a partir de las cruces intervarietales

formando un compuesto, mezcla mecánica de cantidades iguales de semilla, de las cruces intervarietales o de los híbridos comerciales.

Como material genético se eligieron cuatro híbridos comerciales de maíz con base en su buena aceptación por productores de la región Ciénega de Chapala y la similitud en su desarrollo. Se incluyeron Pantera, DK-2002, P-3028W y Z-21, los cuales se emplearon como progenitores (P) de las cruces intervarietales y de los sintéticos.

Se formaron 6 cruces intervarietales (CI) entre estos materiales (las cruces directas) y tres sintéticos (S): el sintético desbalanceado integrado a través de polinización libre (SD); el sintético balanceado (SB), para el cual se tomaron semillas, en cantidades iguales, de cada una de las seis CI y un sintético que se integró con semilla remanente de las cuatro híbridos comerciales en cantidades iguales y suficientes para establecer las evaluaciones, lo que constituyó un compuesto balanceado (CB). Las cruces intervarietales (CI) y el sintético SD se produjeron en la localidad Cerro de Ortega, en Tecomán, Colima, bajo condiciones de riego en un lote aislado durante el Ciclo Agrícola Otoño-Invierno 2002 (O-I 2002).

La evaluación se realizó, en el Ciclo Primavera Verano 2003 (PV-2003), en tres localidades: Santa Cruz el Grande y Casa Blanca, del municipio de Poncitlán y Las Agujas del municipio de Zapopan, Jalisco. Las cruces intervarietales (CI) y los sintéticos (S) se compararon con los híbridos progenitores (P) y se incluyeron como testigos (T) a los híbridos Tigre, Lince, 30G88 y 30G54, que en PV-2002 produjeron altos rendimientos con agricultores de la Ciénega de Chapala.

La siembra en las tres localidades fue bajo condiciones de temporal siguiendo el manejo de cultivo regional. Los tratamientos se distribuyeron de acuerdo a un diseño experimental de bloques al azar con 4 repeticiones, en donde la parcela experimental fue de 4 surcos de 5 m de

longitud separados a 80 cm. (16 m²). Como parcela útil (6.4 m²) se tomaron los dos surcos centrales, quitándoles un metro en cada extremo para eliminar el efecto de orilla. La distribución de los tratamientos se hizo de manera aleatoria dentro de cada bloque, en cada uno de los sitios experimentales. En cada sitio se sembraron 12 semillas por metro lineal, para aclarar a 8 plantas por metro lineal, con lo que se obtuvo una densidad de población de 100,000 plantas por ha.

Se estimó el rendimiento (que se refiere a la producción de grano al 14 % de humedad de cada parcela útil y expresado en ton/ha) y las siguientes características agronómicas: días a floración masculina y femenina (días transcurridos desde la siembra hasta el 50% de las plantas liberando polen o con estigmas expuestos); altura de planta y mazorca (altura de 10 plantas con competencia completa dentro del surco, midiendo desde el ras del suelo hasta el inicio de la ramificación de la espiga y hasta el nudo donde se inserta la mazorca principal, respectivamente); acame de raíz (plantas que se cayeron por debilidad de raíz asociada con daño de plagas, enfermedades, tipo de suelo, tormentas y viento), acame de tallo (plantas dobladas visiblemente o rotas abajo del nudo donde se inserta la mazorca principal), expresando en porcentaje el número de plantas afectadas; calificación de mazorca (escala de 1 a 5, 1 = mazorcas completamente sanas y uniformes en color y tipo de grano y 5 = mazorcas podridas, con granos de color diferente al blanco y/o con mazorcas muy heterogéneas en tamaño, forma y tipo de grano).

La cosecha en los tres sitios se realizó manualmente cuando las brácteas de las mazorcas estaban secas; en Santa Cruz el 15 de noviembre, en Casa Blanca el 19 de diciembre y el 30 de diciembre para Las Agujas.

Se hicieron análisis de varianza individuales para cada localidad y para cada una de las variables estimadas. En los casos donde se registraron diferencias

significativas, se realizaron comparaciones entre los tipos de materiales mencionados (P, CI, S y T) por medio de contrastes ortogonales con un grado de libertad en los análisis de varianza, además de comparar cada tipo de sintético entre sí y con los demás tipos de materiales, para estimar las diferencias en comportamiento entre ellos.

Se llevó a cabo un análisis de varianza combinado de las tres localidades al igual que se realizaron los contrastes ortogonales entre los tipos de materiales y se compararon las medias entre dichos grupos; en las variables donde se detectaron diferencias significativas para la interacción, únicamente se compararon las medias de las variedades dentro de cada localidad.

Para el rendimiento se realizó además el análisis de estabilidad bajo el modelo de Eberhart y Russell (1966), y para cada variedad se estimaron los parámetros: media, coeficiente de regresión y desviaciones de los cuadrados medios de regresión a partir de los cuales se clasificaron las variedades de acuerdo a la propuesta de Carballo y Márquez (1970).

Resultados y discusión

AMBIENTES

El rendimiento y la mayoría de las características agronómicas presentaron diferencias estadísticamente significativas entre localidades, excepto en altura de planta y acame de tallo. Al comparar los sitios en que fueron establecidos los experimentos, Casa Blanca presentó las mejores condiciones ambientales, las intermedias Santa Cruz y las peores Las Agujas, probablemente debido a que en Casa Blanca el cultivo aparentemente no sufrió estrés por ningún factor ambiental, en Santa Cruz se estresó por exceso de humedad en las primeras etapas de crecimiento y por fuertes vientos y en Las Agujas, además de ser menos fértil el suelo, en parte por la textura arenosa, se sembró tarde cuando las temperaturas del ambiente eran menos favorables (más bajas) para el desarrollo del cultivo (7 de

julio) provocando un alargamiento del ciclo vegetativo del cultivo.

Los rendimientos más altos, en promedio, se obtuvieron en Casa Blanca (12.749 ton/ha), los intermedios en Santa Cruz (10.474 ton/ha) y los más bajos en Las Agujas (9.012 ton/ha). Los ciclos vegetativos fueron más prolongados en Las Agujas (82 días), intermedios en Santa Cruz (74 a 75 días) y más precoces en Casa Blanca (73 días); las mazorcas de menor calidad se obtuvieron en la localidad de Las Agujas, posiblemente debido al retraso en la fecha de siembra.

TESTIGOS CONTRA PROGENITORES, CRUZAS INTERVARIETALES Y SINTÉTICOS

Con excepción del acame de tallo, en todas las variables estimadas se presentaron diferencias significativas al 1% entre genotipos (cuadro 1). En promedio los testigos superaron en rendimiento a los demás tipos de materiales, mostrando además una mayor precocidad en días a floración masculina; en floración femenina difieren de los progenitores y las cruzas intervarietales siendo más precoces a estos tipos de materiales, sin embargo no difieren estadísticamente de los sintéticos. No fueron diferentes en altura de planta y mazorca, excepto a las cruzas intervarietales al tener menor porte que ellas; en acame de raíz superaron a los progenitores y cruzas intervarietales con un menor porcentaje de acame, y fueron similares a los sintéticos; en la calidad de la mazorca nuevamente superaron a los progenitores y cruzas intervarietales, pero no difirieron de los sintéticos.

En lo particular es posible observar que el sintético SB fue superior en rendimiento a tres de los testigos (cuadro 2), sólo superado por Tigre con 73 kg/ha, los sintéticos SD y CB fueron superados por tres de los testigos que inclinaron el promedio a favor de los testigos (cuadro 3). En acame de raíz los testigos fueron estadísticamente similares a los sintéticos y aún cuando el promedio de los testigos es inferior al de los sintéticos, el CB supera a

todos los testigos por su bajo valor. En la calidad de mazorca no hubo diferencias significativas entre testigos y sintéticos aún cuando el promedio en estos últimos fue mayor, Lince obtuvo un valor alto en calidad de mazorca que de acuerdo a los niveles escalares utilizados (1 asociado a la mayor calidad de mazorca y 5 a la peor calidad) la ubica en la mazorca de peor calidad de todos los genotipos junto con el progenitor Pantera.

PROGENITORES CONTRA CRUZAS INTERVARIETALES Y SINTÉTICOS

Los progenitores, las cruzas intervarietales y los sintéticos presentaron rendimientos estadísticamente similares (cuadro 1), los valores promedio de estos tipo de materiales fueron 10,927 kg/ha para los sintéticos, seguido de las cruzas intervarietales con 10,520 kg/ha y los progenitores con 10,229 kg/ha; la única variedad que presentó un rendimiento menor a los 10,000 kg/ha fue el progenitor Pantera con 9,623 kg/ha. Estos resultados favorecen el interés que motivó el presente trabajo, debido a que los materiales formados a partir de los híbridos comerciales no manifiestan reducción en su capacidad de rendimiento, y sobre todo en el caso de los sintéticos, dos de ellos superan los 11,000 kg/ha, aunado al hecho de que pueden continuarse utilizando como semilla por parte del agricultor debido a que son variedades de polinización libre. Estos resultados contradicen en parte los resultados obtenidos por Ron et al. (1999) donde los híbridos formados superaron a los sintéticos, aunque cabe acotar que el presente estudio presenta una limitación en cuanto al área de estudio y los materiales genéticos utilizados, enfocándose a menos ambientes y participando menos materiales genéticos, lo que en parte pudiera haber favorecido la respuesta de los sintéticos.

En la mayoría de los caracteres agronómicos estudiados, los tres tipos de materiales no manifestaron diferencias significativas, a excepción de la altura de mazorca donde los sintéticos manifestaron

Cuadro 1. Cuadrados medios y probabilidad de F para 17 genotipos y contrastes ortogonales entre grupos de genotipos. Análisis combinado de tres localidades: Jalisco, México, 2003.

Fuente de variación	Grados de libertad	Rendimiento		Floración masculina		Floración femenina		Altura de planta		Altura de mazorca		Acame de raíz		Acame de tallo		Calificación de mazorca	
		CM	Pr>F	CM	Pr>F	CM	Pr>F	CM	Pr>F	CM	Pr>F	CM	Pr>F	CM	Pr>F	CM	Pr>F
Ambiente	2	241204034	**	1456.05	**	1646.72	**	544.84		491.07	**	914.82	**	5.04		14.13	**
Repetición (Ambiente)	9	7864341		1.98		9.02		523.5		244.16		68.92		4		0.74	
Genotipos	16	4776681	**	25.55	**	30.19	**	916.31	**	529.49	**	36.39	**	3.72		1.11	**
P vs CI	1	5799746		3.61		1.8		603.17		1193.51	**	3.9		4.83		0.45	
P vs S	1	406052		5.88		34.32		100.95		323.45	*	23.83		5		0.02	
P vs T	1	8674408	*	189.84	**	121.5	**	55.51		27.09		108.38	**	0.51		1.5	*
CI vs S	1	2280575		0.78		57.04	*	1107.04		146.69		12.04		0.17		0.56	
CI vs T	1	31748821	**	174.05	**	180	**	1070.67		832.05	**	88.9	**	2.01		4.05	**
S vs T	1	11316361	*	106.73	**	18.89		9.92		173.34		22.62		2.48		1.02	
SB vs CI	1	194710		0.88		4.02		6.91		18.29		3.34		0.01		0.45	
SB vs SD	1	15		3.38		7.04		816.67		7.04		0.04		0		0.38	
SB vs CB	1	1582854		1.04		88.17	**	748.17		32.67		0.67		0.17		0.04	
SB vs P	1	929520		4		1.35		279.5		250.1	*	8.44		1.84		0.07	
SD vs CI	1	190194		2.16		2.16		1210.24	*	60.07		4.38		0.01		0.02	
SD vs CB	1	1592761		8.17	*	145.04	**	1.5		9.38		0.38		0.17		0.67	
SD vs P	1	939133		0.1		4.82		377.5		155.2		10		1.84		0.27	
CB vs P	1	393490		10.84	*	170.02	**	319.7		73.7		15.5		3.5		0.27	
CB vs CI	1	4361911		5.16		204.45	**	1101.24		138.29		8.38		0.39		0.88	
Genotipos (Ambiente)	32	4072260	**	4.97	**	12.51	**	330.56		97.83	*	36.39	**	2.89		1.09	**
Error	144	1866015		1.65		9.21		305.93		63.85		11.78		2.8		0.28	
CV		12.7		1.67		3.92		6.76		6.2		162.06		494.72		23.78	

** Pr>F= 1%; * Pr>F= 5%

Cuadro 2. Medias por tipos de materiales, de 3 localidades para 7 caracteres de maíz. Jalisco, México, 2003.

Variedad	Rendimiento	Floración masculina	Floración femenina	Altura de planta	Altura de mazorca	Acame de raíz	Calificación de mazorca
Progenitores	10229	78	79	261	131	2.8	2.5
Cruzas intervarietales	10520	77	77	259	132	2.0	2.3
Sintéticos	10927	77	78	257	122	3.5	2.2
Testigos	11388	75	76	256	127	0.8	2.0

Cuadro 3. Medias por variedad y por tipos de materiales, de 3 localidades para 7 caracteres de maíz. Jalisco, México, 2003.

Variedad	Rendimiento	Floración masculina	Floración femenina	Altura de planta	Altura de mazorca	Acame de raíz	Calificación de mazorca
Progenitores							
Pantera	9623	78	79	253	132	1.2	2.7
DK-2002	10023	78	79	270	132	2.8	2.7
P-3028	10284	77	77	251	130	2.7	2.4
Z-21	10987	77	79	271	130	4.5	2.0
Cruzas intervarietales							
Pantera X DK-2002	10323	77	78	259	136	2.3	2.2
Pantera X P-3028	10786	76	77	270	132	1.9	2.3
Pantera X Z-21	10474	78	79	251	130	1.9	2.4
DK-2002 X P-3028	10475	77	78	263	131	2.0	2.2
DK-2002 X Z-21	10989	77	74	252	128	1.7	2.1
P-3028 X Z-21	10366	80	78	260	138	1.3	2.4
Sintéticos							
SD	10019	78	79	248	125	2.3	2.2
SB	11720	76	78	271	116	7.7	2.3
CB	11041	77	78	253	124	0.6	2.2
Testigos							
Lince	11618	75	76	252	117	0.8	2.6
Tigre	11793	74	74	247	120	0.8	1.5
P-30G54	11347	76	76	257	133	0.7	1.8
P-30G88	10793	75	76	269	137	1.0	2.2
DSH	1928.3	1.8	4	25	11	4.8	0.7

menor porte, en promedio 9 cm menos que el promedio de los progenitores y 10 cm menos que el promedio de las cruzas intervarietales (cuadro 2).

Al contrastar de manera particular cada sintético con el conjunto de progenitores, se encontró que el sintético balanceado (SB) difirió en altura de mazorca, resultando de menor porte, 116 cm contra los 132 cm en promedio de los progenitores. El sintético desbalanceado (SD) no mostró ninguna diferencia estadística con sus progenitores, tanto en rendimiento como en características agronómicas. El CB difirió únicamente en días a floración masculina y femenina, en ambos caracteres fue 1 día más precoz (cuadros 1, 2 y 3).

La mayor expresión en rendimiento y similitud en características agronómicas respecto de sus progenitores, hace de los sintéticos el tipo de material genético preferente para ofrecer a los agricultores, por su sencillez para integrarlos y porque conservan los rasgos de los progenitores a partir de los cuales fueron formados, los progenitores se seleccionaron de acuerdo a las preferencias de los productores y el comportamiento observado en años anteriores. Esta aseveración es compatible con la opinión del CIMMYT (1987) respecto de la relevancia en la decisión de que tipo de variedades se deben liberar ya que esta decisión debe conjugar el potencial de rendimiento, el costo de producción de la semilla y las condiciones socioeconómicas de los productores, ya que aún cuando la región de Poncitlán, Jalisco es un área importante en la producción de maíz a nivel estatal, su superficie se ubica primordialmente bajo condiciones de temporal.

CRUZAS INTERVARIETALES CONTRA SINTÉTICOS

Tanto en el rendimiento como en la mayoría de las características agronómicas no se manifestaron diferencias significativas entre estos dos tipos de materiales, excepto para días a floración femenina, donde las diferencias fueron estadísticamente significativas al 5%; aunque

numéricamente este valor sólo representa un día de diferencia en promedio, con 77 días para las cruzas intervarietales y 78 días para los sintéticos. En las comparaciones de cada sintético con el conjunto de cruzas intervarietales, el SB no presentó diferencia alguna, en tanto que el SD fue estadísticamente diferente en altura de planta con 11 cm menos que el promedio de las CI; el CB difirió estadísticamente en días a floración femenina, con un día más (cuadros 1, 2 y 3).

CONTRASTES ENTRE SINTÉTICOS

Entre el sintético balanceado y el desbalanceado no se registró diferencia alguna; el compuesto balanceado difirió en días a floración femenina, de los dos sintéticos restantes, además de ser diferente en días a floración masculina con el sintético desbalanceado, en todos los casos la diferencia fue de un día (cuadros 1 y 2), estas diferencias son mínimas por lo que es de esperarse un comportamiento semejante entre los tres sintéticos. Además resulta interesante el rendimiento obtenido en los sintéticos, como el SB que supera a los demás materiales, excepto al testigo Tigre, y aún en este caso la diferencia es mínima con 2 a 4 días de diferencia en floración con este híbrido (cuadro 3).

INTERACCIÓN GENOTIPO AMBIENTE Y ESTABILIDAD DEL RENDIMIENTO

La interacción de las variedades con el ambiente fue significativa en el rendimiento y en la mayoría de las características agronómicas, a excepción de días a floración femenina, altura de planta y acame de tallo (cuadro 1).

Con respecto a la estabilidad del rendimiento de los materiales estudiados, todos los genotipos resultaron estables a excepción del testigo P-30G54 y el sintético CB, que resultaron con buena respuesta en todos los ambientes pero inconsistente (cuadro 4). La estabilidad en el rendimiento nos indica que los materiales se adaptan adecuadamente al área donde se realizó el estudio presentando variación en sus características agronómicas en respuesta al

Cuadro 4. Medias de rendimiento, coeficientes de regresión y de sus desviaciones de acuerdo con Eberhart y Russell (1966), y clasificación de las variedades por estabilidad, Carballo y Márquez (1970). Jalisco, México, 2003.

Variedad	Media	b _j	t	Pr>t	S ² d _j	F	Pr>F		
Pantera	9623	0.5147	-2.2552	0.3620	NS	1670291	0.7040	0.4028	NS ●
DK-2002	10023	0.8872	-0.3933	0.7780	NS	90145	1.2494	0.2655	NS ●
P-3028	10284	0.7475	-2.0807	0.5650	NS	452123	0.2238	0.6368	NS ●
Z-21	10986	1.1708	0.6178	0.6794	NS	206964	1.1624	0.2827	NS ●
Pantera X DK-2002	10323	0.7052	-4.3882	0.5162	NS	616142	0.0685	0.7937	NS ●
Pantera X P-3028	10785	1.3001	2.0138	0.5104	NS	638889	0.3377	0.5620	NS ●
Pantera X Z-21	10473	0.3185	-2.4964	0.2718	NS	3294636	1.1332	0.2888	NS ●
DK-2002 X P-3028	10475	0.8736	-3.6194	0.7537	NS	113241	0.0185	0.8919	NS ●
DK-2002 X Z-21	10989	0.9629	-0.1286	0.9243	NS	9718	1.2592	0.2636	NS ●
P-3028 X Z-21	10365	1.2415	3.1814	0.5786	NS	413995	0.0876	0.7675	NS ●
VSD	10019	0.8679	-0.2895	0.7437	NS	123704	3.1645	0.0773	NS ●
VS	11719	2.2461	12.9228	0.1552	NS	11015704	0.1414	0.7074	NS ●
VSCB	11041	1.0647	0.0931	0.8690	NS	29708	7.3455	0.0075	** □
Lince	11618	1.3496	17.0213	0.4619	NS	867114	0.0064	0.9362	NS ●
Tigre	11792	0.8052	-0.4469	0.6430	NS	269015	2.8870	0.0914	NS ●
P-30G54	11347	1.2576	0.4506	0.5586	NS	470826	4.9700	0.0273	* □
P-30G88	10792	0.6862	-3.8633	0.4962	NS	698552	0.1003	0.7519	NS ●

● Estable, □ Buena respuesta en todos los ambientes pero inconsistente.

ambiente, como en días a floración masculina o en la altura de mazorca, pero manteniendo una respuesta favorable y consistente en rendimiento. Los dos materiales señalados anteriormente manifiestan buena respuesta pero no mantienen constancia en el rendimiento, lo que los hace no deseables para su recomendación, sobre todo en el caso del CB.

Conclusiones

Los testigos superaron en rendimiento a los demás tipos de materiales, mostrando mayor precocidad en días a floración masculina y floración femenina, sin embargo en esta última no fueron diferentes estadísticamente de los sintéticos. No fueron diferentes en altura de planta y mazorca, excepto a las cruzas intervarietales al tener menor porte que ellas; en acame de raíz y en la calidad de la mazorca superaron a los progenitores y cruzas

intervarietales, pero no difirieron de los sintéticos. Lo anterior indica características agronómicas ventajosas en los sintéticos.

La mayor expresión en rendimiento y similitud en características agronómicas respecto de sus progenitores, hace de los sintéticos el tipo de material genético preferente para ofrecer a los agricultores, por su sencillez para integrarlos y porque conservan los rasgos de los progenitores a partir de los cuales fueron formados, los progenitores se seleccionaron de acuerdo a las preferencias de los productores y el comportamiento observado en años anteriores.

El sintético desbalanceado, obtenido por polinización libre, y el sintético balanceado formado a partir de las cruzas intervarietales, mostraron estabilidad en rendimiento a través de ambientes, además de un rendimiento individual semejante al de los testigos.

De acuerdo con los criterios de elegibilidad propuestos por CIMMYT, de

una variedad por liberar los sintéticos desbalanceado y balanceado con un potencial de rendimiento y economía en producción de la semilla y características agronómicas acordes a las condiciones socioeconómicas de los productores, compitiendo favorablemente bajo condiciones de temporal.

Desde el punto de vista genético es posible aprovechar las características sobresalientes de los materiales comerciales dado que se conserva el rendimiento y las características agronómicas que hicieron sobresalientes a los híbridos y conjuntarlas en una variedad sintética, salvo las limitaciones legales en su comercialización como semilla, por lo que una opción es integrarlas a un programa de mejoramiento genético participativo que aproveche estas características, siendo esto en sí un avance significativo en el mejoramiento.

Bibliografía

- Beck, D. and Vasal, S. K.** 1993. Our clients, their research capacities and germplasm needs. In: R.N. Wedderburn (ed). *International testing evaluating and distributed maize germplasm products*. CIMMYT. Maize program special report. p. 1-10, México, D. F.
- Campbell, L. G. y J. J. Kern.** 1982. Cultivar \times environment interactions in sugar beet yield trials. *Crop Sci.* **22**: 932-935.
- Carballo, C. A. y F. Márquez S.** 1970. Comparación de variedades de maíz de el Bajío y la Mesa Central por su rendimiento y estabilidad. *Agrociencia* **5**: 129-146.
- CIMMYT.** 1987. *CIMMYT. 1986- Hechos y tendencias mundiales relacionados con el Maíz: Aspectos económicos de la producción de semilla de variedades comerciales de maíz en los países en desarrollo*. México, D.F. 50 pp.
- CIMMYT.** 1994. *1993/94 world maize facts and trends*. Maize seed industries, revisited: emerging roles of the public and private sectors. México, DF.
- CIMMYT.** 1996. *CIMMYT in 1995 to 1996*. The next 30 years. Mexico, D. F.
- CIMMYT.** 1999. *Desarrollo, mantenimiento y multiplicación de semilla de variedades de maíz de polinización libre*. Segunda Ed. México, D.F.
- Chávez A. J. y López P.L.** 1987. *Apuntes de Mejoramiento de Plantas II*. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, División de Agronomía, Departamento de Fitomejoramiento. Buena Vista, Saltillo Coahuila. México.
- Crossa, J.** 1990. Statistical analyses of multi-location trials. *Adv. Agron.* **44**: 55-85.
- Eberhart, R. E., Russell, W.A.** 1966. Stability parameters for comparing varieties. *Crop Sci.* **6**: 36-40.
- Eskridge, K. M.** 1990. Selection of stable cultivars using a safety-first rule. *Crop Sci.* **30**: 369-374.
- Kang, M. S.** 1998. Using genotype-by-environment interaction for crop cultivar development. *Advances in Agronomy* **62**: 199-253.
- Kang, M. S., y J. D. Miller.** 1984. Genotype \times environment interactions for cane and sugar yield and their implications in sugarcane breeding. *Crop Sci.* **24**: 435-440.
- Finlay, K. W. y G. N. Wilkinson.** 1963. The analysis of adaptation in a plant-breeding program. *Aust. J. Agric. Res.* **14**: 742-752.
- Flores, F., M. T. Moreno, J. I. Cubero.** 1998. A comparison of univariate and multivariate methods to analyze G \times E interaction. *Field Crops Res.* **47**: 117-127.
- Lin, C. S., M. R. Binns y L. P. Lefkovich.** 1986. Stability analysis: where do we stand? *Crop Sci.* **26**: 894-900.
- Plaisted, R. L., y L. C. Peterson.** 1959. A technique for evaluating the ability of selections to yield consistently in different locations or seasons. *Am. Potato J.* **36**: 381-384.
- Ron P. J. y Hurtado P. S.** 1999. *Manual para la producción de semilla híbrida de maíz*. Universidad de Guadalajara, Jalisco, México.
- Ron P. J., J. L. Ramírez D., R. Valdivia B. y B. Maya L.** 1999. Comparación de tipos de variedades de maíz desarrolladas por el INIFAP en la región Centro-Occidente de México. *Agrociencia* **33**: 267-275.

Acceptado el 30 de mayo de 2006

Estabilidad del rendimiento, triptofano y proteína en maíces de alta calidad de proteína tropicales

Florencio Recendiz Hurtado, †M. Abel García Vásquez, José de Jesús Sánchez González, José Ron Parra, Salvador Mena Munguía y Norberto Carrizales Mejía

Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, U. de G. Km. 15.5 Carretera Guadalajara-Nogales, Las Agujas, Zapopan, Jal. C.P. 45110. Tel. (33) 36 82 08 30 Ext.3173. Correo electrónico: frecend@cucba.udg.mx

Resumen: Se evaluó la estabilidad del rendimiento, triptofano y contenido total de proteína de 14 genotipos de alta calidad de proteína mediante los modelos de Eberhart y Russell (1966), Cruz (1990) y Langer (1979) en cinco localidades. Se realizó una comparación de los métodos en cuanto a su coincidencia en la clasificación de los genotipos y resultó que los modelos de mayor coincidencia fueron el de Eberhart y Russell (1966) con el modelo multiplicativo de Cruz (1990), y el de menor coincidencia fue el de Langer (1977) con los modelos anteriores. Se encontró que no todos los modelos tienen la misma sensibilidad para clasificar a los genotipos ya que en ninguna de las variables analizadas coincidieron en su totalidad en la clasificación de la estabilidad. Se realizó un análisis de correlación múltiple entre los diferentes parámetros resultando que los b_i de Eberhart y Russell (1966) tienen la más alta correlación con los índices de Langer (1997). Con los resultados obtenidos se logró seleccionar en forma jerarquizada en base a los rendimientos y estabilidad de contenido de proteína y triptofano 3 híbridos estables (CLQ 6203 × CL -04321)-B-13-2-1 × CML159; (CML173 × CLQ6203) × (CML264Q(BC3)-F2(43)-B-1-B y (CLQ6203 × CL-RCW01)-B-46-2-1-B-1 × CML159. Por otra parte, el contenido de proteína fue la variable que menos ajuste tuvo a los modelos por lo que se sugiere evaluar esta variable con modelos más flexibles. Se observó además que las dos variables cualitativas no cambian en el genotipo la calidad a través de los ambientes.

Palabras clave: Parámetros de estabilidad, triptofano, proteína, correlación.

Abstract: The stability of the yield, triptophan, and contained total of protein of 14 genotypes of high quality of protein by means of the models of Eberhart and Russell (1966), Cross (1990) and Langer (1979) in five localities were evaluated. A comparison of the methods as far as its coincidence was made in the classification of the genotypes and was that the models of greater coincidence were the one of Eberhart and Russell (1966) with the multiplicative model of Cruz (1990), and the one of smaller coincidence was the one of Langer (1977) with the previous models. One was that all the models do not have the same sensitivity to classify to the genotypes since in no of the analyzed variables they agreed in his totality in the classification of the stability. An analysis of multiple correlation between the different parameters was made being that b_i of Eberhart and Russell (1966) has the highest correlation with the indices of Langer (1997). With the obtained results it was managed to select in form hierarchized on the basis of the yields and stability of protein content and triptofano 3 stable hybrids (CLQ 6203 × CL -04321)-B-13-2-1 × CML159; (CML173 × CLQ6203) × (CML264Q(BC3)-F2(43)-B-1-B and (CLQ6203 × CL-RCW01)-B-46-2-1-B-1 × CML159. On the other hand, the protein content was the variable that less adjustment had to the models reason why it is suggested to evaluate this variable with more flexible models. It was observed in addition that the two qualitative variables do not change in the genotype the quality through atmospheres.

Key words: Parameters of stability, triptophan, protein, correlation.

Introducción

Los híbridos de maíz generados en los programas de investigación, por lo general se prueban en una serie de situaciones para cuantificar el rendimiento y conocer la respuesta de estos a los ambientes que se someten para la evaluación de características diferentes; sin embargo, no todos los genotipos se ajustan a los modelos usados sobre todo al cuantificar la respuesta del genotipo con el ambiente, es decir, al tratar de explicar la interacción genético-ambiental.

Con el objetivo de conocer la estabilidad de genotipos tropicales de alta calidad de proteína en cuanto a las variables de rendimiento, contenido de triptofano y contenido de proteína total en grano, se generó este estudio analizando dichas variables mediante los parámetros de estabilidad propuestos por Eberhart y Russell (1966), el modelo multiplicativo analizado por Cruz (1990), y el de índices de Langer (1979).

Eberhart y Russell (1966), propusieron un modelo que propone la clasificación de los genotipos tomando en consideración los parámetros siguientes: los coeficientes de regresión (β_i) y las desviaciones de regresión (δ_{ij}). Consideran que un genotipo es estable cuando el coeficiente es igual a la unidad y la desviación de regresión igual que cero.

Por su parte Cruz (1990), dio a conocer el modelo multiplicativo utilizado por vez primera por Mooers (1921), que de alguna manera corrige las anomalías detectadas en el trabajo de Eberhart y Russell (1966), presentando la prueba exacta de los parámetros de estabilidad de dichos autores derivada por Mandel y presentada por Shukla (1972). Es necesario señalar que Cruz (op. cit.) en esta propuesta, de ninguna manera admite el término estabilidad, ya que según cita: "resulta inapropiado por las acepciones que tiene", sin embargo a los coeficientes de regresión (b_k), los relaciona con la estabilidad, dado que al hacer la

clasificación de genotipos, realiza primeramente un análisis del término estabilidad indicado como sensibilidad, así mismo presenta el cuadro de clasificación de manera análoga a como lo hicieron Carballo y Márquez (1970) con las adaptaciones acordes al término sensibilidad. Por tal motivo, en este trabajo se toma el término estabilidad como sinónimo de sensibilidad.

Otra manera de calificar los genotipos por su estabilidad fue dada por Langer (1979), la cual a diferencia de los primeros dos modelos citados, este no se basa en parámetros, sino en la diferencia entre el rendimiento en el mejor y peor ambiente, así los ambientes se clasifican de acuerdo al nivel de su promedio por ambiente y los genotipos de acuerdo al promedio y mediante un intervalo de confianza con una prueba de t. El genotipo más estable será aquel que resulte con el menor valor siempre y cuando resulte menor que el valor del límite inferior del intervalo de confianza.

Materiales y métodos

Los híbridos evaluados fueron 16, de los cuales, 14 fueron de alta calidad de proteína y dos testigos comerciales normales, siendo los primeros obtenidos en programas de colaboración con el Centro Internacional de Maíz y Trigo (CIMMYT). El diseño utilizado fue un bloques completos al azar con dos repeticiones en 5 localidades con dos surcos por variedad. Las localidades de evaluación fueron: Cotaxtla Ver., Agua Fría, Pue., Campeche, Camp., La Huerta, Jal., y Zapopan, Jal. En cuanto a la fertilización utilizada, fue la recomendada para cada localidad.

El modelo estadístico para los parámetros de Eberhart y Russell (1966), se presenta a continuación: $Y_{ij} = \mu_i + \beta_i I_j + \delta_{ij}$ donde: Y_{ij} es la media de la i -ésima variedad en el j -ésimo ambiente ($i = 1, 2, \dots, v; j = 1, 2, \dots, n$) μ_i es la media de la i -ésima variedad sobre todos los ambientes, β_i es el coeficiente de regresión que mide la respuesta de la i -ésima variedad a la

variación de los ambientes, δ_{ij} son las desviaciones de regresión de la i -ésima variedad en el j -ésimo ambiente e I_j es el índice ambiental obtenido como la media de todas las variedades en el j -ésimo ambiente menos la gran media.

El análisis de varianza utilizado para el modelo anterior se presenta en el Cuadro 1. Estos autores consideran a una variedad estable cuando se tienen un coeficiente de regresión (b_i) = 1.0 y las desviaciones de regresión (S^2d_i) = 0.

Las diferencias entre las variables para la prueba de hipótesis $H_0 = \bar{x}_1 = \bar{x}_2 = \dots = \bar{x}_a$ se probaron con una prueba de $F \approx MS_1/MS_3$ mientras que los coeficientes de regresión $H_0: b_1 = b_2 = \dots = b_a$ se probaron con la prueba de t siguiente: $t_0 = \beta_i - \beta_i / s_{\beta_i}$

Las desviaciones de regresión se probaron con:

$$F \approx \left(\sum_j \delta_{ij}^2 / (n-2) \right) / \text{error ponderado}$$

El modelo multiplicativo según lo cita Cruz (1990), es de la forma: $Y_{ijk} = \mu + A_i + R:A_{ij} + G_k + GA_{ik} + e_{ijk}$ donde: $i = 1, 2, \dots, a$; $j = 1, 2, \dots, r$; $k = 1, 2, \dots, g$, μ = media general, A_i = efecto del i -ésimo ambiente, $R:A_{ij}$ = efecto del j -ésimo bloque en el i -ésimo ambiente, el factor R está anidado en A , G_k = efecto del k -ésimo genotipo, GA_{ik} = efecto de la interacción genotipo-ambiente, e_{ijk} = error asociado con Y_{ijk} , Y_{ijk} = observación en el k -ésimo genotipo del bloque j -ésimo en el i -ésimo ambiente, a = número de ambientes, g = número de genotipos, r = número de repeticiones. Se supone que $e_{ijk} \sim N(0, \sigma^2)$ y que para todo $(i, j, k) \neq (i', j', k')$, e_{ijk} y $e_{i'j'k'}$ son independientes.

Los factores del modelo se consideraron fijos ya que en el experimento se incluyeron todos los niveles sobre los que interesa establecer inferencias. En el Cuadro 2 se presenta el análisis de varianza utilizado por esta metodología.

La prueba de nulidad de los coeficientes de regresión $H_0: B_k = 0$ y $H_a: B_k \neq 0$ se probaron con la siguiente prueba de t : esto

es se rechazará H_0 : si

$$/ bk / \geq t_{\alpha/2} \sqrt{\frac{SCDR/(a-2)}{rg \sum (Y_i - Y.)^2}}$$

La prueba de bondad de ajuste del modelo se realizó mediante la prueba de F que se ve a continuación: Si el modelo es adecuado:

$$F_c = \frac{SCDR/(g-1)(a-2)}{CME} \approx F_{(g-1)(a-2)/(g-1)(r-1)a}$$

así si: $F_c \geq F_\alpha$ se concluye que el modelo multiplicativo no es adecuado al menos para algunos genotipos.

Para tratar de identificar sobre que genotipos no es adecuado el modelo, se identifican estos mediante la descomposición de la suma de cuadrados de las desviaciones de regresión (SCDR) de cada uno de los genotipos y se prueban mediante la siguiente prueba de F :

$$F_k = \frac{gD_k}{(g-1)(a-2)} = \frac{CM_k}{CME} \approx F_{(g-1)(r-1)a}^{a-2}$$

y la hipótesis de que el modelo es adecuado para el genotipo k , se rechaza si $F_k \geq F_\alpha$, estas pruebas son exactas para cada genotipo aunque son dependientes entre si.

El procedimiento de Langer (1979) propone dos diferentes procedimientos para calcular la estabilidad de genotipos (R_1) y (R_2), en este estudio se utilizó el segundo ya que el mismo autor lo considera más útil. Este índice se calcula por la diferencia entre el rendimiento de una variedad en el mejor y el peor ambiente. La fórmula para su cálculo es la siguiente:

$$R1_i = (Y_{ij} \max - Y_{ij} \min)$$

donde: $Y_{ij} \max$ = rendimiento promedio máximo de la i -ésima variedad; $Y_{ij} \min$ = rendimiento promedio mínimo de la i -ésima variedad; Y_i = rendimiento promedio de la i -ésima variedad en la localidad con el mayor nivel de producción; Y_j = rendimiento promedio de la i -ésima variedad en la localidad con el menor nivel de producción. Los ambientes se clasifican de acuerdo a su nivel de los promedios por ambiente.

Cuadro 1. Análisis de varianza para estabilidad. Eberhart y Russell (1966).

Fuente	GL	SC	CM
Total	nv-1	$\sum_i \sum_j Y_{ij}^2 - FC$	
Variedades (V)	v-1	$\frac{1}{n} \sum_i Y_i^2 - FC$	CM1
Ambientes (Amb) n-1 V(n-1) V × Amb (v-1)(n-1)		$\sum_i \sum_j Y_{ij}^2 - \sum_i^2 / n$	
Ambiente (lineal)	1	$\frac{1}{v} \left(\sum_j Y_j I_j \right)^2 / \sum_j I_j^2$	
V × Amb linear	v-1	$\sum_i \left[\left(\sum_j Y_{ij} I_j \right)^2 / \sum_j I_j^2 \right] - Amb (lin) SC$	CM2
Desviaciones ponderadas	v(n-2)	$\sum_i \sum_j \delta_{ij}^2$	
Variedad 1 ⋮ Variedad v	n-2n ⋮ n-2	$\left[\sum_j Y_{ij}^2 - \frac{(Y_i)^2}{n} \right] - \left(\sum_j Y_{ij} I_j \right)^2 / \sum_j I_j^2$	
Error ponderado	n(r-1)(v-1)	$\left[\sum_j Y_{vj}^2 - \frac{Y_v^2}{n} \right] - \left(\sum_j Y_{vj} I_j \right)^2 / \sum_j I_j^2 = \sum_j \delta_{vj}^2$	

Se calculó además un intervalo de confianza mediante una prueba de t para la clasificación de los genotipos según su estabilidad. Los valores mayores que el límite superior del intervalo se considera que son los inestables, los de valor menor que el límite inferior son los estables, mientras que los que se encuentran dentro del intervalo se propone en este documento que se denominen de estabilidad media.

La formación del intervalo fue en base a los cálculos siguientes:

Límite inferior = $\bar{x} - (t_{0.05})(S_{\bar{x}})$
 y Límite superior = $\bar{x} + (t_{0.05})(S_{\bar{x}})$

en el que se considera a \bar{x} como la media de los índices generados; t valor de tablas al 0.05% de nivel de significancia y a $S_{\bar{x}}$ el error estándar de dichos índices.

Se realizaron correlaciones múltiples entre los parámetros de estabilidad de Eberhart y Russell (1966) y los índices de Langer (1979) para encontrar las relaciones entre dichos parámetros. Dichas correlaciones se efectuaron para cada variable considerada mediante el procedimiento corr de SAS (1999-2001).

Cuadro 2. Análisis de varianza modelo multiplicativo según Cruz (1990).

FV	GL	SC	CM	FC
A	A-1	SCA	$CMA = SCA/(A-1)$	
R:A	(R-1)A	SCR:A	$CMR:A = SCR:A/(R-1)A$	
G	G-1	SCG	$CMG = SCG/(G-1)$	
GA	(A-1)(G-1)	SCGA	$CMGA = SCGA/(A-1)(G-1)$	
Modelo multiplicativo	(G-1)	SCNA		$[SCNA/(G-1)]/SCDR/(G-1)(A-2)$
Desviaciones del modelo	(G-1)(A-2)	SCDR		$[SCDR/(G-1)(A-2)]/CME$
Desviaciones de los genotipos				
1	A-2	D ₁		$F_1 = CM1/CME$
2	A-2	D ₂		$F_2 = CM2/CME$
.		.		
.		.		
.	A-2	.		$F_G = CMG/CME$
ERROR	(G-1)(R-1)A	SCE	$CME = SCE/(G-1)(R-1)A$	
TOTAL	ARG-1	SCT		

Resultados y discusión

Para la variable rendimiento se detectaron diferencias significativas entre genotipos con los métodos de Eberhart y Russell (1966) y Cruz (1990). En el Cuadro 3 se presenta la prueba de comparación múltiple de medias de genotipos al 5% de probabilidades. De los 16 híbridos evaluados, 10 fueron iguales desde el punto de vista estadístico, destacando el tratamiento 10 con poco más de 7 toneladas por hectárea. Los híbridos tres y dos fueron los de menor rendimiento con 5.1 y 4.4 toneladas por hectárea respectivamente.

Por otra parte, con respecto a la interacción genotipo-ambiente, los dos métodos antes señalados detectaron diferencias significativas, lo que indica que los genotipos reaccionaron de manera diferencial en los ambientes de prueba. La prueba de no-aditividad de acuerdo a Cruz (1990), se presenta en el cuadro 4. Dicha prueba y la de las desviaciones de regresión resultaron significativas al 1% de probabilidad. Como podrá notarse, estos resultados indican que existieron diferencias entre los coeficientes de regresión pero también

hubo falta de ajuste al modelo (significancia en las desviaciones de regresión).

En el Cuadro 5 se presentan las estimaciones de los diferentes parámetros e índices y los promedios de rendimiento. En dicho cuadro, b_i y S^2_{di} corresponden al método de Eberhart y Russell (1966) y representan el coeficiente de regresión y las desviaciones de regresión, respectivamente. Por su parte b_k y D_k representan los coeficientes de regresión y desviaciones de regresión del método de Cruz (1990), mientras que L corresponde al índice de Langer (1979). Para el caso de L, el asterisco indica que el genotipo es estable. Esta indicación se usó en los cuadros correspondientes de cada variable analizada.

De acuerdo al criterio de Carballo y Márquez (1970), con respecto a los parámetros de Eberhart y Russell (1966), todos los genotipos resultaron estables, es decir con un coeficiente de regresión $b_i=1$ y desviaciones de regresión $S^2_{di} = 0$. Con base en el criterio de Cruz (1990), el genotipo 2 no se ajusta al modelo multiplicativo dado que D_k es significativamente mayor que cero. Los genotipos 9 y 16 tienen un coeficiente $b_k > 0$ y el resto de genotipos

Cuadro 3. Separación de medias del análisis combinado para cinco localidades. P-V 2003.

Entrada	Genealogía	t /ha
10	(CML264Q(BC3)-F2(43)-B-1-B × CLQ-RCWQ01	7.07 a
11	(CML173 × CLQ6203) × (CML264Q(BC3)-F2(43)-B-1-B	6.82 a b
12	(CML173 × CLQ6203) × CLQ-RCWQ01	6.73 a b c
16	Genotec M658	6.59 a b c d
15	Genotec M625.	6.40 a b c d e
1	(CLQ 6203 × CL -04321)-B-21-1-1-1 × CML 144	6.16 a b c d e
4	(CLQ 6203 × CL-RCW01)-B-24-4-1 × CML 144	6.07 a b c d e
6	(CLQ 6203 × CL-RCW01)-B-43-3-1 × CML 144	6.06 a b c d e
8	(CLQ 6203 × CL-RCW01)-B-42-4-B × CML 144	5.85 a b c d e
14	(CML 144 × CML 159)	5.79 a b c d e
7	(CLQ 6203 × CL-RCW01)-B-14-1-1-1 × CML 144	5.57 b c d e
13	(CML 150 × CLQ 6203)	5.46 c d e
5	CLQ 6203 × CL -04321)-B-13-2-1 × CML159	5.38 d e
9	(CLQ6203 × CL-RCW01)-B-46-2-1-B-1 × CML159	5.37 d e
3	(CLQ 6203 × CL-RCW01)-B-43-1 × CML159	5.12 e
2	(CLQ 6203 × CL -04321)-B-7-1-2-4-B- × CML159	4.39 f

DMS= 1.31

Cuadro 4. Prueba de no aditividad del modelo Multiplicativo para rendimiento. Cruz (1990). P-V 2003.

FV	GL	SC	CM	Fc	F 0.05	F 0.01
G × A	60	84.607612	1.41013	2.50834	1.5343	1.8363**
NA	15	18.763232	1.25088	2.22508	1.8364	2.3523*
DR	45	65.84438	1.46321	2.60277	1.55	1.87**
ERROR	75	42.163073	0.56217			

* significativo; ** altamente significativo.

tienen sensibilidad promedio, o estabilidad ($b_k=0$, $d_k=0$). El método de Langer (1979), difiere de los métodos de Eberhart y Russell (1966) y Cruz (1990) ya que las únicas coincidencias fueron para los genotipos 5, 9, 11 que las considera como estables. En este punto se puede señalar que los resultados encontrados no confirman lo reportado por Eberhart y Russell (1966) y Carrizales (2000) en el sentido de que las variedades más rendidoras son las menos estables.

Márquez (1992), menciona que la interacción genotipo-ambiente existe desde

el momento en que existe heterogeneidad ambiental. Así los resultados de los análisis anteriormente mencionados eran de esperarse dada la heterogeneidad presentada por las localidades de evaluación; así mismo indica que cada variedad manifiesta exactamente su comportamiento genotípico verdadero: es decir libre de interacción GE: por lo tanto, parecerá que el ambiente adecuado para hacer la selección sería uno de este tipo ($b_i = 1$ y $S^2_{di} = 0$).

Con base en los resultados anteriores puede concluirse que las variedades clasificadas como estables por los tres

Cuadro 5. Medias de rendimiento, parámetros e índices de estabilidad de los diferentes procedimientos. P-V 2003.

Entrada	Media t/ha	b _i	S ² d _i	b _k	D _k	L
10	7.072	1.1265 ns	0.2660 ns	0.1265 ns	1.59630 ns	7.721
11	6.825	0.8375 ns	0.4772 ns	-0.1624 ns	2.86360 ns	5.797 *
12	6.737	1.0042 ns	0.5131 ns	0.0042 ns	3.07892 ns	6.565
16	6.591	1.2719 ns	0.5988 ns	0.2719 *	3.59260 ns	8.722
15	6.402	1.0484 ns	1.2620 ns	0.0484 ns	7.57209 ns	7.732
1	6.165	1.1090 ns	0.6953 ns	0.1090 ns	4.17212 ns	7.087
4	6.071	1.0832 ns	0.3395 ns	0.0832 ns	2.03715 ns	6.838
6	6.064	1.0608 ns	0.2644 ns	0.0608 ns	1.58624 ns	7.289
8	5.851	1.0621 ns	0.1734 ns	0.0621 ns	1.04030 ns	6.673
14	5.795	1.1849 ns	0.6870 ns	0.1849 ns	4.12223 ns	7.500
7	5.572	0.9780 ns	0.1913 ns	-0.0220 ns	1.14818 ns	6.338
13	5.465	0.8303 ns	1.4844 ns	-0.1696 ns	8.90661 ns	6.271
5	5.389	0.9666 ns	0.0581 ns	-0.0333 ns	0.34900 ns	6.068 *
9	5.373	0.6806 ns	0.5060 ns	-0.3194 *	3.03649 ns	4.709 *
3	5.125	0.9307 ns	0.8086 ns	-0.0693 ns	4.85200 ns	6.717
2	4.390	0.8246 ns	2.6484 ns	-0.1754 ns	15.89050 *	6.360

* estable; ns no significativo.

métodos fueron las siguientes entradas con sus respectivas genealogías: 5 (CLQ 6203 × CL -04321)-B-13-2-1) × CML159; 11 (CML173 × CLQ6203) × (CML264Q(BC3)-F2(43)-B-1-B; 9 (CLQ6203 × CL-RCW01)-B-46-2-1-B-1 × CML159 y el testigo comercial con entrada 15.

Dado que las prácticas culturales fueron de acuerdo a cada una de las zonas de evaluación, y estas zonas por sus características geográficas fueron diferentes, es de suponer encontrar diferencias en cuanto a su respuesta al rendimiento y a su estabilidad. Los mayores rendimientos se encontraron en las localidades de Zapopan y La Huerta, Jalisco, esto quizás se debió a que en el ambiente de Campeche los materiales sufrieron acame por lluvias excesivas y vientos de igual manera, esto sin considerar que éste ambiente y el de Cotaxtla, Veracruz, son más agresivos para los genotipos en cuanto a temperaturas y ciclo corto. Así el comportamiento en cuanto a rendimiento de los genotipos se vio más favorecido para las localidades de

Zapopan cuyo ambiente es mas favorable (lluvias y temperaturas mas adecuadas) así como el de La Huerta, Jalisco, que aunque es ambiente tropical, no es tan agresivo como los otros.

La correlación más alta y positiva fue entre los parámetros b_i con L (0.90) con probabilidad < .0001. Estos resultados concuerdan con los encontrados por Carrizales (2000), Langer (1979) así como parcialmente con Vega (1984) y los trabajos citados por este en la alta correlación encontrada entre el procedimiento de Eberhart y Russell (1966) con Langer (1979).

Con respecto al contenido de triptofano los análisis de varianza de Eberhart y Russell (1966) y Cruz (1990), presentaron diferencias altamente significativas (1%) para genotipos. En el cuadro 6 se presentan las medias de contenido de triptofano y la prueba de comparación múltiple de medias de genotipos al 5% de significancia. Se conformaron seis grupos y destacan por su mayor contenido de triptofano las entradas

Cuadro 6. Separación de medias del porcentaje de triptofano en grano del análisis combinado de cinco localidades. P-V 2003.

Entrada	Genealogía	Porcentaje de triptofano (medias)
1	(CLQ 6203 × CL -04321)-B-21-1-1-1 × CML 144	0.0882 a
6	(CLQ 6203 × CL-RCW01)-B-43-3-1 × CML 144	0.0882 a
3	(CLQ 6203 × CL-RCW01)-B-43-1 × CML159	0.0872 a b
5	(CLQ 6203 × CL -04321)-B-13-2-1 × CML159	0.0870 a b
11	(CML173 × CLQ6203) × (CML264Q(BC3)-F2(43)-B-1-B	0.0857 a b c
4	(CLQ 6203 × CL-RCW01)-B-24-4-1 × CML 144	0.0854 a b c
10	(CML264Q(BC3)-F2(43)-B-1-Bx CLQ-RCWQ01	0.0850 a b c
8	(CLQ 6203 × CL-RCW01)-B-42-4-B × CML 144	0.0842 a b c
7	(CLQ 6203 × CL-RCW01)-B-14-1-1-1 × CML 144	0.0842 a b c d
14	(CML 144 × CML 159)	0.0827 a b c d
9	(CLQ6203 × CL-RCW01)-B-46-2-1-B-1 × CML159	0.0818 a b c d
12	(CML173 × CLQ6203) × CLQ-RCWQ01	0.0808 b c d
2	(CLQ 6203 × CL -04321)-B-7-1-2-4-B- × CML159	0.0803 c d
13	(CML 150 × CLQ 6203)	0.0784 d
16	Genotec M658	0.0631 e
15	Genotec M625	0.0553 f

DMS = 0.0064

Cuadro 7. Prueba de no aditividad para contenido de triptofano. Cruz (1989). P-V 2003.

FV	GL	SC	CM	Fc	F 0.05	F 0.01
G × A	60	0.0159723	0.00027	1.58927	1.5343	1.8363**
NA	15	0.0024222	0.00016	0.96407	1.8364	2.3523ns
DR	45	0.01355	0.0003	1.79768	1.5343	1.936**
ERROR	75	0.0125625	0.00017			

** altamente significativo; ns no significativo.

1 y 6 que son significativamente diferentes de las demás. Dichos híbridos incluyen líneas derivadas de diferentes patrones heteróticos (CLQ 6203 × CL -04321) y (CLQ 6203 × CL-RCW01) pero están cruzadas por el mismo probador, sugiriendo que probablemente la aportación a la mayor síntesis del aminoácido triptofano sea producto de la combinación con el probador CML 144. Los menores contenidos de triptofano correspondieron a los testigos ya que estos son materiales de endosperma normal.

Por otra parte, con respecto a la interacción genotipo-ambiente bajo el

criterio del modelo de Eberhart y Russell (1966), se detectaron diferencias altamente significativas (1%), mientras que el modelo de Cruz (1990) detectó diferencias significativas (5%). Esto indica que los genotipos tienen una respuesta diferencial a los ambientes de prueba. La prueba de no aditividad, de acuerdo a Cruz (1990), se presenta en el Cuadro 7, dicha prueba resultó no significativa mientras que las desviaciones de regresión fueron significativas. Lo anterior indica que no existe diferencia significativa entre los coeficientes de regresión y que el modelo no fue apropiado; la suma de cuadrados de

regresión solo explicó el 15.16% de la suma de cuadrados correspondiente a la interacción.

En el Cuadro 8, se presentan las estimaciones de los diferentes parámetros y los promedios del contenido de triptofano en grano. En dicho cuadro, de acuerdo al criterio de Carballo y Márquez (1970), con respecto a los parámetros de Eberhart y Russell (1966), clasifican a todos los genotipos como estables ya que no existió diferencia significativa para los coeficientes de regresión ni para las desviaciones de regresión ($b_i=1$ y $S^2_{d_i} = 0$).

Para el modelo multiplicativo, se observa que las D_k , a excepción de la entrada 11 y 16 (son de sensibilidad promedio y con falta de ajuste al modelo), todas las demás fueron no significativas, esto indica que los genotipos se ajustan al modelo de regresión utilizado por el modelo multiplicativo y que los valores predichos se ajustan a los valores esperados y califica prácticamente a todos los genotipos como sensibles con respecto a

este parámetro por lo que se considera que el modelo es adecuado para explicar la interacción genético ambiental de los genotipos. Se observa también que las entradas por sus b_i 's fueron no significativas dado que el valor de la prueba de nulidad del coeficiente de regresión fue de 0.85295 valor mayor que todas las b_i 's calculadas, esto indica que prácticamente los genotipos no tienen pendiente diferente y son de sensibilidad promedio (estables según Eberhart y Russell 1966). Así mismo se puede ver que únicamente las últimas tres entradas no cumplen el requisito de contenido de calidad de triptofano (0.08%), esto quiere decir que a pesar de que el ambiente interacciona con el genotipo, para este caso cuando menos, las características de calidad se conservan prácticamente al parecer para todos los genotipos ya que las entradas 15 y 16, corresponden a los testigos de endosperma normal.

Bajo el criterio de Langer (1979), se considera a los genotipos con entradas 1, 3, 5, 6, y 10 como estables, siendo éstas las

Cuadro 8. Diferentes parámetros e índices para la clasificación de la estabilidad del contenido de triptofano y su significancia. P-V 2003.

Entrada	Media % triptofano	b_i	$S^2_{d_i}$	b_k	D_k	L
1	0.0882	1.808E-05 ns	0.76776 ns	-0.2322 ns	0.0004 ns	0.03016*
6	0.0882	0.0002008 ns	0.98727 ns	-0.0127 ns	3.2E-05ns	0.02298*
3	0.0872	1.725E-05 ns	1.03675 ns	0.03675 ns	3.3E-05ns	0.02706*
5	0.0870	9.533E-05 ns	1.06470 ns	0.0647 ns	0.00012ns	0.03076*
11	0.0857	0.0002944 ns	0.21107 ns	-0.7889 ns	0.00059 *	0.03335
4	0.0854	6.041E-05 ns	1.43992 ns	0.43992 ns	0.00019ns	0.04300
10	0.0850	1.802E-05 ns	0.38901 ns	-0.611 ns	0.00038ns	0.02743*
8	0.0842	5.143E-05 ns	1.47371 ns	0.47372 ns	3.1E-05ns	0.03819
7	0.0842	0.0001895 ns	1.11119 ns	0.1112 ns	1E-04ns	0.03530
14	0.0827	0.000152 ns	0.95498 ns	-0.045 ns	0.00017ns	0.03333
9	0.0818	0.0001413 ns	0.72659 ns	-0.2734 ns	0.0003ns	0.03425
12	0.0808	6.721E-05 ns	0.80462 ns	-0.1954 ns	0.00028ns	0.03668
2	0.0803	8.507E-05 ns	1.37163 ns	0.37164 ns	0.00013ns	0.04364
13	0.0784	0.0001258 ns	1.47241 ns	0.47241 ns	0.00025ns	0.04387
16	0.0631	0.0006371 ns	0.93323 ns	-0.0668 ns	0.00127**	0.05975
15	0.0553	0.0001272 ns	1.25507 ns	0.25508 ns	0.00025ns	0.04607

* significativo; ** altamente significativo; ns no significativo.

Cuadro 9. Coeficientes de correlación y su probabilidad entre diferentes metodologías para clasificar la estabilidad del contenido de triptofano. P-V 2003.

	Triptofano	b_i	S^2d_i	L	(W^2)
Triptofano	1.00000	-0.48409 (0.0574)	-0.20099 (0.4554)	-0.74989 (0.0008)	-0.35067 (0.1830)
b_i		1.00000	-0.17709 (0.5118)	0.58720 (0.0168)	0.73491 (0.0012)
S^2d_i			1.00000	0.40348 (0.1212)	-0.48878 (0.0547)
L				1.00000	0.52559 (0.0365)
(W^2)					1.00000

entradas en las que coincidieron en la clasificación las metodologías empleadas, sus genealogías son: 1 (CLQ 6203 × CL - 04321)-B-21-1-1-1 × CML 144, 3 (CLQ 6203 × CL-RCW01)-B-43-1 × CML159, 5 (CLQ 6203 × CL -04321)-B-13-2-1 × CML159, 6 (CLQ 6203 × CL-RCW01)-B-43-3-1 × CML 144 y 10 (CML264Q(BC3)-F2(43)-B-1-B × CLQ-RCWQ01. Estas cruza se encuentran dentro del primer grupo de clasificación de mayor contenido de triptofano. Así se puede concluir que los diferentes métodos de clasificación de la estabilidad para triptofano difieren entre si ya que no coinciden totalmente en la clasificación de la estabilidad de los genotipos.

Por otra parte, los genotipos conservan prácticamente el índice de calidad de contenido de triptofano (0.08%) a excepción de la entrada 13. Sin embargo, la clasificación de la estabilidad y de la diferencia entre las medias con respecto al contenido de triptofano se pueden deber en principio al genotipo y luego a la adaptabilidad de los genotipos a los ambientes, ya que como se indicó en apartados anteriores, las variables ambientales así como los niveles diferentes de fertilización para cada una de las zonas de evaluación pueden ser influyentes en la respuesta de los genotipos para la síntesis de triptofano.

Con respecto a las correlaciones efectuadas entre las variables (ver Cuadro

9) existió correlación negativa de las medias de contenido de triptofano con los demás parámetros, siendo la correlación negativa más alta (-0.7498) con el índice L con una probabilidad de (0.0008). Para el caso de la b_i , correlacionó positivamente con L y W^2 con valores 0.58720 y 0.73491 respectivamente, con probabilidades de 0.0168 y 0.0012, mientras que con S^2d_i tuvo una correlación negativa sin ser significativa; S^2d_i correlacionó de manera positiva únicamente con L (0.40348) a una probabilidad baja (0.1212).

Los análisis de varianza conjuntos para los métodos propuestos por Eberhart y Russell (1966) y Cruz (1990) para la variable contenido de proteína en grano presentan diferencias altamente significativas para los ambientes, y para genotipos por ambientes, con excepción del modelo de Eberhart y Russell (1966) para genotipos. Esto significa que los genotipos reaccionaron de manera diferencial en los ambientes de prueba. En el cuadro 10 se presenta la separación de medias de genotipos al 5% de probabilidad. De los híbridos evaluados se formaron seis grupos, dentro del primer grupo se distingue la entrada 6 por ser significativamente diferente a todas (10.04%) y la entrada 2 por ser la de menor contenido (8.85%).

En el Cuadro 11 se presentan las estimaciones de los diferentes parámetros y

Cuadro 10. Separación de medias para contenido total de proteína en grano del análisis conjunto. P-V 2003.

Entrada	Genealogía	Porcentaje de proteína en grano (medias)
6	(CLQ 6203 × CL-RCW01)-B-43-3-1 × CML 144	10.04 a
7	(CLQ 6203 × CL-RCW01)-B-14-1-1-1 × CML 144	9.94 ab
4	(CLQ 6203 × CL-RCW01)-B-24-4-1 × CML 144	9.92 ab
1	(CLQ 6203 × CL -04321)-B-21-1-1-1 × CML 144	9.89 ab
11	(CML173 × CLQ6203) × (CML264Q(BC3)-F2(43)-B-1-B	9.79 abc
3	(CLQ 6203 × CL-RCW01)-B-43-1 × CML159	9.68 abcd
10	(CML264Q(BC3)-F2(43)-B-1-B × CLQ-RCWQ01	9.67 abcd
15	Genetic M625	9.64 abcd
8	(CLQ 6203 × CL-RCW01)-B-42-4-B × CML 144	9.56 abcd
9	(CLQ6203 × CL-RCW01)-B-46-2-1-B-1 × CML159	9.48 bcd
16	Genetic M658	9.34 cde
14	(CML 144 × CML 159)	9.33 cde
5	(CLQ 6203 × CL -04321)-B-13-2-1 × CML159	9.26 def
12	(CML173 × CLQ6203) × CLQ-RCWQ01	9.25 def
13	(CML 150 × CLQ 6203)	9.22 ef
2	(CLQ 6203 × CL -04321)-B-7-1-2-4-B- × CML159	8.85 f

DMS 5%= 0.0782

los promedios de contenido de proteína total en grano. De acuerdo al criterio de Eberhart y Russell (1966) se puede observar que solo las entradas 11, 16 y 14 presentaron sus coeficientes de regresión y sus desviaciones igual a 1 y 0 respectivamente, lo que las clasifica como genotipos estables. Lo anterior significa que los genotipos tienen un comportamiento igual a su recta de regresión ajustada, por lo que su comportamiento es similar entre ellas; los demás genotipos se considera que tienen buena respuesta en todos los ambientes pero inconsistentes ya que sus b_i son iguales que 1 y sus S^2d_i son mayores que 0. Con base en el criterio de Cruz (1990), resultó que los coeficientes de regresión (b_k) fueron no significativos a excepción de las entradas 13 y 16, ya que la prueba de nulidad de b_k resultó ser igual a 1.1705 valor que fue mayor a los b_k 's obtenidos, lo anterior significa que no existe pendiente entre los genotipos a excepción de los ya mencionados.

Las entradas 6, 7, 4, 11, 3, 10, 8, 9 y 12,

con b_k y D_k no significativa son genotipos con sensibilidad promedio y buen ajuste al modelo; mientras que los que tienen una b_k significativa y una D_k no significativa (entradas 16 y 13) tienen una mejor respuesta en ambientes favorables con sensibilidad positiva y con buen ajuste. Las entradas 1, 15, 5 y 2 con una b_k no significativa y una D_k significativa son genotipos con sensibilidad promedio pero con falta de ajuste al modelo.

Con respecto al criterio de Langer (1979), este clasifica a las entradas 9, 11, 12 y 16 como estables notándose como nuevamente los modelos tienen falta de coincidencia total en la clasificación de los genotipos. La clasificación de la estabilidad de los genotipos por los diferentes procedimientos coincidieron en clasificar a la entrada 11 (CML173 × CLQ6203) × (CML264Q(BC3)-F2(43)-B-1-B como estable. Esto de manera similar que con las demás variables, nos da una idea de cómo los diferentes procedimientos usados en este trabajo no tuvieron de manera

Cuadro 11. Diferentes parámetros e índices para la clasificación de la estabilidad del contenido de proteína total en grano. P-V 2003.

Entrada	% Proteína	b_j	S^2d_j	b_k	D_k	L
6	10.04	1.3855ns	0.0123**	0.38556 ns	0.07459 ns	0.1061
7	9.94	1.5662ns	0.0043*	0.56627 ns	0.02733 ns	0.0790
4	9.92	1.2664ns	0.0048**	0.2665 ns	0.02984 ns	0.0802
1	9.89	0.5947ns	0.0167**	-0.4052 ns	0.10083 *	0.0807
11	9.79	0.1791ns	0.0016ns	-0.8208 ns	0.00984 ns	0.0266*
3	9.68	0.6959ns	0.0096**	-0.3041 ns	0.05793 ns	0.0703
10	9.67	0.8801ns	0.0103**	-0.1198 ns	0.0623 ns	0.0759
15	9.64	1.4989ns	0.0198**	0.49897 ns	0.11975 *	0.1168
8	9.56	1.6752ns	0.0063**	0.67523 ns	0.03922 ns	0.0938
9	9.48	0.6124ns	0.0083**	-0.3875 ns	0.05038 ns	0.0627*
16	9.34	-1.1897ns	0.0010ns	-2.1897 *	0.0066 ns	0.0650*
14	9.33	1.4576ns	0.0020ns	0.45768 ns	0.01312 ns	0.0840
5	9.26	1.3020ns	0.0267**	0.30206 ns	0.16131*	0.1165
12	9.25	0.3489ns	0.0072**	-0.651 ns	0.04348 ns	0.0542*
13	8.92	2.4430ns	0.0059**	1.44306 *	0.03814 ns	0.1486
2	8.85	1.2828ns	0.0184**	0.2829 ns	0.1113 *	0.1015

* significativo; ** altamente significativo; ns no significativo.

conjunta alta coincidencia al clasificar el comportamiento de los genotipos por su estabilidad de manera diferente.

Según lo menciona Poey (1975) las condiciones ambientales que favorecen o afectan el rendimiento lo hacen generalmente modificando la producción de almidones variando el contenido relativo de proteína, así, se pudiera considerar que los contenidos de almidones variaron en los genotipos en las diferentes localidades y esto ocasionó además de la influencia del genotipo, las diferencias observadas en el contenido de proteína y en la prueba de separación de medias.

Para este caso y para todas las demás variables, la falta de correlación o respuesta no correlacionada se puede presentar en el mejoramiento integral del maíz entre factores de rendimiento y de valor nutritivo, así los ambientes adversos pueden limitar la variación posible o máxima sobre el contenido de proteína que no logre expresarse de manera adecuada por causa del metabolismo forzado que ocasiona ese ambiente según lo señala Poey (1975).

Conclusiones

En cuanto a la clasificación de los genotipos por su estabilidad se puede concluir que existió variación entre las diferentes metodologías en la clasificación de los genotipos y las coincidencias no fueron muy altas. En cuanto a rendimiento, los métodos más aceptables fueron los de Eberhart y Russell (1966), y el modelo multiplicativo propuesto por Cruz (1990). Se observó también que el método no paramétrico de Langer (1979) fue el más estricto en la clasificación de los genotipos. Por estas razones los mejoradores de plantas deberán ser muy selectivos en la utilización de estas metodologías. Así, si se quiere tener opciones diferentes de genotipos para continuar el mejoramiento, la selección de los genotipos se debería basar en el uso de los modelos de Eberhart y Russell (1966) y Cruz (1990) ya que estos modelos tienen una sensibilidad más amplia de la estabilidad (cuando menos en este trabajo), mientras que si se prefiere hacer recomendaciones a los agricultores,

quizás el mejor método sería el de Langer (1979) por su rigidez en la clasificación de los genotipos.

Con respecto a las correlaciones entre los diferentes parámetros para las diferentes variables, es notorio como b_i y L fueron los parámetros que más correlación tuvieron en todas las variables para clasificar a los genotipos como estables, proponiendo así que estos dos parámetros sean usados en posteriores clasificaciones de los genotipos por su estabilidad.

Este trabajo no concuerda completamente con Márquez (1992) con respecto a las generalidades que menciona en cuanto a la correlación negativa entre la media de rendimiento con las desviaciones de regresión así como con los coeficientes de regresión ya que en esta investigación no resultó así para el rendimiento.

Para complicar la situación, no todas las metodologías son aplicables a cualquier variable dado que en varios casos los modelos disponibles no tienen ajustes satisfactorios. Tal es el caso de las variables expresadas como proporciones o escalas cualitativas; aquí sería recomendable el uso de modelos como el SHMM sugerido por Cornelius et al (*vide* Crossa 1992), sin olvidar los aspectos puramente genéticos que pudieran utilizarse como lo sugiere Storck y Venkovsky (cf. Márquez 1992).

Aún cuando se detectaron diferencias en los contenidos de triptofano y proteína debido a los efectos ambientales y de interacción, los niveles para los diferentes genotipos seleccionados se mantuvieron dentro de las normas de calidad establecidas en los laboratorios especializados.

Como aportación adicional de este estudio se logró seleccionar de manera jerarquizada con respecto al rendimiento, contenido de triptofano y proteína total en grano así como por su estabilidad, híbridos que reunieron las diferentes características de rendimiento y calidad así como estabilidad. Las entradas y genealogías de dichos híbridos fueron las siguientes: 1 (CLQ 6203 × CL -04321)-B-21-1-1-1 × CML 144 ; 4 (CLQ 6203 × CL-RCW01)-B-24-4-1 × CML

144; 6 (CLQ 6203 × CL-RCW01)-B-43-3-1 × CML 144; 8 (CLQ 6203 × CL-RCW01)-B-42-4-B × CML 144; 10 (CML173 × CLQ6203) × (CML264Q(BC3)-F2(43)-B-1-B); 11 (CML173 × CLQ6203) × (CML264Q(BC3)-F2(43)-B-1-B). Cabe señalar que esta selección fue primeramente tomando en cuenta los genotipos del primer grupo de la separación de medias por rendimiento, y posteriormente tomando aquellos genotipos que coincidieron en la clasificación de la estabilidad del contenido de triptofano y contenido de proteína.

En un futuro los híbridos señalados podrán ser utilizados por los agricultores de las regiones en que éstos fueron evaluados, teniendo con esto, la ventaja adicional de que los materiales son de alta calidad de proteína.

Agradecimientos

Se agradece la colaboración del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) y a la Universidad de Guadalajara por haber financiado este trabajo de investigación. A dos revisores anónimos su acertadas críticas y a Servando Carvajal la corrección de estilo.

Bibliografía

- Carballo, C. A. y F. Márquez S.** 1970. Comparación de variedades de maíz del Bajío y la Mesa Central por su rendimiento y estabilidad. *Agrociencia* 5: 129-146.
- Carrizales M. N.** (2000). *Comparación de índices para clasificar la estabilidad genética en híbridos tropicales de maíz*. Tesis Maestro en Ciencias en Manejo de Áreas de Temporal. Universidad de Guadalajara. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias.
- Crossa, J. y P. L. Cornelius.** 1997. Sites regression and shifted multiplicative model clustering of cultivar trial sites under heterogeneity of error variances. *Crop Sci.* 37: 405-415.
- Cruz, M. R.** 1990. *Análisis estadístico de la interacción genotipo-ambiente*. ITA 21 DGTAM. SEP.

- Langer I, K. J. Frey and T. Bayley.** (1979). Association among productivity, production response, and stability indexes in oat varieties. *Euphytica* **28**: 17–24.
- Márquez, S. F.** 1992. La interacción Genético Ambiental en Genotecnia Vegetal. Revisión. In “*Simposio Interacción Genotipo Ambiente en Genotecnia Vegetal*”. Sociedad Mexicana de Fitogenética, A.C. Guadalajara, Jal. Mex.
- Poey, F. R.** (1975). *El mejoramiento integral del maíz*. Rendimiento y valor nutritivo: hipótesis y métodos. Tesis doctoral. Escuela Nacional de Agricultura. Colegio de Posgraduados. Chapingo, México.
- SAS Institute Inc., Cary, NC,USA.** (199-2001) Software Release 8.2 (TS2MO).
- Shukla, G. K.** (1972). Some statistical aspects of partitioning genotype-environmental components of variability. *Heredity* **28**: 237–245.
- Vega O. y Urbano A.** (1984) Comparación de diferentes parámetros de estabilidad del rendimiento en trigo. *Revista Facultad de Agronomía. Maracay XIII*(1-4): 291–309.

Aceptado el 25 de enero de 2006

Distancias genéticas entre *Agave tequilana* Weber var. Azul y especies y variedades afines

Xochitl Marisol Cuevas Figueroa¹ y Ericka Patricia Flores Berrios²

¹Instituto de Botánica, CUCBA. Universidad de Guadalajara. Apartado postal 1-139, 45101, Zapopan, Jalisco, México.

²Centro de Investigación, Diseño y Asistencia Tecnológica del Estado de Jalisco. Av. Normalistas No. 800, Colinas de la Normal, Guadalajara, Jalisco, México. Correo electrónico: xochitl@xymsoft.com eflores@ciatej.net.mx

Resumen: Se compararon diferentes variedades y especies de *Agave* relacionadas con *A. tequilana* Weber var. Azul, la materia prima para la elaboración del tequila, mediante la técnica de marcadores moleculares AFLP. Se formaron dos grupos, uno integrado por *Agave tequilana* Weber, sus variedades y *A. angustifolia* Haw., en el otro las variedades de *A. americana* L., *A. sisalana* Perrine ex Engelm., *A. salmiana* Otto et Salm., *A. potatorum* Zucc. y *A. karwinskii* Zucc.

Se confirmó la validez de las diferentes variedades de *Agave tequilana*, se verificó la relación entre *A. tequilana* y *A. angustifolia*, se muestra la relación de *A. americana* con *A. salmiana* y *A. sisalana* y se analizó la relación entre dos genotipos diferentes de *A. potatorum* que antes eran considerados dos especies.

Abstract: Different *Agave* species and varieties related with *A. tequilana* Weber var. Azul, the prime material for the elaboration of tequila were compared with AFLP molecular markers technique. Two groups were formed, one with *Agave tequilana* Weber, its varieties and *A. angustifolia* Haw., the other groups varieties of *A. americana* L., *A. sisalana* Perrine ex Engelm., *A. salmiana* Otto et Salm., *A. potatorum* Zucc. and *A. karwinskii* Zucc.

The validity of the different varieties of *A. tequilana* was confirmed, the relationship between *A. tequilana* and *A. angustifolia* was revalidate, the relationship of *A. americana* with *A. salmiana* and *A. sisalana* is demonstrated, and the relationship between two genotypes of *A. potatorum* that were considered two species.

Introducción

Los agaves son plantas representativas de México y poseen importancia industrial y alimenticia. Gentry (1982) mencionó que en América la relación hombre-agave se ha convertido en una simbiosis y describe con amplitud los usos más importantes del género como son: alimento, bebidas (pulque, aguamiel, mezcal y tequila), fibras, medicina tradicional entre otros.

El género *Agave* se ubica en la clase Liliopsida, orden Liliales, familia Agavaceae (Cronquist 1981), cuenta con 136 especies y se divide en 2 subgéneros: *Littaea* y *Agave*; éste último está constituido por 82 especies, 21 subespecies y 23 variedades (Gentry 1985). Se distribuye en gran parte del continente Americano;

México es el centro de origen según Berger y Ramírez (citados por Castorena et al. 1994), más puntualmente la región central del país (Garnick 1944).

En la actualidad algunas especies han cobrado importancia económica al ser cultivadas para la producción de destilados alcohólicos, así como para la obtención de fibras. El ejemplo más ilustrativo lo constituye la variedad azul de la especie *Agave tequilana* Weber uno de los agaves más conocidos a escala internacional, por ser la materia prima en la elaboración del tequila.

La Norma Oficial Mexicana establece que el tequila solo puede producirse a partir de *Agave tequilana* Weber var. Azul,

cultivado en la Zona de Denominación de Origen del Tequila (figura 1), que comprende el estado de Jalisco y parte de los estados de Michoacán, Guanajuato, Nayarit y Tamaulipas.

Existen otras variedades o cultivares de *Agave tequilana*, aun no descritas de modo formal desde el punto de vista taxonómico, que son reconocidas por algunos cultivadores de agave en el estado de Jalisco, y que muestran una gran similitud con el agave tequilero (Valenzuela 1994). Es necesario mencionar que la "variedad" Azul tampoco se ha reconocido en la taxonomía formal.

Al parecer, hace tiempo se utilizaban todas las "variedades" de *Agave tequilana* para la elaboración del tequila, sin embargo, Gentry (1982) menciona que la variedad Azul era la dominante en los cultivos de agave en el oeste de Jalisco.

Diguet (citado por Gentry 1982) enlistó las siguientes variedades de *A. tequilana* en cultivo en el estado de Jalisco: Manolargo, Chato, Bermejo, Azul, Pata de

mula, Siquin y Zopilote. Trelease (citado por Gentry 1982) trata muchas de estas variedades como especies, mismas que Gentry toma como sinónimos de *A. tequilana*, Valenzuela (1994) realizó una revisión sobre la clasificación de *A. tequilana* y concluye que existen siete variedades denominadas: Azul, Pata de mula, Zopilote, Moraleño, Bermejo, Xigüin y Chato o Sahuayo (figura 2).

En el caso del mezcal, la Norma Oficial Mexicana establece que la elaboración de esta bebida debe ser a partir de una o más de las siguientes especies: *Agave angustifolia* (maguey espadín), *A. asper-rrima* (maguey de cerro, bruto o cenizo), *A. weberi* (maguey de mezcal), *A. potatorum* (maguey de mezcal), *A. salmiana* ssp. *crassispina* (maguey verde o mezcalero), así como otras especies de agave, siempre y cuando no sean utilizadas como materia prima para otras denominaciones de origen dentro del estado.

La Denominación de Origen del mezcal se circunscribe a la región geográfica



Figura 1. Mapa que muestra la zona de denominación de origen del tequila y del mezcal.

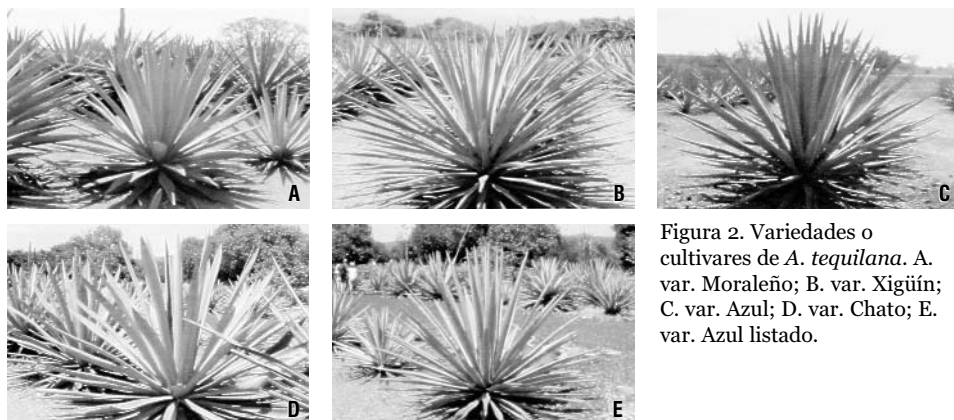


Figura 2. Variedades o cultivares de *A. tequilana*. A. var. Moraleño; B. var. Xigüín; C. var. Azul; D. var. Chato; E. var. Azul listado.

comprendida por los estados de Guerrero, Durango, San Luis Potosí, Zacatecas, y Oaxaca, a este último pertenece la zona denominada «La Región del Mezcal», que incluye los distritos de Sola de Vega, Miahuatlán, Yautepec, Tlacolula (Santiago Matatlán), Ocotlán, Ejutla y Zimatlán (figura 1).

Standley (1923) menciona como especies productoras de mezcal a *Agave cupreata* y *A. karwinskii*. Gentry (1982) enlista como agaves mezcaleros las siguientes especies: *A. angustifolia*, *A. rhodacantha*, *A. tequilana*, *A. shervei*, *A. wocomahi*, *A. duranguensis*, *A. palmeri*, *A. zebra*, *A. asperrima*, *A. potatorum* y *A. weberi*.

Por otra parte la industria de las fibras de agave posee también un gran impacto comercial en México, desde tiempos antiguos se utilizan algunas especies de *Agave* como fuente de fibras para elaborar tejidos, bolsas, ropa, calzado y otros objetos. Las especies más aprovechadas para este fin son *Agave fourcroydes* «henequén» y *A. sisalana* «sisal» (Gentry 1982). Asimismo, algunos trabajos muestran la posibilidad de utilizar las fibras de agave para producir papel (Petroff 1985, Villalvazo et al. 1985).

La sistemática de las especies del género *Agave* no es fácil por la necesidad de contar con elementos florales para establecer una determinación taxonómica

correcta, la floración en algunas especies se da después de 8 a 20 años (Gentry 1982), lo que dificulta la obtención de los caracteres necesarios para una comparación apropiada. Por otra parte, existen algunos factores que pueden inducir a desconcierto en la identificación de los agaves, como son la hibridación, la ocurrencia de poliploidía y los agentes ambientales que afectan la apariencia general de la planta (Gentry 1985).

La complejidad en la determinación de las especies y variedades del género *Agave*, ha llevado a complementar la taxonomía tradicional con herramientas cada vez mas finas, como la embriología (Villavicencio y Pérez 1994), palinología (Ojeda y Ludlow-Wiechers 1994), citología (Garnick 1944, Sharma y Bhattacharyya 1962 y Castorena et al. 1994) y la biología molecular (Eguiarte et al. 1994, Colunga-García et al. 1994, 1999, Martínez-Palacios et al. 1999 y Gil 1997 y 2001).

Los marcadores moleculares son fragmentos de ADN a lo largo del genoma de un organismo que presentan un alto grado de polimorfismo en grupos diferentes (Twyman 1998). Un polimorfismo indica la presencia de alelos diferentes en el mismo loci, dentro de la cadena de ADN. La detección de estas diferencias constituye una herramienta en la identificación y clasificación incluso en organismos estrechamente afines, ya que los perfiles

moleculares son únicos para cada organismo.

En 1995 Vos et al. desarrollaron una técnica para la obtención de marcadores moleculares llamada AFLP (Amplification Fragment Length Polymorphism), que conjuga la restricción por PCR y la amplificación de fragmentos selectivos. La combinación de estos métodos permite revelar un número mayor de polimorfismos en reacciones más controladas y es muy eficiente, comparado con otros sistemas de marcadores.

Los marcadores AFLP es una de las técnicas más poderosas que se han utilizado en estudios de diversidad, relaciones genéticas (Demey 2004) y filogenia en varias especies como *Phaseolus lunatus* y especies relacionadas (Caicedo et al. 1999), henequén (Infante et al. 1999), *Arabidopsis thaliana* (Breyne et al. 1999), algodón (Pillay y Myers 1999), cebada (Qi y Lindhout 1997) y girasol (Hongtrakul et al. 1997, Flores Berrios et al. 2000), así como para revelar variación intra e intervarietal (Degani et al. 2001) en variedades comerciales (Roldán Ruiz et al. 2000) con un alto poder discriminativo (Lombard et al. 2000, Flores et al. 2005).

A causa de la dificultad para determinar las especies del género *Agave* y la inminente necesidad de contar con una identidad confiable de las plantas que se utilizan en las industrias productoras de tequila, mezcal y fibras se requiere contar con herramientas de determinación seguras para su aplicación en la industria y a su vez abordar los problemas taxonómicos presentes en el género *Agave* que permitan establecer las bases de programas de conservación, mejoramiento y manejo.

Metodología

Para la obtención del material vegetal se realizaron colectas de campo en la zona de denominación de origen del tequila, algunas muestras fueron proporcionadas por el Consejo Regulador del Tequila, y otras más de la colección de Agaváceas del Jardín

Botánico de la Universidad Nacional Autónoma de México (cuadro 1).

En cada caso se colectaron fragmentos foliares sanos y libres de daños mecánicos, que fueron conservados a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. De las plantas colectadas, además, se preparó un exsiccata.

Una porción de tejido foliar (de alrededor de 1 g) se fragmentó en trozos pequeños que fueron sumergidos en nitrógeno líquido para su maceración, la extracción de ADN genómico total se realizó de acuerdo con el protocolo reportado en el kit de extracción y purificación Nucleon Phytopure (Amersham Life Science). El ADN obtenido se resuspendió en 100 μl de buffer TE 1X, y su calidad se evaluó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1%, a 100 V durante una hora.

Las reacciones fueron realizadas conforme al protocolo integrado al kit «AFLP™ system-I» y «AFLP™ starter primer kit», de Life Technologies. Se probaron 9 combinaciones de cebadores, elegidas al azar entre las combinaciones propuestas por el kit de AFLP (cuadro 2).

Para la separación de fragmentos, se utilizó un sistema de 38 x 40 cm Sequi-Gen® GT Nucleic Acid Electrophoresis Cell BIO-RAD, en gel de poliacrilamida al 6 %. La tinción se efectuó con nitrato de plata para la visualización de los fragmentos amplificados.

Con base a los datos de presencia o ausencia de fragmentos en cada especie y variedad, se calcularon los coeficientes de similitud, al comparar uno a uno los diferentes genotipos con el uso del índice de Jaccard ($J_{xy} = [a/(a+b+c)]$), donde x y y son los genotipos que se compararán, a es el número de marcadores presentes en x y y , b es el número de marcadores presentes en x y ausentes en y , y c es el número de marcadores presentes en y y ausentes en x . Los coeficientes de similitud son transformados en distancias genéticas mediante la fórmula $1-Jaccard_{xy}$ para generar la matriz de distancias genéticas que se utilizará para obtener el dendrograma (Roldán-Ruiz et al. 2000).

Cuadro 1. Zonas de colecta de material vegetal.

Especie / Variedad	Material colectado
<i>Agave tequilana</i> Weber var. <i>Azul</i>	
<ul style="list-style-type: none"> · Zona de Denominación de Origen del Tequila en el estado de Jalisco en plantaciones comerciales. · Colección Botánica UNAM 	<ul style="list-style-type: none"> · Hijuelos y fragmentos foliares de plantas adultas. Un total de 80 ejemplares · Hoja de una planta adulta caracterizada a nivel taxonómico (un ejemplar)
<ul style="list-style-type: none"> <i>Agave tequilana</i> Weber var. <i>Xigüin</i> <i>Agave tequilana</i> Weber var. <i>Moraleño</i> <i>Agave tequilana</i> Weber var. <i>Listado</i> <i>Agave tequilana</i> Weber var. <i>Chato</i> 	
<ul style="list-style-type: none"> · Colección Botánica UNAM · Material proporcionado por el Consejo Regulador del Tequila. 	<ul style="list-style-type: none"> · Hojas adultas (tres ejemplares de los cultivares xigüin y moraleño, y un espécimen de chato y azul listado)
<i>Agave angustifolia</i> Haw.	
<ul style="list-style-type: none"> · Colección Botánica UNAM 	<ul style="list-style-type: none"> · Hojas pertenecientes a plantas adultas de diferentes orígenes geográficos (5702, 17883, 5730, 5635, 70, 85). 6 ejemplares.
<i>Agave salmiana</i> Otto ex Salm.	
<ul style="list-style-type: none"> · Colección Botánica UNAM · Material proporcionado por el Consejo Regulador del Tequila. 	<ul style="list-style-type: none"> · Una hoja de planta adulta (dos ejemplares)
<i>Agave potatorum</i>	
<ul style="list-style-type: none"> · Colección Botánica UNAM 	<ul style="list-style-type: none"> · Hojas de plantas adultas (2 ejemplares)
<i>Agave karwinski</i> Zucc.	
<ul style="list-style-type: none"> · Colección Botánica UNAM 	<ul style="list-style-type: none"> · Una hoja de planta adulta (1 ejemplar)
<i>Agave sisalana</i>	
<ul style="list-style-type: none"> · Colección Botánica UNAM · Material proporcionado por el Consejo Regulador del Tequila 	<ul style="list-style-type: none"> · Una hoja de planta adulta (dos ejemplares)
<ul style="list-style-type: none"> <i>Agave americana</i> var. <i>Americana</i>, var. <i>Abrupta</i>, var. <i>Espansa</i>, var. <i>Variegata</i> 	
<ul style="list-style-type: none"> · Colección Botánica UNAM · Material proporcionado por el Consejo Regulador del Tequila 	<ul style="list-style-type: none"> · Una hoja de planta adulta (cinco ejemplares)

Cuadro 2. Combinaciones de cebadores utilizadas.

Msel/ EcoRI	AGG	ACG	ACC
CTT	×	×	×
CAA	×	×	
CAG			×
CAC	×	×	×

El dendrograma se generó mediante el empleo del método UPGMA (*Unweighted Pair Group Arithmetic Averages*) para la construcción de árboles filogenéticos, éste análisis se basa en un algoritmo en el que las relaciones son identificadas por orden de similitud. Consiste en identificar la distancia mínima entre dos taxones y combinar éste par con el resto para calcular la distancia promedio entre los otros taxones, el proceso se repite hasta llegar a los dos últimos.

Resultados y discusión

Con el objetivo de obtener una muestra representativa del material vegetal utilizado en este estudio, la colecta integró diversas regiones de la Zona de Denominación de Origen del Tequila para el caso de *Agave tequilana* var. Azul, y colecciones taxonómicas para el resto de las especies y variedades analizadas. La selección de las especies se fundamentó en dos aspectos: su cercanía taxonómica y su importancia económica en la obtención de destilados alcohólicos y fibras. Los genotipos denominados Xigüín, Moraleño, Azul listado y Chato, aún no reconocidos como variedades en la bibliografía, se incluyeron en el estudio por la confusión que surge al estudiar material silvestre que no permite distinguirlos del agave tequilero.

Asimismo, se incluyeron 6 genotipos de *Agave angustifolia* por ser una especie relacionada de modo estrecho con el agave azul, y principal materia prima en la elaboración del mezcal (Gentry 1982). Diversos trabajos mencionan la utilización

de *A. potatorum*, *A. salmiana*, *A. americana* y *A. karwinskii* como materia prima en la obtención de mezcal en los estados de Oaxaca y Jalisco (Gentry 1982, Standley 1923), por lo que fue preciso incluirlas en el análisis genético y en la comparación de sus perfiles moleculares. Por último, y como representante de un grupo taxonómicamente más alejado de los agaves mencionados, se incluyó la especie *Agave sisalana*, que se explota en el sudeste de la República Mexicana para la obtención de fibras (García et al. 1985).

El método de tinción con AgNO_3 es eficaz cuando no se dispone de radiactividad, trabajos como los de Phang et al. (1999 y 2000) mostraron un alto nivel de definición, que se corroboró en el presente trabajo. El análisis visual de los geles obtenidos es frecuente y recomendable cuando el número de bandas presentes es reducido; sin embargo, cuando el número de combinaciones y polimorfismos es alto, el registro visual representa una inversión de tiempo mayor y una probabilidad considerable de errores (Roldán-Ruiz et al. 1998). Una alternativa empleada con frecuencia es el registro asistido por computadora, este procedimiento incluye la digitalización del gel y el análisis de la imagen a través del software Cross Checker (Buntjer 2000) que reconoce las bandas por su intensidad y posición. Los resultados derivados de las nueve combinaciones probadas en el presente estudio fueron analizadas por ambas vías; en primera instancia, los datos derivados del análisis electrónico y, posteriormente, su confirmación mediante el análisis visual.

La selección de los cebadores es una etapa determinante en la obtención de niveles de polimorfismo que permitan discriminar entre especies y, principalmente, entre variedades. Las nueve combinaciones probadas, que se seleccionaron al azar, generaron un total de 835 marcadores de los cuáles 732 fueron polimórficos entre los 23 genotipos analizados (cuadro 3). El promedio de polimorfismos para cada combinación es de

Cuadro 3. Fragmentos obtenidos en cada combinación de cebadores.

Cebadores EcoR I / Mse I	Número total de fragmentos amplificados	Número de fragmentos polimórficos
acc/ctt	57	47
agg/ctt	154	132
acc/cag	175	168
acg/ctt	128	122
acg/cac	73	70
agg/caa	72	69
acc/cac	73	37
agg/cac	75	62
acg/caa	28	25
Total	835	732

93 (88%), sin embargo, algunas combinaciones producen perfiles más complejos que comprenden hasta 168 fragmentos polimórficos (EACG/MCAA) (figura 3). El índice de polimorfismos se revela alto debido a la distancia entre las amplitudes taxonómicas de los genotipos analizados; Roldán-Ruiz et al. (2000) muestran 50% de bandas polimórficas entre variedades de *Lolium* sp. y Hongtrakul et al. (1997) informan de 7 a 24% de polimorfismos entre líneas de girasol.

Los perfiles moleculares obtenidos para cada especie fueron comparados entre sí, observándose la existencia de marcadores únicos y específicos de cada genotipo analizado.

Las muestras colectadas de diferentes plantas de la variedad Azul de *Agave tequilana*, incluyendo orígenes geográficos diversos y ejemplares de colecciones taxonómicas, se analizaron de manera independiente, a fin de determinar las divergencias genéticas presentes en ésta variedad. Los perfiles moleculares fueron significativamente afines, con menos del 0.4% de polimorfismos entre las muestras (figuras 3 y 4), lo cuál confirma lo observado por Gil-Vega et al. (2006) y permite concluir que todos los genotipos analizados pertenecen a la misma variedad,

como lo indican Breyene et al. (1999), que al comparar diferentes ecotipos de *Arabidopsis thaliana* concluye que pertenecen a la misma especie aquellos que presentan menos del 1% de polimorfismos en sus perfiles AFLP.

Conjuntamente con las muestras de *Agave tequilana* var. Azul, obtenidas de cultivos comerciales propagados de manera asexual, se analizaron muestras de la misma especie y variedad obtenidas a partir de bulbilos (hijuelos que se forman en la inflorescencia después de terminada la floración). Estas muestras presentan patrones de bandeo relativamente diferentes (figura 4) lo cual puede explicarse como una estrategia de inducción de variación generada por la planta, a falta de un mecanismo efectivo de reproducción sexual, como lo afirman Sharma y Bhattacharyya (1962). En este caso los bulbilos pueden ser utilizados como fuente de variación genética para el mejoramiento de la variedad azul.

En términos del poder de discriminación, la técnica AFLP es altamente eficiente para la identificación varietal y específica en el género *Agave*. Los 23 genotipos estudiados fueron perfectamente distinguibles con un máximo de dos combinaciones de cebadores y, con excepción de *Agave tequilana* var. Azul, Chato y Xigúin (Gil-Vega et al. 2001), el presente trabajo caracteriza por primera vez mediante marcadores AFLP a las variedades Azul listado y Moraleño de *A. tequilana* y las especies *A. angustifolia*, *A. americana*, *A. potatorum*, *A. sisalana*, *A. karwinskii* y *A. salmiana*.

El desarrollo de los perfiles AFLP o "huellas genéticas" es importante en el aspecto económico porque las especies mencionadas se utilizan como materia prima en la industria tequilera o mezcalera, por lo que el examen específico y varietal basado en técnicas moleculares constituye un avance importante en el control de los procesos de calidad.

Dado el gran número de polimorfismos obtenidos, se utilizó el coeficiente de Jaccard para generar una matriz de

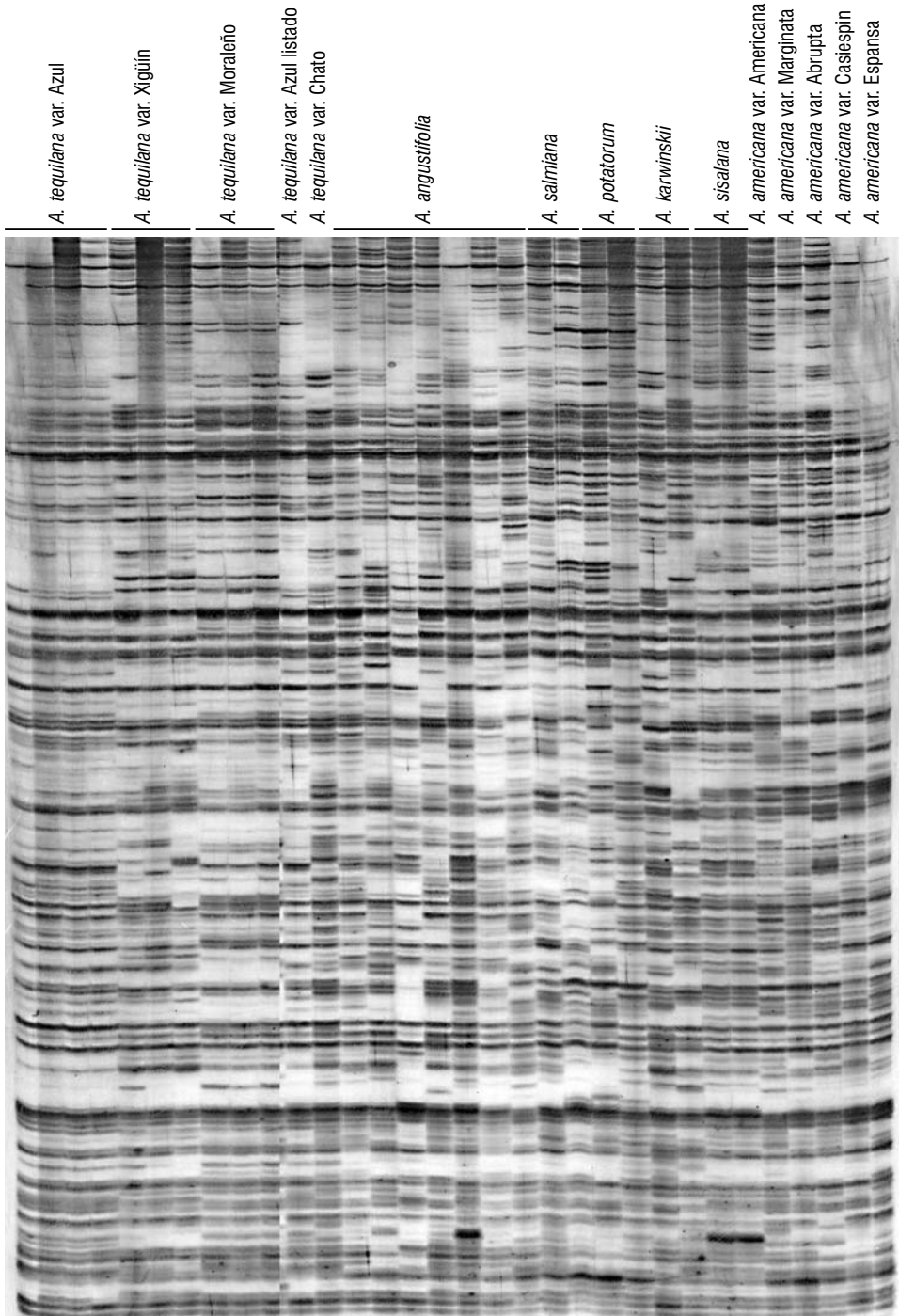


Figura 3. Gel que muestra los polimorfismos entre los diferentes genotipos empleados.

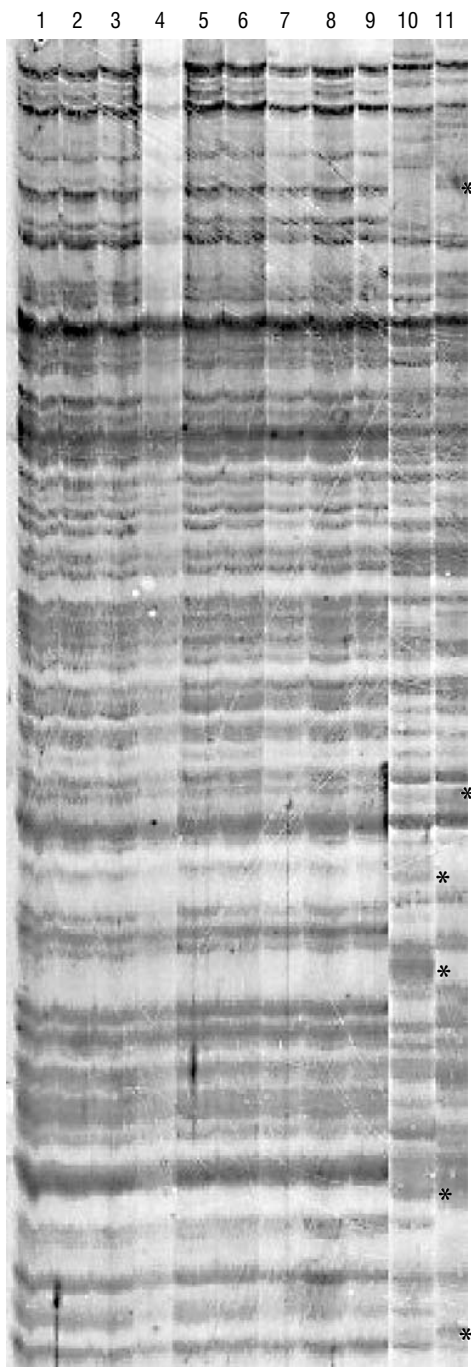


Figura 4. Variación entre *Agave tequilana* var. Azul (1-9) y bulbilos de la misma (10-11), * marcadores polimórficos.

similitud. Este coeficiente se aplica de manera frecuente en diversos trabajos, como el de Phang et al. (2000) y Roldán-Ruiz et al. (2000), para evaluar la diversidad genética. Las distancias genéticas se muestran en el cuadro 4.

Se generó un dendrograma por medio de UPGMA (*Unweighted Pair Group Arithmetic Averages*) para conocer las relaciones entre las diferentes especies analizadas (figura 5).

El dendrograma obtenido muestra que el genotipo más cercano al agave tequilero fue el denominado Azul listado, el grado de similitud morfológica con *A. tequilana* var. *Azul*, y la distancia genética calculada (0.19), permiten postular que se trata de un cultivar del agave tequilero (Degani et al. 2001, Phang et al. 1999). El genotipo *Agave tequilana* var. *Azul* listado pudo haberse originado por una mutación del agave azul, separándose progresivamente del genotipo original mediante apomixis.

Los genotipos denominados Chato, Xigüín y Moraleño presentan distancias genéticas de 0.37 a 0.39 lo que confirma su posición como variedades dentro de la especie *A. tequilana* de acuerdo con el informe de Roldán-Ruiz et al. (2001) para variedades de *Lolium* sp.

La variedad Chato es la más cercana a *A. tequilana* var. *Azul* y se relaciona de manera particular con *A. angustifolia* (5702) originario del estado de Oaxaca, lo que indica la estrecha relación existente entre *A. tequilana* y *A. angustifolia*. Por otra parte éste genotipo de *A. angustifolia* (5702) se encuentra ubicado en el dendrograma entre las variedades de *A. tequilana*, por lo que pareciera que es una variedad más de ésta especie, y no una especie independiente. Ésta similitud entre especímenes de *A. angustifolia* del estado de Oaxaca y *A. tequilana* ya había sido observada por Gentry (1982), incluso él menciona haber determinado dos colectas de Oaxaca como *A. tequilana*. El dendrograma ubica asimismo las variedades Xigüín y Moraleño agrupadas y ligeramente

Cuadro 4. Matriz de distancias genéticas.

A. tequilana var. Xigüin	0.38																						
A. tequilana var. Moraleño	0.374	0.321																					
A. tequilana var. Azul listado	0.197	0.403	0.366																				
A. tequilana var. Chato	0.388	0.390	0.389	0.353																			
A. angustifolia 5702	0.378	0.402	0.373	0.372	0.352																		
A. angustifolia 17883	0.431	0.400	0.398	0.419	0.371	0.395																	
A. angustifolia 5730	0.485	0.472	0.443	0.459	0.430	0.426	0.392																
A. angustifolia 5635	0.477	0.454	0.470	0.451	0.427	0.417	0.420	0.436															
A. angustifolia 70	0.495	0.493	0.513	0.513	0.441	0.407	0.477	0.449	0.455														
A. angustifolia 85	0.511	0.472	0.453	0.486	0.435	0.369	0.439	0.480	0.447	0.468													
A. salmiana	0.518	0.506	0.536	0.513	0.483	0.481	0.539	0.525	0.523	0.493	0.523												
A. potatorum UNAM	0.401	0.416	0.402	0.402	0.414	0.451	0.458	0.457	0.408	0.389	0.416	0.437											
A. potatorum 6664	0.566	0.538	0.566	0.559	0.513	0.512	0.528	0.537	0.557	0.553	0.534	0.465	0.615										
A. karwinskii	0.524	0.518	0.542	0.511	0.506	0.479	0.531	0.532	0.537	0.546	0.514	0.455	0.460	0.457									
A. sisalana	0.610	0.584	0.593	0.582	0.590	0.559	0.606	0.571	0.630	0.579	0.601	0.517	0.415	0.532	0.461								
A. americana var. Americana	0.499	0.507	0.513	0.508	0.459	0.462	0.498	0.493	0.535	0.498	0.513	0.418	0.425	0.425	0.435	0.503							
A. americana var. Marginata	0.512	0.527	0.523	0.534	0.495	0.465	0.527	0.511	0.553	0.509	0.527	0.445	0.485	0.445	0.440	0.509	0.308						
A. americana var. Abrupta	0.564	0.579	0.543	0.557	0.501	0.516	0.547	0.558	0.576	0.537	0.521	0.455	0.454	0.504	0.487	0.543	0.347	0.384					
A. americana var. Casiespin	0.630	0.632	0.621	0.623	0.598	0.600	0.616	0.611	0.647	0.590	0.608	0.552	0.487	0.526	0.525	0.584	0.462	0.480	0.463				
A. americana var. Espansa	0.593	0.608	0.600	0.595	0.545	0.574	0.587	0.579	0.658	0.570	0.570	0.530	0.481	0.486	0.489	0.430	0.426	0.449	0.389	0.511			

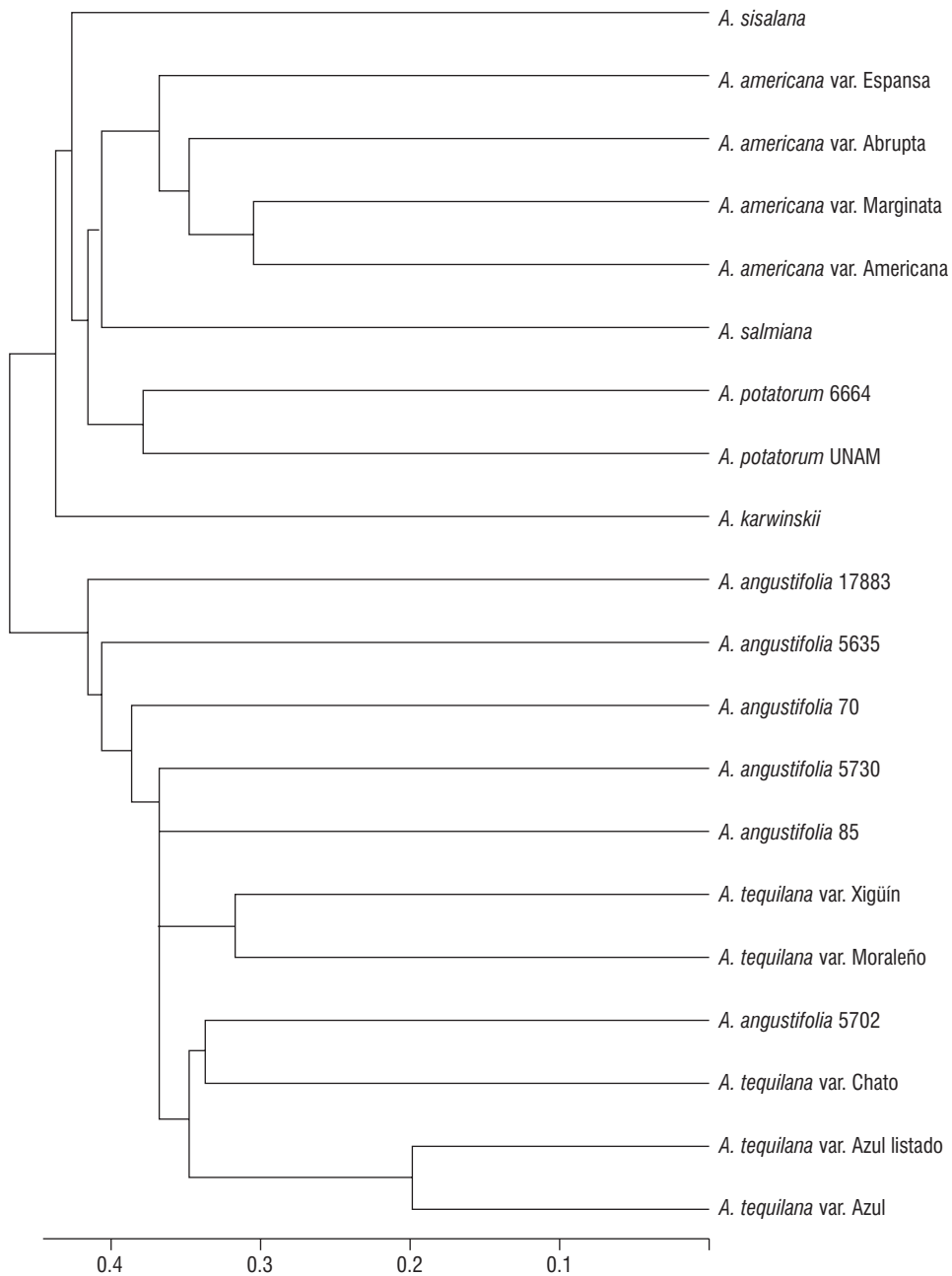


Figura 5. Dendrograma de las especies de *Agave* $r = 0.091$.

más alejadas de *Agave tequilana* var. Azul, esta observación se contraponen a los resultados obtenidos por Gil et al. (2001) que proponen que la variedad Xigüín es más cercana a *A. tequilana* var. Azul que la var. Chato. Esta discrepancia deriva probablemente del tipo de marcadores utilizados.

En el agrupamiento de *Agave tequilana* se ubican también el resto de los genotipos de *A. angustifolia* reafirmando la estrecha relación taxonómica entre estas dos especies y reforzando así la hipótesis de que *A. angustifolia* es el ancestro del agave tequilero. Las muestras analizadas de *A. angustifolia* revelan un alto índice de variación, con distancias genéticas que van de 0.37 a 0.48, lo que coincide con lo encontrado por Colunga et al. (1999) mediante un análisis isoenzimático. La

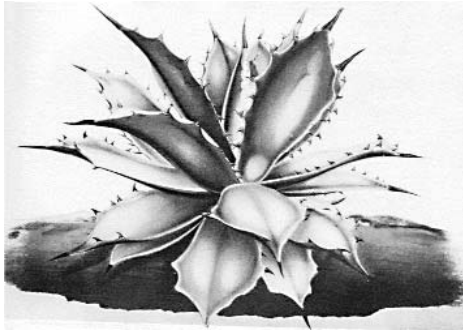


Figura 6. *Agave sycolmus* Saunders.



Figura 7. *Agave potatorum* 6664 del estado de Puebla.

variación podría deberse a que a causa de la amplitud de la distribución de esa especie y la diversidad de hábitats que puede ocupar se encuentra en una etapa de diversificación. Gentry (1982) menciona que es una especie muy variable y que es difícil separar las variantes de este complejo con alguna combinación de caracteres constantes. En este sentido los marcadores moleculares pueden ser de gran utilidad en el análisis de la variación genética entre especímenes cercanos geográficamente o con características similares, para su posible agrupación en taxones específicos.

La totalidad de especies analizadas se advierten cercanas entre sí (como puede observarse en el dendrograma a modo de dos agrupamientos principales) con un posible ancestro común. En el agrupamiento que reúne a *Agave americana*, *A. salmiana*, *A. karwinskii*, *A. potatorum* y *A. sisalana* se observa la separación entre estas especies y *A. tequilana*.

Agave karwinskii es la más alejada del resto de las especies.

En el caso de *Agave potatorum* se analizaron dos genotipos de diferentes localidades Oaxaca (5804) y Puebla (6664) que muestran una ligera diferencia morfológica. Gentry (1982) comenta acerca de una ilustración de *A. potatorum* que fue publicada en 1868 por Saunders como *A. scolymus* (figura 6), ésta corresponde al tipo de formas que se pueden encontrar en



Figura 8. *Agave potatorum* 5804 del estado de Oaxaca.

Tehuacan, Puebla, muy similar al genotipo 6664 (figura 7), y claramente distinguible del genotipo 5804 de Oaxaca (figura 8). Sin embargo Gentry menciona que estas dos formas se dan al azar en algunas poblaciones y la única diferencia perceptible son los márgenes más prominentes en la porción distal. Estos genotipos presentan una distancia de 0.38 entre sí, por lo que con base en las distancias obtenidas en las otras especies podría considerarse que se trata de dos variedades o bien de un grupo que está en proceso de diferenciación.

Las variedades de *Agave americana* muestran distancias genéticas de 0.30 a 0.56 lo cual confirma su designación como variedades. *A. salmiana* es la especie más cercana al complejo de *A. americana* y subsecuentemente podemos encontrar a *A. potatorum*, *A. sisalana* y por último *A. karwinskii*.

Conclusiones

La técnica AFLP aplicada al género *Agave* proporcionó un gran número de marcadores polimórficos entre variedades y especies, lo que demuestra que puede ser utilizada como método de caracterización confiable en el género.

Los perfiles moleculares obtenidos para *Agave tequilana* Weber var. *Azul* se pueden aprovechar como referencia en el control de calidad de la materia prima en la industria tequilera.

Los cultivos de *Agave tequilana* var. *Azul* en el estado de Jalisco presentan un bajo índice de variabilidad debido a las técnicas de propagación asexual utilizadas.

Los perfiles moleculares obtenidos a partir de los bulbos del agave tequilero muestran diferencias genéticas con respecto a los derivados de plantas cultivadas y propagadas de manera asexual. Esta variación, producida por la planta misma, se puede emplear en programas de mejoramiento genético.

El genotipo *Azul* listado puede ser considerado como un cultivar de *A. tequilana* var. *Azul*.

Se confirma la caracterización de Xigüin, Moraleño y Chato como variedades de la especie *Agave tequilana*.

Agave angustifolia muestra estrecha relación taxonómica con *Agave tequilana*, que implica un probable parentesco evolutivo entre las dos especies.

Las dos muestras de *Agave potatorum* analizadas se pueden clasificar como variedades con base en su morfología y perfil genético.

Agradecimientos

Se reconoce al CONACYT por el apoyo brindado para la realización del presente trabajo. El Consejo Regulador del tequila proporcionó algunas muestras para el análisis. El Dr. Abisai J. García Mendoza contribuyó amablemente con muestras de especímenes del jardín botánico de la UNAM. El Dr. Luis E. Eguiarte Fruns brindó su asesoría en éste trabajo, al Maestro Emérito Roberto González Tamaño y al Dr. Servando Carvajal se debe la revisión del documento.

Literatura consultada

- Breyne, P., D. Rombaut, A. Van Gysel, M. Van Montagu and T. Gerats. 1999. AFLP analysis of genetic diversity within and between *Arabidopsis thaliana* ecotypes. *Mol. Gen. Genet.* **261**: 627-634.
- Buntjer, J. 2000. *Cross Checker fingerprint analysis software*. Wageningen University and Research Center, The Netherlands.
- Caicedo, A. L., E. Gaitán, M. C. Duque, O. Toro Chica, D. G. Debouck and J. Tohme. 1999. AFLP Fingerprinting of *Phaseolus lunatus* L. and Related Wild Species from South America, *Crop Sci* **39**: 1497-1507.
- Castorena, I. S., R. M. Escobedo y A. Quiroz. 1994. *Procesos citogenéticos en el género Agave y su influencia en la evolución, adaptación y explotación de sus poblaciones*. Primer Simposio Internacional sobre Agavaceas, UNAM, México.
- Colunga-García, M. P., J. Coello, D. Piñero, L. E. Eguiarte y R. Bye. 1994. *Evidencias isoenzimáticas sobre el origen y variación actual del germoplasma disponi-*

- ble de henequén (*Agave fourcroydes* Lem.). Primer Simposio Internacional sobre Agavaceas, UNAM, México.
- Colunga-García, M. P., J. Coello, L. E. Eguiarte, D. Piñero.** 1999. Isozymatic variation and phylogenetic relationships between henequen (*Agave fourcroydes*) and its wild ancestor *A. angustifolia* (Agavaceae). *Am. J. Bot.* **86**(1): 115–123.
- Cronquist, A.** 1981. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. Columbia University Press, New York.
- Degani, C., L. J. Rowland, J. A. Saunders, S. C. Hokanson, E. L. Ogden, A. Golan-Goldhirsh and G. J. Galletta.** 2001. A comparison of genetic relationship measures in strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) based on AFLPs, RAPDs, and pedigree data. *Euphytica* **117**: 1–12.
- Demey, J. R., E. Gamez, S. Molina and D. Infante.** 2004. Comparative study of the discriminating apticity of AFLP and ISTR markers for genetic análisis of *Agave fourcroydes*. *Plant Mol. Biol. Rep.* **22**: 29–35.
- Eguiarte, L. E., M. R. Dubai, G. H. Learn, Jr. y M. T. Clegg.** 1994. *Filogenia molecular de las familias Agavaceae y Nolinaceae: Análisis basados en la secuencia del gen del cloroplasto rbcL*. Primer Simposio Internacional sobre Agavaceas, UNAM, México.
- Flores, B. E., L. Gentzbittel, G. Alibert, Y. Griveau, A. Berville and Sarrafi.** 2000. Genetic control of in vitro-organogenesis in recombinant inbred lines of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Plant Breeding* **118**: 359–361.
- Flores B. E., J. F. Alba, J. P. Arrizón, P. Romano, A. Capece and A. Gschaedler.** 2005. The uses of AFLP for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity between yeasts isolated from Mexican agave-distilled beverages and from grape musts. *Letters in Applied Microbiology* **41**: 147.
- García-Mendoza, A. y R. Galván V.** 1994. *Riqueza de las familias Agavaceae y Nolinaceae en México*. Primer Simposio Internacional sobre Agavaceas, UNAM, México.
- García, A., S. de Alejandrina, Fuentes P.** 1985. La producción mundial de las fibras duras. En: C. Cruz, L. del Castillo, M. Robert, y R. N. Ordorza (eds), *Biología y aprovechamiento integral del henequén y otros agaves*. Centro de Investigación Científica de Yucatán, A. C. Mérida, Yucatán.
- Garnick, B. E.** 1944. A karyosystematic study of the genus *Agave*. *Am. J. Bot.* **31**: 283–298.
- Gentry, H. S.** 1982. *Agaves of Continental North America*. The University of Arizona Press, Tucson Arizona.
- Gentry, H. S.** 1985. On the taxonomy of the Genus *Agave*. En: C. Cruz, L. del Castillo, M. Robert, y R. N. Ordorza (eds), *Biología y aprovechamiento integral del henequén y otros agaves*. Centro de Investigación Científica de Yucatán, A. C. Mérida, Yucatán.
- Gil-Vegas K.** 1997. *Caracterización de Agave sp. utilizando marcadores moleculares*. Tesis, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del I. P. N. Unidad Irapuato.
- Gil-Vegas, K., M. González Chavira, O. Martínez de la Vega, J. Simpson and G. Vandermark.** 2001. Analysis of genetic diversity in *Agave tequilana* var. azul using RAPD markers. *Euphytica* **119**: 335–341.
- Gil-Vegas, K., C. Díaz, A. Nava-Cedillo and J. Simpson.** 2006. AFLP análisis of *A. tequilana* varieties. *Plant Science* **170**(4): 904–909.
- Granados, S. D.** 1993. *Los Agaves en México*. Universidad Autónoma de Chapingo, México, 252 pp.
- Hodgkin, T.** 1995. Some Current Issues in the Conservation and Use of Plant Genetic resources. In: Ayad W. G., T. Hodgkin, A. Jaradat and V. R. Rao (eds.), 1997. *Molecular genetic techniques for plant genetic resources*. IPGR, Rome Italy, 137 pp.
- Hongtrakul, V., G. M. Huestis, S. J. Knapp.** 1997. Amplified fragment length polymorphisms as a tool for DNA fingerprinting sonflower germplasm: genetic diversity among inbred lines. *Theor. Appl. Genet.* **95**: 400–407.
- Infante, D., L. E. Peraza, J. L. H. Herrera, G. O. González, M. L. Keb y M. L. Robert.** 1999. Assessing genetic diversity in natural and micropropagated populations of henequén (*Agave fourcroydes*) with AFLP. *In Vitro Cellular & Developmental Biology Animal* **35**(2): 40.
- Karp, A. and K. J. Edwards.** 1995. Techniques for the analysis, characterization and conservation of plant genetic resources, Molecular techniques in the analysis of the extent and distribution of genetic diversity. In: Ayad, W. G., T. Hodgkin, A. Jaradat and V. R. Rao (eds.), 1997. *Molecular genetic techniques for plant genetic resources*. IPGR, Rome Italy, 137 pp.

- Lombard, V., C. P. Baril, P. Dubreuil, F. Blouet and D. Zhang.** 2000. Genetic relationship and fingerprinting of rapeseed cultivars by AFLP: Consequences for varietal registration. *Crop Sci.* **40**: 1417–1425.
- Mackill, D. J., Z. Zhang, E. D. Redoña and P. M. Colowit.** 1996. Level of polymorphism and genetic mapping of AFLP markers in rice. *Genome* **39**: 969–977.
- Martínez-Palacios, A., L. E. Eguiarte and G. R. Furnier.** 1999. Genetic diversity of the endangred endemic *Agave victoriae-reginae* (Agavaceae) in the chihuahuan desert. *Am. J. Bot.* **86**(8): 1093–1098.
- Ojeda L. R. y B. Ludlow-Wiechers.** 1994. *Palinología de Agavaceae: Una contribución biosistemática.* Primer Simposio Internacional sobre Agavaceas, UNAM, México.
- Paran, I., Ester Aftergoot & Chen Shifris.** 1998. Variation in *Capsicum annum* revealed by RAPD and AFLP markers. *Euphytica* **99**: 167–173.
- Peniche, R.** 1985. Evolución histórica de la producción de henequén en Yucatán. En: C. Cruz, L. del Castillo, M. Robert, y R. N. Ordoza (eds), *Biología y aprovechamiento integral del henequén y otros agaves.* Centro de Investigación Científica de Yucatán, A. C. Mérida, Yucatán.
- Petroff, G.** 1985. Utilisation papetiere du sisal. En: C. Cruz, L. del Castillo, M. Robert, y R. N. Ordoza (eds), *Biología y aprovechamiento integral del henequén y otros agaves.* Centro de Investigación Científica de Yucatán, A. C. Mérida, Yucatán.
- Phang, L. J., R. Kiew, A. Kee, L. Huat G., and Y. Gan.** 1999. Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) Provides Molecular Markers for the Identification of *Caladium bicolor* Cultivars. *Annals of Botany* **84**: 155–161.
- Phang, L. J., R. Kiew, O. Set, L. Huat G., and Y. Gan.** 2000. Amplified Length Polymorphism fingerprinting of 16 banana cultivars (*Musa* cvs.). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **17**(3): 360–366.
- Pillay, M. and G. O. Myers.** 1999. Genetic Diversity in Cotton Assessed by Variation in Ribosomal RNA Genes and AFLP Markers. *Crop Sci.* **39**: 1881–1886.
- Qi, X. and P. Lindhout.** 1997. Development of AFLP markers in barley. *Mol. Gen. Genet.* **254**: 330–336.
- Rafalski, J. A., J. M. Voguel, M. Morgante, W. Powell, C. Andre, and S. V. Tingey.** 1996. Generating and using DNA markers in plants. In: Birren B. and Lai E., *Non mammalian genomic analysis.* Academic press, 75–133.
- Roldán-Ruiz, E. Calsyn, T. J. Gilliland, R. Coll, M. J. T. van Ejik & M. De Loose.** 2000. Estimating genetic conformity between related ryegrass (*Lolium*) varieties 2. AFLP characterization. *Molecular breeding* **6**: 593–602.
- Roldán-Ruiz, J. Dendauw, E. Van Bockstaele, A. Depicker and M. De Loose.** 2000. AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium* spp.). *Molecular breeding* **6**: 125–134.
- Roupe, Van der Voort J. N., P. Van Zandvoort, H. J. Van Eck, R. T. Folkertsma, R. C. B. Hutten, J. Draaistra, F. J. Gommers, E. Jacobsen, J. Helder, J. Bakker.** 1997. Use of allele specificity of comigrating AFLP markers to align genetic maps from different potato genotypes. *Mol. Gen. Genet.* **255**: 438–447.
- Schmidt, K. & Kai Jensen.** 2000. Genetic structure and AFLP variation of remnant populations in the rare plant *Pedicularis palustris* (Scrophulariaceae) and its relation to population size and reproductive components. *Am. J. Bot.* **87**: 678–689.
- Sharma, A. K. & C. V. Bahattachryya.** 1962. A cytological study of the factors influencing evolution in agave. *La Cellule* **62**: 259–279.
- Standley, P. C.** 1923. Trees and shrubs of Mexico. *Contributions of the U. S. National Herbarium* **23**(3): 1645–1646.
- Twyman, R. M.** 1998. *Advanced Molecular Biology.* Bios Scientific Publishers, New York, 499 pp.
- Valenzuela, Z.** 1994. *El agave tequilero su cultivo e industria.* ed. Litteris, Monsanto, México, 240 pp.
- Vendrame, W. A., G. Kochert, H. Y. Wetzstein.** 1999. AFLP analysis of variation in pecan somatic embryos. *Plant Cell Reports* **18**: 853–857.
- Villalvazo, J., F. Ramírez y K. A. Grellmann.** 1985. Estudios técnicos y económicos para la instalación de una planta de celulosa y papel a partir del henequén, en el estado de Yucatán. En: C. Cruz, L. del Castillo, M. Robert, y R. N. Ordoza (eds), *Biología y aprovechamiento integral del henequén y otros agaves.* Centro de Investigación Científica de Yucatán, A. C. Mérida, Yucatán.

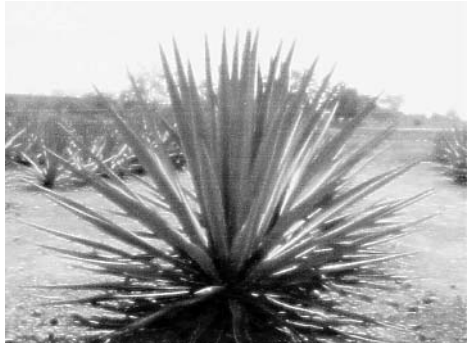
- Villavicencio, M. A. y B. Pérez E.** 1994. *Tipos de fruto de Yucca filifera y formas asociadas de Tegeticula yuccasella (Lepidoptera)*. Primer Simposio Internacional sobre Agavaceas, UNAM, México.
- Vos, P. & M. Kuiper.** 1998. AFLP analysis. En: Caetano-Anollés G. y Gresshoff P. M., *DNA markers protocols, applications, and overviews*. Editorial Wiley-Vch, New York, 364 pp.
- Vos, P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T. Van de Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper and Marc Zabeau.** 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* **23**(21): 4407-4414.
- Williams, J. G., A. R. Kubelik, K. J. Livak, J. A. Rafalski and S. V. Tingey.** 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research* **18**(22) 6531-6535.
- Zhi-yong, L., Z. Gang, Z. Si-qing, Ch. Xiang-hui, L. Jian-qing & H. Wei-xin.** 2000. Construction of genomic DNA fingerprinting in *Panax ginseng* and *P. quinquefolium* by AFLP. *Yaoxue Xuebao* **35**(8): 626-629.

Anexo

Especies y variedades utilizadas



Fotografía 1. *Agave tequilana* Weber var. Azul, Jardín Botánico UNAM.



Fotografía 2. *Agave tequilana* Weber var. Azul, CRT.



Fotografía 3. *Agave tequilana* Weber var. Azul listado, CRT.



Fotografía 4. *Agave tequilana* Weber var. Moraleño, Jardín Botánico UNAM.



Fotografía 5. *Agave tequilana* Weber var. Moraleño, CRT.



Fotografía 6. *Agave tequilana* Weber var. Xigüin, Jardín Botánico UNAM.



Fotografía 7. *Agave tequilana* Weber var. Xigüin, CRT.



Fotografía 8. *Agave tequilana* Weber var. Chato, CRT.



Fotografía 9. *Agave angustifolia* Haw., Jardín Botánico UNAM.



Fotografía 10. *Agave angustifolia* Haw., Jardín Botánico UNAM.



Fotografía 11. *Agave potatorum* Zucc., (5804), Jardín Botánico UNAM.



Fotografía 12. *Agave potatorum* Zucc., (6664), Jardín Botánico UNAM.



Fotografía 13. *Agave karwinskii* Zucc., Jardín Botánico UNAM.



Fotografía 14. *Agave sisalana*, Jardín Botánico UNAM.



Fotografía 15. *Agave salmiana* Otto ex Salm., Jardín Botánico UNAM.



Fotografía 16. *Agave americana* L. var. Americana, Jardín Botánico UNAM.



Fotografía 17. *Agave americana* L. var. *Marginata*, Jardín Botánico UNAM.



Fotografía 18. *Agave americana* L. var. *Variegata*, CRT.



Fotografía 19. *Agave americana* L. var. *Espansa*, CRT.

Aceptado el 11 de septiembre de 2006

Diagnóstico sobre la producción de frijol y problemas asociados en el área de Colotlán, Jalisco, México

Rogelio Lépiz Ildelfonso¹, J. Eleazar Sánchez Valenzuela², Juan Francisco Casas Salas¹
y Santiago Sánchez Preciado¹

¹Profesores Investigadores, CUCBA, UDG. ²Profesor de Carrera, Preparatoria No.7, SEMS, UDG.

Resumen: En la región de Colotlán, Jalisco, ubicada en el norte del estado, durante el ciclo de Primavera-Verano de 2001 se realizó una encuesta para conocer el sistema de producción de frijol y los problemas asociados de orden climático, tecnológico y socioeconómico. En el diseño de la encuesta se tomaron en cuenta las experiencias y metodologías seguidas en trabajos similares. El cuestionario incluyó 22 preguntas sobre los aspectos básicos del sistema de producción y sus problemas asociados, cada pregunta con incisos para desglosar la información en sus componentes importantes. Considerando la información previa y la poca superficie sembrada de frijol en la región, se consideró suficiente aplicar 20 cuestionarios para complementar la información requerida. Los resultados mostraron que el sistema de producción de frijol es mayormente mecanizado, de pequeños productores con superficie promedio de una hectárea, bajo condiciones de temporal, con siembra de variedades locales y bajas densidades de población, aplicación generalizada de fertilizante en la primera escarda, poco uso de pesticidas (herbicidas, insecticidas), bajos rendimientos y de alto riesgo por problemas de sequía, granizadas y daño de plagas. Además, los productores enfatizaron que los precios bajos y la falta de mercados, desestimulan el cultivo del frijol. Se espera que la información que se proporciona en este documento pueda ser útil para implementar medidas que apoyen a incrementar la producción de frijol en la región de Colotlán, por tradición marginada.

Palabras clave: Frijol, diagnóstico, sistema de producción.

Abstract: In 2001 a survey was conducted to determinate the factors affecting bean production in Colotlán, located in northern Jalisco. The study was designed on the basis of other similar surveys dealing with climatic, technological and socioeconomic problems related to agricultural harvests. A questionnaire including 22 questions regarding the basic aspects on bean production was designed and distributed to only 20 farmers, considering the limited area which is sown with beans there and present knowledge about local farming traditions. The results indicated that production is mechanized but small scale with most fields less than one hectare in size. Local varieties of beans are sparsely sown and then fertilized after the first weeding. Little use of pesticides (herbicides and insecticides) is practiced and the harvests reflect yearly local weather conditions which may mean low yields due to drought, hailstorms or insects infestations. The farmers also indicated that low prices and the lack of markets reduce incentives for sowing this crop. It is hoped that this information can implement measures for improving bean production in this remote region.

Introducción

De acuerdo con el INEGI (2001), en la década de los 90's se cosechó en México un promedio anual de 1'190,100 toneladas de frijol, hubo una demanda de 1'254,000 toneladas y se registró una importación de

72,900 toneladas anuales para cubrir las necesidades nacionales de este grano básico. En la región Occidente de México comprendida por los estados de Jalisco, Michoacán, Colima y Nayarit, en 1999 se

cosecharon 108,990 hectáreas de frijol, con una producción de 115,764 toneladas y un rendimiento unitario de 1,062 kg/ha (SAGARPA 2001). No obstante que el Occidente de México aporta actualmente el 9.7% de la producción nacional, en años pasados la aportación fue significativamente mayor. Por ejemplo, en estados como Jalisco en 1966 se cosecharon 480,000 ha de frijol (21% del total nacional), con una producción de 147,104 toneladas (15% del total nacional) (SAGAR, Jalisco 2000); en los tiempos actuales (1999), Jalisco apenas produce 20,235 toneladas (2% del total nacional) y registra un déficit de 40,000 toneladas anuales para cubrir sus propias necesidades (figuras 1 y 2).

Los cambios significativos ocurridos en la superficie cultivada de frijol en Jalisco (reducción del 93%), fueron motivados principalmente por factores tecnológicos y socioeconómicos. En maíz, cultivo con que se asociaba el frijol en 91%, actualmente se usan altas densidades de población, se emplean herbicidas no selectivos para frijol y se utiliza maquinaria en las labores agrícolas, incluyendo la cosecha; estos componentes tecnológicos, eliminaron al

frijol del sistema. Por otro lado, el sistema asociado y no obstante que es más eficiente en el uso del recurso suelo (Lépiz 1974), requiere de mayor número de jornales; en los tiempos presentes en la región occidente, no hay mano de obra disponible en el medio rural o ésta es muy cara.

En Jalisco se cultivan varios tipos o clases comerciales de frijol. Destacan los tipos flor de mayo, flor de junio, pintos y bayos en las regiones conocidas como seca y semiseca de Los Altos y Norte, regiones que en conjunto cosechan el 44.7% de la superficie de frijol en Jalisco. Todas estas clases de frijol, son de demanda local, regional, estatal y nacional. También en Los Altos, en la región húmeda, destaca Garbancillo Zarco, principal clase comercial de frijol trepador de alta calidad culinaria y sobrepeso en el mercado, que se siembra en asociación con maíz; este tipo de frijol sólo tiene demanda a nivel de estado. Es importante señalar que además de los tipos de frijol señalados, los consumidores de Jalisco incluyen otras clases comerciales de frijol; el orden de preferencia es el siguiente: peruanos, flor de junio, flor de mayo, bayos, blancos y negros.

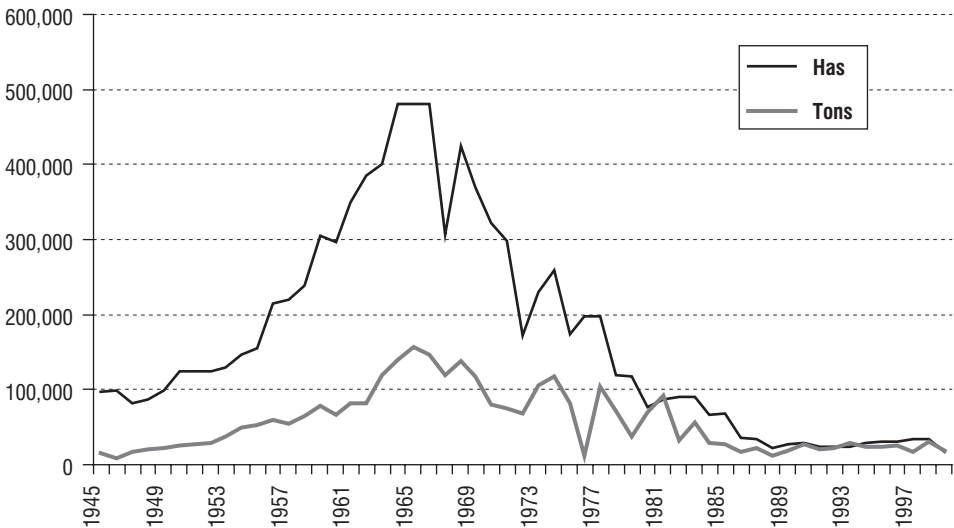


Figura 1. Superficie cosechada y producción de frijol en Jalisco de 1945 a 1999. SAGAR, Jalisco 2000.

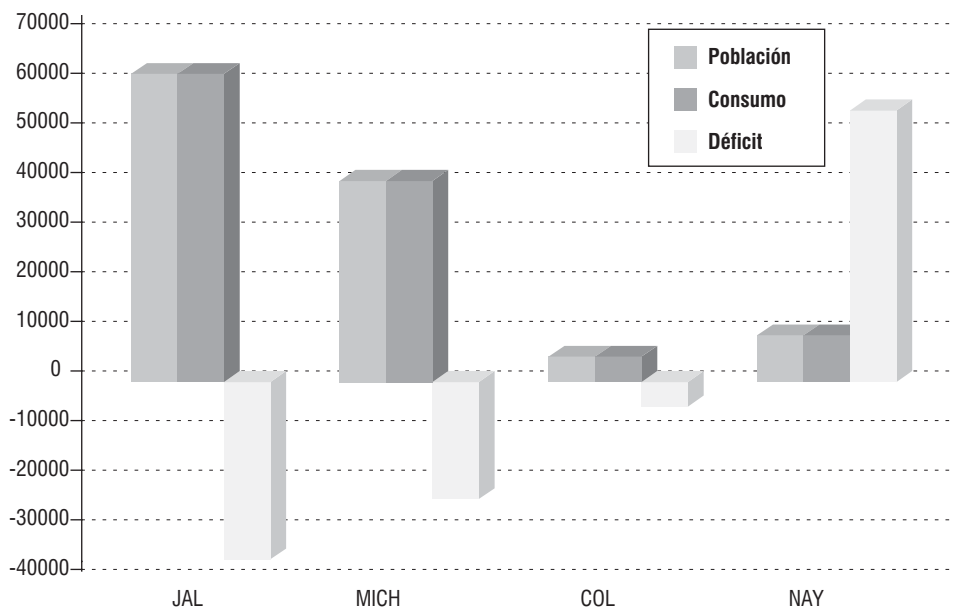


Figura 2. Población (cientos), consumo (ton) y déficit (ton) de frijol en el Occidente de México. Año 1997. Grafica con datos de INEGI 1999.

En la región de Los Altos y Norte donde se siembra actualmente la mayor superficie de frijol, se identifican tres subregiones climáticas: seca (menos de 500 mm), semiseca (500 a 700 mm) y húmeda (700 a 850 mm de precipitación anual). En la subregión seca que comprende los municipios de Ojuelos, Lagos de Moreno, Encarnación de Díaz y Villa Hidalgo, se siembra la mayor superficie de frijol en unicultivo (17,333 ha; INEGI 2001), bajo condiciones de escasa precipitación y suelos delgados. El factor que más afecta los rendimientos de frijol (350 kg/ha), es la sequía; también se presentan problemas de enfermedades (bacteriosis común, roya y pudriciones radicales) y ocasionalmente pueden ocurrir heladas tempranas.

En la subregión semiseca de Los Altos comprendida principalmente por los municipios de Teocaltiche, Mexxicacán y Yahualica, con una superficie de 3,788 ha de frijol en unicultivo, además de tener problemas de sequía por lo limitado de la precipitación, de suelos delgados y de baja fertilidad, existen problemas de enfermedades

(antracnosis, roya, mancha angular y bacteriosis común). Adicionalmente, se mencionan problemas con baja densidad de población, inadecuada fertilización y daño de plagas. En esta subregión se cultiva un poco de frijol trepador, en asociación con maíz.

Por lo que toca a la región semiseca de Colotlán ubicada al norte del estado y constituida por los municipios de Bolaños, Colotlán, Chimaltitán, Huejucar, Huejuquilla, Mezquitic Totatiche y Villaguerrero, el frijol se cosecha en 445 ha con rendimientos medios de 585 kg/ha y una producción total de 262 toneladas anuales. Para una población de alrededor de 40,000 habitantes, la producción es insuficiente, trayendo los faltantes de los municipios vecinos de Zacatecas. Por lo que se sabe, el frijol en esta región semiárida, además de la falta de agua por lluvias escasas e irregulares, se tienen problemas de suelos pobres, daños fuertes de plagas, se utilizan variedades locales para siembra, bajos precios de frijol, así como falta de capital. Esta región del estado, se ha distinguido por el abandono

en los diferentes aspectos que tienen que ver con el desarrollo tecnológico, económico y social.

Considerando lo limitado de la información sobre los sistemas de producción de frijol en el área de Colotlán, el conocimiento deficiente de los problemas asociados relacionados con la baja productividad y la carencia de recomendaciones técnicas para mejorar los niveles de productividad del cultivo, se decidió ampliar este conocimiento a través de una encuesta aplicada a productores que han sembrado frijol por lo menos una vez en los últimos cinco años. La encuesta incluyó preguntas sobre factores climatológicos, edáficos, bióticos y socioeconómicos, con la intención de tener un mayor sustento para definir en forma apropiada y pertinente aquellas limitantes susceptibles de ser modificadas, orientadas a mejorar la eficiencia productiva a través de componentes tecnológicos desarrollados o por desarrollar.

Metodología del diagnóstico

En la planeación del diagnóstico sobre los diferentes aspectos de la producción de frijol en el municipio de Colotlán, se hizo necesario recurrir a las recomendaciones hechas por Ramírez (1983), Alvarez (1984), González (1985), Turrent (1985), Ruiz y Pachico (1991) y González (1997), investigadores que señalan una serie de pasos a seguir en el proceso para la realización de una encuesta sobre los sistemas de producción en general y en particular de un cultivo como frijol.

IDENTIFICACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

En la selección del área de Colotlán como zona de estudio, además de haber tomado en cuenta la importancia del cultivo de frijol para conocer el sistema y sus limitantes de producción como base para mejorar los rendimientos y aumentar la producción de la leguminosa en esta región del estado, se consideraron los aspectos económicos, sociales y culturales tradicionalmente poco

atendidos. Igualmente se consideró el impacto potencial que se puede alcanzar al desarrollar y promover nuevas tecnologías, así como la posibilidad de mejorar los ingresos de sus habitantes, aumentar el consumo rural y mejorar la eficiencia en el uso de los recursos de los productores.

EVALUACIÓN DEL GRADO DE CONOCIMIENTOS SOBRE LAS CIRCUNSTANCIAS DE LA PRODUCCIÓN DE FRIJOL EN EL ÁREA DE ESTUDIO

Fue necesario realizar un recorrido preliminar por la región para tener información general sobre el cultivo de frijol y de las circunstancias bajo las cuales se desarrolla por los productores. En este contexto ayudaron mucho las encuestas previas de tipo informal realizadas en la misma región por los autores, en años previos. El desplazamiento y encuentro con los productores incluyó la aplicación de un sondeo a través de charlas informales con algunos agricultores frijoleros, información que ayudó a definir los puntos que deberían ser tomados en cuenta en la encuesta formal que se diseñó y aplicó posteriormente.

La literatura recomienda que además de describir los sistemas de producción y sus problemas asociados, es muy importante conocer los conceptos del agricultor, porque es parte del proceso de entender su lógica y las restricciones que enfrenta. Por ejemplo, en ocasiones los pequeños agricultores realizan controles de maleza insuficientes y el frijol debe competir con ellas. Ensayar los deshierbes como una opción tecnológica sería aparentemente adecuado; no obstante en muchos casos las malezas no se destruyen porque son usadas para alimentar los animales de corral durante el temporal o para pastorear el ganado cuando se ha cosechado el cultivo.

DEFINICIÓN DE LA HERRAMIENTA DE DIAGNÓSTICO

Una vez determinada la zona en estudio y habiendo logrado un conocimiento general de ella y de los problemas específicos a investigar sobre la producción del frijol, se

elaboró una lista de los puntos que deberían ser incluidos en una encuesta formal como herramienta del diagnóstico y sobre los cuales se debería recoger más información a través de un cuestionario.

DISEÑO DE LA ENCUESTA

Las encuestas son un método cuantitativo y exigen para su aplicación un nivel más desarrollado de la investigación en la que se hayan destacado las variantes más importantes. Plantea una secuencia de pasos que se consideran necesarios para alcanzar los objetivos del proyecto. Dicho diseño de la encuesta contempló los siguientes aspectos:

- a) Organización de las preguntas;
- b) Tipos de preguntas;
- c) Sistemas de obtención de la información.

Esta información se consideró útil para definir los problemas e identificar posibles alternativas tecnológicas que permitan superar los efectos de los principales factores de la producción y aumentar los ingresos de los productores. Para este propósito se consideró pertinente emplear como instrumento recolector de información la encuesta, ya que permite capturar, sistematizar y analizar los datos en forma sencilla, económica y oportuna; en este sentido se plantearon preguntas sencillas para facilitar su aplicación y método de análisis. La estructura de la encuesta se inició obteniendo información sobre el productor, sobre el terreno de siembra, sobre el cultivo y sobre los problemas que considera el agricultor de más importancia relacionados con el cultivo del frijol.

PRUEBA DE LA ENCUESTA

La prueba de la encuesta es un proceso fundamental en el desarrollo de un instrumento de captura de datos. El cuestionario debería reunir características de generalidad, rapidez, consistencia y claridad al ser aplicado en las diferentes comunidades de la región de Colotlán. Para la presente investigación se realizó la prueba de la

encuesta realizando 5 entrevistas, donde se evaluó su desempeño considerando la duración en tiempo, la claridad, consistencia y lógica de las preguntas, así como la secuencia de las mismas. Después de este proceso, se realizaron los ajustes que se identificaron como necesarios.

POBLACIÓN Y SELECCIÓN DE LA MUESTRA

Se decidió aplicar la encuesta a productores que siembran o han sembrado frijol por lo menos una vez en los últimos cinco años. Para la selección de los agricultores a ser encuestados, fue necesario conocer el número de comunidades con siembras de frijol principalmente en el municipio de Colotlán. Además de lo anterior, para definir el número de productores a entrevistar, se tomó en cuenta la información obtenida en encuestas realizadas durante 1994 en la misma región, por los autores de la investigación. Por todo lo anterior, se consideró suficiente aplicar 20 cuestionarios para complementar la información requerida en las comunidades con mayor área de frijol en la región de Colotlán.

ANÁLISIS Y ELABORACIÓN DEL DIAGNÓSTICO

Al finalizar el proceso de levantamiento de la información, se procedió a analizar los datos y elaborar un diagnóstico de la producción en base a frecuencias y/o porcentajes de las respuestas obtenidas. Los resultados de la encuesta y el conocimiento de los factores limitantes de la producción de frijol señalados por los productores en Colotlán, Jalisco, se espera sirvan para definir los factores de la producción posibles de mejorar en trabajos de investigación o de transferencia tecnológica futuros.

Resultados y discusión

La encuesta aplicada y los resultados numéricos obtenidos, se incluyen en el Apéndice 1. En el capítulo presente, se resumen y discuten los resultados más relevantes en los diferentes aspectos considerados. En el área de Colotlán,

Jalisco, la mayor parte de los terrenos dedicados a los cultivos son pequeña propiedad (70%); los productores manejan desde 2 hasta 20 hectáreas de siembra, registrándose una frecuencia ligeramente mayor de agricultores con 4 a 7 hectáreas de cultivo. De frijol, el 75% de los encuestados siembran entre 0.5 y 1.0 hectáreas, en suelos planos (70%), de profundidad y fertilidad intermedias (55% y 75%, respectivamente). Es decir, las siembras de frijol son de pequeños productores. El 35% de los entrevistados mencionaron problemas de erosión.

La preparación del suelo se realiza en los meses de enero a mayo, dando un paso de arado (70% de los casos) con maquinaria (100%) hasta antes de mayo y después un paso de rastra también con tractor (100%) entre abril y junio; el trazo de los surcos para siembra se hace con maquinaria (80%) y también con tracción animal (20%) a una separación de 70 a 75 cm, en el 70% de los casos. Esta parte de la información obtenida revela el uso generalizado de maquinaria en la preparación del suelo y que la gran mayoría de los productores realizan un paso de arado y un paso de rastra entre los meses de enero a junio, previos a la siembra.

Las variedades de frijol utilizadas con mayor frecuencia, son Bayo (75%), Flor de Mayo (50%), Pinto Texano (45%), Ojo de Liebre (40%) y Flor de Junio (25%), todas bajo el sistema de producción en unicultivo (100%). El porcentaje total de tipos comerciales de frijol es mayor al 100%, porque un agricultor puede sembrar más de una variedad. Los datos muestran preferencia de los productores por sembrar variedades de frijol de las clases comerciales bayo, flor de mayo y pinto.

Según la encuesta practicada, el 75% de los productores de frijol utilizan de 20 a 30 kg de semilla para sembrar una hectárea, el 91% de agricultores hace la siembra con una densidad de 7 a 10 semillas/metro y el 75% de ellos realiza la siembra manual. De acuerdo con esta información y los resultados experimen-

tales obtenidos en regiones similares (Lépiz y Crispín 1973; Lépiz et al. 1984; Alemán y Núñez 1996; Ibarra y Castillo 2000), las densidades utilizadas en Colotlán están un 30% por debajo de lo recomendado, tanto en semilla por hectárea, como en semillas por metro lineal de siembra.

El 100% de los productores utiliza fertilizantes y el 85% los aplica durante la primera escarda. Los productos fertilizantes más utilizados son la fórmula 18-46-00 (33%, de 50 a 300 kg/ha), superfosfato triple de calcio con nitrato de amonio (37% de los productores, de 300 a 400 kg/ha), superfosfato triple con urea (7.4%, entre 200 a 300 kg/ha) y urea (11%, de 50 a 100 kg/ha); muy pocas ocasiones utilizan abonos de corral y fertilizantes foliares. La información proporcionada por los productores sobre el uso de fertilizantes, evidencia el uso común de este insumo en las siembras de frijol y también que en muchos de los casos se está aplicando una dosis mayor al tratamiento general recomendado para temporal, de entre 30-30-00 a 40-40-00 kg de N, P₂O₅ y K₂O, respectivamente (Lépiz y Crispín 1973; Alemán y Núñez 1996; Ibarra y Castillo 2000).

Los productores mencionaron que se presentan diferentes tipos de malezas, siendo de mayor presencia el lampotillo (*Helianthus* sp.) en 26%, seguido por la aceitilla (*Videns* sp.) con 25%, el quelite (*Amaranthus* sp.) en 20% y gramíneas. El 100% de los productores realiza escardas y deshierbas complementarios para el control de la maleza. Solamente llevan a cabo la primera escarda el 75% de agricultores y el 60% no realizan una segunda escarda. Únicamente el 20% de los productores han ensayado el control químico de la maleza. Los agricultores mencionaron que no utilizan herbicidas, debido a que no conocen el producto y la dosis que se debe aplicar; además expresaron que en el mercado solo encuentran herbicidas para control de malezas en maíz y avena. En todo caso, las malezas no parecen preocupar mucho a los productores y las controlan a través de escardas y deshierbas manuales.

Las plagas es uno de los principales problemas en el cultivo de frijol en el municipio en estudio. Los productores mencionaron tener problemas con diabrotica (*Diabrotica* spp.) (75%), conchuela (*Epilachna varivestis*) (75%) y chapulín (*Melanoplus* spp.) (65%); otras plagas mencionadas, fueron gallina ciega (*Phyllophaga* spp.), gusano peludo (*Estigmene* sp.) y jiquipil (*Epicauta* sp.). Entre el 45 y 55% realizaron combate químico para las plagas de importancia a base de Monocrotofos (Azodrin) y Paration (Folidol), siguiendo las instrucciones de la etiqueta. En todos los casos se realiza control manual, destacando el combate del chapulín (50%). La literatura menciona como plagas importantes del frijol a diabrotica y conchuela y en muy pocas ocasiones al chapulín (López y Crispín 1973; Alemán y Núñez 1996).

El cultivo de frijol es afectado por enfermedades pero no de la misma manera como lo hacen las plagas. Entre las enfermedades que se presentan en el área de estudio se mencionaron: roya (*Uromyces appendiculatus*) en 46.9%, seguida por antracnosis (*Colletotrichum lindemuthianum*) con 31.2% y bacteriosis común (*Xanthomonas campestris* pv *phaseoli*) con 21.1%. Las enfermedades no se controlan, posiblemente porque el problema no es grave y el agricultor perciba poco daño por este concepto.

La cosecha se realiza manualmente debido a la poca superficie sembrada por los agricultores y por carencia de maquinaria para este propósito en la región. El arranque se efectúa en el mes de noviembre, cuando el frijol se encuentra maduro; es decir, cuando el follaje es amarillo y escaso y la planta inicia su secado; para llevar a cabo la trilla no existe una fecha determinada, pudiendo ser inmediatamente o algunos días después; la limpieza se efectúa una vez realizada la trilla. El 75% de los productores afirmaron cosechar de 500 a 1000 kg/ha y el 20% obtiene de 200 a 500 kg/ha. De acuerdo con la información proporcionada, el

rendimiento podría mejorarse en relación al promedio estatal de 1200 kg/ha (López et al. 2000). El 79.5% de la cosecha se destina a la venta y el 18% para consumo de la familia. Solamente el 2.5% de semilla se guarda para sembrar el siguiente ciclo agrícola, habiendo productores (55%) que no guardan este insumo básico. Según la información obtenida, la mayor parte de la cosecha se destina para tener ingresos económicos, sin descuidar la parte de autoconsumo.

Por lo que respecta al número de jornales utilizados en las diferentes labores del cultivo, la información obtenida en este rubro no permite hacer un desagregado claro del número de jornales en cada actividad. En las labores de siembra y fertilización, se utilizan desde 1 hasta 4 jornales; en deshierbas se utiliza mucha mano de obra, pues el 60% de los entrevistados utilizan de 10 a 15 jornales por hectárea. En el arrancado, el 60% utiliza de 1 a 3 jornales. La encuesta no permitió separar los jornales contratados y los jornales realizados por la familia. Esta parte de la encuesta revela que las deshierbas son una actividad importante, aunque los productores no las perciban como problema.

En relación a las razones por las cuales se siembra poca superficie de frijol por agricultor, se encontraron los siguientes resultados: a) por problemas de plagas (75%); b) por precios bajos del frijol y falta de mercado (60%); c) por ocurrencia de granizadas (50%); d) por muchos riesgos (sequías, plagas, granizo) (20%); e) requieren pastura (maíz) para el ganado (15%). Otras causas mencionadas con menor frecuencia fueron: falta de maquinaria, falta de terreno, desconocimiento de un manejo adecuado, escasez de insumos, etc. En este apartado es importante señalar el temor de los productores por las plagas y las granizadas, mas que la sequía. Igualmente como acontece en otras regiones del país, los agricultores tienen problemas con la venta del frijol y sus precios bajos.

Conclusiones

El sistema de producción de frijol en la región de Colotlán, Jalisco, es de unicultivo mayormente mecanizado, de pequeños productores con superficie promedio no mayores a una hectárea, bajo condiciones de temporal, con siembra de variedades locales y bajas densidades de población, aplicación generalizada de fertilizante en la primera escarda, poco uso de pesticidas (herbicidas, insecticidas), bajos rendimientos y de alto riesgo por problemas de sequía, granizadas y daño de plagas. La cosecha es principalmente para venta, pero también de autoconsumo.

La información recabada a través de la encuesta permite señalar como problemas principales del cultivo, el daño de plagas (diabrotica, conchuela y chapulín, principalmente), la irregularidad de las lluvias y ocurrencia de granizadas, suelos delgados, algunos erosionados y de baja fertilidad, precios bajos del frijol, altos costos de insumos y falta de mercado. Aunque el combate de maleza no fue percibido como un problema, los jornales utilizados en esta labor, la ubican como la actividad más costosa del cultivo. De manera similar, fue evidente el desconocimiento y no utilización de variedades mejoradas, así como las bajas densidades de siembra (20 a 30 kg/ha) para obtener una mayor cosecha. Los productores de frijol saben que bajo las circunstancias descritas, el frijol es un cultivo de alto riesgo.

Desde el punto de vista tecnológico, los factores de la producción factibles de intervención buscando su mejoría para una mayor producción, destacan el mal uso de los fertilizantes (productos, dosis y épocas de aplicación muy variables), el deficiente control de plagas (desconocimiento de productos, dosis y épocas de aplicación) y el control de la maleza. Adicionalmente, fue evidente el desconocimiento y no utilización de variedades mejoradas, así como las bajas densidades de siembra (20 a 30 kg/ha) para obtener una mayor cosecha. Se

espera que los problemas señalados factibles de intervención tecnológica, sean abordados a través de trabajos de investigación o de transferencia tecnológica en un futuro cercano.

Literatura citada

- Alvarez, G. E.** 1984. *Investigación y descripción de los sistemas de producción agrícola en el municipio de Cocula, Jalisco*. Tesis Profesional, Escuela de Agricultura. Universidad de Guadalajara.
- Alemán M., V. y S. Núñez G.** 1996. Guía para producir frijol en los Altos y Centro de Jalisco En: INIFAP. *Folleto Técnico No. 2*. Investigadores del CEAJAL, CIRPAC, INIFAP, SAGAR. Campo Experimental Altos de Jalisco. Tepatitlán, Jalisco México.
- González E., A.** 1985. *Principios lógicos, metodológicos y teóricos para la clasificación de los sistemas agrícolas*. SARH, INIFAP. Red de Investigación en Socioeconomía. Universidad Autónoma de Chapingo, México.
- González A., A.** 1997. *La tipificación de productores como un instrumento de apoyo a la transferencia de tecnología para maíz en Jalisco*. Tesis profesional. CUCBA. Coordinación de Postgrado. División de Ciencias Agronómicas. Universidad de Guadalajara.
- INEGI.** 2001. *Situación actual y perspectiva de la producción de frijol en México 1990 - 2000*. CEA, INEGI, SAGARPA, México, D. F.
- Ibarra P., F. y A. Castillo R.** 2000. *Cómo producir frijol de temporal*. En: INIFAP. *Tecnología para aumentar la productividad del frijol en Durango*. Publicación Especial No. 12. CIRNC - INIFAP. Durango, México. pp. 8-10.
- Lépiz Ildefonso, R.** 1974. *Asociación de cultivos Maíz-Frijol*. Folleto Técnico No. 58. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. SAG, México. 47 pp.
- Lépiz Ildefonso, R. y A. Crispín M.** 1973. *El cultivo del Frijol en México*. Folleto de Divulgación No. 47. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. SAG, México. 22 pp.
- Lépiz Ildefonso, R., V. Alemán y A. Campos.** 1984. *Bayomex, Alubia Chico, Bayo Zacatecas, Bayo Alteño, nuevas variedades de frijol para los Altos de Jalisco*. Folleto Técnico No. 1. INIFAP. Campo

- Agrícola Experimental. Altos de Jalisco. Tepatitlán, Jalisco, México. 13 pp.
- Lépez Ildefonso, R., E. López Alcocer, S. Núñez, I. J. González, L. A. Ledesma y S. Herrera.** 2000. *Perspectiva del frijol en el Occidente de México*. Universidad de Guadalajara e Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Informe. 40 pp.
- Ramírez L., A.** 1983. *Descripción de los sistemas de producción agrícola en el municipio de Zapopan, Jalisco*. Tesis profesional. Escuela de Agricultura, Universidad de Guadalajara.
- Ruiz, N. y D. Pachico.** 1991. Metodología del Diagnóstico de la Producción de Frijol. In: *Frijol: Investigación y producción*. López, M., F. Fernández y A. van Schoonhoven (eds). CIAT. Cali, Colombia. pp. 371-382.
- SAGARPA.** 2001. *Anuario Estadístico de la Producción Agrícola de los Estados Unidos Mexicanos 1999*. Por Cultivo. 765 p.
- Turrent F., A.** 1985. *El agrosistema, un concepto útil en la disciplina de productividad*. C. P. Chapingo, México.

Apéndice 1

Resultados del cuestionario aplicado

1. EL PRODUCTOR.

1.1 Lugares:

LUGARES	PRODUCTORES	PORCENTAJE (%)
San Antonio de Lajas	7	35.0
San Pedro	3	15.0
El Hepazote	5	25.0
El Zapote de Arriba	1	5.0
Casa Llanta	1	5.0
Boquilla de Pérez	1	5.0
El Sauz Tostado	1	5.0
La Laguna	1	5.0

1.2 Tenencia de la tierra:

TIPO DE PROPIEDAD	PRODUCTORES	PORCENTAJE (%)
Ejidal	6	30.0
Pequeña propiedad	14	70.0

1.3 Area sembrada incluyendo todos los cultivos:

SUPERFICIE SEMBRADA	PRODUCTORES	PORCENTAJE (%)
2.0 has.	1	5.0
4.0 has.	3	15.0
5.0 has.	2	10.0
6.0 has.	1	5.0
7.0 has.	2	10.0
8.5 has.	1	5.0
10.0 has.	1	5.0

11.0 has.	1	5.0
12.0 has.	2	10.0
13.0 has.	1	5.0
15.0 has.	1	5.0
16.0 has.	1	5.0
18.0 has.	1	5.0
20.0 has.	2	10.0

2. EL TERRENO DE SIEMBRA DE FRIJOL.

2.1 Superficie que siembra o ha sembrado de frijol:

SUPERFICIE SEMBRADA	PRODUCTORES	PORCENTAJE (%)
0.5 has.	8	40.0
1.0 has.	7	35.0
2.0 has.	3	15.0
3.0 has.	2	10.0

2.2 Tipo de suelo:

TIPO DE SUELO	PRODUCTORES	PORCENTAJE (%)
Plano	14	70.0
Ondulado	0	0.0
Con pendiente	6	30.0

TIPO DE SUELO	PRODUCTORES	PORCENTAJE (%)
Delgado	6	30.0
Intermedio	11	55.0
Profundo	3	15.0

TIPO DE SUELO	PRODUCTORES	PORCENTAJE (%)
Pobre	2	10.0
Intermedio	15	75.0
Fértil	3	15.0

2.3 Problemas del suelo:

TIPO DE SUELO	PRODUCTORES	PORCENTAJE (%)
Muy pobre	5	25.0
Erosionado	7	35.0
Salino	1	5.0
Drenaje	4	20.0
Exceso de piedra	3	15.0

3. EL CULTIVO

3.1 Tipos de frijol que siembra o ha sembrado el agricultor:

TIPOS DE FRIJOL	PRODUCTORES	PORCENTAJE (%)
Bayo	15	75.0
Pinto Texano	9	45.0

Negro	2	10.0
Flor de Mayo	10	50.0
Ojo de Liebre	8	40.0
Flor de Junio	5	25.0
Morado (Flor de Rosa)	1	5.0
Canario	2	10.0

3.2 Sistemas de cultivo de frijol:

SISTEMA DE CULTIVO	PRODUCTORES	PORCENTAJE (%)
Unicultivo	20	100.0
Asociado	0	0.0

3.3. Preparación del suelo:

PASO DE ARADO	EPOCAS	PRODUCTORES	PORCENTAJE (%)
	Enero	2	10.0
	Marzo	3	15.0
	Marzo - Abril	1	5.0
	Abril	7	35.0
	Mayo	1	5.0
No realizan el paso de arado		6	30.0
Utilizan maquinaria		14	100.0

PASO DE RASTRA	EPOCAS	PRODUCTORES	PORCENTAJE (%)
	Abril	2	10.0
	Mayo	13	65.0
	Junio	5	25.0
Utilizan maquinaria		20	100.0
Tracción animal		0	0.0

TRAZO DE SURCOS	EPOCAS	PRODUCTORES	PORCENTAJE (%)
	En la siembra	20	100.0
Utilizan maquinaria		16	80.0
Tracción animal		4	20.0

3.4 Método de siembra:

DISTANCIA ENTRE SURCO Y SURCO	PRODUCTORES	PORCENTAJE (%)
0.60 m.	1	5.0
0.65 m.	2	10.0
0.70 m.	6	30.0
0.75 m.	8	40.0
0.80 m.	3	15.0

SEMILLA / HA	PRODUCTORES	PORCENTAJE (%)
15 kg	3	15.0
20 kg	6	30.0
25 kg	2	10.0

30 kg	7	35.0
40 kg	2	10.0
SEMILLAS / M	PRODUCTORES	PORCENTAJE (%)
6	1	4.5
7	2	9.0
8	4	18.0
10	14	64.0
15	1	4.5
FORMA DE SEMBRAR	PRODUCTORES	PORCENTAJE (%)
Manual	15	75.0
Sembradora mecánica	5	25.0

3.5 Fertilización:

APLICAN FERTILIZANTE	PRODUCTORES	PORCENTAJE (%)
Si aplican.	20	100.0
No aplican	0	0.0

ETAPA	PRODUCTO	CANTIDAD (KG/HA)	PRODUCTORES	(%)
Siembra.	18 - 46 - 00	200	1	3.7
A las 2 semanas del nacimiento de la planta	18 - 46 - 00	200 - 300	2	7.4
Primer escarda	18 - 46 - 00	50 (1)	6	22.2
		150 (1)		
		50 (2)		
		300 (2)		
Primera escarda	Triple con Nitrato	300 - 400	10	37.0
Primera escarda	Urea.	50 - 100	3	11.1
Primera escarda	Sulfato de Amonio.	600	1	3.7
Primera escarda	Triple con Urea.	200 - 300	2	7.4
Primera escarda	Superfosfato Simple.	400	1	3.7
Floración	Foliar	1 litro/ha (2 veces)	1	3.7

3.5.1 Aplicación de abono de corral:

ETAPA	PRODUCTO	CANTIDAD (KG/HA)	PRODUCTORES	(%)
Antes de realizar la siembra	Abono de ganado bovino	No llevan control	2	10.0

3.6 Combate de malezas:

TIPOS DE MALEZA	PRODUCTORES	PORCENTAJE (%)
Aceitilla	15	25.0
Quelite	12	20.0
Lampotillo	16	26.0
Abrojo	6	10.0
Mancamula	2	3.0

Gordolobo	8	13.0
Mirasol	1	1.5
Liendrilla	1	1.5

3.6.1 Combate mecánico y/o manual:

a) Escarda(s):

PRIMERA FECHA	NACIMIENTO DE LA PLANTA	PRODUCTORES	(%)
	Primera escarda (tercera semana)	15	75.0
	No realizan escardas	2	10.0
Segunda fecha	Segunda escarda (quinta semana)	1	5.0
	Segunda escarda (séptima semana)	5	25.0
	No realizan la segunda escarda	12	60.0
	Son realizadas de acuerdo al inicio del temporal	3	15.0

b) Deshierbes manuales:

PRIMERA FECHA	ETAPAS	PRODUCTORES	(%)
	Primera escarda	8	28.5
Segunda fecha	Segunda escarda	10	36.0
	A inicios de la floración	2	7.0
	Se realizan cuando hay presencia de malezas	8	28.5

c) Combate químico:

CONTROL QUÍMICO	PRODUCTORES	PORCENTAJE (%)
Si lo realizan	4	20.0
No lo realizan	16	80.0

Pre-emergente:

PRODUCTO	CANTIDAD: LITROS/HA	PRODUCTORES	PORCENTAJE (%)
Dual	Un litro/ha.	1	5.0

3.7 Plagas que se presentan y combate:

NOMBRE DE LA PLAGA		PRODUCTORES	(%)
Diabrotica	Presencia de plaga en su cultivo de frijol	15	75.0
Si controlan		9	45.0
No controlan	En ocasiones realizan el control manualmente	6	30.0
Etapas:	Diferentes etapas de la planta (crecimiento, floración)	9	45.0
Producto:	Nuvacrón	6	30.0
Cantidad: (litros/ ha)	Uno	6	30.0
Producto:	Folidol	3	15.0
Cantidad: (litros/ha)	Uno	3	15.0
	Control manual	4	20.0

	Controlan la plaga, pero no recuerdan el nombre del producto.	2	10.0
NOMBRE DE LA PLAGA		PRODUCTORES	(%)
Conchuela	Presencia de plaga en su cultivo de frijol	13	65.0
Si controlan		9	45.0
No controlan	En ocasiones realizan el control manualmente	4	20.0
Etapas:	Diferentes etapas de la planta (crecimiento, floración)	9	45.0
Producto:	Nuvacrón	4	20.0
Cantidad (litros/ha).	Desconocen la dosis	4	20.0
Producto:	Folidol	3	15.0
Cantidad (litros/ha).	1 - 2.	4	20.0
	Control manual	1	5.0
	Controlan la plaga, pero no recuerdan el nombre del producto.	3	15.0

NOMBRE DE LA PLAGA		PRODUCTORES	(%)
Chapulín	Presencia de plaga en su cultivo de frijol	13	65.0
Si controlan		11	55.0
No controlan	En ocasiones realizan el control manualmente	4	20.0
Etapas:	Diferentes etapas de la planta (crecimiento, floración)	11	55.0
Producto:	Nuvacrón	1	5.0
	El control se realiza manualmente.	10	50.0
Gallina ciega	El control se realiza manualmente.	1	5.0
Gusano peludo	El control se realiza manualmente.	2	10.0

3.8 Enfermedades que se presentan en el cultivo de frijol (aunque no son controladas por los agricultores):

NOMBRE DE LA ENFERMEDAD	PRODUCTORES	PORCENTAJE (%)
Roya	15	46.9
Antracnosis	10	31.3
Bacteriosis	7	21.9
Otras	20	100.0

3.9 Cosecha (se realiza manualmente):

COSECHA	PRODUCTORES	PORCENTAJE (%)
a) Arranque: Se realiza en la última quincena del mes de noviembre, aunque depende mucho del tipo de frijol que se haya sembrado.	20	100.0
b) Etapas: Cuando el frijol se encuentra maduro, es decir cuando inicia a amarillarse y además empieza a secarse.	20	100.0
c) Trilla: No existe una fecha determinada.	20	100.0

d) Etapas: Esta actividad se realiza cuando el frijol se encuentra bien seco.	20	100.0
e) Limpieza: Se efectúa al realizar la trilla.	20	100.0

3.9.1 Cosecha de frijol obtenida:

RENDIMIENTO OBTENIDO (KG / HA).	PRODUCTORES	PORCENTAJE (%)
200	1	5.0
300	2	10.0
400	1	5.0
500	4	20.0
600	3	15.0
800	2	10.0
1000	6	30.0
1500	1	5.0

3.9.2 Uso de la cosecha (% ponderado):

VENTA (%)	CONSUMO (%)	SEMILLA (%)	PRODUCTORES	PORCENTAJE (%)
720.0	80.0	0.0	8	40.0
70.0	25.0	5.0	1	5.0
200.0	0.0	0.0	2	10.0
300.0	80.0	20.0	4	20.0
180.0	105.0	15.0	3	15.0
70.0	20.0	10.0	1	5.0
50.0	50.0	0.0	1	5.0
79.5%	18.0%	2.5%	20	100.0

3.10 Mano de obra (propia, no contratan):

LABOR DE CULTIVO	JORNALES / HA.	PRODUCTORES	PORCENTAJE (%)
Siembra:	1 - 2	9	45.0
	3 - 4	11	55.0
Fertilización:	1 - 2	10	50.0
	3 - 4	10	50.0
Deshierbes:	1 - 2	2	10.0
	5 - 8	6	30.0
	10 - 15	12	60.0
Aspersiones:	1 - 3	2	10.0
	No realizan esta labor	18	90.0
Arrancado:	1 - 3	12	60.0
	4 - 6	7	35.0
	12	1	5.0
Limpieza:	1	3	15.0
	2	9	45.0
	3	8	40.0

4. PROBLEMAS DEL FRIJOL.

4.1 Razones por las que el agricultor siembra poca superficie de frijol:

RAZONES QUE EXPUSO EL AGRICULTOR	PRODUCTORES	PORCENTAJE (%)
Mucha plaga.	15	75.0
Granizadas.	10	50.0
No es redituable.	1	5.0
Muchos riesgos (sequía, plagas, granizo).	4	20.0
Solo siembran para el consumo.	1	5.0
Precios bajos y falta de mercado.	12	60.0
Falta maquinaria para desgranar.	2	10.0
No hay mano de obra, además es muy cara.	1	5.0
Falta de terreno para realizar la siembra	2	10.0
Carencia de insumos.	1	5.0
Desconocimiento en sus labores.	2	10.0
Requieren pastura para el ganado (siembran maíz)	3	15.0
Falta de crédito.	1	5.0

4.2 Problemas principales para la producción de frijol en el municipio de Colotlán, Jalisco.

PROBLEMAS PRINCIPALES	PRODUCTORES	PORCENTAJE (%)
Lluvias muy irregulares, en ocasiones se presentan lluvias en exceso, muchas veces revocan el suelo y no permiten el nacimiento de la planta.	20	100.0
Los suelos son pobres en nutrientes, tienen poca profundidad, no retienen la humedad adecuada para el cultivo.	20	40.0
El precio del frijol es muy bajo, no hay mercado debido a la competencia, en ocasiones es fácil llevar a cabo la comercialización pero a muy bajo precio.	20	100.0
No es redituable, los insumos son muy elevados, como son los combustibles, fertilizantes y semillas. Muchas veces no es posible recuperar la inversión.	20	65.0
Mano de obra muy cara debido a que la mayoría de los habitantes se dedican a la artesanía del piteado por ser más redituable para el campesino.	20	25.0
Es muy difícil desembolsar, debido a la pobreza que vive actualmente el campo. Falta financiamiento por alguna institución para la producción de frijol.	20	30.0
Muchas plagas que afectan el cultivo del frijol, semilla afectada por algún hongo o por alguna plaga, lo cual evita que haya una germinación adecuada. El agricultor carece de conocimientos para su control.	20	100.0

El granizo es muy común en la región, en ocasiones se presenta de 3 a 4 veces afectando la planta en su desarrollo, dando origen a enfermedades y muchas veces la muerte de la planta.	20	80.0
Desconocen etapa de la planta y fórmula de fertilización que se debe aplicar, el productor aplica el fertilizante que existe en el mercado. También mencionan que falta asesoría para llevar a cabo las labores de cultivo, fecha de preparación del suelo, además desconocen como controlar las malezas en el cultivo del frijol.	20	15.0

Acceptado el 2 de octubre de 2006

Diseño e impresión

TAGIT

Tecnología y Aplicaciones Gráficas
Saulo Cortés / José Manuel Sánchez
Enrique Díaz de León 514-2b
Guadalajara 44170, Jalisco.

Tel. (33) 3825-8528 **Fax** (33) 3825-8545
tagit@idex.com.mx | *tagit.idex.com.mx*