



Agraria

Nueva Epoca

Año V, Vol. 5, Números 1, 2, y 3 Enero-Diciembre de 2008 · Buenavista, Saltillo, Coah., México

Editorial

El Control de Hongos Fitopatógenos: Alternativa para la Producción de Hortalizas

Pag. 5

Actividad Antibacteriana del Aceite Esencial de Orégano Mexicano (*Lippia graveolens* H.B.K.)

Pág. 18

Géneros de Braconidae Presentes en Maleza Aledaña al Cultivo de Papa en Arteaga, Coah., México

Pag. 26

Comité Editorial

Dr. Miguel A. Capó Arteaga
Editor en Jefe

Dr. Jesús Valdés Reyna
Editor Ejecutivo

Editores Técnicos

Dr. José L. Puente Manríquez
Fitomejoramiento, Unidad Laguna

Dr. Raúl Rodríguez García
Riego y Drenaje

Dr. Jesús M. Fuentes Rodríguez
Producción Animal

DIRECTORIO

Dr. Eladio Heriberto Cornejo Oviedo
Rector

Ing. Lorenzo Castro Gómez
Secretario General

Raul Villegas Vizcaino
Director General Académico

M. C. Alfredo Sánchez López
Director de Investigación

Dr. Alfredo de la Rosa Loera
Subdirector de Programación y Evaluación

M. C. José A. Nájera Castro
Subdirector de Operación de Proyectos

UNIDAD LAGUNA

Dr. Armando Espinoza Banda
Subdirector de Investigación

M. C. Francisca Sánchez Bernal
Area de Programación, Operación y Evaluación Científica

Ing. Enrique L. Hernández Torres
Area de Operación Programas y Proyectos de Investigación

Diseño y Formación
Miguel A. Estrada Villarreal

Colaboradores
M. C. Ricardo Cuéllar Flores
M. C. José H. Rancaño Arrijoja
M.C. Alfredo Sánchez López

Agraria -Nueva Epoca- es una publicación científica, cuatrimestral, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, con domicilio conocido en Buenavista, Saltillo, Coah., México y se imprime en sus Talleres Gráficos.

Tiraje digital (PDF) para su distribución en medios múltiples.

*http://www.uaaan.mx/DirInv/portal_agraria/portal.htm · email: agraria_ne@uaaan.mx
Tel (844) 411-02-00, Ext. 2404 · Fax 411-02-11*

Agraria -Nueva Epoca- está indexada en Latindex (Directorio de publicaciones Científicas seriadas de América Latina, el Caribe, España y Portugal), <http://www.latindex.org/larga.php?opcion=1&folio=15150> según folio 1550 de fecha 07-03-2006.



Centéotl, deidad azteca de la agricultura, es una advocación de Chicomecóatl, diosa del maíz. La Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en su afán de rescatar los valores del pasado histórico de México, la ha adoptado como logotipo de su revista científica, como símbolo que evoca y reafirma nuestras raíces culturales

Nuestra Portada
Cultivo de chile poblano

Normas Editoriales

Tipo de materiales para publicación

La revista *Agraria -Nueva Epoca-* acepta, para su publicación, materiales en español e inglés, sobre temas relacionados con las ciencias agrícolas, pecuarias y forestales, incluyendo las áreas de ingeniería, agroindustria y socioeconómicas. Todo material deberá venir acompañado de la solicitud correspondiente.

Estos materiales pueden ser artículos científicos, notas de investigación o ensayos.

Los materiales que se envíen para su publicación deberán ceñirse a las normas que, para tal efecto establezca *Agraria -Nueva Epoca-* y estarán sujetos a revisión y arbitraje por el Comité Editorial de la revista -o por quienes éste designe-, como requisito previo a su publicación.

No se aceptan trabajos ya publicados, o que estén sometidos a consideración en otros medios científicos de difusión.

Es de desear que la realización de la investigación, cuyos materiales sean enviados para su publicación, no exceda de 4 años anteriores a la fecha de su remisión.

Formato

El respeto a las siguientes indicaciones respecto al formato solicitado facilitará grandemente nuestro trabajo de edición.

Textos

Los textos, con todos sus anexos, deberán enviarse empaquetados (nosotros preferimos WinZip), sin contraseñas de seguridad, por correo electrónico, escritos en un procesador de textos de uso común (preferimos Word), en formato tamaño carta (21.57 x 27.94 cm), sin sangría, y a renglón seguido, con márgenes de 2.5 cm por lado. Agradeceremos evitar nombres de archivo excesivamente largos o con espacios en blanco. Los textos se redactarán en un tipo formal conocido ttf (True Type Font) tales como Arial, Times New Roman o similares, de 12 puntos. Las notas se escribirán en 9 puntos.

Todos los renglones, incluidos los encabezados, se iniciarán, invariablemente, a partir del margen izquierdo, sin sangría.

Todos los encabezados, independientemente de su orden, se escribirán en altas y bajas, y negrillas.

Los párrafos se escribirán sin pasar renglón entre ellos; para separarlos, a fin de hacer el texto fácil de leer y corregir, se utilizará el formato automático de párrafo del procesador, para darles un espaciado posterior de 6 puntos.

Las palabras no se separarán, en ningún caso, por sílabas. Es conveniente desactivar el comando automático de inserción de guiones (*hyphenation*) de su procesador.

El material no deberá exceder de 520 líneas para artículos científicos y ensayos, y de 200 líneas para una nota científica, incluidos cuadros y figuras.

Las unidades que se empleen serán las del Sistema Internacional de Unidades (<http://www.sc.ehu.es/sbweb/fisica/unidades/unidades/unidades.htm>)

Las páginas, al igual que los cuadros y las figuras, se numerarán progresivamente con números arábigos.

Cuadros y figuras. Los cuadros y las figuras contendrán sólo la información esencial y en ningún caso repetirán los datos que se presenten en el texto, o en otra forma. Cuadros y figuras deben ser claros, simples, concisos e ilustrativos.

Los cuadros no excederán, en ningún caso, los márgenes de impresión arriba mencionados y deberán presentarse en el cuerpo del texto, con el formato correspondiente, con las columnas separadas por tabulaciones, sin espacios a mano, y en la posición en que se espera que aparezcan, con el número de orden correspondiente.

En los cuadros se empleará sólo el número de cifras significativas necesarias para destacar el punto que se desee.

Los cuadros se realizarán en formato básico con tres líneas horizontales continuas: al inicio del cuadro, al inicio del cuerpo del cuadro (no en el encabezamiento) y al final. El campo y el encabezamiento de las columnas se pueden dividir a conveniencia del autor. No se deben añadir líneas verticales. Los encabezamientos, de columnas y líneas, se escribirán con minúsculas, excepto la primera letra de la oración. Las unidades se colocan debajo de la segunda línea horizontal, como en el ejemplo que se proporciona.

Las figuras tampoco excederán, en ningún caso, los márgenes de impresión establecidos. La posición que vaya a ocupar cada figura, deberá estar indicada en el texto con negrillas, en renglón aparte, con el número correspondiente.

Cada figura se enviará en archivo por separado, en formato tif (compresión LZW), o jpg, con el tamaño exacto en que se pretende que aparezca en la publicación, en una resolución no inferior a 150 pxeles por pulgada, con el número que le corresponda (p. ej: fig 01.jpg).

Los puntos experimentales deberán marcarse visiblemente. Para dividir los ejes, se escogerán intervalos constantes para cada uno. Los mosaicos fotográficos deberán entregarse montados en un solo archivo gráfico (tif, o jpg), totalmente terminados. El aumento de las microfotografías debe indicarse en la leyenda.

En archivo por separado se enviará un listado de las figuras incluidas en el material enviado, con el número de orden y el pie de grabado correspondientes (p. ej.: listafigs.doc)

Las figuras pueden ser fotos a color o en tonos de gris -según sea su original-, gráficas (de preferencia a color), ilustraciones, dibujos, o grabados (de preferencia a color).

Los cuadros deberán redactarse en el mismo procesador de textos y formato señalado arriba.

Las ecuaciones, si las hubiera, se insertarán en el texto con un editor de ecuaciones compatible con su procesador.

Notas de pie de página

Sólo se podrán utilizar, cuando sean absolutamente indispensables, para identificar información adicional y se numerarán progresivamente en el texto. Los asteriscos se reservarán para indicar significancia a 5% (*) y 1% (**), respectivamente. En el pie de grabado -o de cuadro- se incluirán las notas o llamadas que sean pertinentes, y serán señaladas con números arábigos.

Citas bibliográficas

Las citas bibliográficas deberán ser de literatura reciente, relevante y sólo las exclusivamente necesarias para sustentar los planteamientos hechos.

Más detalles en http://www.uaaan.mx/DirInv/Convoc/conv_web/normas.htm, o http://www.uaaan.mx/DirInv/portal_agraria/portal.htm

Contenido

Normas Editoriales / <i>Instructions for authors</i>	2
Convocatoria/ <i>Paper call</i>	4
Editorial / <i>Editorial</i>	
El Control de Hongos Fitopatógenos: Alternativa para la Producción de Hortalizas	5
Artículos / <i>Articles</i>	
Formación de Poblaciones de Chile (<i>Capsicum annuum</i> L.) para Selección Recurrente y Caracterización Mediante Marcadores AFLP	6
Formation of Populations of Chili Pepper (<i>Capsicum annuum</i> L.) for Recurrent Selection and Characterization by means of Markers AFLP Reinaldo Méndez Aguilar, Gaspar Martínez Zambrano, Moisés Ramírez Meraz, Netzahualcoyotl Mayek Pérez, Alfonso López Benitez, Humberto de León Castillo	
Fotosíntesis y Calidad Fisiológica de Genotipos de Maíz Criollo Mejorado	13
Photosynthesis and Physiological Quality of Meliorated Maize Landraces Genotypes Graciela Ávila Uribe, Norma A. Ruiz Torres, Froylán Rincón Sánchez, y Adalberto Benavides Mendoza	
Actividad Antibacteriana del Aceite Esencial de Orégano Mexicano (<i>Lippia graveolens</i> H.B.K.)	18
Antibacterial Activity of Mexican Oregano (<i>Lippia graveolens</i> H.B.K.) Essential Oil Genoveva Hernández Zamudio, Margarita Guerrero Rodríguez, Rafael Rodríguez Martínez, Sara E. Alonzo Rojo	
Efecto Antifúngico de Gobernadora (<i>Larrea tridentata</i>) para Inhibir el Crecimiento de <i>Fusarium moniliforme</i>, <i>Aspergillus flavus</i> y <i>Aspergillus ochraceus</i> en Maíz	22
Antifungal Effect of Gobernadora (<i>Larrea tridentata</i>) to inhibit the Growth of <i>Fusarium moniliforme</i> , <i>Aspergillus flavus</i> and <i>Aspergillus ochraceus</i> in Corn Zurivey Díaz Cortés, Federico Facio Parra, R. Hugo Lira Saldivar	
Géneros de Braconidae Presentes en Maleza Aledaña al Cultivo de Papa en Arteaga, Coah., México	26
Genera of Braconidae Present in Adjacent Weed to Potato Crop in Arteaga, Coahuila, Mexico Patricia Herrera-Pérez, Oswaldo García-Martínez, Iván Isaías Vargas-Caamal, José Ángel Villareal-Quintanilla.	
El Comportamiento Sexual del Macho es necesario para Mantener Elevada la Secreción de la LH en Cabras Sometidas al Efecto Macho	33
The Sexual Behavior of the Male Goat is Necessary to Keep Stimulated the Secretion of the LH in Female Goats Submitted to the Male Effect Jesús Vielma, Philippe Chemineau, Pascal Poindron, Benoît Malpoux, José Alberto Delgadillo	

CONVOCATORIA

La Dirección de Investigación de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

CONVOCA

a los investigadores, nacionales y extranjeros, interesados en publicar artículos científicos, a enviar sus contribuciones a la revista **Agraria -Nueva Epoca-**, bajo las siguientes bases:

Los trabajos recibidos se someterán al proceso de revisión descrito en las *Normas Editoriales* de la Revista.

Se recibirán contribuciones inéditas de todos los interesados, nacionales o extranjeros, en español o inglés.

Los artículos deberán versar sobre temas de contenido agrícola, pecuario, forestal, y socioeconómico del entorno regional, nacional e internacional.

Las modalidades de publicación son las siguientes:

Artículo científico

Es el resultado de un trabajo de investigación en el cual se aplicó, de forma rigurosa, el método científico, estudiando el efecto que tienen diferentes tratamientos sobre la respuesta medible de un sistema, como metodología para comprobar o rechazar una hipótesis claramente establecida en el trabajo.

Los artículos científicos que se envíen deberán constar de las siguientes partes: Título, Título en inglés, Autor(es), Institución(es) de adscripción y datos de localización del autor responsable (domicilio, teléfono, fax, e-mail), Abstract, que es la traducción al inglés del Resumen, incluidas las palabras clave; Resumen, que incluirá al pie las palabras clave hasta un máximo de seis, Introducción, Materiales y métodos, Resultados y discusión, Conclusiones, Literatura citada, Agradecimientos.

Ensayo científico

Consiste en el análisis crítico de una recopilación actualizada de artículos científicos, informes de investigación, o materiales similares, en los que el autor o autores aportan su opinión personal sobre un tema, estableciendo conclusiones respecto al estado actual del conocimiento sobre el mismo.

Partes de que consta el Ensayo: Título, Título en inglés, Autor(es), Institución(es) de adscripción y datos de localización del autor responsable (domicilio, teléfono, fax, e-mail), Abstract, que es la versión al inglés del Resumen, incluye las palabras clave, Resumen, incluidas las palabras clave hasta un máximo de siete, Introducción, Desarrollo del tema, con los subtítulos que se estimen convenientes, Discusión, cuando proceda, Conclusiones, Literatura citada.

Nota de investigación

Son materiales basados en trabajos experimentales que, sin perjuicio del método y rigor científicos, presentan aspectos metodológicos innovadores o resultados que, por su carácter novedoso, el autor considera de interés publicar antes de finalizar su investigación.

La nota, aunque de menor extensión, cubre todos los aspectos relevantes del proceso de investigación. Su estructura es similar a la del artículo científico, y trata cada uno de sus apartados, con menor profundidad y detalle, aunque no tiene que incluir los encabezados.

La excepción a lo anterior son el Abstract, que se omite, y la Literatura citada, apartado que deberá incluirse expresamente.

De ser necesario, podrán incluirse -también- algún cuadro o ilustración, cuando resulten relevantes para la mejor comprensión de la nota.

Los trabajos a publicar deberán hacerse llegar en versión electrónica, acompañados de una solicitud, de conformidad con las especificaciones marcadas en las Normas Editoriales arriba mencionadas, a la siguiente dirección electrónica: agraria_ne@uaaan.mx, con atención a:

Editor en Jefe de la Revista Agraria -Nueva Epoca-

Dirección de Investigación, UAAAN, Domicilio conocido, Buenavista,

Saltillo, Coahuila, México. CP. 25315

Para mayor información respecto a esta Convocatoria visite http://www.uaaan.mx/DirInv/portal_agraria/portal.htm para consultas diríjase al Editor en Jefe: agraria_ne@uaaan.mx.

Editorial

El Control de Hongos Fitopatógenos: Alternativa para la Producción de Hortalizas

En México existe una gran diversidad de hortalizas. La amplia variedad de climas, las tecnologías empleadas, y la mentalidad empresarial de los productores, hacen de éste un país con un gran potencial productivo en donde es posible obtener una amplia gama de productos: raíces, tallos tiernos, hojas, flores comestibles, frutos y granos tiernos en diferentes épocas del año; haciendo de la agricultura una industria competitiva, en la que México se ubica en el cuarto lugar a nivel mundial, y en el primero del continente.

Destacan, por su producción y valor comercial, las solanáceas como el tomate, la papa y el chile -en sus diferentes tipos- así como las cucurbitáceas como el pepino, la calabacita, el melón, y la sandía. La producción de hortalizas se caracteriza por alcanzar elevados precios de mercado, y por aplicar una tecnificación media, mayoritariamente de riego. Sin embargo, otro factor de importancia es la siniestralidad de los cultivos, que puede ocasionar pérdidas recurrentes por plagas, sequías, enfermedades y fenómenos meteorológicos, entre otros.

Dada la modalidad de producción en la cual se cultivan las hortalizas como el tomate y el chile, ya sea a cielo abierto, o en agricultura protegida, y por ser especies de diferente ciclo y comportamiento vegetativo, frecuentemente sufren daños por enfermedades causadas por insectos vectores, transmisores de diferentes tipos de virus, así como por hongos fitopatógenos del suelo, tal es el caso de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* (Fol.) que provoca grandes pérdidas en la producción cuando se hace uso del monocultivo en nichos específicos.

Para el control eficiente de este complejo se recurre, muy frecuentemente, a la aplicación de productos químicos con alto grado de toxicidad, y con efectos nocivos para el medio ambiente, lo que ha llevado a la búsqueda de tecnologías alternativas, como el injerto y la aplicación de extractos vegetales, que suplementan -o complementen- el uso de fumigantes.

Un ejemplo notable de lo anterior es el caso de la gobernadora que habiendo sido ampliamente estudiada, ha mostrado su viabilidad en contra de, al menos, 17 hongos fitopatógenos de importancia económica en solanáceas. Otros sistemas importantes para el control de hongos del suelo en tomate y chile son el control biológico mediante la aplicación del hongo *Trichoderma harzianum* Rifai T39, el uso de variedades resistentes, y la implementación de prácticas culturales eficientes.

En un estudio realizado por investigadores de la UAAAN y de la UA de C se encontró que la aplicación de *Bacillus* spp. al cultivo de tomate, favorece la producción de auxinas, mismas que promueven el crecimiento de planta e inducen la resistencia sistémica contra *F. oxysporum*.

Es así como el estudio de fitopatógenos de origen natural contribuye a la generación de tecnología para la solución de problemas de la creciente industria de la producción de hortalizas en México.

Formación de Poblaciones de Chile (*Capsicum annuum* L.) para Selección Recurrente y Caracterización mediante Marcadores AFLP

Reinaldo Méndez Aguilar¹, Gaspar Martínez Zambrano¹, Moisés Ramírez Meraz², Netzahualcoyotl Mayek Pérez³, Alfonso López Benitez¹, Humberto de León Castillo¹

¹Departamento de Fitomejoramiento, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calzada Antonio Narro No. 1923, Colonia Buenavista, 25315, Saltillo, Coahuila, México. E-mail: m_reinaldo@yahoo.com (*Autor responsable).

²Campo Experimental Sur de Tamaulipas, INIFAP. ³Centro de Biotecnología Genómica, Instituto Politécnico Nacional.

Abstract

The genetic melioration of hot pepper has been performed by genealogical selection outlines, mass method, and descendants of a seed. However, attention has recently been paid to the selection sketches applied on allogamous species, as is recurrent selection. The objectives of this assay were: a) forming populations of hot pepper with: serrano, jalapeno, guajillo, and poblano types, all of them with an ample genetic base profitable in a breeding program for recurrent selection and b) characterizing the genetic variation in populations of hot pepper obtained from several parents, by means of intra and inter racial crosses, obtained through AFLP markers. The used materials originated from 37 dialelic parent crosses bred at the Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), in Saltillo, Coah., Mexico. The molecular analysis was accomplished at the Centro de Biotecnología Genómica (Genomic Biotechnology Center) at the Instituto Politécnico Nacional (Polytechnic National Institute) (CBG-IPN), in Reynosa, Tamps., Mexico. The results with four first AFLP combinations showed 64,9 % of polymorphism; this allowed the discrimination of the seven analyzed populations. Likewise, the diversity index (ID) to analyze the genetic variation of every population was determined, finding out that the population P-AXGXJXS was the one with a higher ID (0,48). A dendrogram was obtained by the UPGMA method and some differences were found in the way the populations are grouped, therefore it is concluded that the formation of two or more racial types increments the genetic variability, and makes them appropriate to accomplish population melioration by recurrent selection, depending on the racial implicated types.

Key words: *Capsicum annuum* L., AFLP.

Resumen

El mejoramiento genético de chile se ha realizado mediante esquemas de selección genealógica, método masivo y descendencia de una semilla. Sin embargo, recientemente se ha puesto atención en los esquemas de selección utilizados en especies alógamas, como la selección recurrente. Los objetivos de este estudio fueron: a) formar poblaciones de chile con los tipos serrano, jalapeño, guajillo, y ancho, de amplia base genética aprovechables en un programa de mejoramiento por selección recurrente y b) caracterizar la variabilidad genética en poblaciones de chile obtenidas de varios progenitores mediante cruza intra e inter raciales, mediante marcadores AFLP. Se utilizaron materiales de los tipos raciales ancho, guajillo, serrano y jalapeño; originados de 37 cruza progenitoras dialélicas formadas en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), Saltillo, Coah., México. El análisis molecular se realizó en el Centro de Biotecnología Genómica del Instituto Politécnico Nacional (CBG-IPN), en Reynosa, Tamps., México. En el análisis obtenido con cuatro combinaciones de primer AFLP se obtuvo 64.9 % de polimorfismo, lo que permitió la discriminación de las siete poblaciones examinadas. Así también se determinó el índice de diversidad (ID) para analizar la variabilidad genética de cada una de las poblaciones, encontrándose que la población P-AXGXJXS fue la que tuvo mayor ID con 0.48. Se obtuvo un dendrograma por el método UPGMA y se encontraron diferencias en la forma de agrupamiento de las poblaciones. Se concluye que la formación de dos o más tipos raciales incrementa la variabilidad genética y las hace apropiadas para realizar mejoramiento poblacional por selección recurrente, dependiendo de los tipos raciales involucrados.

Palabras clave: *Capsicum annuum* L., AFLP.

Introducción

El mejoramiento de Chile se ha realizado mediante esquemas de selección como: selección genealógica, método masivo y descendencia de una semilla (Márquez, 1991), que por lo general se utilizan dos progenitores y su progenie se somete a endocria y selección continua, hasta que alcanzan homocigosis total. Sin embargo, también se ha puesto atención en esquemas de selección como la selección recurrente, utilizados en especies alógamas; con este método se seleccionan y recombinan de forma cíclica, aquellas plantas con expresiones fenotípicamente superiores y permite aumentar la frecuencia de genes favorables en caracteres cuantitativos en una población, sin pérdida significativa de variabilidad genética.

A pesar del éxito logrado con la aplicación de esquemas de selección recurrente para el mejoramiento poblacional en especies alógamas como el maíz, las experiencias en autógamias han sido poco estudiadas y se tiene poca información sobre poblaciones caracterizadas, ya sea fenotípicamente o a nivel molecular. Se han realizado estudios con marcadores moleculares para estudiar variación genética en algunos cultivos importantes: *Lycopersicon* (Miller y Tanksley, 1990), *solanum* (Gebhardt *et al.*, 1989; Orona *et al.*, 2004), y *Capsicum* (Loaiza *et al.*, 1989; Zewdie y Zeven, 1997; Paran *et al.*, 1998 y Guzmán *et al.*, 2005).

La hipótesis que se plantea es que las poblaciones formadas con la recombinación de varios progenitores entre tipos raciales, representan una mejor estrategia de mejoramiento con base en la variabilidad y diversidad genética acumulada, que las formadas dentro de tipos raciales.

Es por esto que los objetivos de este estudio fueron: a) formar poblaciones de Chile con los tipos serrano, jalapeño, guajillo, y ancho, de amplia base genética aprovechables en un programa de mejoramiento por selección recurrente y b) caracterizar la variabilidad genética en poblaciones de Chile obtenidas de varios progenitores mediante cruza intra e inter raciales, mediante marcadores AFLP.

Materiales y Métodos

Este trabajo se realizó en un invernadero de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), en Saltillo, Coah., México, de 2003 a 2005. Se partió de semillas F1 obtenidas de un diseño de cruza dialélicas entre y dentro de los tipos raciales ancho (A), guajillo (G), jalapeño (J) y serrano (S). Se utilizaron cinco materiales de cada tipo racial (A, G, J y S) los cuales son variedades comerciales actualmente en uso y líneas experimentales proporcionadas por el INIFAP.

Poblaciones intra-raciales

El 20 de Febrero de 2004 se establecieron en campo las progenies dialélicas de cada tipo racial y al momento de la floración se eligieron cuatro de la misma raza y se hizo una recombinación entre ellos, de los cuales dos se utilizaron como hembra y dos como macho (Cuadro 1). Se emascularon botones florales de las plantas elegidas como hembra y enseguida se polinizaron en cada tipo racial. El amarre de los frutos se observó a los 6 días, los cuales cuando llegaron a la madurez fisiológica se cortaron, se secaron al sol durante tres días, y después se les extrajo la semilla. Se utilizaron 150 semillas de cada uno de los materiales y se hizo un compuesto balanceado, de acuerdo con la técnica de recombinación denominada cruza mezofraternales con mezcla de polen (Márquez, 1991), se obtuvieron tres poblaciones intra-raciales (P-GXG, P-JXJ, y P-SXS), cada una formada por 300 semillas.

Poblaciones inter-raciales

El 3 de Abril de 2004 se establecieron en campo las progenies dialélicas de las cuatro razas mencionadas anteriormente, en la etapa de floración se eligieron cuatro materiales pero esta vez entre tipos raciales y se siguió la misma metodología mencionada anteriormente. Así también, se obtuvo una población-macro en la que se involucraron todos los materiales inter-raciales donde intervinieron las cuatro razas y se hizo una recombinación de todos ellos, utilizándose la misma técnica (Cuadro 2). En total se obtuvieron cuatro poblaciones inter-raciales (P-GXJ, P-GXS, P-JXS incluyendo la inter-racial macro P-AXGXJS).

Cuadro 1. Progenitores utilizados para formar poblaciones intra-raciales.

No.	Progenitores	
	♀	♂
1	[Guajillo Zacatecas 1 (G)]	x [Guajillo Zacatecas 2 (G*)]
2	[Guajillo Zacatecas 2 (G)]	x [Guajillo INIFAP (G)]
3	[Guajillo San Luis (G)]	x [Guajillo INIFAP (G)]
4	[Guajillo INIFAP (G)]	x [Guajillo-Puya-Salitrillo (G)]
5	[Don Pancho (J)]	x [Chijal 10-19 (J)]
6	[Chijal 10-19 (J)]	x [Don Benito (J)]
7	[Don Benito (J)]	x [Criollo Chiapas Largo (J)]
8	[Criollo Chiapas Largo (J)]	x [Chijal EB-13 (J)]
9	[Gigante Ébano (S)]	x [Chiser P8-60 (S)]
10	[Chiser P8-60 (S)]	x [Chiser 16-31 (S)]
11	[Chiser 16-31 (S)]	x [Paraíso (S)]
12	[Paraíso (S)]	x [Tampiqueño 74 (S)]

*G=Guajillo; J=Jalapeño; S=serrano

Cuadro 2. Progenitores utilizados para formar poblaciones inter-raciales.

No.	Progenitores	
	♀	♂
1	[AP 99-6 (*A)]	x [Guajillo Zacatecas 1 (G)]
2	[AP 99-6 (A)]	x [Don Pancho (J)]
3	[AP 97-24 (A)]	x [Guajillo-Puya-Salitrillo (G)]
4	[AP 97-24 (A)]	x [Chijal 10-19 (J)]
5	[Ancho Saltillo 79-4 (A)]	x [Don Benito (J)]
6	[Carmín 6-1 (A)]	x [Don Pancho (J)]
7	[AM 97-47 (A)]	x [Guajillo Zacatecas 1 (G)]
8	[AM 97-47 (A)]	x [Don Benito (J)]
9	[Guajillo Zacatecas 1 (G)]	x [Chijal 10-19 (J)]
10	[Guajillo Zacatecas 1 (G)]	x [Gigante Ébano (S)]
11	[Guajillo Zacatecas 2 (G)]	x [Chijal 10-19 (J)]
12	[Guajillo Zacatecas 2 (G)]	x [Chiser P8-60 (S)]
13	[Guajillo San Luis (G)]	x [Don Benito (J)]
14	[Guajillo San Luis (G)]	x [Chiser 16-31 (S)]
15	[Guajillo INIFAP (J)]	x [Criollo Chiapas Largo (J)]
16	[Guajillo INIFAP (J)]	x [Paraíso (S)]
17	[Guajillo-Puya-Salitrillo (G)]	x [Don Pancho (J)]
18	[Guajillo-Puya-Salitrillo (G)]	x [Chijal EB-13 (J)]
19	[Guajillo-Puya-Salitrillo (G)]	x [Tampiqueño 74 (S)]
20	[Don Pancho (J)]	x [Gigante Ébano (S)]
21	[Chijal 10-19 (J)]	x [Chiser P8-60 (S)]
22	[Don Benito (J)]	x [Paraíso (S)]
23	[Criollo Chiapas Largo (J)]	x [Paraíso (S)]
24	[Chijal 10-19 (J)]	x [Gigante Ébano (S)]
25	[Chijal EB-13 (J)]	x [Tampiqueño 74 (S)]

*A = Ancho; G=Guajillo; J=Jalapeño; S =serrano

Aislamiento de ADN

La parte molecular se desarrollo en el Laboratorio Vegetal II del Centro de Biotecnología Genómica del Instituto Politécnico Nacional (CBG-IPN), en Reynosa, Tamps., México. Para la extracción de ADN se utilizaron 15 plantas jóvenes por población, se utilizó la metodología de Dellaporta *et al.* (1983) con mínimas modificaciones. Este material biológico se lavó con agua destilada estéril y posteriormente se congeló a -20°C . El ADN se cuantificó en geles de agarosa al 1 %, con uso de una concentración conocida de ADN del fago en un transiluminador marca Cole Parmer.

Análisis AFLP

La detección de polimorfismo se hizo mediante AFLP (polimorfismo en la longitud de fragmentos amplificados) de acuerdo con Vos *et al.* (1995). La digestión se efectuó

en un termociclador GeneAmp®PCR System 9700-032, con muestras de ADN a una concentración de $170\text{ ng}/\mu\text{l}$. En un volumen final de $25\ \mu\text{l}$ se mezclaron $3.3\ \mu\text{l}$ de ADN, $1\ \mu\text{l}$ *EcoRI*, $1\ \mu\text{l}$ *Tru9I*, $2.5\ \mu\text{l}$ Buffer RL y $17.2\ \mu\text{l}$ agua milli-q. Para efectuar la reacción se incubó a 37°C por dos horas y media, más $15\ \text{min}$ a 70°C para inactivar las enzimas de restricción. A los productos de restricción, se agregó la mezcla de ligación de los adaptadores *EcoRI* 5'-C T C G T A G A C T G C G T A C C - 3' / 3' - AATGGTACGCAGTC-5'; y la del adaptador *MseI* 5'-GACGATGAGTCCTGAG-3'/3'-TACTCAGGACTCAT-5'. En un volumen final de $10\ \mu\text{l}$ la mezcla de ligación contenía $1\ \mu\text{l}$ Adaptador *MseI*, $1\ \mu\text{l}$ Adaptador *EcoRI*, $1\ \mu\text{l}$ ATP (mM), $1\ \mu\text{l}$ Buffer RL (10X) y $5.0\ \mu\text{l}$ agua milli-q. Se incubó a 20°C por dos horas en el termociclador. Para la pre-amplificación se utilizaron los iniciadores *EcoRI*+A 5'AGACTGCGTACCAATTC/A-3') y *MseI*+C (5'-GACGATGAGTCCTGAGTAA/C-3'). Se colocaron $2.5\ \mu\text{l}$ de ADN digerido-ligado (diluido 1:60), mas $23.5\ \mu\text{l}$ de la mezcla para la reacción de pre-amplificación la cual contenía $1.5\ \mu\text{l}$ *MseI*+C, $1.5\ \mu\text{l}$ *EcoRI*+A, $2.5\ \mu\text{l}$ Buffer PCR (10X), $2.0\ \mu\text{l}$ dNTPs (10 mM), $0.20\ \mu\text{l}$ Taq DNA polimerasa ($5\ \text{U}/\mu\text{l}$) y $14.8\ \mu\text{l}$ de agua milli-q. Se efectuó bajo el siguiente programa: 20 ciclos de 30 s a 94°C , 60 s a 56°C , 60 s a 72°C . La combinación de oligonucleótidos para la amplificación selectiva fue *EcoRI* + 3 (5'-GACTGCGTACCAATTC/ACA-3') y *MseI* + 3 (5'-GATGAGTCCTGAGTAACTG-3'). Se aplicaron $3.0\ \mu\text{l}$ de ADN preamplificado-diluido, más $12.0\ \mu\text{l}$ de mezcla para la reacción de amplificación ($0.6\ \mu\text{l}$ *EcoRI*, $0.5\ \mu\text{l}$ *MseI*, $1.5\ \mu\text{l}$ Buffer PCR (10X), $0.4\ \mu\text{l}$ dNTPs (10mM), $0.15\ \mu\text{l}$ Taq DNA polimerasa ($5\ \text{U}/\mu\text{l}$) y $8.85\ \mu\text{l}$ agua milli-q). Se utilizaron cuatro combinaciones de iniciadores (*EcoRI/MseI*) ACA/CTG, AAG/CAG, AAG/CAC y AAG/CAA. Finalmente los productos del PCR se desnaturalizaron mediante incubación de 4 min a 94°C y se colocaron en hielo antes de ser cargados en geles de acrilamida al 6 % y separados en una cámara de electroforesis vertical marca Owl®, modelo S3S durante 2 h 30 min a 2000 V.

Análisis de datos

El polimorfismo que se detectó en las cuatro combinaciones de iniciadores AFLP se determinó en base a la presencia o ausencia de bandas, donde el 1 se asignó a la presencia y el 0 a la ausencia de éstas.

Una vez terminada la interpretación en el gel de acrilamida se hizo una base de datos basándose en 0 y 1 y está se utilizó para determinar el índice de diversidad mediante la fórmula $ID = 1 - p^3$, donde pi es la frecuencia del alelo in; en este caso, cada alelo individual se considera un locus único y, a su vez, un fragmento de amplificación (Powell *et al.*, 1996).

Mediante el programa Gendist se obtuvieron las distancias genéticas entre las siete poblaciones (Nei y Li, 1979), usando el paquete de software PHYLIP Versión 3.6 (Felsenstein, 2005). La matriz de distancias generadas se utilizó para producir un dendograma por el método UPGMA (Método de agrupamiento de pares no ponderados con medias aritméticas), ver Figura 2. La matriz de ceros y unos se usó también para calcular el análisis de varianza molecular (AMOVA).

Resultados y Discusión

Formación de poblaciones

Se obtuvieron siete poblaciones de forma satisfactoria, de las cuales tres fueron intra-raciales (P-SXS, P-JXJ, P-GXG) y cuatro inter-raciales (P-JXS, P-GXJ, P-GXS), incluyendo la inter-racial macro P-AXGXJXS, en las que se involucraron los tipos raciales ancho. No se pudieron formar las poblaciones P-AXG y P-AXS por fallas al hacer las cruzas correspondientes y en el caso de P-AXJ se obtuvo poca cantidad de semilla, por lo que no se incluyeron en este estudio.

Estos problemas también se presentaron en el trabajo de investigación de Robledo (2005) al hacer cruzas inter-raciales que incluían progenitores del tipo racial ancho.

La razón de lo anterior pudiera deberse a problemas de adaptación de este tipo racial, particularmente en lo que se refiere a los factores climáticos locales.

Análisis AFLP

Con las cuatro combinaciones de iniciadores AFLP se amplificaron un total de 203 productos a partir de cuatro combinaciones, de los cuales 134 fueron polimórficos, esto representó el 64.9 % (Cuadro 3). Este porcentaje de polimorfismo fue alto en comparación con los resultados obtenidos por Paran *et al.* (1998) quienes trabajando con AFLP en 34 accesiones de Chile encontraron 13% de bandas polimórficas. Sin embargo, en un trabajo realizado por Hernández *et al.* (2004) en poblaciones domesticadas, las cuales pertenecieron a chiles tipo serrano, jalapeño y morrón, reportaron 84.6 % de loci polimórficos en el análisis con isoenzimas. Las diferencias encontradas en dichos trabajos posiblemente se deben a que en el primero se utilizaron accesiones estrechamente relacionadas, por eso fue bajo, mientras que en el segundo se trabajó con poblaciones, y esto permitió que se encontrara mayor polimorfismo. Cuando se trabaja a nivel molecular, el polimorfismo juega un papel muy importante, ya que está relacionado con la variabilidad.

Cuadro 3. Productos amplificados por combinación mediante AFLP.

Combinación AFLP	Productos amplificados		Total	Polimorfismo (%)
	Monomórficos	Polimórficos		
EcoRI/MseI				
ACA/CTG	11	32	43	74.4
AAG/CAG	16	39	55	70.9
AAG/CAC	21	18	39	46.2
AAG/CAA	21	45	66	68.2
Total/Media	69	134	203	64.9

En el análisis de varianza molecular (AMOVA) se detectaron diferencias significativas ($P < 0.0001$), tanto entre como dentro de poblaciones, con un porcentaje de variación de 37 % y 63 % respectivamente (Cuadro 4). Esto concuerda con Hernández *et al.* (1998) quienes, usando RAPD encontraron que en poblaciones domesticadas existe mayor variación dentro de poblaciones (51.12 %) que entre poblaciones (48.88 %). Esto indica una relación estrecha entre las siete poblaciones. Loaiza *et al.* (1989) y Paran *et al.* (1998) mencionan que materiales silvestres y domesticados de Chile mantienen bajos niveles de variación.

Cuadro 4. Análisis de varianza molecular (AMOVA) de poblaciones de Chile mediante AFLP.

FV	GL	SC	CV	PV	P
Entre poblaciones	69	33.857	9.31823	37.00	<0.0001
Dentro de poblaciones	98	1555.200	15.86939	63.00	<0.0001
Total	104	2489.057	25.18762		

FV=Fuente de variación; GL= Grados de libertad; CV= Componentes de varianza; PV=Porcentaje de variación.

En la población intra-racial P-SXS se obtuvo un índice diversidad media de 0.33 el cual fue igual al de la cruce inter-racial P-JXS, pero menor a la población P-GXS (0.36), con una ganancia de 3%; P-JXJ tuvo un índice de diversidad de 0.28 el cual fue menor que en las poblaciones inter-raciales P-JXS (0.33) y P-GXJ (0.32). En este caso se obtuvo ganancia de variabilidad de 5 y 4 % respectivamente al formar las poblaciones entre tipos. La variabilidad de la población intra-racial P-GXG fue menor a la población P-AXGXJXS con una diferencia de variación de 8%.

La población inter-racial macro P-AXGXJXS mostró la mayor variabilidad de las siete poblaciones, con un índice de diversidad media de 0.48 y una ganancia de 18 % de variabilidad; la población P-JXJ tuvo la menor variabilidad (Cuadro 5).

De acuerdo con la hipótesis planteada, de que la variabilidad se incrementa en la medida en que las poblaciones se forman con material más divergente, los resultados de esta investigación confirmaron que la mayor variabilidad se logró al recombinar todos los tipos raciales en una población (P-AXGXJXS). Lo cual se esperaba, de acuerdo con los estudios clásicos de cruza varietales en maíz (Moll *et al.*, 1962; Moll *et al.*, 1965) y ofrece *per se* mejores expectativas del comportamiento de las poblaciones al incorporar alelos distintos para diversos caracteres de interés (Goodman *et al.*, 2000; Lellis *et al.*, 2001), así como de las líneas e híbridos formados a partir de ella (Cortez *et al.*, 1985).

Se esperaba el siguiente nivel de variabilidad en orden descendente, en las cruza inter-raciales (P-GXJ, P-GXS y P-JXS), así como la más baja variabilidad dentro de los grupos raciales (P-GXG, P-JXJ, y P-SXS). Sin embargo, como se observa en el Cuadro 5, el espectro de variabilidad en las poblaciones entre pares de tipos raciales (0.28 y 0.40) incluyó la variabilidad de las poblaciones dentro de los grupos raciales (0.32 a 0.36). Considerando el promedio de ambos grupos de cruza, se encontró que su diversidad fue igual (0.34). La dispersión mostrada por el espectro de la diversidad en las poblaciones intra-raciales, puede explicarse al considerar que el tipo guajillo virtualmente no ha sido sometido a mejoramiento genético, ya que los materiales cultivados son variedades nativas y las variedades liberadas por diversas instituciones son simples accesiones con cierto grado de pureza y uniformidad genética (Ramiro, 1992; Ramiro, 2001). Por el contrario, los tipos jalapeño y serrano son los que más mejoramiento genético han recibido y probablemente han sufrido, por ello, algún grado de erosión genética, como lo asegura (Hernández *et al.*, 2004).

Independientemente de los sesgos que pudieran tener los resultados de esta investigación, derivados de la muestra germoplásmica en cada tipo racial y del nivel de mejoramiento a que estos materiales han sido sometidos, los resultados de esta investigación, dan evidencias de que la formación de poblaciones mediante la recombinación de dos o más tipos raciales es una estrategia importante para realizar mejoramiento poblacional por selección recurrente en Chile, lo cual coincide con resultados previamente obtenidos por Robledo (2005) y Robledo *et al.* (2005).

Cuadro 5. Índice de diversidad genética de poblaciones de Chile con base en la fórmula de (Powell *et al.*, 1996).

Poblaciones	Combinaciones				*I.D. media
	ACA/CTG	AAG/CAG	AAG/CAC	AAG//CAA	
P-SXS	0.62	0.35	0.02	0.33	0.33
P-AXGXJXS	0.67	0.46	0.24	0.54	0.48
P-GXG	0.44	0.43	0.30	0.43	0.40
P-JXS	0.52	0.37	0.15	0.29	0.33
P-GXJ	0.37	0.40	0.16	0.36	0.32
P-JXJ	0.32	0.24	0.15	0.42	0.28
P-GXS	0.63	0.43	0.15	0.22	0.36

* I.D. = Índice de diversidad.

Con los datos obtenidos se realizó un dendograma, que mostró que se formaron dos grupos: en el primero se encontraron las poblaciones P-AXGXJXS y P-GXG. En este grupo se encontraron las poblaciones más heterogéneas en su índice de diversidad; el segundo grupo a su vez se dividió en tres subgrupos: en el primero se encontró la población P-GXS; en el segundo P-JXJ y P-GXJ y en el tercero P-JXS y P-SXS. En el segundo grupo las poblaciones fueron más homogéneas (Figura 2).

Conclusiones

Se formaron satisfactoriamente siete poblaciones: Tres intra-raciales P-SXS, P-JXJ, P-GXG y cuatro inter-raciales

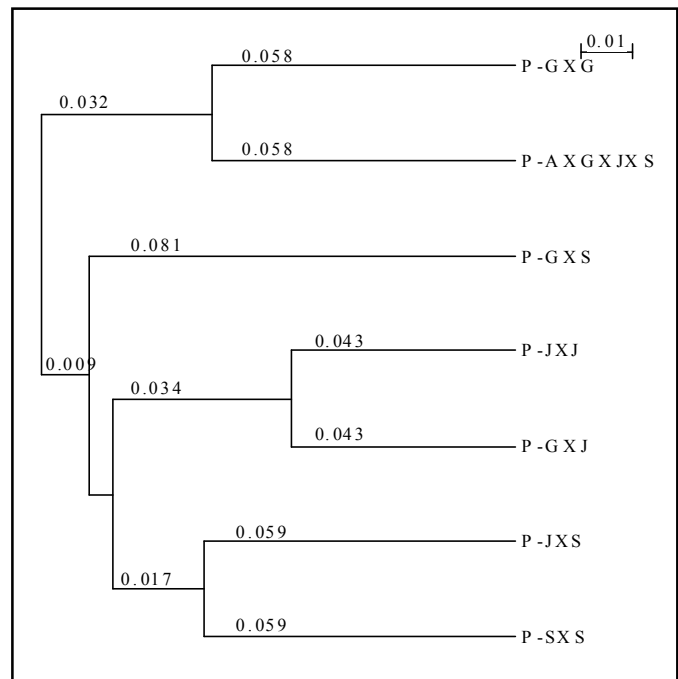


Figura 2. Dendograma de disimilitudes genéticas entre poblaciones de Chile con base en el método UPGMA y datos AFLP.

P-JXS, P-GXJ, P-GXS, P-AXGXJS. La variabilidad en las siete poblaciones, indicada por el índice de diversidad, varió de 0.28 a 0.48 y la mayor variabilidad se encontró en la población P-AXGXJS seguida de P-GXG con un índice de diversidad de 0.48 y 0.40 respectivamente. La formación de poblaciones mediante la recombinación de dos o más tipos raciales incrementa la variabilidad genética y las hace apropiadas para realizar mejoramiento poblacional por selección recurrente, dependiendo de los tipos raciales involucrados.

Literatura Citada

- Cortez, M. H., A. Rodríguez, M. Gutiérrez, J. Durón, R. Girón, y M. Oyervides. 1985. Evaluation of broad-base improved populations of maize (*Zea mays* L.). I. Cumulative gene effects and heterosis. Publication especial. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila. 43 p.
- Dellaporta, S.L.; Wood, J.; Hicks, J.B. 1983. A plant DNA minipreparation versión II. Plant Mol. Biol. Reporter. 18: 61-64.
- Felsenstein, J. 2005. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.6. Distributed by the author. Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle.
- Gebhardt, C., E. Ritte, T. Debener. 1989. RFLP analysis and linkage mapping in *Solanum tuberosum*. Theor. Appl. Genet. 78: 65-75.
- Goodman, M. M., J. Moreno, F. Castillo, R. N. Holley, and M. L. Carson. 2000. Using tropical maize germplasm for temperate breeding. Maydica 45: 221-234.
- Guzmán, F. A., H. Ayala, C. Azurdia, M. C. Duque, y M. C. de Vicente. 2005. AFLP Assessment of Genetic Diversity of *Capsicum* Genetic Resources in Guatemala: Home Gardens as an Option for Conservation. Crop Sci. 45:363-370.
- Hernández V. S., R. G. Guevara, R. F. Rivera, C. Vázquez, y K. Oyama. 1998. Los parientes silvestres del chile (*Capsicum spp.*) como recursos genéticos. Boletín de la Sociedad Botánica de México. 62: 171-181.
- Hernández V. S., R. Luna, C. Sánchez, A. G. Rodríguez, R. F. Rivera, R. G. Guevara, P. Sánchez, A. Casas, y K. Oyama. 2004. Variación genética y en la resistencia a virus en poblaciones silvestres de chile (*Capsicum annuum*) silvestre de México. In: I. Torrez P., M. M. González, S. Montes, R. Bejarano, y R. G. Guevara. (Eds). Memoria de la Primera convención mundial de chile. p. 447-453 Hallauer A. R., W. A. Russell, and K. R. Lamkey. 1988. Corn Breeding In: Corn and Corn Improvement. p. 463-564. 3a. Ed. ASA-CSSA-SSSA, Madison, WI.
- Lellis, M. C., J. Branco, y E. P. Gorgulho. 2001. Partial diallel cross between exotic and adapted maize populations evaluated in acid soil. Scientia Agrícola 58: 313-319.
- Loaiza, F. F., K. Ritland, J. A. Laborde, and S. D. Tanksley. 1989. Patterns of genetic variation of the genus *Capsicum* (Solanaceae) in Mexico. Plant Syst. Evol. 165: 159-188.
- Márquez S. F. 1991. Genotecnia Vegetal. Métodos, Teoría, Resultados. AGT Editor, México, D. F., México. Tomo II. 458 p.
- Miller, J. C., and S. D. Tanksley. 1990. RFLP analysis of phylogenetic relationships and genetic variation in the genus *Lycopersicon*. Theor. Appl. Genet. 80: 437-448.
- Moll, R. H., S. Salhauana, and H. F. Robinson. 1962. Heterosis and genetic diversity in variety crosses of maize. Crop Sci. 2: 197-198.
- Moll, R. H., J. H. Lonquist, V. Fortuno, and E. C. Johnson. 1965. The relationship of heterosis and genetic divergence in maize. Genetics 52: 139-144.
- Nei, M., and W. H. Li. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proc. Natl. Acad. Sci. 76: 5269-5273.
- Orona, C., V. Pecina, M. A. Rocha, V. M. Parga, O. Martínez, I. H. Almeida. 2004. Caracterización de variedades y líneas élite de papa (*Solanum tuberosum* L.) en México utilizando marcadores RAPD y SSR. Revista internacional de botánica experimental ÖYTON. p. 289-300.
- Paran, I., E. Aftergood, and C. Shiffriss. 1998. Variation in *Capsicum annuum* revealed by RAPD and AFLP markers. Euphytica 99: 167-174.
- Powell, W., M. Morgante, C. Andre, M. Hanaffey, J. Vogel, S. Tingey, and A. Rafalski. 1996. The comparasion of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. Mol. Breed. 2: 225-238.
- Ramiro, C. A. 1992. VR-91 nueva variedad de chile mirasol o guajillo. Folleto Técnico #2. Campo Experimental Palma de la Cruz, San Luis Potosí, México.
- Ramiro, C. A. 2001. Guajillo San Luis y Guajillo INIFAP nuevas variedades de chile mirasol para Centro-Norte de México. Folleto Técnico #14. Campo Experimental Palma de la Cruz, San Luis Potosí, México.
- Robledo, G. E. 2005. Potencial genético de cruza interracial en el mejoramiento de chile (*Capsicum annuum* L.). Tesis de Maestría en Ciencias.

- Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. México. 66p.
- Robledo, G. E., G. Martínez, M. Ramírez, A. de la Rosa, J. A. R. Dorantes. 2005. Cruzas inter-raciales en chile: ¿Promiscuidad genética o estrategia de mejoramiento?. Memoria, XIX Congreso Nacional de Citogenética SOMEFI, A.C., El cerrillo, Toluca, México. 19-24 sep. P262.
- Vos P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T. van de Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper, and M. Zabeau. 1995. AFPL: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.* 23:4407-4414.
- Zewdie, Y. and A. C. Zeven. 1997. Variation in Yugoslavia hot pepper (*Capsicum annuum* L.) accessions. *Euphytica* 97: 81-89.
-

Fotosíntesis y Calidad Fisiológica de Genotipos de Maíz Criollo Mejorado

Graciela Ávila Uribe¹, Norma Angélica Ruiz Torres^{1*}, Froylán Rincón Sánchez¹ y Adalberto Benavides Mendoza²

¹Departamento de Fitomejoramiento, ³Departamento de Horticultura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro No. 1923, Colonia Buenavista, 25315, Saltillo, Coahuila, México. Tel: (01844) 4110236. E-mail: nruiz@uaaan.mx. (*Autor responsable).

Abstract

In Mexico, the melioration of native corns has benefited of hybridization, selection and recombination as methods for breeding. However, a good option for the melioration of native corns is taking advantage of heterosis for performance. In this assay the photosynthetic performance, and the physiological quality of seven native meliorated corn genotypes, obtained under different strategies of selection, and genetic improvement, were evaluated. The work took effect under greenhouse conditions in Saltillo, Coah., Mexico. The evaluated variables were: CO₂ assimilation rate, stomatal conductance, intercellular CO₂, transpiration and intercellular CO₂ relation, environmental CO₂; plumule and radicle length, emergency speed rate as a vigor proof, percent of emergency as an essay of viability, and fresh and dry weight. Statistical differences for the CO₂ assimilation rate, and for perspiration, were found, but it was not so for the rest of the variables. The native materials showed a capacity in the mesophyll to fix CO₂ higher than the meliorated ones. The native populations had a higher length of plumule and radical, as well as a content of dry matter higher than the meliorated ones, due to the fact that the improved genotypes are adapted to better breeding conditions, as are irrigations, and application of all agricultural inputs, while the native ones resist adverse environments as is persistent rain during several days, in addition to its efficiency in the production of dry matter, and in the fixing of CO₂.

Key Words: CO₂ Assimilation, emergency rate speed.

Resumen

En el mejoramiento de maíces criollos en México se ha utilizado la hibridación, selección y recombinación como métodos de mejoramiento genético. Sin embargo, una buena opción para el mejoramiento de maíces criollos es el aprovechamiento de la heterosis para rendimiento. En este estudio se evaluó el desempeño fotosintético y la calidad fisiológica de siete genotipos de maíz criollo mejorado, obtenidos bajo diferentes estrategias de selección y mejoramiento genético. El trabajo se llevó a cabo en un invernadero en Saltillo, Coah., México. Las variables evaluadas fueron: tasa de asimilación de CO₂, conductancia estomática, CO₂ intercelular, transpiración y relación CO₂ intercelular y CO₂ ambiental; longitud de plúmula y radícula, el índice de velocidad de emergencia como prueba de vigor, por ciento de emergencia como ensayo de viabilidad, además del peso fresco y seco. Se encontraron diferencias estadísticas para la tasa de asimilación de CO₂ y para la transpiración, no siendo así para el resto de las variables. Los materiales criollos presentaron mayor capacidad en el mesófilo para fijar CO₂ que los mejorados. Las poblaciones criollas tuvieron mayor longitud de plúmula y de raíz así como mayor contenido de materia seca que los mejorados, debido a que los genotipos mejorados están adaptados a condiciones benéficas, como riegos y aplicación de todos los insumos, mientras que los criollos resisten ambientes adversos como el temporal, además de ser eficientes en la producción de materia seca y en la fijación de CO₂.

Palabras clave: Asimilación de CO₂, índice de velocidad de emergencia.

Introducción

El mejoramiento genético del maíz ha sido una de las líneas de investigación agrícola de mayor consistencia y dinamismo en México (Guillén *et al.*, 2000); en el mejoramiento de maíces criollos se han utilizado métodos de mejoramiento genético como la hibridación, selección y la recombinación (Smith *et al.*, 2001; Pérez *et al.*, 2002).

Sin embargo, el maíz criollo que se cultiva en México presenta bajo potencial productivo debido a las condiciones de secano en que es sembrado. A este respecto, Tallury y Godman (1999), indican que una buena opción para el mejoramiento de maíces criollos es el aprovechamiento de la heterosis para rendimiento, que se encuentra por lo general en materiales de distinto origen.

Por su parte, Otegui *et al.* (1995), mencionan que el rendimiento de los cultivos, está en función de la acumulación neta de CO₂ durante el ciclo de crecimiento. Según Mooney *et al.* (1991), en la producción de altos rendimientos en cualquier cultivo, no solamente el genotipo, afecta al proceso fotosintético de la misma, también los factores ambientales (luz, humedad, CO₂, entre otros) influyen en dicho proceso. En un estudio realizado por Singh y Singh (1995) en sorgo, maíz y mijo perlado, se encontró que el rendimiento de materia seca tiene una relación positiva lineal con la fotosíntesis, además de ser el mejor parámetro para asegurar la producción de materia seca en las tres especies evaluadas.

Una opción que permite maximizar también el rendimiento y calidad de la producción en los cultivos es el conocimiento del vigor, como componente de la calidad fisiológica de la semilla (Hampton y Coolbear, 1990). La calidad fisiológica de la semilla se puede evaluar mediante variables como son: la velocidad de emergencia, los porcentajes de viabilidad y la germinación (Hernández *et al.*, 2000). Sin embargo, dicha calidad se puede ver alterada por la constitución genética de las plantas (Estrada *et al.*, 1999).

Debido al efecto del genotipo en la fotosíntesis de la planta y en la calidad fisiológica de sus semillas, los objetivos de esta investigación fueron evaluar el desempeño fotosintético y la calidad fisiológica de siete genotipos de maíz criollo mejorado, como efecto de diferentes estrategias de selección y mejoramiento genético.

Materiales y Métodos

Localización y material genético

El experimento se estableció en mayo de 2005, en un invernadero a 25 °C de temperatura y 75 % de humedad relativa, ubicado en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), en Saltillo, Coah., México. El material genético estuvo conformado por 10 genotipos de maíz criollo, de los cuales 3 fueron variantes de un material criollo adaptado a Jagüey de Ferniza, Saltillo, Coah., México (Jagüey); dos de ellas obtenidas por métodos de producción de semilla (ProdSG1 y ProdSG2, primer y segundo ciclo de producción, respectivamente) y una por selección de familias de hermanos completos (JagFHC) y el material criollo; dos genotipos resultado de combinaciones entre una población mejorada experimental (PobMej) y el criollo, seleccionados para madurez precoz (CMSelPre) y tardía (CMSelTar), y tres testigos constituidos por dos variedades mejoradas (T2Cafime y T3Van-210) y uno compuesto (T1CPrecoz). Los genotipos se clasificaron en tres grupos: Grupo 1: Jagüey, JagFHC,

ProdSG1 y ProdSG2; grupo 2: PobMej, CMSelPre y CMSelTar y grupo 3: T1CPrecoz, T2Cafime y T3Van210.

Manejo del cultivo

Se utilizó como sustrato una mezcla de Pro-mix PGX Premier con vermiculita en una proporción de 1: 3, se sembraron dos semillas por maceta y 5 repeticiones por material. Se realizaron aplicaciones de fertilizante foliar (20-20-20) en una dosis de 49 g en 5 L de agua, aplicando 10 ml de la solución por maceta, una vez por semana a partir de la segunda semana de la siembra.

Medición de fotosíntesis

Se realizó en la quinta hoja de las plantas con el analizador portátil marca LICOR-6400, previamente calibrado, con el tubo de la soda en posición *full scrub* y el tubo del desecante en *full bypass* y con el flujo de luz calibrado a 500 μmol m⁻² s⁻¹; las lecturas se tomaron cuando el valor permaneció constante en la pantalla por un lapso de 5 s.

Las variables medidas fueron: tasa de asimilación de CO₂ (A), expresado en μmol de CO₂ m⁻² s⁻¹; conductancia estomática (g_s), expresada en mol H₂O m⁻² s⁻¹; CO₂ intercelular (ci) en μmol CO₂ mol⁻¹; transpiración (Tr) expresada en mmol H₂O m⁻² s⁻¹ y relación entre el CO₂ intercelular y CO₂ en el ambiente (ci/ca).

Determinación de calidad fisiológica

Establecimiento del cultivo

El estudio se realizó en un invernadero en las mismas condiciones de temperatura y humedad que el anterior, con aplicaciones de riego cada tercer día en forma manual. La siembra se realizó en una cama de concreto forrada con plástico de 0.85 m de ancho por 3.20 m de largo y como sustrato se empleó Pro-mix PGX Premier. Se sembraron cuatro repeticiones de 15 semillas por cada material a una profundidad uniforme de 3 cm y distancia de planta a planta de 5 cm, con humedad a capacidad de campo.

Índice de velocidad de emergencia

Se realizaron conteos diarios del número de plántulas emergidas, para mayor precisión de la prueba, los conteos se realizaron a la misma hora. El índice de velocidad de emergencia es una prueba de vigor, y fue determinada por el conteo de las plántulas emergidas, empleándose la siguiente fórmula:

$$I.V.E. = \sum_{i=1}^n \frac{\text{No. de plántulas al conteo } i\text{-ésimo}}{\text{No. de días desde siembra a conteo } i\text{-ésimo}}$$

Porcentaje de emergencia

La determinación del porcentaje de emergencia (ensayo de viabilidad) se realizó tomando en cuenta el número de plantas totales emergidas en el último conteo, empleándose la siguiente fórmula:

$$\%E = \frac{\text{No. de plántulas al conteo } i\text{-ésimo}}{\text{No. de días desde siembra a conteo } i\text{-ésimo}}$$

Una vez determinada esta variable se sacaron, con sumo cuidado, 3 repeticiones de 5 plántulas con su raíz completa, de cada material, se midió la longitud de plúmula y radícula (LP y LR, respectivamente) a cada plántula, individualmente y, posteriormente, se determinó el peso fresco de las 5 plántulas por repetición. Para secar las muestras se utilizó una estufa a una temperatura de 75 °C durante 24 h y, finalmente, las plántulas se pesaron en una balanza analítica previamente calibrada.

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar. Se realizaron los análisis de varianza respectivos y para las fuentes de variación que resultaron significativas, se efectuó la correspondiente comparación de medias de Tukey (Tukey ($\alpha \leq 0.01$)).

Los datos de todas las variables evaluadas se procesaron con el paquete de computación Statistical Analysis System (SAS, 1999).

Resultados y Discusión

Fotosíntesis

Se encontraron diferencias significativas ($P \leq 0.01$) entre genotipos para la variable A y Tr. (Cuadro 1), lo que indica que los genotipos evaluados difieren en la capacidad del mesófilo para fijar CO₂ sin ser afectados en gran medida por limitaciones estomáticas.

En el Cuadro 2 se muestra que los materiales criollos Jagüey y ProdSG1 presentaron mayor capacidad

Cuadro 1. Cuadros medios del análisis de varianza para la medición de fotosíntesis de siete genotipos de maíz criollo mejorado, como efecto de diferentes estrategias de selección y mejoramiento genético.

FV	GL	A ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	g_s ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	ci ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$)	Tr ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	ci/ca
Gen	9	6.76**	0.004ns	1062.90ns	212*	0.0074ns
Error	37	154	0.002	624.28	0.94	0.0044
C.V. (%)		8.76	24.18	10.73	15.44	10.86

** , * = Niveles de significancia al 0.01 y 0.05 respectivamente. ns = no significativo. FV. = Fuentes de Variación; GL = Grados de libertad; A = Tasa de asimilación de CO₂; g_s = Conductancia estomática; ci = CO₂ intercelular; Tr = Transpiración; ci/ca = relación entre el CO₂ intercelular y asimilación de CO₂. Gen = Genotipo.

Cuadro 2. Comparación de medias del desempeño fotosintético de siete genotipos de maíz criollo mejorado, como efecto de diferentes estrategias de selección y mejoramiento genético.

Gen	Gpo	A ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	g_s ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	ci ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$)	Tr ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	ci/ca
Jagüey	1	16.15 a [†]	0.19 ab	219.00	6.43 ab	0.58
ProdSG1	1	16.08 a	0.22 ab	231.75	7.21 ab	0.61
T3 Van210	3	15.40 ab	0.21 ab	229.25	6.61 ab	0.61
T2Cafime	3	14.12 abc	0.26 a	265.40	7.47 a	0.70
CMSelTar	2	14.10 abc	0.17 ab	220.40	5.70 ab	0.58
PobMej	2	14.10 abc	0.20 ab	239.40	6.17 ab	0.63
CMSelPre	2	13.94 abc	0.18 ab	226.40	6.20 ab	0.60
T1CPrecoz	3	13.68 abc	0.19 ab	241.8	6.12 ab	0.64
JagFHC	1	13.04 bc	0.18 ab	236.60	5.94 ab	0.62
ProdSG2	1	12.34 c	0.15 b	214.00	5.23 b	0.56
Media		14.19	0.19	232.77	6.28	0.61
Tukey		2.74	0.10	55.10	2.14	0.15

[†]Valores con la misma letra son iguales estadísticamente (Tukey $\alpha = 0.05$ %).

fotosintética, ya que la tasa de asimilación superó numéricamente a los testigos y a los materiales del grupo 2, y estadísticamente a JagFHC y ProdSG2. Este resultado es coincide con lo reportado por Gui-Rui *et al.* (2004) quienes señalan que el mesófilo de la planta es el que controla la asimilación de CO₂, lo que marca la variabilidad entre las plantas.

Conductancia estomática

Aunque no se presentaron diferencias estadísticas significativas entre genotipos, si se observaron diferencias numéricas; el genotipo ProdSG1 fue superado numéricamente por el testigo Cafime, que obtuvo el mayor valor. El genotipo Jagüey y el testigo CPrecoz obtuvieron el mismo valor numérico, siendo superados por el testigo Van210 y PobMej; los genotipos CMSelPre y JagFHC presentaron también los mismos valores, superando al genotipo CMSelTar. El genotipo ProdSG2 presentó el menor valor, difiriendo del testigo T2 Cafime en un 57.7 %.

Lo anterior sugiere que este genotipo presenta limitaciones estomáticas, ya que el valor obtenido es reducido, lo cual indica una resistencia a la entrada de CO₂ a la planta a través de los estomas. Relacionar la concentración de CO₂ intercelular (Ci), con la tasa de asimilación de CO₂ y la conductancia estomática, proporciona información sobre las limitaciones impuestas por la misma planta a nivel del mesófilo o por el cierre de los estomas.

De acuerdo a los resultados, no se presentaron diferencias significativas entre genotipos para Ci; numéricamente los genotipos Jagüey y ProdSG2 presentaron los menores valores. Sin embargo, la tasa de asimilación de CO₂ fue menor en ProdSG2 en comparación con Jagüey. La diferencia en la tasa de asimilación de CO₂ fue de 23.4 %, lo que indica que Jagüey presenta un mesófilo más eficiente que ProdSG2. Lo anterior se puede confirmar con los valores de g_s, ya que son estadísticamente iguales y difieren en 0.04 mol H₂O m⁻² s⁻¹.

Esto nos indica que no se presentó limitación estomática en ambos genotipos, sino que la diferencia se debió, como se mencionó anteriormente, a la capacidad del mesófilo. El testigo T2Cafime presentó un valor alto de Ci y de g_s, en comparación con los materiales criollos y los mejorados; lo anterior indica que presenta limitación en el mesófilo y no estomática.

Con relación a Tr, se observó el más alto valor en el testigo T2Cafime, y la menor transpiración en ProdSG2. El resto de los genotipos mantuvo valores intermedios, sin tendencias entre grupos genéticos. La variable Ci/Ca no presentó diferencias significativas entre genotipos, sin embargo, si los hubo numéricos; el valor que obtuvo Jaguey, se relaciona con su capacidad para fijar CO₂ en el proceso fotosintético.

Calidad fisiológica

Los cuadrados medios del análisis de varianza para las variables relacionadas con la velocidad de emergencia, se muestran en el Cuadro 3.

Se observaron diferencias significativas en todas las variables, en la fuente de variación genotipos, indicando que los materiales estudiados difieren en el desarrollo de plúmula y radícula, repercutiendo en la producción de materia seca y velocidad de emergencia.

El análisis de comparación de medias (Cuadro 4), para la LP, no encontró diferencia entre los dos grupos, sin embargo, el grupo 1 (Jaguey y ProdSG2) mostró mayor longitud de plúmula después del testigo T1CPrecoz. El mismo resultado se presentó en LR, en donde no se observó una diferencia entre los dos grupos, el testigo T1CPrecoz mostró nuevamente el mayor valor. El IVE fue mayor en los dos testigos T1CPrecoz y T2Cafime, cuya población está constituida con materiales criollos y población mejorada respectivamente. Después de estos, los materiales con los mayores valores fueron la población criolla Jaguey y las combinaciones de ésta con la población mejorada (CMSelPre y CMSelTar), así como ProdSG2. El testigo T3Van210 obtuvo el menor índice de emergencia. En la variable E, el testigo T1CPrecoz presentó el mayor

Cuadro 3. Cuadrados medios del análisis de varianza para la medición de índice de velocidad de emergencia (IVE) de siete genotipos de maíz criollo mejorado, como efecto de diferentes estrategias de selección y mejoramiento genético.

FV	GL	LP (cm)	LR (cm)	GL	IVE	E (%)	PF (g/planta)	PS (g/planta)
Genotipos	9	183.51 **	132.00 **	9	0.57 **	522.17 **	0.91 **	0.005 **
Error	190	15.73	19.80	30	0.08	74.44	0.10	0.001
C.V. (%)		16.67	29.29		10.79	9.75	16.61	18.54

gl = Grados de libertad; LP = Longitud de plúmula; LR = Longitud de radícula; IVE = Índice de velocidad de emergencia; E = Emergencia en el último conteo; PF = Peso fresco; PS = Peso seco; C.V. = Coeficiente de variación.

Cuadro 4. Comparación de medias de los genotipos evaluados para la medición del IVE

Gen	Gpo	LP (cm)	LR (cm)	IVE	E (%)	PF (g/planta)	PS (g/planta)
T1CPrecoz	3	27.08 a [†]	18.86 a	13.13 a	100.00 a	2.56 a	0.20 a
Jagüey	1	26.97 a	16.44 ab	2.85 a	90.00 ab	2.27 ab	0.16 abc
ProdSG2	1	26.13 a	14.27 bcd	2.73 ab	90.00 ab	2.03 abc	0.14 abc
CMSelPre	2	25.35 ab	17.33 ab	2.85 a	98.33 a	2.08 abc	0.14 abc
ProdSG1	1	24.12 abc	11.10 d	2.13 bc	66.67 c	1.65 bcd	0.13 bcd
T2Cafime	3	24.12 abc	15.92 abc	2.88 a	96.67 a	2.11 abc	0.15 abc
CMSelTar	2	24.07 abc	17.80 ab	2.82 a	91.67 a	2.20 abc	0.17 ab
JagFHC	1	21.37 bcd	14.44 abcd	2.48 abc	86.67 abc	1.60 bcd	0.11 bcd
PobMej	2	21.28 cd	14.27 bcd	2.60 ab	95.00 a	1.48 cd	0.10 cd
T3 Van210	3	17.36 d	11.52 cd	1.89 c	70.00 bc	0.92 d	0.07 d
Tukey		4.02	4.51	0.69	20.81	0.76	0.06

† Valores con la misma letra son iguales estadísticamente (Tukey $\alpha = 0.05$ %). GEN = Genotipo.

valor y fue estadísticamente igual a los genotipos del grupo 2 y al testigo T2Cafime. El genotipo criollo ProdSG1 mostró la menor viabilidad en un periodo de 8 días después de la siembra. En cuanto a PS, el testigo T1CPrecoz, produjo mayor materia seca por plántula, el grupo 1 mostró una tendencia de producir mayor materia seca que los materiales del grupo 2. El testigo T3Van210 fue el menor productor de materia seca de todos los genotipos.

Conclusiones

Los materiales criollos tienen mayor longitud de plúmula y radícula, además de presentar mayor contenido de materia seca, comparado con los materiales mejorados, esto se debe a que estos últimos están adaptados a condiciones benéficas o de riego, en donde se aplican todos los insumos, mientras que los materiales criollos están adaptados a condiciones adversas como lo es el de secano, en donde estos materiales son muy nobles, ya que resisten estas condiciones y además son mas eficientes en la producción de materia seca; esto se respalda con los resultados obtenidos en la medición de fotosíntesis, en donde los materiales criollos tuvieron un mesófilo muy eficiente en la fijación de CO₂.

Literatura Citada

Estrada, G. J.A., A. Hernández L., F. Hernández O., A. Carballo C. y F.V. González C. 1999. Tipos de endospermo en maíz y su relación con la calidad de semilla. *Fitotec. Mex.* 22(1):99-109.

Gui-Rui, Y., W. Qiu-Feng and J.I.E. Zhuang. 2004. Modeling the water use efficiency of soybean and maize plants under environmental stresses: application of a synthetic model of photosynthesis-transpiration based on stomatal behavior. *J. Plant Physiol.* 161(3): 303-318.

Guillén, P. L.A., C. Sánchez Q., S. Mercado D. y H. Navarro G. 2000. Análisis de atribución causal en el uso de semilla criolla y semilla mejorada de maíz. *Agrociencia.* 36:377-387.

Hampton, J. G and P. Coolbear. 1990. Potential versus actual seed performance – can vigour testing provide an answer?. *Seed Sci. And Technol.* 18 (1): 215-228.

Hernández, G. J.A., A. Carballo C., A. Hernández L. y F. V. González C. 2000. Ponderación de variables de calidad fisiológica para la medición del vigor en semilla de maíz. *Fitotec. Mex.* 23: 239-250.

Mooney, A. H., W. E. Winnor, and E. J. Pell. 1991. Response of plants to multiple stress. Academic Press. Inc. CA. USA. 257 p.

Otegui, M. E., M. G. Nicolini, R. A. Ruiz, and P. A. Dodds. 1995. Sowing date effects on grain yield components for different maize genotypes. *Agron. J.* 87: 29-33.

Pérez, C. A., J. D. Molina G. y A. Martínez G. 2002. Selección masal para adaptación en razas de maíz en los Valles Altos de México: Cambios en el rendimiento y caracteres agronómicos. *Investigación Agric. No. 7.* Fundación para la Investigación Agrícola, DANAC, Yaracuy, Venezuela.

SAS. 1999. SAS OnlineDoc®, Versión 8, Cary, NC. SAS Institute Inc.

Singh, B. R., and D. P. Singh. 1995. Agronomic and physiological responses of sorghum, maize and pearl millet to irrigation. *Field Crops Research.* 42: 57-67.

Smith, M. E., F. Castillo G. and F. Gómez. 2001. Participatory plant breeding with maize in México and Honduras. *Euphytica.* 122 (3): 551-563.

Tallury, S. P. and M. M. Goodman. 1999. Experimental evaluation of the potencial of tropical germplasm for temperature maize improvement. *Theor. Appl. Genet.* 98:54-61.

Actividad Antibacteriana del Aceite Esencial de Orégano Mexicano (*Lippia graveolens* H.B.K.)

Genoveva Hernández Zamudio^{1*}, Margarita Guerrero Rodríguez², Rafael Rodríguez Martínez¹, Sara Elisa Alonzo Rojo³

¹Departamento de Agroecología, Departamento de Ciencias Médico Veterinarias, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna. 27059. Torreón, Coah., México. ³Laboratorio de Microbiología de la Unidad Médica de Altas Especialidades No.71 del IMSS. Torreón, Coah., México. E-mail: veva_hz@yahoo.com (*Autor responsable).

Abstract

The antibacterial activity, and components of the essential oil obtained by hidrodestilation of the aerial parts (leaves and flowers) of *Lippia graveolens* H.B.K. plants, collected in Torreón, Coah., Mexico, were assayed. The analysis of the main constituent members (CP) was performed by means of nuclear magnetic resonance (R M N) of ¹³C, and antibacterial activity. Determining the minimal inhibitory concentration was performed by the method of broth dilution, using *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 strains, and two isolated strains of cow milk with mastitis: *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The main obtained constituent members were: carvacrol (72 %) and its precursor, p-cymeno (28 %). Both percentages were high in relation to the reported ones in other assays (0,02 to 44,8 % for carvacrol and 6,8 to 21,8 % for p-cymeno). As compared with the ATCC strains, *E. coli* and *S. aureus* isolated of milk with mastitis were more sensitive to the oregano oil (10 vs $\mu\text{L mL}^{-1}$ in *E. coli* and 5 vs 1.25 in *S. aureus*) while *Ps. aureuginosa* required 2,5 $\mu\text{L mL}^{-1}$. The antibacterial activity shown by the oregano essential oil was effective against the pathogenic bacteria. This demonstrates its potential use as a therapeutic agent.

Key Words: Bacteria, method of dilution, hidrodestilation, carvacrol, p-cymeno

Resumen

Se estudiaron los componentes y la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Lippia graveolens* H.B.K. colectado en Torreón, Coahuila, México, obtenido por hidrodestilación de las partes aéreas (hojas y flores). El análisis de los constituyentes principales (CP) se realizó por resonancia magnética nuclear (RMN) de ¹³C y la actividad antibacteriana, determinando la concentración mínima inhibitoria se realizó por el método de dilución en caldo, utilizando cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y dos cepas aisladas de leche de vaca con mastitis: *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Los principales constituyentes obtenidos fueron: carvacrol (72 %) y su precursor, p-cymeno (28 %). Ambos porcentajes fueron elevados respecto a los reportados en otros estudios (0.02 a 44.8 % para el carvacrol y 6.8 a 21.8 % para p-cymeno). En comparación con las cepas ATCC, *E. coli* y *S. aureus* aisladas de leche con mastitis fueron más sensibles al aceite de orégano (10 vs 5 $\mu\text{L mL}^{-1}$ en *E. coli* y 5 vs 1.25 en *S. aureus*) mientras que *Ps. aureuginosa* requirió 2.5 $\mu\text{L mL}^{-1}$. La actividad antibacteriana mostrada por el aceite esencial de orégano fue efectiva contra las bacterias patógenas probadas, lo que demuestra su potencial uso como agente terapéutico.

Palabras clave: Bacterias, método de dilución, hidrodestilación, carvacrol, p-cymeno

Introducción

El género *Lippia* (Verbenaceae) incluye, aproximadamente, 200 especies de hierbas, arbustos y árboles pequeños. Las especies están distribuidas principalmente a lo largo de los países de América del Sur, Centroamérica

y en los territorios de África Tropical (Rastrelli *et al.*, 1998; Pascual *et al.*, 2001). Las plantas de este género se utilizan en forma de té o infusión por poseer propiedades curativas para distintos padecimientos que van desde infecciones respiratorias, digestivas, hipertensión arterial,

antiespasmódico, hasta malaria, sarna, pedunculosis y también como desinfectante bucal (Valentao *et al.*, 2002).

Lippia graveolens H.B.K. es una planta fuertemente aromática nativa del sur de Norteamérica, México, Guatemala, Nicaragua, Honduras, Panamá, Guatemala y Colombia (Rastrelli *et al.*, 1998; Salgueiro *et al.*, 2003a; Stashenko *et al.*, 2004). En la medicina folclórica se le conoce como orégano de monte y mejorana (Rastrelli *et al.*, 1998). Esta especie es usada en Centroamérica para el tratamiento de varias enfermedades principalmente desórdenes gastrointestinales y respiratorios (Pascual *et al.*, 2001; Salgueiro *et al.*, 2003a; Stashenko *et al.*, 2004), además de ser empleada como sazónador de alimentos (Pascual *et al.*, 2001).

Los aceites esenciales son productos naturales extraídos de materiales vegetales (Ohno *et al.*, 2003; Bagamboula *et al.*, 2004).

Estudios de los metabolitos secundarios de las plantas muestran que los aceites esenciales son potencialmente utilizables en la medicina y en las industrias alimenticia, farmacéutica y de cosméticos. Generalmente se aíslan de plantas no maderables por métodos de destilación, normalmente por vapor (hidrodestilación), y son mezclas inconstantes de terpenos, principalmente de hemiterpenos [C5], monoterpenos [C10], sesquiterpenos [C15] y diterpenos [C20], aunque también pueden estar presentes una variedad de hidrocarburos alifáticos de peso molecular bajo (lineal, ramificados, saturados y monosaturados), ácidos, alcoholes, aldehídos, acíclicos o lactones, y excepcionalmente compuestos que contienen nitrógeno y azufre. Los terpenos están entre los compuestos responsables de los usos medicinales y culinarios de las plantas aromáticas y en su mayoría derivan de la condensación de unidades de isopreno de cinco-carbonos ramificados y se categorizan según el número de estas unidades presentes en el esqueleto del carbono (Cowan, 1999; Dorman y Deans, 2000).

Los aceites esenciales se usan para infecciones ocasionadas por bacterias y hongos (Hammer *et al.*, 1998), poseen propiedades antioxidantes y anticancerígenas (Bagamboula *et al.*, 2004), además como fragancias en perfumería y en la industria alimenticia (Kalemba y Kunicka, 2003).

Aunque durante siglos se han reconocido las propiedades antimicrobianas de algunos aceites esenciales derivados de plantas, éstas se han confirmado sólo recientemente y se relacionan con ciertos componentes de los aceites que son particularmente activos, como el carvacrol, timol, citral, geraniol, eugenol, mentol y el aldehído de la canela. Se ha reportado que a concentraciones superiores a 1 mM el carvacrol disminuye

exponencialmente la viabilidad de *Bacillus cereus*. Al mismo tiempo, se observan aumentos en la fluidez de la membrana y el escape de protones y iones de potasio, lo que lleva a una disminución en la pendiente del pH en la membrana citoplasmática, a su colapso y a la inhibición de la síntesis de ATP. Estos eventos son seguidos por la muerte de la célula. (Ultee *et al.*, 1999) Esto ha despertado el interés en los aceites esenciales debido a que se ha sugerido que podrían ser útiles en la erradicación de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) (Nelson, 2003). En lo que respecta a los compuestos presentes en *L. graveolens*, los principales son el timol y el carvacrol (Pascual *et al.*, 2001) cuyos precursores son el α -terpineno y p-cimeno respectivamente (Salgueiro *et al.*, 2003b). Estos poseen actividad antibacteriana y tiene aplicación en el tratamiento de enfermedades (Ultee *et al.*, 1999). En la planta la cantidad de aceite esencial y sus componentes varía como resultado de los factores climáticos, el origen geográfico y la fecha de cosecha, encontrándose que su mayor producción se obtiene a finales del período de floración, además el rendimiento también se afecta por el proceso de extracción (Perez-Galindo *et al.*, 2000; Gulluce *et al.*, 2003; Burt, 2004).

Es necesario que la evaluación de la actividad antimicrobiana de un aceite esencial deba acompañarse por la determinación de su composición química (Gulluce *et al.*, 2003). Si los componentes del aceite esencial de *L. graveolens* son los responsables de la actividad antibacteriana y varían de acuerdo con los factores climáticos y fonológicos, se espera que este aceite esencial del Barrial de Guadalupe, municipio de Torreón, Coah., México tenga como componente mayor al carvacrol y, por ende, mayor potencial antibacteriano.

Es por ello que este trabajo se realizó con el objetivo de determinar los principales componentes del aceite esencial de plantas de *L. graveolens* colectadas en el Barrial de Guadalupe, Municipio de Torreón, Coahuila y evaluar su actividad *in vitro* contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas.

Materiales y Métodos

Material vegetativo

De septiembre a noviembre del 2003 se colectaron partes aéreas de plantas silvestres de orégano en floración en el Barrial de Guadalupe, Municipio de Torreón, Coah., México, localizado en las coordenadas geográficas 25° 00' LN y 103° 14' LO y a una altitud de 1320 m. Se depositó un ejemplar con el número 2006 en el Herbario Jorge Saúl Marroquín de la Fuente del Departamento de Agroecología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna.

Extracción y Análisis de Aceite Esencial

El aceite esencial se extrajo de las partes aéreas de las plantas (hojas y flores) desecadas al sol y tratadas por hidrodestilación durante 3 h, usando un aparato tipo Rotavapor Buche R-114 modificado. El análisis de los componentes del aceite se realizó en el laboratorio de Química Heterocíclica del Departamento de Química del El Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV) Unidad Zacatenco, en la Ciudad de México, mediante el método de espectros de cloroformo deuterado de resonancia magnética nuclear (RMN) de ^{13}C .

Cepas Bacterianas

Escherichia coli y *Staphylococcus aureus* fueron aisladas de las ubres de vacas lecheras con mastitis. *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853 y *E. coli* ATCC 25922 fueron proporcionadas por el Cepario del Laboratorio de Bacteriología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional (IPN).

Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

La estimación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) se llevó a cabo por el método de dilución en caldo (Burt, 2004). Las diluciones fueron de 40.0 a 0.078 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de aceite esencial de *Lippia graveolens* al 0.1 % en etanol al 96 % para la solubilidad. Los tubos fueron inoculados con una suspensión de los microorganismos que se ajustó a una densidad de 2.4×10^8 unidades formadoras de colonias de acuerdo al 0.5 nefelómetro de Mc. Farland en 2 mL de infusión cerebro-corazón (Sigma) en tubos de ensayo de 10 mL. Se tomaron los valores de la CMI como la concentración más baja de extracto que completamente inhibió el crecimiento bacteriano después de 24 h de incubación a 37 °C después de lo cual se leyó la absorbancia de cada uno de los tubos en un espectrofotómetro Coleman Junior II. Se usó un testigo sin el extracto. Cada prueba se repitió por lo menos tres veces.

Resultados y Discusión

El análisis del aceite permitió observar que los dos compuestos más abundantes de la muestra fueron carvacrol con un 72 % y p-cimeno, precursor de carvacrol, con un 28 %. Estos resultados difieren de los obtenidos por Salgueiro *et al.* (2003a), quienes reportaron niveles de 21.8 % de p-cimeno y 44.8 % de carvacrol para su muestra con niveles más altos. Los resultados son importantes debido a que según reportes previos la

actividad antimicrobiana del aceite de orégano depende de su contenido en carvacrol y timol, mientras que por otra parte, los organismos con infecciones bacterianas se benefician por la acción antioxidante de estos compuestos.

Las cepas obtenidas de leche de vacas con mastitis requirieron menos del doble de la concentración para inhibir el crecimiento, que las bacterias ATCC, es decir, las bacterias nativas mostraron mayor susceptibilidad a los efectos antibacterianos del aceite. Por otra parte se observó que las bacterias Gram-negativas (*E. coli*, *E. coli* ATCC 25922) presentaron menor sensibilidad a los efectos antibacterianos del aceite de *L. graveolens*, que las bacterias Gram-positivas (*S. aureus* y *S. aureus* ATCC 25923). *P. aeruginosa* 27853 presentó una CMI de 2.5 $\mu\text{L mL}^{-1}$ (Cuadro 1), por lo que no se encontraron evidencias de que esta bacteria sea capaz de degradar el carvacrol parcialmente (Schwäm mLe *et al.*, 2001).

Cuadro 1. Concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Lippia graveolens*.

Bacteria	CMI ($\mu\text{L mL}^{-1}$)
<i>Escherichia coli</i>	5
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.25
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	10
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	2.5

La posibilidad de utilizar en forma extensa el aceite esencial de *L. graveolens* para infecciones bacterianas requiere que se continúe con pruebas *in vitro* para otros grupos bacterianos y de hongos, así como con pruebas *in vivo* para las bacterias que presentaron susceptibilidad en la pruebas *in vitro*. Son necesarios también, más estudios que permitan identificar la farmacodinamia y la farmacocinética de este recurso natural.

Conclusiones

El aceite esencial de plantas de *Lippia graveolens* colectadas en el ejido Barrial de Guadalupe, municipio de Torreón, Coah., México, tiene un alto contenido de carvacrol por lo que se deduce que es de buena calidad. El aceite esencial de *Lippia graveolens* a bajas concentraciones mostró potencial antibacteriano para inhibir el crecimiento de todas las bacterias probadas pero de mejor manera las Gram-positivas.

Agradecimiento

Al Establo Beta San Gabriel, S. A. de C.V., por la confianza depositada al permitir la realización del proyecto con su ganado, y por el apoyo económico.

Literatura Citada

- Bagamboula, C., M. Uyttendaele y J. Debevere. 2004. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. Food Microbiol. 21: 33-42.
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. Int. J. Food Microbiol. 94(3): 223-53.
- Cowan, M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbiol. Rev. 12(4): 564-82.
- Dorman, H. J. y S. G. Deans 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. J. Appl. Microbiol. 88(2): 308-16.
- Gulluce, M., M. Sokmen, D. Daferera, G. Agar, H. Ozkan, N. Kartal, M. Polissiou, A. Sokmen y F. Sahin 2003. In vitro antibacterial, antifungal, and antioxidant activities of the essential oil and methanol extracts of herbal parts and callus cultures of *Satureja hortensis* L. J. Agric. Food Chem. 51(14): 3958-65.
- Hammer, K. A., C. F. Carson y T. V. Riley 1998. In vitro activity of essential oils, in particular *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and tea tree oil products, against *Candida* spp. J. Antimicrob. Chemother. 42(5): 591-5.
- Kalemba, D. y A. Kunicka 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Curr Med. Chem. 10(10): 813-29.
- Nelson, R. R. S. 2003. In-vitro activities of five plant essential oils against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. J. Antimicrob. Chemother. 40: 305-6.
- Ohno, T., M. Kita, Y. Yamaoka, S. Imamura, T. Yamamoto, S. Mitsufuji, T. Kodama, K. Kashima y J. Imanishi. 2003. Antimicrobial activity of essential oils against *Helicobacter pylori*. Helicobacter 8(3): 207-15.
- Pascual, M. E., K. Slowing, E. Carretero, D. Sanchez Mata y A. Villar. 2001. *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. J. Ethnopharmacol. 76(3): 201-14.
- Perez-Galindo, J. A., J. Lopez-Miranda y I. R. Martinez-Dominguez. 2000. Geometric and Reynolds number effects on oregano (*Lippia berlandieri* Schauer) essential oil extraction. J. Food Eng. 44: 127-33.
- Rastrelli, L., A. Caceres, C. Morales, F. De Simone y R. Aquino. 1998. Iridoids from *Lippia graveolens*. Phytochemistry 49(6): 1829-1832.
- Salgueiro, L. R., C. Cavaleiro, M. J. Goncalves y A. P. da Cunha. 2003a. Antimicrobial activity and chemical composition of the essential oil of *Lippia graveolens* from Guatemala. Planta Medica 69(1): 80-83.
- Salgueiro, L. R., C. Cavaleiro, E. Pinto, C. Pina-Vaz, A. G. Rodrigues, A. Palmeira, C. Tavares, S. Costa-de-Oliveira, M. J. Goncalves y J. Martinez-de-Oliveira. 2003b. Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Origanum virens* on *Candida* species. Planta Med 69(9): 871-4.
- Schwäm mLe, B., E. Winkelhausen, S. Kuzmanova y W. Steiner. 2001. Isolation of carvacrol assimilating microorganisms. Food Technol. Biotechnol. 39(4): 341-345.
- Stashenko, E. E., B. E. Jaramillo y J. R. Martínez. 2004. Analysis of volatile secondary metabolites from colombian *Xylopiia aromatica* (Lamarck) by different extraction and headspace methods and gas chromatography. J. Chromatogr. A 1025(1): 105-13.
- Ultee, A., M. H. Bennik y R. Moezelaar. 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. Appl. Environ. Microbiol. 68(4): 1561-8.
- Ultee, A., E. P. Kets y E. J. Smid 1999. Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. Appl. Environ. Microbiol. 65(10): 4606-4610.
- Valentao, P., E. Fernades, F. Carvalho, P. B. Andrade, R. M. Seabra y M. L. Bastos. 2002. Studies on the Antioxidant Activity of *Lippia citriodora* Infusion: Scavenging Effect on Superoxide Radical, Hydroxyl Radical and Hypochlorous Acid. Biol. Pharm. Bull. 25(10): 1324-1327.
-

Efecto Antifúngico de Gobernadora (*Larrea tridentata*) para Inhibir el Crecimiento de *Fusarium moniliforme*, *Aspergillus flavus* y *Aspergillus ochraceus* en maíz

Zurivey Díaz Cortés^{1*}, Federico Facio Parra¹, Ricardo Hugo Lira Saldivar²

¹Centro de Capacitación y Desarrollo de Tecnología de Semillas. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro No. 1923, Colonia Buenavista, 25315, Saltillo, Coahuila, México. E.mail: zury_uaaan@yahoo.com.mx (*Autor responsable). ²CIQA. Centro de Investigaciones en Química Aplicada. Bvd. Enrique Reyna Herмосillo No. 140, Saltillo, Coah., México, CP 25100.

Abstract

The corn grains (*Zea mays*) are susceptible to the proliferation of toxigenic molds like *Fusarium moniliforme*, *Aspergillus Flavus* and *Aspergillus ochraceus*. In addition to the direct damages caused by the infected plants, these molds produce a great variety of secondary metabolites, some of which are toxic when ingested by humans and animals, via contaminated foods. In this assay the effects of hydrosoluble methanolic extract of gobernadora (*Larrea tridentata*) was evaluated (*L. tridentata*) to 25 % of total solids, for its action against the infestation of *F. moniliforme*, *A. flavus* and *A. ochraceus* in corn grains stored for a 180-day period checking for results every 30 days. The extract was assayed in doses of 4,000; 6,000 and 8,000 ppm. The results showed that in a dose of 6,000 ppm the percentage of infestation with *A. flavus*, and *A. ochraceus* was lower, however, for *F. moniliforme* the doses that inhibited the pathogen were: 4,000 and 8,000 ppm. All the doses had a fungicide effect. As the storage period was increased, the infestation percentage became higher.

Key words: Infestation, abstract, dose, inoculation, storage.

Resumen

Los granos de maíz (*Zea mays*) son susceptibles a la proliferación de mohos toxigénicos como *Fusarium moniliforme*, *Aspergillus flavus* y *Aspergillus ochraceus*. Además de los daños directos que ocasionan a las plantas infectadas, estos hongos producen una gran variedad de metabolitos secundarios, algunos de los cuales son tóxicos al ser ingeridos, por humanos y animales en alimentos contaminados. En este estudio se evaluó el efecto del extracto metanólico hidrosoluble de gobernadora (*L. tridentata*) al 25 % de sólidos totales, sobre la acción contra la infestación de *F. moniliforme*, *A. flavus* y *A. ochraceus*, en granos de maíz almacenados por un periodo de 180 días realizando evaluaciones cada 30 días. Se probaron dosis de 4,000; 6,000 y 8,000 ppm de extracto de gobernadora. Los resultados mostraron que a dosis de 6,000 ppm el porcentaje de infestación de *A. flavus* y *A. ochraceus* fue menor, sin embargo, para *F. moniliforme* las dosis que inhibieron al hongo fueron: 4,000 y 8,000 ppm. Todas las dosis tuvieron efecto fungicida, ya que conforme se incrementó el período del almacenamiento, el porcentaje de infestación también lo hizo.

Palabras clave: Infestación, extracto, dosis, inoculación, almacenamiento.

Introducción

La producción de maíz es susceptible de ser alterada por factores diversos que afectan tanto la cantidad como la calidad de granos cosechados, en muchas áreas de producción como en zonas tropicales, las condiciones ambientales favorecen la proliferación de mohos

toxigénicos en los granos, como es el caso de *Fusarium moniliforme*, *Aspergillus flavus* y *Aspergillus ochraceus*. Siendo *F. moniliforme* un hongo de gran importancia por tener una distribución cosmopolita en todos los tipos de climas y poseer un amplio ámbito de hospederos; destacando entre las enfermedades que produce, la

germinación prematura del maíz y la pudrición de la mazorca. Además de los daños directos que ocasiona a las plantas infectadas, este hongo produce una gran variedad de metabolitos secundarios, algunos de los cuales son tóxicos al ser ingeridos por humanos y animales en alimentos contaminados (Ayvar-Serna, 1997; Pittet *et al.*, 1992). Por otra parte, la especie *Aspergillus flavus* se considera como un hongo que presenta una mayor distribución geográfica, encontrándose desde las regiones árticas hasta el ecuador. Se considera la principal especie productora de aflatoxinas que se desarrolla en el maíz (Herrera y Ulloa, 2004).

Por su parte *A. ochraceus* es el productor de la ochratoxina la cual, ocasiona varios síntomas en animales domésticos (Agris, 2004), estas toxinas constituyen un serio problema que afectan la germinación y desarrollo de plantas de este cereal (Herrera y Ulloa, 2004). Para la prevención y manejo de este problema, existen diversas medidas como son: la regulación de la humedad del grano, el uso de variedades tolerantes o resistentes, algunas prácticas culturales y el tratamiento de las semillas con fungicidas. Sin embargo, estos productos han sido cuestionados por los riesgos de sus residuos en alimentos (Bhatnagar *et al.*, 1994; Payne, 1992).

El uso potencial de productos naturales de origen vegetal para el combate de hongos que dañan los granos en almacén es uno de los aspectos menos estudiados, aunque existen algunos reportes como el de Vargas-Arispuro *et al.* (1997) quienes encontraron que el extracto de *L. tridentata* obtenido con diclorometano, inhibió en 92 y 86 % el crecimiento de *A. flavus* y *A. parasiticus*. Por otra parte, Montes-Belmont y Flores (2000) demostraron la acción antifúngica *in vitro* contra diversos hongos fitopatógenos de gran importancia económica, algunos de ellos caracterizados por tener una gran capacidad metabólica como los pertenecientes a los géneros *Aspergillus* y *Fusarium*. Se ha determinado que los extractos de *L. tridentata* tienen acción antifúngica bajo condiciones *in vitro* en al menos 17 hongos fitopatógenos de importancia económica; de igual manera extractos y material vegetativo molido en polvo e incorporado al suelo han confirmado inhibir o controlar seis hongos en cultivos agrícolas (Lira-Saldivar, 2003). Desafortunadamente todos estos estudios se han efectuado mediante el contacto directo entre los productos vegetales y el hongo en medio de cultivo artificial y no hay precedentes sobre lo que ocurre al aplicarlos a substratos naturales como granos de maíz. Por lo que el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto protector de *L. tridentata* contra *F. moniliforme*, *A. flavus* y *A. ochraceus* en semillas de maíz por un período de 180 días.

Materiales y Métodos

Microorganismo

Se usaron cepas de *F. moniliforme*, *A. flavus* y *A. ochraceus* de origen monospórico, proporcionadas por la Unidad de Granos y Semillas (UNIGRAS) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). La cepa se preservó en gel de sílice en de tubos de ensaye, posteriormente se hicieron transferencias a medio de cultivo malta sal agar (MSA) para reactivar su crecimiento y esporulación. La siembra se realizó inoculando una muestra de gel de sílice de cada hongo en el centro de una caja petri, la cual se mantuvo a $5\pm 1^\circ\text{C}$ durante el tiempo que duró el trabajo. Los cultivos se incubaron periódicamente por 8 d a $25\pm 1^\circ\text{C}$, para todas las pruebas.

Extracto de *L. tridentata*

El extracto metanólico al 25 %, fue proporcionado por el Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA) de Saltillo, Coah., México, donde se realizaron diluciones de 4,000; 6,000 y 8,000 ppm.

Protección de semillas de maíz

Esta prueba se realizó en semillas de maíz del híbrido H-446, proporcionado por el Instituto Mexicano del Maíz. Consistió en la adhesión de 1334 semilla de maíz por cada dosis de extracto de *L. tridentata*, una vez adherida cada dilución, la semilla se almacenó en frascos de vidrio a una temperatura de 25°C por 180 d.

Germinación de esporas y desarrollo micelial

Del cultivo de *F. moniliforme*, *A. flavus* y *A. ochraceus* en cajas petri con medio MSA, se raspó con un hisopo esterilizado y se le agregó agua destilada estéril para ajustar a un volumen de 10 mL y se realizaron diluciones de 10^1 para *F. moniliforme* y *A. flavus* y de 10^2 para *A. ochraceus*; esto con el fin de asegurar la posibilidad de utilizar una misma cantidad de esporas. Se realizaron un total de seis muestreos, uno cada 30 días. Posteriormente se sembraron con pinzas punta roma, en cada caja petri, 10 semillas de maíz tratadas con las dosis de *L. tridentata*; en seguida se inoculó con un concentrado de esporas de los hongos ($10\mu\text{L}$) y se incubaron durante 7 días, para al final de ese tiempo determinar el número de granos infestados por repetición, por hongo y por dosis de extracto (4,000; 6,000 y 8,000 ppm). Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con nueve tratamientos y cuatro repeticiones. Para todas las pruebas anteriores los datos fueron sometidos a análisis de varianza y a la prueba Tukey de comparación de medias.

Resultados y Discusión

Germinación de esporas y desarrollo micelial

Los extractos de *L. tridentata* en todas las dosis evaluadas mostraron efecto fungicida con relación al testigo, que mostró el 100 % de infestación (Cuadro 1). El tratamiento con extracto de *L. tridentata* a 4,000 ppm permitió el menor porcentaje de infestación de *A. flavus* (47 %); mientras que los extractos de *L. tridentata* a 6,000 ppm permitieron una infestación del 40 % del hongo *A. ochraceus* y para el caso de *F. moniliforme* se observó un 45 % de infestación al aplicar extractos de *L. tridentata* a las dosis de 4,000 y 8,000 ppm.

En el mismo cuadro se observa que, con excepción de la dosis de 6,000 ppm (83 % de infestación), todas las dosis de extractos de *L. tridentata* probadas contra *F. moniliforme*, tuvieron un efecto fungicida. En general las dosis efectivas para la inhibición de los hongos en relación con el testigo fueron 4,000 y 8,000 ppm contra *F. moniliforme*; 4,000 ppm contra *A. flavus* y 6,000 ppm contra *A. ochraceus*. Sin embargo, el mejor efecto fungicida se observó con la dosis de 6,000 ppm de extractos de *L. tridentata* contra *A. ochraceus* con una infestación del 40 %.

Cuadro 1. Porcentaje de infestación de tres hongos, en semillas almacenadas de maíz del híbrido H-446, con la aplicación del extracto metanólico de *L. tridentata* a tres concentraciones.

Extracto (ppm)	Infestación (%)		
	FM	AF	AO
4,000	45	47	41
6,000	83	47	40
8,000	45	50	45
Testigo	100	100	100

FM = *F. moniliforme*; AF = *A. flavus*; AO = *A. ochraceus*

En el Cuadro 2 se presenta el porcentaje de infestación de *F. moniliforme*, *A. flavus* en semillas de maíz tratadas con extracto de gobernadora aplicando a tres concentraciones, que fueron almacenadas durante un período de 180 d.

En este cuadro se observa que el efecto protector de los extractos de *L. tridentata* para inhibir el crecimiento de los hongos inoculados en las semillas de maíz no fue persistente, ya que desapareció después de 90 días en todas las dosis; a excepción de la dosis 6,000 ppm, que mostró mejor efecto preventivo contra *F. moniliforme*, después de 90 d de almacenamiento. Todas las semillas tratadas con *L. tridentata* mostraron una infestación superior al

50 %, lo cual indica la disminución del efecto protector de los productos orgánicos.

Cuadro 2. Infestación de *Fusarium moniliforme* y *Aspergillus flavus* en semilla de maíz a través del tiempo, después de aplicar extractos de *L. tridentata* a tres concentraciones.

Tiempo en Almacén (d)	Extractos de <i>L. tridentata</i> (ppm)			
	4,000	6,000	8,000	Testigo
	Infestación (%)			
<i>Fusarium moniliforme</i>				
30	0n	0n	0n	100a
60	30j	20l	10m	100a
90	40h	25k	35i	100a
120	45g	55f	55f	100a
150	75d	60e	80c	100a
180	80c	100a	90b	100a
<i>Aspergillus flavus</i>				
30	0j	0j	5i	100a
60	10h	25g	25g	100a
90	45f	45f	50e	100a
120	60c	50e	55d	100a
150	65b	65b	65b	100a
180	100a	100a	100a	100a

Los fitoquímicos presentes en la resina de gobernadora tiene una potente acción antifúngica *in vitro* contra hongos fitopatógenos de gran importancia económica, algunos de ellos caracterizados por tener una gran capacidad metabólica como los pertenecientes a los géneros *Aspergillus* y *Fusarium* (Montes-Belmont y Flores, 2000). Sin embargo, el efecto protector de la gobernadora solo se observó en los primeros meses del almacenamiento.

Lo anterior coincide con los señalado por Montes-Belmont *et al.* (1997), quienes al estudiar 106 especies de plantas en forma de polvos, extractos acuosos, metanólicos y hexánicos sobre la germinación de esporas y el desarrollo del micelio de *A. flavus* en granos de maíz, encontraron que los productos vegetales que mostraron acción contra la infección de este hongo fueron: *Larrea tridentata*, *Rosmarinus officinalis*, *Tridax coronopifolia* y *Coleus blumei*, disminuyendo significativamente la contaminación por este hongo en granos de maíz. Sin embargo, también existe una vulnerabilidad de este tipo de extractos a las condiciones ambientales, esto pone de manifiesto que en períodos largos de almacenamiento y condiciones de almacén no controladas, el efecto protector de los productos orgánicos sobre la semilla disminuye.

Conclusiones

Los extractos de *Larrea tridentata* en la dosis de 4,000 ppm mostraron efecto inhibitorio contra *F. moniliforme*,

A. flavus y *A. ochraceus*, ya que en esta dosis sólo se observó un porcentaje de infestación por debajo del 50 %. Por otra parte, en los tres hongos en estudio se observó que, en períodos largos de almacenamiento, y en condiciones no controladas de almacén, el efecto protector de los productos orgánicos sobre la semilla disminuye y, como consecuencia, aumenta el porcentaje de infestación.

Literatura Citada

- Agrios, N.G. 2004. Fitopatología. Editorial Limusa. México. 838 p.
- Ayvar-Serna, S. 1997. Aislamiento e identificación de las micotoxinas producidas por el hongo *Fusarium moniliforme*, en maíz y su relación con las enfermedades denominadas pudrición de la mazorca y germinación prematura. Tesis de Doctorado. México, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. pp. 20-30.
- Bhatnagar, D., Cleveland, T.E., and Cotty, P.J. 1994. Mycological aspects of aflatoxin formation. 327-346 p. *In*: Eaton, D.L. and Groopman, J.D. (Eds.) The toxicology of aflatoxin formation. Human health, veterinary and agricultural significance. Academic Press. London.
- Herrera, T. y Ulloa M. 2004. El reino de los hongos. Micología Básica y Aplicada. UNAM. México D.F.552 p.
- Lira-Saldívar, R.H. 2003. Estado actual del conocimiento sobre las propiedades biocidas de la gobernadora [*Larrea tridentata* (D.C.) Coville] Rev. Mex. Fitopatol. 21: 214-22.
- Montes-Belmont, R., Carvajal, M., Figueroa, B.R. y Méndez, I. 1997. Extractos sólidos, acuosos y hexánicos de plantas para el combate de *Aspergillus flavus* link en maíz. Rev. Mex. Fitopatol. 15: 26-30.
- Montes-Belmont, R. y Flores M.H.E. 2000. Tratamiento de semillas de sorgo con aceites esenciales para el combate de *Fusarium moniliforme*. XXVII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Puerto Vallarta, Jalisco. 20 p.
- Payne, G.A. 1992. Aflatoxin in maize. Crit. Rev. Plant Sci. 10: 423-440.
- Pittet, A., V. Parisond and M. Schellenberg. 1992. Ocurrence of fumonisins B 1 and B 2 in corn and products from the Swiss markert. pp. 259-265.
- Vargas-Arispuro, I., Araujo-Bernal, S., Martínez-Tellez, M.A. y Ortega-Nieblas M. 1997. Efecto de extractos de plantas sobre el crecimiento y producción de aflatoxinas de *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*. Rev. Mex. Fitopatol. 15: 91-95.
-

Géneros de Braconidae Presentes en Maleza Aledaña al Cultivo de Papa en Arteaga, Coah., México

Patricia Herrera-Pérez¹, Oswaldo García-Martínez¹, Iván Isaías Vargas-Caamal¹, José Ángel Villareal-Quintanilla².

¹Departamento de Parasitología Agrícola, y ²Departamento de Botánica, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calzada Antonio Narro No. 1923, Colonia Buenavista, 25315, Saltillo, Coah., México. Fax: (844) 4 11 02 28. E-mail: herrera2677@yahoo.com.mx (*Autor responsable).

Abstract

The Braconidae is a worldwide well known family because of the importance of the many parasitoids it groups, which are used in the biological control of pests in agricultural crops. In the weeds bordering the potato cultures in Arteaga, Coah., Mexico entomofauna of natural enemies is unknown. The objective of this assay was to identify, at sub-family and sort levels, the insects of the Braconidae family in the weeds bordering the potato fields in Arteaga, and b) to identify the host weeds for these insects in the same sites. This work was developed from January to December 2004 in Huachichil, Coah. For this purpose, every 8 days, 2 ha were sampled, in 5 points selected at random, in each one the insect net was thrown 20 times. In the weeds bordering the potato field, 1,775 parasitoid insects, belonging to the Hymenoptera order, were collected, 153 of them belonged to the Braconidae family grouped in 16 subfamilies, and 23 sorts. The most widespread subfamilies were Blacinae (28 specimens), and Braconinae (25 specimens). The most numerous sorts were *Blacus* (28 specimens), and *Hemibracon* (21). In the weeds where hymenopterous parasitoids of the Braconidae family were collected, 26 species pertaining to 12 families were identified; Asteraceae was the most abundant, with 12 species.

Key words: weeds, parasitoids, taxonomy.

Resumen

La familia Braconidae es conocida a nivel mundial por la importancia que tienen muchos de los parasitoides que se agrupan en ella, los cuales son utilizados en el control biológico de plagas de insectos en cultivos agrícolas. En la maleza aledaña al cultivo de papa en Arteaga, Coah., México se desconoce la entomofauna de enemigos naturales. El objetivo de este estudio fue identificar, a nivel de subfamilia y género, a insectos de la familia Braconidae presentes en la maleza aledaña al cultivo de papa en Arteaga, Coah., México; y b) identificar la maleza hospedera de estos insectos en el mismo sitio. Este trabajo se realizó de enero a diciembre de 2004 en Huachichil, Coah. Para este propósito, cada 8 días se muestrearon 2 ha de maleza, considerando 5 puntos al azar en cada uno de los cuales se lanzó la red 20 veces. En la maleza aledaña al cultivo de papa se colectaron 1,775 insectos parasitoides pertenecientes al orden *Hymenoptera*, de los cuales 153 fueron parasitoides de la familia *Braconidae* que se ubican en 16 subfamilias y 23 géneros. Las subfamilias más abundantes fueron *Blacinae* (28 especímenes) y *Braconinae* (25 especímenes). Los géneros más numerosos fueron *Blacus* (28 especímenes) y *Hemibracon* (21). En la maleza, aledaña al cultivo de papa donde se colectaron himenópteros parasitoides de la familia Braconidae, se identificaron 26 especies pertenecientes a 12 familias; Asteraceae fue la más abundante, con 12 especies.

Palabras clave: maleza, parasitoides, taxonomía.

Introducción

Braconidae es la segunda familia más grande de los himenópteros, se estima que comprende cerca de 40,000 especies, las cuales se encuentran distribuidas alrededor

del mundo en diferentes hábitat (Wharton *et al.*, 1997). Se han registrado 2,059 especies y 181 géneros de Braconidae para América del Norte (Mason, 1983; Marsh, 1987 y Sharkey, 1997), aunque se estima que hay más de 8,000 especies.

La familia Braconidae es conocida a nivel mundial por la importancia que tienen muchos de los parasitoides que se agrupan en ella, los cuales son utilizados en el control biológico de insectos que plagan los cultivos agrícolas, como: *Aphis gossypii* y *Liriomyza trifolii*, que atacan el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.). Generalmente sus ciclos de vida están sincronizados con el de los insectos a los cuales atacan. Briceño (1999), señala que ésta es una característica importante a considerar para su incorporación en programas de manejo integrado de plagas (MIP).

En la región de Arteaga, Coah., México, se desconoce la entomofauna de enemigos naturales presentes en la maleza alemana al cultivo de papa. Se requiere identificar especies con potencial como enemigos de los principales insectos plaga de este importante cultivo. Por lo que esta investigación se realizó con el objetivo de identificar, a nivel de subfamilia y género, a insectos de la familia Braconidae presentes en maleza alemana al cultivo de papa en Arteaga, Coah., México; y b) identificar la maleza hospedera de estos insectos en el mismo sitio.

Materiales y Métodos

El trabajo se realizó en el período de enero a diciembre de 2004. Se hicieron muestreos en el Rancho El Poleo, ubicado a 4 km del poblado de Huachichil, del municipio de Arteaga, Coah., México. Las actividades de laboratorio se realizaron en el insectario del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN).

Se hicieron muestreos en campo, sobre maleza alemana al cultivo de papa. Los muestreos se realizaron cada ocho días, de enero a diciembre de 2004. Para el muestreo de maleza se definió un área de aproximadamente 2 ha, alemana a un lote programado para sembrar papa. En el área señalada se consideraron cinco puntos al azar para cada muestreo; la captura de los insectos se realizó con una red entomológica de 30 cm de diámetro; en cada punto se dieron 20 pasadas de red, para un total de 100 pasadas por muestreo.

Los insectos colectados se colocaron en frascos de plástico de 50 mL con alcohol etílico al 70 %; los frascos se etiquetaron con el nombre del colector y lugar y fecha de colecta, y se llevaron el mismo día al laboratorio para su separación por familia y posterior identificación. En el laboratorio, se separaron los himenópteros parasitoides de la familia Braconidae del resto de los insectos capturados en campo. Los especímenes se sumergieron sucesivamente por 30 min en alcohol etílico al 70, 75, 80, 85, 90, 95 y 100%, y después en acetato de amilo por 20 min. Posteriormente se secaron con papel absorbente y se

montaron para su identificación a nivel de género mediante el uso de las claves de Wharton *et al.* (1997).

La identificación de las diferentes especies de maleza donde se colectaron himenópteros parasitoides de la familia Braconidae se llevó a cabo en el Departamento de Botánica de la UAAAN por el Dr. José Ángel Villarreal Quintanilla.

Resultados y Discusión

Se capturaron 1,775 himenópteros parasitoides en maleza alemana al cultivo comercial de papa, de los cuales 153 se ubicaron en 16 subfamilias y 23 géneros de la familia Braconidae los cuales se muestran en las Figuras 1 y 2.

Las subfamilias más abundantes fueron Blacinae con 28 especímenes y Braconinae con 25. Los géneros más numerosos fueron *Blacus* con 28 especímenes y *Hemibracon* con 21 (Cuadro 1).

Flores y Aguirre (1989), reportaron 54 géneros y 14 subfamilias para el sureste de Coahuila siendo *Heterospilus*, *Bracon*, *Macrocentrus*, *Agathis*, *Cremnops*, *Aphaereta*, *Chelonus*, *Mirax*, *Blacus*, *Centistes*, *Triaspis* y *Microctonus* los mismos que se colectaron en Huachichil, Arteaga, Coahuila. Ruiz (1989), reportó a los géneros: *Phialulax*, *Rogas*, *Ipobracon*, *Chelonus*, *Bracon*, *Homolobus*, *Alabagrus*, *Bassus*, *Cremnops*, *Lysiphlebus*, *Cenocoelius*, *Opius*, *Apanteles*, *Meteorius*, *Heterospilus*, *Atanicolus* y *Microplitis* para el Noreste de México. Por su parte, Ramírez (1990), reportó para el Sureste de Coahuila 18 subfamilias y 51 géneros, siendo las subfamilias más representadas Blacinae, Braconinae y Euphorinae y los géneros más numerosos *Bracon*, *Opius* y *Protapanteles* respectivamente. De los Santos (1997), colectó 14 subfamilias y 35 géneros en el Cañón de Juchipila, Zac., sobresaliendo en abundancia *Opius* y *Aphaereta*, mientras que Bravo (1992), colectó de pupas de la palomilla de la papa a los géneros *Agathis* y *Chelonus* en Arteaga, Coah., y *Apanteles* y *Bracon* en Navidad, N. L. Por otra parte Reyes *et al.* (1998), citaron 83 géneros: 72 en Tamaulipas, 48 en Nuevo León y 46 en Coahuila, agrupados en 21 subfamilias para estos estados.

Cabe mencionar que los himenópteros colectados juegan un papel importante en el control de insectos plaga, tal es el caso de los géneros *Agathis* (Braconidae) y *Aphidius* (Braconidae) que parasitan a la palomilla de la papa y pulgones, respectivamente.

En el Cuadro 2 se muestran los nombres científicos de la maleza alemana al cultivo de papa, donde se colectaron himenópteros parasitoides de la familia Braconidae; se identificaron 26 especies y 24 géneros de 12 familias, de las Asteraceae fue la más abundante con 12 especies.

Cuadro 1. Géneros de la familia Braconidae colectados en maleza alemana al cultivo de papa en Huachichil, Arteaga, Coahuila, México

Subfamilia	Género	NI	Hospederos
Agathidinae	<i>Agathis</i>	8	Amplio rango de lepidópteros incluyendo Coleophoridae, Gelechiidae y Pyralidae
	<i>Cremnops</i>	3	Lepidoptera: Pyralidae
Alysiinae	<i>Dinotrema</i>	4	Diptera: Phoridae y Platypezidae
	<i>Aphaereta</i>	1	Diptera
Aphidiinae	<i>Aphidius</i>	11	Homoptera: Aphididae, Thelaxidae y Drepanosiphidae
Blacinae	<i>Blacus</i>	28	Larvas de Coleoptera
Braconinae	<i>Bracon</i>	4	Amplio rango de Lepidoptera, Diptera y Coleoptera
	<i>Hemibracon</i>	21	No se conoce
Cardiochilinae	<i>Schoenlandella</i>	1	Microlepidoptera
Cheloninae	<i>Chelonus</i>	11	Lepidoptera, especialmente Gelechiidae, Pyralidae y Noctuidae
Doryctinae	<i>Heterospilus</i>	1	Larvas de coleópteros barrenadores de madera, moscas sierra barrenadoras de tallos y polillas
Euphorinae	<i>Centistes</i>	4	Adultos de Coleoptera, principalmente Curculionidae, Chrysomelidae y Carabidae
	<i>Litostolus</i>	3	No se conoce
	<i>Microstonus</i>	7	Adultos de Coleoptera, principalmente Curculionidae, Chrysomelidae y Carabidae
Helconinae	<i>Triaspis</i>	9	Curculionidae y Bruchidae
	<i>Nealiolus</i>	1	Coleoptera: Curculionidae
Homolobinae	<i>Homolobus</i>	3	Lepidoptera: Noctuidae y Geometridae
Hormiinae	<i>Allobracon</i>	1	Lepidópteros minadores de hojas y Coleoptera: Buprestidae y Chrysomelidae
	<i>Cantharoctonus</i>	4	Bucculatrix
Macrocentrinae	<i>Macrocentrus</i>	1	Lepidoptera: Tortricidae y Pyralidae
Microgastrinae	<i>Deuterixys</i>	12	Lepidoptera: Bucculatricidae y Lyonetiidae Lepidópteros minadores de hojas y esqueletonizadores de hojas
Miracinae	<i>Mirax</i>	2	Lepidópteros minadores de hojas, usualmente Nepticulidae o Heliozelidae, pero también Gracillaridae y Tischeriidae
Opiinae	<i>Utetes</i>	13	Diptera: Tephritidae

NI = Número de insectos

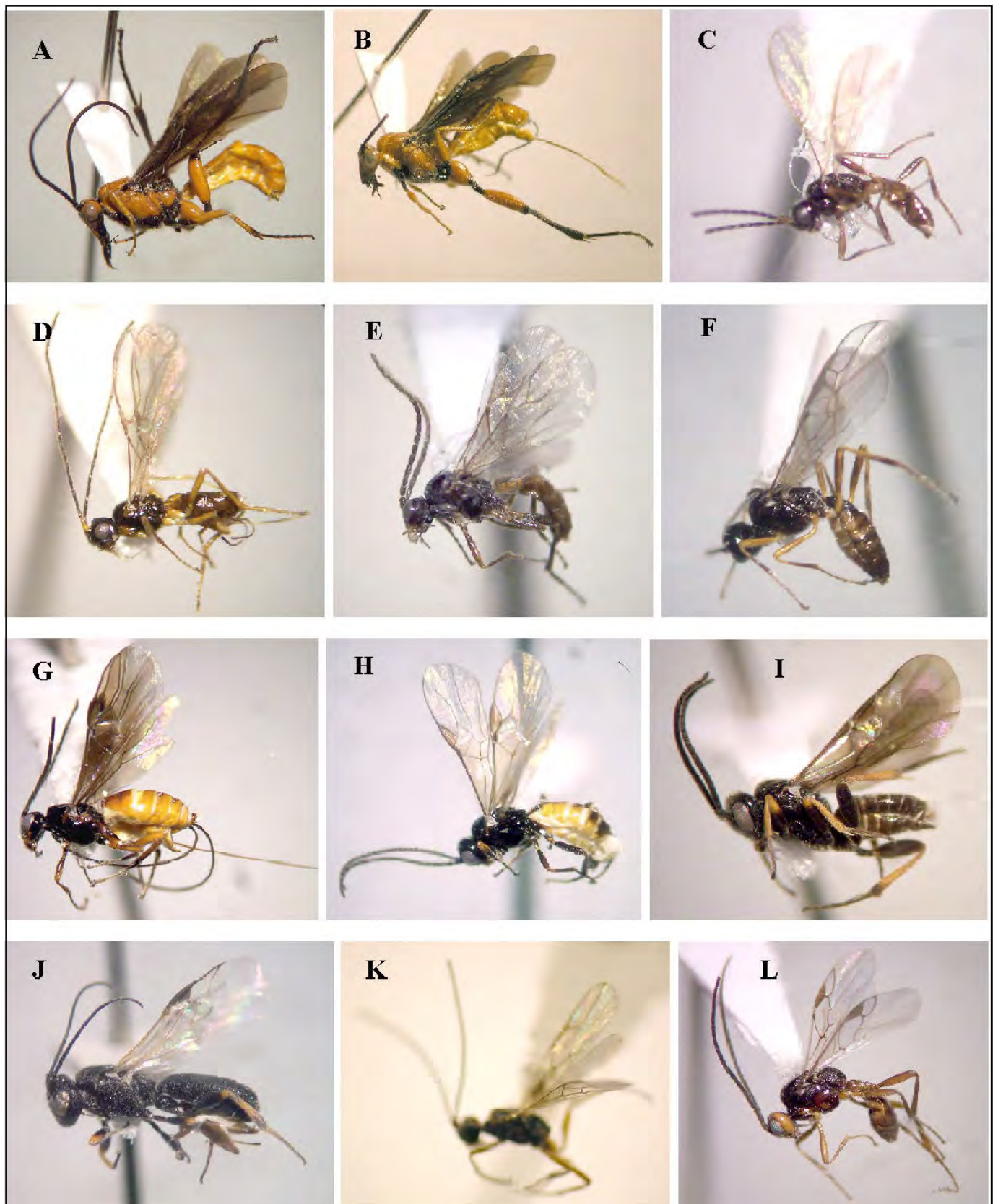


Figura 1. Géneros de himenópteros parasitoides de la familia Braconidae, capturados en maleza aledaña al cultivo comercial de papa: *Agathis* (A); *Cremnops* (Agathidinae) (B); *Dinotrema* (C); *Aphaereta* (Alysiinae) (D); *Aphidius* (Aphidiinae) (E); *Blacus* (Blacinae) (F); *Bracon* (G); *Hemibracon* (Braconinae) (H); *Schoenlandella* (Cardiochilinae) (I); *Chelonus* (Cheloninae) (J); *Heterospilus* (Doryctinae) (K); *Centistes* (Euphorinae) (L).

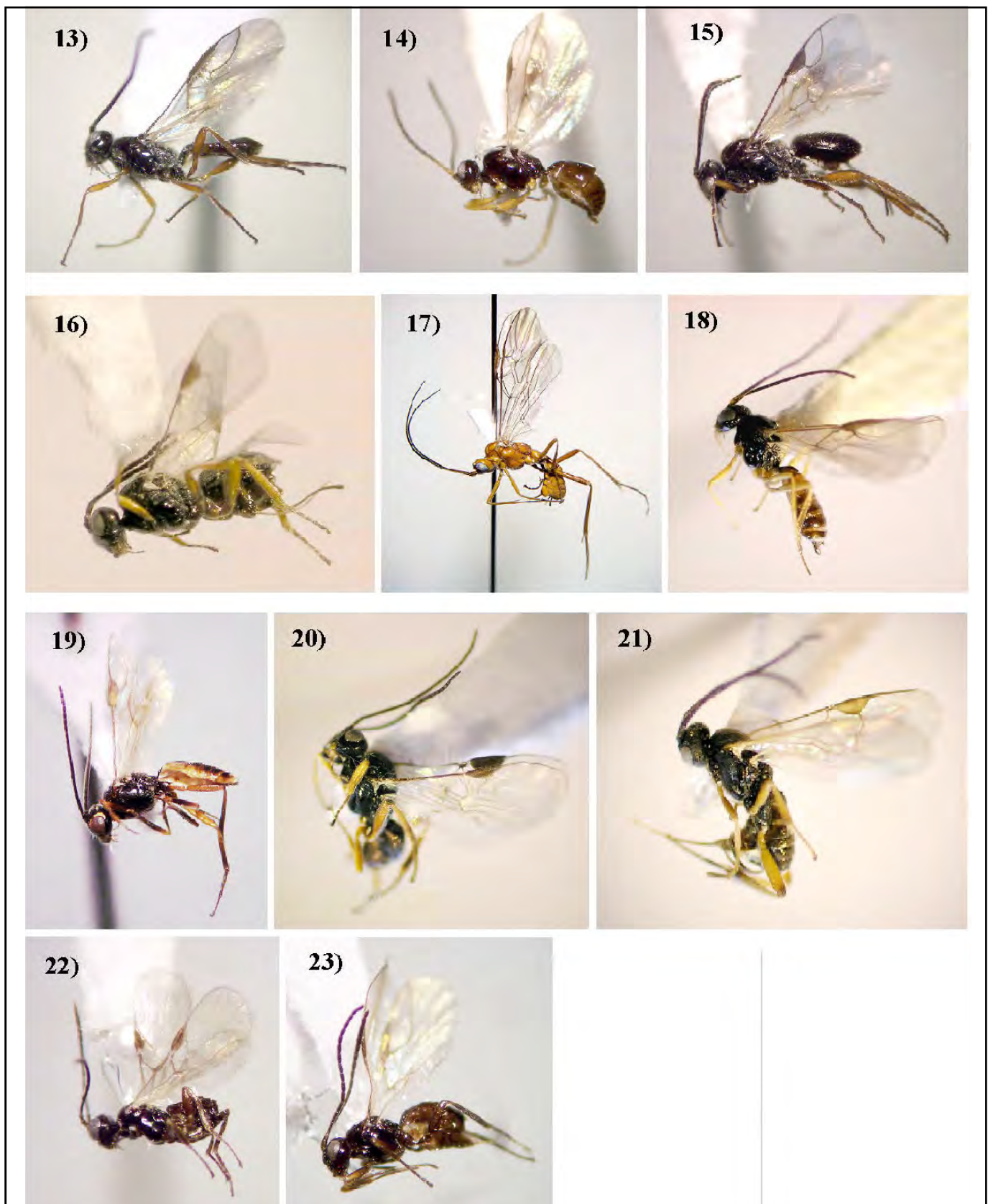


Figura 2. Géneros de himenópteros parasitoides de la familia Braconidae, capturados en maleza aledaña al cultivo comercial de papa: *Litostolus* (A); *Microctonus* (Euphorinae) (B); *Triaspis* (C); *Nealiolus* (Helconinae) (D); *Homolobus* (Homolobinae) (E); *Allobracon* (F); *Cantharoctonus* (Hormiinae) (G); *Macrocentrus* (Macrocentrinae) (H); *Deuterixys* (Microgastrinae) (I); *Mirax* (Miracinae) (J); *Utetes* (Opiinae) (K).

Cuadro 2. Identificación de especies de maleza aleña al cultivo de papa donde se colectaron himenópteros parasitoides de la familia Braconidae de enero a diciembre de 2004 en Arteaga Coahuila, México.

Nombre de Maleza	Familia
<i>Asphodelus fistulosus</i> L.	Liliaceae
<i>Bidens odorata</i> Cav.	Asteraceae
<i>Brickellia veronicaefolia</i> (HBK.) A. Gray.	Asteraceae
<i>Brassica kaber</i> (DC.) Wheeler.	Brassicaceae
<i>Calylophus hartwegii</i> (Benth.) Raven.	Oragraceae
<i>Chenopodium albus</i> L.	Chenopodiaceae
<i>Conyza bonariensis</i> (L.) A. Gray.	Asteraceae
<i>Eruca sativa</i> Mill.	Brassicaceae
<i>Flourensia cernua</i> DC.	Asteraceae
<i>Forestiera angustifolia</i> Torr.	Oleaceae
<i>Gymnosperma glutinosum</i> (Spreng.) Less	Asteraceae
<i>Hymenoxys odorata</i> DC.	Asteraceae
<i>Helianthus laciniatus</i> A. Gray.	Asteraceae
<i>Mentzelia multiflora</i> (Nutt.) A. Gray.	Loasaceae
<i>Monarda citriodora</i> Cerv.	Lamiaceae
<i>Parthenium hysterophorus</i> L.	Asteraceae
<i>Parthenium incanum</i> HBK.	Asteraceae
<i>Prunus cercocarpifolia</i> Villarreal.	Rosaceae
<i>Reseda luteola</i> L.	Resedaceae
<i>Salvia lanceolata</i> Willd.	Lamiaceae
<i>Salvia tiliaefolia</i> Vahl.	Lamiaceae
<i>Stipa eminens</i> Cav.	Poaceae
<i>Tithonia tubaeformis</i> (Jacq.) Cass.	Asteraceae
<i>Triticum aestivum</i> L.	Poaceae
<i>Verbena ciliata</i> Benth	Verbenaceae
<i>Viguiera dentata</i> (Cav.) Spreng.	Asteraceae

Conclusiones

En maleza aleña al cultivo de papa en Arteaga, Coah., México se pueden encontrar especímenes de la familia Braconidae, que pertenecen a 16 subfamilias y 23 géneros. Las subfamilias *Blacinae* y *Braconinae* son las más abundantes y los géneros *Blacus* y *Hemibracon* los más numerosos. En la maleza, aleña al cultivo de papa donde se colectaron himenópteros parasitoides de la familia Braconidae, se identificaron 26 especies pertenecientes a 12 familias; Asteraceae fue la más abundante con 12 especies.

Literatura Citada

- Bravo, L. L. 1992. Parasitismo natural de la palomilla de la papa *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae) en Arteaga, Coahuila y Navidad, Nuevo León. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. pp: 41-55.
- Briceño, G. R. 1999. Registro preliminar y clave de identificación de los géneros de la subfamilia Agathidinae (Hymenoptera: Braconidae) de Venezuela. Bol. Entomol. Venez. 14(1): 15-25.
- De los Santos, G. E. 1997. Subfamilias y géneros de Braconidae asociados al cultivo de la guayaba (*Psidium guajaba* L.) en el Cañón de Juchipila, Zacatecas. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. pp: 23-24.
- Flores, M. D. y Aguirre U. L. 1989. Géneros de Braconidae (Hymenoptera: Ichneumoniodea) en el Sureste de Coahuila. pp: 16-25. In: Memorias del I Simposio sobre himenópteros parasíticos en México. Universidad Autónoma de Nuevo León. San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México.
- Marsh, P.R. Shaw, R. Wharton. 1987. An identification manual for the North American genera of the family Braconidae (Hymenoptera) Memoirs of the Entomological Society of Washington 13: 1-98.

- Mason, W.R.M. 1983. A new South African subfamily related to Cardiochilinae (Hymenoptera: Braconidae). *Contributions of the American Entomological Institute* 20: 49-62.
- Ramírez, S. R. 1990. Géneros de Braconidae (Hymenoptera) de algunas localidades del Sureste de Coahuila. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. pp: 48-50.
- Reyes, R. M., O. M. García., M. D. Flores y F. M. Cabezas. 1998. Géneros de Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea) de algunas localidades del Noreste de México. pp. 237-240. *In: XXI Congreso Nacional de Control Biológico*. Río Bravo, Tamaulipas, México.
- Ruiz, C. E. 1989. Contribuciones al estudio de Ichneumonoidea en el Noreste de México. pp: 1-15. *In: Memorias del I Simposio sobre himenópteros parasíticos en México*. Universidad Autónoma de Nuevo León. San Nicolás de Los Garza, Nuevo León, México.
- Sharkey, M.J. 1997. Morphology and terminology. pp. 19-38. *In: Manual of the New World genera of the family Braconidae (Hymenoptera)*. (R.A. Wharton, P. Marsh & M.J. Sharkey, (Eds.). The International Society of Hymenopterist. Washington, D.C., USA.
- Wharton R. A., P. M. Marsh and M. J. Sharkey. 1997. Manual of the New World genera of the family Braconidae (Hymenoptera). Special Publication of the International Society of Hymenopterists. Washington, DC. pp: 1-422.
-

El Comportamiento Sexual del Macho es Necesario para mantener Elevada la Secreción de la LH en Cabras sometidas al Efecto Macho

Jesús Vielma¹, Philippe Chemineau², Pascal Poindron², Benoît Malpau², José Alberto Delgadillo^{1*}

¹Centro de Investigación en Reproducción Caprina, Departamento de Ciencias Médico Veterinarias, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro-Unidad Laguna. Periférico Raúl López Sánchez y Carretera a Santa Fe, 27054, Torreón, Coah., México. Tel. y Fax: 52 871 7331210. E-mail: joaldesa@yahoo.com (*Autor responsable). ²Physiologie de la Reproduction et des Comportements, UMR INRA-CNRS- Université de Tours-Haras Nationaux, IFR 135, 37380 Nouzilly, France.

Abstract

The objective of this assay was to determine the importance of male goat's sexual behavior on the stimulation of the secretion of the LH, in anovulatory female goats, exposed to male effect. Two groups of females (n=10 each one) were exposed to 2 bucks at sexual rest (SI), one awake, and another sedated to prevent his sexual behavior. Two other groups of goats (n=10 each), were exposed to 2 bucks induced to intense sexual activity through 2.5 months of long days (16 hours light/day; SA), one awake, and another sedated. The LH secretion was determined in two periods: 4 hours before, and 8 after the introduction of the bucks during the first day, and 4 hours the following day. The introduction of SA bucks, awake or sedated caused a stimulation (P<0.05) of the pulsatility of the LH for the first 4 hours of contact between sexes. The pulsatility of LH stayed high during 24 hours in the females with a SA awake buck, whereas in the group with SA sedated buck, the frequency of LH pulses diminished after the first 4 h of the stimulus (P<0.05). The SI bucks, awake or sedated, did not stimulate the secretion of LH. The female goats responded in a different manner to introduction of SA, and SI bucks (P<0.05). One LH pulse was detected during the first 15 min in 9 out of 10 females in the sedated SA group, and in 7 out of 10 in the awake SA group, while in the SI sedated group the pulse was observed in only 1 out of 10 and, in 0 out of 10 in SI the awake group. The interval to appearance of first LH pulse was smaller (P<0.01) in groups of female goats in contact with SA bucks (33 ± 8.2 min) than in groups with SI ones (125 ± 12.5 min), independently if the males were sedated or awake. In conclusion, the sexually actives bucks, awake or sedated, stimulate the LH secretion, and the sexual behavior of males is indispensable to keep the LH pulsatility high on female goats exposed to male effect.

Key words: Male goat, male effect, sexual odor, sexual behavior, LH, reproductive seasonality.

Resumen

El objetivo del estudio fue determinar la importancia del comportamiento sexual del macho cabrío sobre la estimulación de la secreción de la LH en cabras anovulatorias expuestas al efecto macho. Dos grupos de hembras (n=10 cada uno) fueron expuestos a 2 machos en reposo sexual (SI), uno despierto y otro sedado para impedir el despliegue de su comportamiento sexual. Otros dos grupos de cabras (n=10 cada uno), se expusieron a 2 machos inducidos a una intensa actividad sexual al someterlos a 2.5 meses de días largos (16 horas de luz/día; SA), uno despierto y otro sedado. La secreción de LH se determinó en dos periodos: 4 horas antes y 8 después de la introducción del macho el primer día y 4 h al día siguiente. La introducción de los machos SA, despierto o sedado, provocó una estimulación (P<0.05) de la pulsatilidad de la LH en las primeras 4 h de contacto entre los sexos. La pulsatilidad de la LH se mantuvo elevada por 24 h en las hembras con el macho SA despierto mientras que, en el grupo con macho SA sedado, la frecuencia de pulsos de LH disminuyó después de las primeras 4 h del estímulo (P<0.05). Los machos SI, despiertos o sedados, no estimularon la secreción de la LH. Las hembras respondieron de manera diferente a la entrada de los machos SA y SI (P<0.05). Se detectó un pulso de LH dentro de los primeros 15 min en 9 de 10 hembras del grupo SA sedado y en 7 de 10 en el grupo SA despierto, mientras que en el grupo SI sedado se observó sólo en 1 de 10 y en 0 de 10 en el grupo SI despierto. El intervalo a la aparición del primer pulso de LH fue menor (P<0.01) en los grupos de hembras en contacto con machos SA (33 ± 8.2 min) que

en los grupos con machos SI (125 ± 12.5 min), independientemente de si estaban sedados o despiertos. En conclusión, los machos cabríos sexualmente activos, despiertos o sedados, estimulan la secreción de la LH, y el comportamiento sexual de los machos es indispensable para mantener elevada la pulsatilidad de la LH en las hembras expuestas al efecto macho.

Palabras clave: Macho cabrío, efecto macho, olor sexual, comportamiento sexual, LH, estacionalidad reproductiva.

Introducción

En razas de ovejas y cabras que manifiestan estacionalidad reproductiva, la actividad sexual puede inducirse por la introducción de un macho en un grupo de hembras en anovulación estacional o lactacional (Martin *et al.*, 1986; Poindron *et al.*, 1980). En este fenómeno denominado efecto macho intervienen distintas señales exteroceptivas provenientes del macho como el olor, las emisiones sonoras, el contacto físico, la visión y el comportamiento sexual de los machos (Shelton 1980; Walkden-Brown *et al.*, 1999; Flores *et al.*, 2000). Las diferentes señales sensoriales pueden actuar por separado, estimulando la actividad endocrina u ovulatoria de las hembras (Cohen-Tannoudji *et al.*, 1986; Rosa y Bryant 2002). Sin embargo, la mayor respuesta de las hembras se obtiene cuando están en contacto físico total con los machos (Shelton, 1980). Una de las señales importantes en el efecto macho es el olor sexual de los machos. La exposición de cabras al pelo de macho cabrío obtenido durante la estación sexual induce un incremento de la secreción de LH en todas las hembras (5/5), pero sólo ovulan el 40 % de éstas (2/5) (Claus *et al.*, 1990). La intensidad del comportamiento sexual del macho es otro factor importante para la obtención de un alto nivel de respuesta de las hembras sometidas al efecto macho. Los machos ovinos con una intensa libido, determinada por el número de montas en 30 min, estimulan a un mayor porcentaje (95 %) de hembras a ovular que los animales con baja libido (78 %; Perkins y Fitzgerald, 1994). En la especie caprina, los machos inducidos a una intensa actividad sexual a través de un tratamiento fotoperiódico estimulan a ovular a más del 80 % de las hembras. En cambio, menos del 10 % de las cabras ovulan al exponerlas a los machos no tratados, en reposo sexual (Flores *et al.*, 2000; Véliz *et al.*, 2002). Los tratamientos fotoperiódicos estimulan durante el periodo de reposo sexual la secreción de la LH y testosterona, y en consecuencia incrementan el olor y el comportamiento sexual de los machos (Delgadillo *et al.*, 2001, 2002; Sánchez, 2001), haciéndolos más eficientes para

estimular la actividad sexual de las hembras.

En machos cabríos, el olor sexual y el comportamiento sexual se observan simultáneamente y con mayor intensidad durante la estación sexual natural (Walkden-Brown *et al.*, 1994; Véliz *et al.*, 2002; Delgadillo *et al.*, 2002). Al inducir la actividad sexual de los machos a contra estación se tienen en un mismo tiempo y lugar machos sexualmente activos e inactivos, lo que permite estudiar separadamente la intervención de algunas señales exteroceptivas durante el efecto macho. Con la sedación farmacológica de los machos se pueden suprimir las conductas sexuales, pero no el olor sexual del macho. Este estudio se realizó con el objetivo de determinar la importancia del comportamiento sexual, y el olor del macho en la estimulación de la secreción de la LH en hembras anovulatorias.

Materiales y métodos

Animales, condiciones de mantenimiento, y tratamientos

El experimento se realizó con animales caprinos locales de La Región Lagunera del Estado de Coah., México ($26^{\circ} 23' LN$ y $104^{\circ} 47' LO$). La población de las cabras locales fue descrita previamente (Delgadillo *et al.*, 1999). Los machos se alimentaron con heno de alfalfa (180 g de proteína cruda por kg de materia seca) a libre acceso, más 300 g de concentrado comercial (180 g de proteína cruda por kg de materia seca, 2.5 de energía metabolizable por kg de materia seca) para cada macho. El agua y sales minerales se proporcionaron a libre acceso.

Las hembras se explotaron en sistema semi-extensivo y se alimentaron de la flora nativa de los agostaderos. Además, a cada cabra se suplementó con 500 g de concentrado comercial (140 g de proteína cruda por kg de materia seca, 2.5 de energía metabolizable por kg de materia seca) antes del inicio del estudio. El 28 de febrero, se estabularon y se alimentaron con heno de alfalfa (180 g de proteína cruda por kg de materia seca) a libre acceso y 500 g de concentrado comercial (180 g de proteína cruda por kg de materia seca, 2.5 de energía metabolizable por kg de materia seca), con libre acceso al agua y sales minerales hasta el final del estudio.

Los animales utilizados en este experimento fueron mantenidos bajo buenas condiciones de manejo, las cuales llenaron todos los requerimientos de confort animal. Ellos no mostraron señales de estrés y no fueron sometidos a ningún sufrimiento innecesario durante el estudio.

Activación sexual de los machos cabríos

Se utilizaron 12 machos cabríos adultos, con experiencia

sexual previa, que se alojaron en instalaciones abiertas (5 x 7 m). Un grupo de machos (sexualmente inactivo; SI; n = 6) fue expuesto a las variaciones naturales del fotoperiodo a lo largo del estudio (13 h y 41 min de luz en el solsticio de verano y 10 h y 19 min de luz en el solsticio de invierno).

Otro grupo de machos (sexualmente activo; SA; n = 6) fue sometido a un tratamiento fotoperiódico de días largos (16 h de luz/8 h de oscuridad), desde el 1 de noviembre hasta el 15 de enero. A partir del 16 de enero, los días largos artificiales se suspendieron y los machos fueron expuestos a las variaciones naturales del fotoperiodo hasta el final del estudio (6 de abril). Este tratamiento estimula la secreción de testosterona, y en consecuencia, incrementa el olor sexual de los machos e induce un intenso comportamiento sexual de éstos durante la estación de reposo sexual (Delgadillo *et al.*, 2002; Duarte, 2003).

Hembras y efecto macho

Se utilizaron 40 hembras multíparas anovulatorias, que habían parido entre octubre de 2002 y enero de 2003. Todas las hembras destetaron a sus crías a los 25 días de edad; las cabras se ordeñaron manualmente una vez por día durante el experimento. Las hembras estuvieron alejadas de cualquier contacto con machos cabríos a partir del 1 de enero, y los machos cabríos más cercanos estaban en hatos situados a más de 1 km del hato experimental. Los días 4, 11 y 18 de marzo se les realizaron muestreos sanguíneos por venipuntura de la yugular para la determinación de progesterona por radioinmunoanálisis (RIA), y distinguir las hembras cíclicas de las anovulatorias (Thimonier, 2000). De las 97 hembras muestreadas, se diagnosticaron 66 anovulatorias (68 %), de las cuales se utilizaron solamente 40 para este estudio.

Siete días antes del inicio del estímulo, las 40 hembras se dividieron en 4 grupos (n = 10 cada uno), balanceados por su condición corporal y producción de leche. Además, las hembras fueron habituadas al manejo para la venipuntura yugular, puncionando con intervalos de 15 min hasta en 8 ocasiones diariamente a cada hembra. El 5 de abril de 2003 a las 11:01 h, los machos se pusieron en contacto con las hembras. Dos machos SI seleccionados al azar del grupo control previamente descrito, uno despierto y uno sedado (ver sedación), se introdujeron en dos grupos de hembras (1 macho/grupo). Dos machos SA, seleccionados al azar del grupo de machos tratados, uno despierto y uno sedado para suprimirles el comportamiento sexual, se metieron en los otros dos grupos de cabras (1 macho/grupo). Los machos permanecieron con las hembras 24 h. La distancia entre los diferentes grupos fue de 100 m.

Sedación de los machos

Los machos ayunaron las 24 h previas a la sedación y se les privó del agua las últimas 12 h. Para la sedación de cada macho se usó una dosis de 0.65 ml de Xilacina® al 2% cada 2-3 h, dependiendo de la respuesta individual de cada animal, durante 24 h. La dosis inicial se aplicó por vía endovenosa 10 min antes de introducir los machos con los grupos de hembras. Las dosis subsecuentes se aplicaron por vía intramuscular al observar signos de restablecimiento en los machos. Este esquema de sedación impidió que el macho despertara durante las 24 h que duró su exposición a las hembras.

Mediciones

Comportamiento sexual de los machos

El día del efecto macho (5 de abril), desde el inicio del contacto y durante 60 min, un observador entrenado adecuadamente registró, de manera focal, el comportamiento sexual del macho correspondiente en cada grupo, apuntando las conductas siguientes: olfateo anogenital, flehmen, aproximación lateral, intento de monta, monta sin penetración, y monta con penetración (Flores *et al.*, 2000).

Secreción de LH

Para determinar la pulsatilidad de la LH se realizaron dos periodos de muestreo sanguíneo, obteniendo muestras cada 15 min en los cuatro grupos. El primer periodo ocurrió el 5 de abril del 2003, dividido en dos lapsos, uno de 4 h antes (07:00-11:00 h) y otro de 8 h (11:15-19:00 h) después de la introducción del macho. Un segundo periodo de 4 h (07:00-11:00 h) se realizó al día siguiente. Todas las muestras se obtuvieron por venipuntura de la yugular en tubos al vacío (5 ml) que contenían heparina. Inmediatamente después de obtenidas las muestras, éstas se centrifugaron a 2500 g durante 20 min y el plasma obtenido fue conservado a -20 °C hasta el momento de las determinaciones hormonales, las cuales se realizaron por RIA según la técnica descrita por Pelletier *et al.* (1982), validada para los caprinos por Chemineau *et al.* (1982) y modificada por Montgomery *et al.* (1985). La sensibilidad y el coeficiente de variación intraensayo fueron de 0.1 ng / ml y 8.5 %, respectivamente.

Análisis estadísticos

En los cuatro grupos de hembras se analizaron los perfiles para la detección de pulsos de LH utilizando el algoritmo "pulsar", desarrollado por Merriam y Wachter (1982). Los parámetros G (el número de desviaciones estándar por los cuales un pico debe exceder el nivel basal para considerarlo como un pulso) fueron $G(1) = 3.799$,

Cuadro 1. Número de pulsos de LH (promedio \pm EEM) en cabras anovulatorias sometidas al efecto macho.

Grupo	♀ Con pulso en 15 min	Antes		Después		Día Siguiete	
		hora 4 a 0	hora 0 a 4	hora 4 a 8	hora 20 a 24	hora 4 a 8	hora 20 a 24
SA Sedado	9/10x	1.1 \pm 0.1ax	2.7 \pm 0.2bx	1.9 \pm 0.3cx	1.6 \pm 0.2acx		
SA Despierto	7/10x	0.9 \pm 0.2ax	2.5 \pm 0.3bx	2.1 \pm 0.3bx	2.1 \pm 0.3bx		
SI Sedado	1/10y	1.0 \pm 0.1abx	1.2 \pm 0.1ay	1.1 \pm 0.1ay	0.6 \pm 0.1by		
SI Despierto	0/10y	1.2 \pm 0.1abx	1.4 \pm 0.2aby	1.7 \pm 0.2ax	0.9 \pm 0.2by		

Dos grupos de hembras (n = 10 cada uno) fueron sometidas a machos sexualmente activos (SA), uno despierto y otro sedado para suprimir su comportamiento sexual. Otros dos grupos de hembras (n=10 cada uno) fueron expuestas a dos machos sexualmente inactivos (SI), uno despierto y otro sedado. La LH se determinó 4 h antes de la introducción de los machos y 8 horas después el primer día, y de 20-24 horas postintroducción de los machos. Las muestras fueron tomadas de la vena yugular cada 15 min. La introducción del macho ocurrió a la hora 0 (las 11:00 h del primer día de estimulación).

$G(2) = 2.597$, $G(3) = 1.900$, $G(4) = 1.500$, y $G(5) = 1.200$, siendo éstos los requerimientos por los cuales los pulsos de LH, compuestos de 1-5 muestras, debieron exceder al nivel basal. Los parámetros Baxter, los cuales describen la relación parabólica entre la concentración de la hormona en una muestra y la desviación estándar (variación del ensayo) acerca de la concentración fueron 0.05500 (b1, intercepción y), 0.02500 (b2, coeficiente x) y 0.00039 (b3, coeficiente x²). La frecuencia media de pulsos de LH por cuatro horas fue calculada para cada perfil y analizada por la prueba de Wilcoxon. Las diferencias de todas las conductas sexuales entre los machos SA y SI, se analizaron por una prueba de X^2 de ajuste de bondad, con una hipótesis nula de igual repartición de frecuencias en los dos tipos de machos. El intervalo desde la introducción de los machos hasta la aparición del primer pulso de la LH fue analizado por un ANOVA a dos factores (tratamiento y estado de los machos).

Resultados y Discusión

Secreción de la LH

Las características de la secreción de la LH resultante de la introducción de los machos se muestran en el Cuadro 1. Las hembras respondieron de manera diferente a la entrada de los machos SA y SI ($P < 0.05$). Se detectó un pulso de LH dentro de los primeros 15 min en 9 de 10 hembras del grupo SA sedado y en 7 de 10 en el grupo SA despierto, mientras que en el grupo SI sedado se observó sólo en 1 de 10 y en 0 de 10 en el grupo SI despierto. La proporción de hembras que mostraron una elevación de la LH dentro de los primeros 15 min post-estimulación no difirió significativamente ($P > 0.05$), ni entre los dos grupos con machos SA (9/10 y 7/10), ni entre los dos grupos con machos SI (1/10 y 0/10).

La frecuencia de pulsos de LH antes de la introducción

de los machos fue baja en los cuatro grupos y no existió diferencia significativa entre ellos ($P > 0.05$; Cuadro 1). La introducción de los machos SA despiertos o sedados provocó una elevación ($P < 0.05$) de la pulsatilidad de la LH en las hembras durante las primeras 4 h después de la introducción de los machos. Contrariamente, la introducción de los machos SI despiertos o sedados no estimuló ($P > 0.05$) la pulsatilidad de la LH en ese mismo lapso. En el lapso 4-8 h post-estimulación, la pulsatilidad de la LH se mantuvo elevada en las hembras con el macho SA despierto, mientras que en el grupo con macho SA sedado, la frecuencia de pulsos LH disminuyó ($P < 0.05$). En cambio, en las hembras con machos SI despiertos o sedados no se modificó la secreción de la LH en el mismo lapso. En el grupo de hembras expuestas al macho SA despierto, la pulsatilidad de la LH se mantuvo elevada de 20-24 h, mientras que en aquellas en contacto con el macho SA sedado en el lapso 20-24 h se registraron valores que no difirieron significativamente de los encontrados antes de la introducción del macho. En las hembras con machos SI despierto o sedado no se modificó la secreción de la LH en el lapso de 20-24 h.

En la Figura 1 se muestran ejemplos de perfiles de la secreción de la LH durante los dos periodos de muestreo en las hembras de los cuatro grupos en estudio. El intervalo entre la introducción de los machos y la aparición del primer pulso de LH no fue diferente ($P > 0.05$) entre los grupos con machos SA despierto y SA sedado (37.5 ± 13.0 y 28.5 ± 10.5 min, respectivamente). Tampoco difirió esa latencia entre los grupos con macho SI despierto y con macho SI sedado (121.5 ± 17.3 y 129.0 ± 18.8 min, respectivamente). En cambio, el intervalo al primer pulso post-introducción de los machos fue menor en el grupo SA despierto (37.5 ± 12.9 min) que en el SI despierto (121.5 ± 17.3 min) y lo mismo ocurrió entre el grupo SA sedado (28.5 ± 10.5 min) y el SI sedado (129.0 ± 18.8 min; $P < 0.05$, en ambos casos).

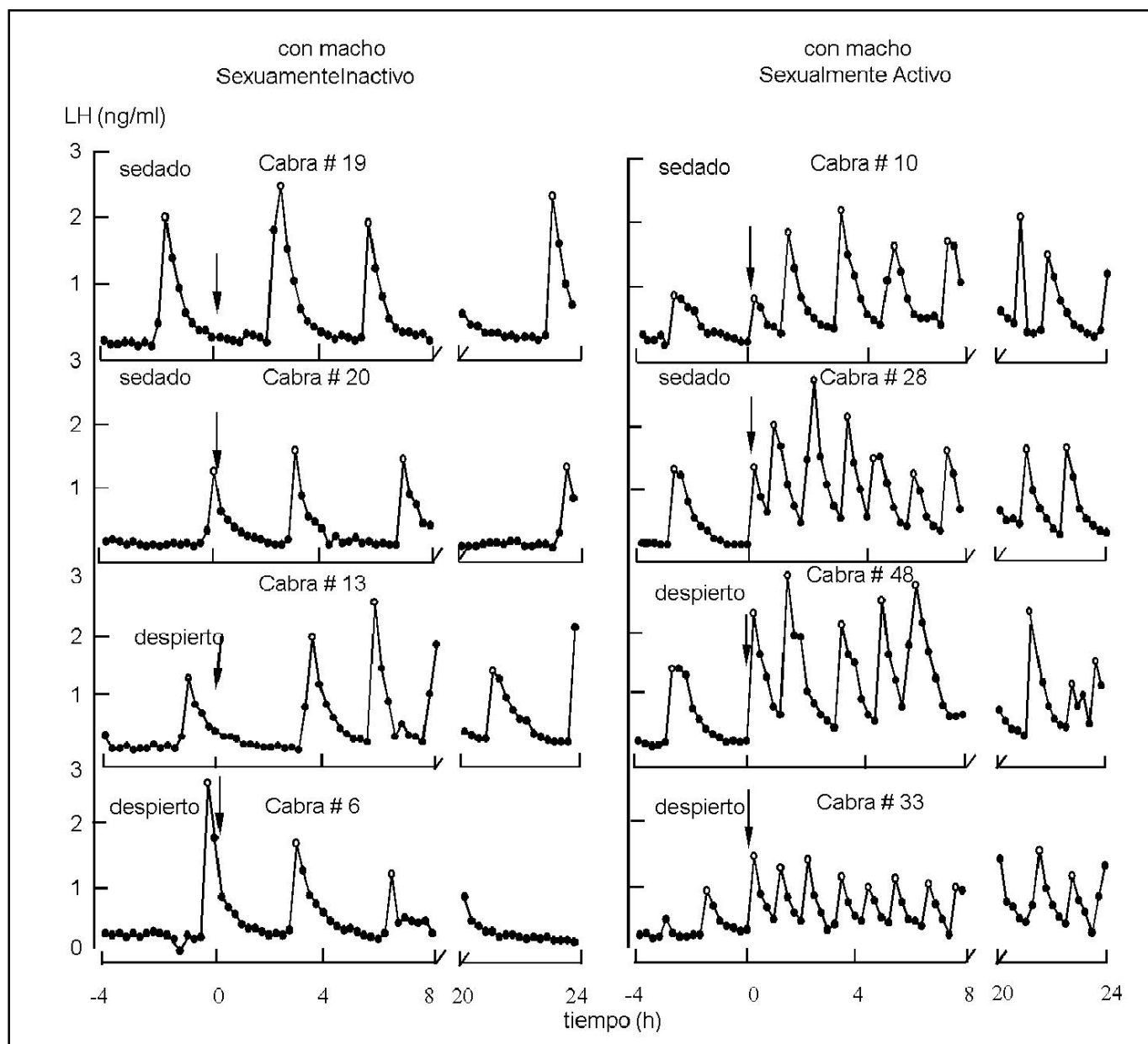


Figura 1. Ejemplos de perfiles de secreción de LH en hembras caprinas antes y después de la entrada del macho. Vielma et al. 2006.

Perfiles de secreción de LH en cabras anovulatorias sometidas al efecto macho

Dos grupos de hembras (n = 10 cada uno) fueron sometidas a machos sexualmente activos, uno despierto y otro sedado para suprimir su comportamiento sexual. Otros dos grupos de hembras (n=10 cada uno) fueron expuestas a dos machos sexualmente inactivos, uno despierto y otro sedado. La LH se determinó 4 h antes de la introducción de los machos y 8 horas después el primer día, y de 20-24 horas postintroducción de los machos. Las muestras fueron tomadas de la vena yugular cada 15 min. Los pulsos de LH son indicados por los círculos abiertos. La flecha indica la introducción de los machos, que ocurrió a las

11:00 h.(hora

Los resultados de este estudio demuestran que los machos sexualmente activos despierto o sedado, estimularon la secreción de la LH en cabras anéstricas sometidas al efecto macho. El macho SA despierto indujo y mantuvo una alta secreción de la LH durante 24 h, mientras que ésta se incrementó en las primeras cuatro horas de contacto con el macho SA sedado, pero disminuyó posteriormente. En cambio, en las cabras expuestas a los machos SI despierto o sedado, no se modificó la secreción de la LH durante el estudio. Esto sugiere que el comportamiento sexual del macho es indispensable para mantener la secreción de LH de las hembras expuestas al

efecto macho. El macho SA sedado tuvo un papel determinante durante las primeras cuatro horas de la estimulación porque en este periodo la secreción de la LH no fue diferente de la provocada por el macho SA despierto. Sin embargo, después de cuatro horas de estimulación, la presencia del macho SA sedado no mantuvo elevada la pulsatilidad de la LH, encontrándose en el lapso de 20-24 h valores similares a los registrados antes del estímulo. En cambio, en el grupo en contacto con el macho SA despierto, la pulsatilidad de la LH se mantuvo elevada 24 h después del contacto con el macho y fue superior a la registrada antes del inicio del estímulo. Contrariamente a lo registrado en las hembras expuestas a los machos SA, en las expuestas a los machos SI no hubo un incremento en la secreción de la LH durante el estudio. Estos resultados demuestran que al inicio del contacto entre machos y hembras, el olor sexual del macho fue suficiente para estimular la pulsatilidad de la LH, y coincide con los estudios que demuestran que la exposición de las hembras al olor de los machos a través de la lana del carnero o pelo del macho cabrío estimula la secreción de la LH (Knight and Lynch 1980; Claus *et al.*, 1990). Este estímulo puede provocar la ovulación en un número reducido de hembras ovinas (Pearce y Oldham 1988).

El principal aporte de este estudio fue la clara demostración de que después de cuatro horas de contacto macho-hembra es necesario un intenso comportamiento sexual del macho para mantener elevada la secreción de la LH. Estos perfiles diferentes en la secreción de la LH podrían explicar algunos resultados obtenidos por otros autores referentes al efecto macho. Cuando se usa la lana del carnero o el pelo del macho cabrío, se incrementa la pulsatilidad de la LH en la mayoría de las ovejas y cabras, pero sólo un 40 % de ellas ovulan (Claus *et al.*, 1990; Cohen-Tannoudji *et al.*, 1994). Esto podría deberse a que la exposición al pelo o lana no mantiene la secreción de la LH para permitir la ovulación. Asimismo, cuando se utilizan machos en reposo sexual, éstos pueden llegar a estimular transitoriamente la secreción de la LH, sin permitir la ovulación (Minton *et al.*, 1991; Signoret, 1991). En efecto, los machos SI inducen solamente la ovulación en menos del 10 % de las hembras, mientras que los machos inducidos a un intenso comportamiento sexual a través del tratamiento fotoperiódico, inducen a más del 80 % de éstas a ovular (Flores *et al.*, 2000; Véliz *et al.*, 2002).

En nuestro conocimiento, estos son los primeros resultados que demuestran claramente el papel que tiene el comportamiento sexual de los machos utilizados en el efecto macho al incluir en el mismo experimento machos

sexualmente activos e inactivos despiertos o sedados. En efecto, en otros estudios se han utilizado machos con baja o alta libido, la cual ha sido determinada solamente por su capacidad de monta, sin describir las características de su comportamiento sexual ni olor (Perkins y Fitzgerald, 1994).

Dadas las condiciones de nuestro experimento al utilizar machos sedados SA y SI, no se puede excluir que la vista y el contacto físico, además del olfato, hayan intervenido en la respuesta de las hembras, tal y como se reportó previamente (Shelton, 1980; Walkden-Brown *et al.*, 1993). En efecto, aunque los machos sedados no desplegaron movimientos voluntarios ni vocalizaciones, las hembras observaron, olfatearon y tocaron el cuerpo del macho. Sin embargo, la respuesta de las hembras expuestas a los machos SA fue superior a las expuestas a los machos SI. Esto sugiere que el olor de los machos, el cual era más intenso en los SA, fue el factor que desencadenó el incremento de la secreción de LH.

En este estudio no se determinó la ovulación de las hembras, debido a que no existieron las condiciones para mantener sedados a los machos por más de 24 h sin el riesgo de dañar su salud, lo que hubiese permitido evaluar separadamente el valor de las conductas sexuales del macho para estimular la ovulación. Aún así, podría esperarse que el número de ovulaciones resultara menor en las hembras expuestas al macho SA sedado, dado que se ha demostrado que el comportamiento sexual del macho es necesario, en adición con las señales olfatorias, auditivas y visuales, para obtener una elevada respuesta de las cabras al efecto macho (Véliz *et al.*, 2002; Delgadillo *et al.*, 2002). Estudios realizados en ovejas han demostrado que el estímulo olfatorio como disparador de la liberación de la LH, puede ser reemplazado por otras señales sensoriales (Cohen-Tannoudji *et al.*, 1986). Las hembras del grupo SA sedado presentaron una caída importante en la pulsatilidad de la LH después de cuatro horas de iniciada la estimulación, mientras que en el grupo SA despierto la pulsatilidad de la LH se mantuvo elevada las 24 h del experimento, lo que demuestra la importancia de las conductas sexuales y sugiere que éstas, solas podrían ser suficientes para estimular la secreción de la LH y la ovulación. Esta hipótesis podría probarse poniendo en contacto hembras anósmicas con machos sexualmente activos. El porcentaje de hembras anósmicas que responden con ovulaciones al efecto macho es menor que el de las hembras intactas (50 % vs. 89 %, Chemineau *et al.*, 1986). Finalmente, es probable que la respuesta en el grupo con macho SA sedado hubiera sido menor si las hembras no hubieran contado con experiencia sexual, pues en ovejas se ha demostrado que la experiencia

sexual previa facilita la respuesta de las hembras al olor del carnero (Gelez *et al.*, 2004).

Conclusiones

Los resultados de este estudio permiten concluir que los machos sexualmente activos, despiertos o sedados, estimulan la secreción de la LH, y que el comportamiento sexual de los machos es indispensable para mantener elevada la pulsatilidad de la LH en las hembras expuestas al efecto macho.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Laboratorio de Determinaciones Hormonales de la Station de Physiologie de la Reproduction et des Comportements del INRA de Nouzilly, Francia, por realizar las determinaciones hormonales. Al Centro de Investigación en Reproducción Caprina de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro-Unidad Laguna, por su asistencia técnica. Al Sr. Gonzálo Zárate productor del Ejido El Sacrificio, del Municipio de Matamoros, Coah., por facilitar los animales experimentales. Al programa de cooperación científica entre México (ANUIES-SEP-CONACyT) y Francia (ECOS; M02-A04).

Literatura Citada

Cohen-Tannoudji, J., J. Einhorn J.P. Signoret. 1994. Ram sexual pheromone: first approach of chemical identification. *Physiol. Behav.* 56:955-961.

Cohen-Tannoudji, J., A. Locatelli, J.P. Signoret. 1986. Non pheromonal stimulation by the male on LH release in the anoestrous ewe. *Physiol. Behav.* 36:921-924.

Chemineau, P., D. Gauthier J.C., Poirier J. Saumande. 1982. Plasma levels of LH, FSH, prolactin, oestradiol-17 beta and progesterone during natural and induced oestrus in the dairy goat. *Theriogenology* 17:313-323.

Chemineau, P., F. Levy, J. Thimonier. 1986. Effects of anosmia on the LH secretion, ovulation and oestrus behaviour induced by males in anovular creole goat. *Anim. Reprod. Sci.* 10:125-132.

Claus, R., R. Over, M. Dehnhard. 1990. Effect of male odour on LH secretion and the induction of ovulation in seasonally anoestrous goats. *Anim. Reprod. Sci.* 22:27-38.

Delgadillo, J.A., E. Carrillo, J. Morán, G. Duarte, P. Chemineau, B. Malpoux. 2001. Induction of sexual activity of male creole goats in subtropical northern Mexico using long days and melatonin. *J. Anim. Sci.* 79: 2245-2252.

Delgadillo, J.A., J.A. Flores, F.G. Véliz, H.F. Hernández, G. Duarte, J. Vielma, P. Poindron, P. Chemineau. 2002.

Induction of sexual activity in lactating anovulatory female goats treated only with artificially long days. *J. Anim. Sci.* 80: 2780-2786

Delgadillo, J.A., G.A. Canedo, P. Chemineau, D. Guillaume, B. Malpoux. 1999. Evidence for an annual reproductive rhythm independent of food availability in male goats in subtropical Northern Mexico. *Theriogenology* 52:727-737.

Duarte, G., R. Tomas, D. Sánchez, F.G. Véliz, J.A. Flores, B. Malpoux, J.A. Delgadillo. 2003. La secreción de las glándulas sebáceas parietales (olor) es inducida durante el reposo sexual de los machos cabríos explotados en sistema extensivo y tratados con días largos. *Memorias de la XVIII Reunión Nacional sobre Caprinocultura; Octubre 8-10; Puebla (Puebla), México: Asociación Mexicana de Producción Caprina, AC, 2003:64-66.*

Flores, J.A., F.G. Véliz, J.A. Pérez-Villanueva, G. Martínez de la Escalera, P. Chemineau, P. Poindron, B., Malpoux, J. A. Delgadillo. 2000. Male reproductive condition is the limiting factor of efficiency in the male effect during seasonal anestrus in female goats. *Biol. Reprod.* 62:1409-1414.

Gelez, H, E. Archer, D. Chesneau, R. Campan, C. Fabre-Nys. 2004. Importance of learning in the response of ewes to male odor. *Chem Senses* 29; 7:555-763.

Knight, T.W., P.R. Lynch. 1980. Source of ram pheromones that stimulate ovulation in the ewe. *Anim. Reprod. Sci.* 3; 133:136.

Martin, G.B., C.M. Oldham, Y. Cognié, D.T. Pearce. 1986. The physiological responses of anovulatory ewes to the introduction of rams. A review. *Livest Prod. Sci.* 15:219-247.

Merriam, G.R., K.N. Wachter. 1982. Algorithms for the study of episodic hormone secretion. *Am. J. Physiol.* 243:310-318.

Minton, J.E., T.R. Coppinger, C.W. Spaeth, L.C. Martin. 1991. Poor reproductive response of anestrus suffolk ewes to ram exposure is not due to failure to secrete luteinizing hormone acutely. *J Anim. Sci.* 69:3314-3320.

Montgomery, G.W., G.B. Martin, J. Pelletier. 1985. Changes in pulsatile LH secretion after ovariectomy in the Ile-de-France ewes in two seasons. *J. Reprod. Fert.* 73:173-183.

Pearce, G.P., C.M. Oldham. 1988. Importance of non-olfactory ram stimuli in mediating ram-induced ovulation in the ewe. *J. Reprod. Fertil.* 84:333-339.

Pelletier, J., D.H. Garnier, M.M. de Reviers, M. Terqui, R. Ortavant. 1982. Seasonal variation in LH and testosterone release in rams of two breeds. *J. Reprod. Fertil.* 64:341-346.

- Perkins, A., J.A. Fitzgerald. 1994. The behavioural component of the ram effect: the influence of ram sexual behavior on the induction of estrus in anovulatory ewes. *J. Anim. Sci.* 72:51-55.
- Poindron, P., Y. Cognié, F. Gayerie, P. Orgeur, C.M. Oldham, J.P. Ravault. 1980. Changes in gonadotrophins and prolactin levels in isolated (seasonally or lactationally) anovular ewes associated with ovulation caused by the introduction of rams. *Physiol. Behav.* 25:227-237.
- Rosa, H.J.D., M.J. Bryant. 2002. The 'ram effect' as a way of modifying the reproductive activity in the ewe: a review. *Small Rumin. Res.* 45:1-16.
- Sánchez, D., F.G. Véliz, J. Vielma, B. Malpaux, J.A., Delgadillo, G. Duarte. 2001. La producción espermática de los machos caprinos Criollos del subtrópico mexicano, es influenciada por el sistema de explotación. Memorias del II Congreso Latinoamericano de Especialistas en Pequeños Rumiantes y Camélidos Sudamericanos y XI Congreso Nacional de Producción Ovina; 2001 Mayo 22-25; Mérida (Yucatán) México. Mérida Yucatán, Asociación Mexicana de Técnicos Especialistas en Ovicultura, AC, 2001: s/p.
- Shelton, M. 1980. Goats: influence of various exteroceptive factors on initiation of oestrus and ovulation. *Int. Goat Sheep Res.* 1:156-162.
- Signoret, J.P. 1991. Sexual pheromones in the domestic sheep: importance and limits in the regulation of reproductive physiology. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.* 39:639-645.
- Thimonier, J. 2000. Détermination de l'état physiologique des femelles par analyse des niveaux de progesterone. *INRA Prod. Anim.* 13(3):177-183.
- Véliz, F.G., S. Moreno, G. Duarte, J. Vielma, P. Chemineau, P. Poindron, B. Malpaux, J.A. Delgadillo. 2002. Male effect in seasonally anovulatory lactating goats depends on the presence of sexually active bucks, but not estrous females. *Anim. Reprod. Sci.* 72:197-207.
- Walkden-Brown, S.W., G.B. Martin, B.J. Restall. 1999. Role of male-female interaction in regulating reproduction in sheep and goats. *J. Reprod. Fert. Suppl.*;52:243-257.
- Walkden-Brown, S.W., B.J., Restall, Henniawati. 1993. The male effect in the Australian cashmere goat. 3. Enhancement with buck nutrition and use of oestrus females. *Anim. Reprod. Sci.* 32: 69-84.
- Walkden-Brown, S.W., B.J. Restall, B.W. Norton, R.J. Scaramuzzi, G.B. Martin. 1994. Effect of nutrition on seasonal patterns of LH, FSH and testosterone concentration, testicular mass, sebaceous gland volume and odour in Australian cashmere goats. *J. Reprod. Fert.* 102:351-360.
-

Colofón

Este ejemplar de la Revista Agraria –*Nueva Epoca*– se terminó de imprimir en formato digital (PDF) en la Dirección de Investigación de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, para su distribución en medios múltiples.

En Saltillo, Coah., México, el día 1o. del mes de marzo
del año 2011



UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

www.uaaan.mx - (844) 411-02-00; Fax (844) 411-02-00, Ext. 2041

e-mail: *investigacion@uaaan.mx*