



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO
FACULTAD DE PLANEACIÓN URBANA Y REGIONAL

LICENCIATURA EN CIENCIAS AMBIENTALES

TESIS

**“DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS SECUNDARIOS DE
MUÉRDAGO ENANO EN DIFERENTES EDADES EN *PINUS
HARTWEGII* EN EL NEVADO DE TOLUCA”**

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADA EN CIENCIAS AMBIENTALES

PRESENTA:

JAQUELINE GARCÍA MARTÍNEZ

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. JULIETA ESTRADA FLORES

DIRECTOR ADJUNTO:

DR. CARLOS GALINDO MARTÍNEZ GARCÍA



Resumen

Las plantas parásitas se consideran un importante agente de perturbación en los bosques; uno de los géneros más significativos es *Arceuthobium* conocido comúnmente como muérdago enano.

El Área de Protección de Flora y Fauna Nevado es reconocida por sus numerosas especies de coníferas debido a su importancia como sitio de recarga de acuíferos, así como el valor de sus recursos naturales. Sin embargo, se han observado plantas parásitas que pertenecen a los géneros: *Arceuthobium* (*Arceuthobium globosum* y *A. vaginatum*), lo cual genera incertidumbre debido a que esta área es hábitat de flora y fauna, tiene una relevancia por los servicios ambientales que proporcionan al valle de Toluca.

En este documento se describen los metabolitos secundarios en las plantas se da debido a que estos compuestos se presentan como mecanismos de defensa para las mismas, brindando mayor posibilidad de supervivencia en el medio, ya que les permite evitar ser consumidas por los animales y estas sustancias también funcionan como alelopáticas, evitando que otras especies de plantas crezcan cerca de ellas. El efecto alelopático hace que se provoque un efecto perjudicial o benéfico sobre la germinación, el crecimiento o el desarrollo, de otras plantas en los alrededores o funcionan como atrayentes de polinizadores o dispersores de semillas y protegen a la planta de las radiaciones UV, al presentar un mayor contenido de FT, TT y TC el muérdago amarillo, tiene mejores posibilidades de sobrevivir en el medio y al ser hemiparásitas contiene pigmentos los cuales hacen que la planta logre tener fotosíntesis, por lo tanto no dependen totalmente de las plantas hospedadoras, pueden generar parte de su alimento, pero la condición hemiparásita hace que si dañe al pino y este puede morir. En las pruebas que se realizaron de FT, TT, TC se muestra que no hay un efecto por la edad del árbol, y esto se debe a que los muérdagos colectados estaban en el mismo estadio fenológico de fructificación. Entonces la secreción del contenido de los metabolitos si va a variar de acuerdo con la etapa de crecimiento de la planta (muérdago). Los resultados permitieron realizar otras propuestas de investigación donde se busque de manera específica el contenido químico del muérdago y los efectos que estos compuestos pudieran tener sobre otros organismos además de los árboles.

Contenido

<u>Introducción</u>	<u>9</u>
<u>Capítulo 1 marco conceptual</u>	<u>11</u>
<u>1.1 Bosques de alta montaña</u>	<u>11</u>
<u>1.1.1 Vegetación de los bosques de alta montaña</u>	<u>11</u>
<u>1.1.2 Fauna de los bosques de alta montaña</u>	<u>11</u>
<u>1.2 Área de protección de flora y fauna nevado de toluca</u>	<u>11</u>
<u>1.2.1 Vegetación del área de protección de flora y fauna nevado de toluca</u>	<u>12</u>
<u>1.2.2 Fauna del área de protección de flora y fauna nevado de toluca</u>	<u>12</u>
<u>1.3 <i>Pinus hartwegii</i></u>	<u>12</u>
<u>1.3.1 Distribución</u>	<u>13</u>
<u>1.3.1 Taxonomía</u>	<u>13</u>
<u>1.3.2 Morfología</u>	<u>13</u>
<u>1.4 Edades de los pinos</u>	<u>13</u>
<u>1.5 Parásitos de los bosques de alta montaña</u>	<u>14</u>
<u>1.6 Muérdago</u>	<u>15</u>
<u>1.6.1 <i>Arceuthobium</i></u>	<u>16</u>
<u>1.6.2 <i>Arceuthobium globosum</i> (muérdago amarillo)</u>	<u>16</u>
<u>1.6.3 <i>Arceuthobium vaginatum</i> (muérdago negro)</u>	<u>16</u>
<u>1.7 <u>Metabolismo secundario de las plantas</u></u>	<u>17</u>

1.8 Antioxidantes	20
1.10 Taninos	20
1.11 Fenoles totales (FT)	21
1.12 Taninos totales (TT)	22
1.13 Taninos condensados (TC)	22
Justificación	24
Planteamiento del problema	25
Hipótesis	26
Objetivos	27
Objetivo general	27
Objetivos específicos	27
Capítulo 2 metodología	28
2.1 Diagrama metodológico general	28
2.2 Colecta de muestras	28
2.3 Determinación de metabolitos secundarios	29
2.4 Fenoles totales	30
2.5 Taninos totales	31
2.6 Taninos condensados	32
2.7 Análisis de datos	32
Capítulo 3 Resultados y discusión	33

Conclusiones	38
---------------------	-----------

Referencias bibliográficas	39
-----------------------------------	-----------

Índice de figuras

Figura 1. (A), Muérdago verdadero, Muérdago enano (B)	16
--	-----------

Figura 2. Muérdago amarillo (A), Muérdago negro (B)	17
--	-----------

Figura 3. Procedimiento del metabolito secundario	18
--	-----------

figura 4. Funciones ecológicas de los principales metabolitos secundarios.	19
---	-----------

Figura 5. Estructura química ruta del ácido shikímico.	20
---	-----------

Figura 6. Categorización de los fenoles de las plantas	21
---	-----------

Figura 7. Estructura química de Ft	22
---	-----------

Figura 8. Estructura química de Tt	22
---	-----------

Figura 9. Estructura química de Tc.	23
--	-----------

Figura 10. Esquema metodológico general	28
--	-----------

Figura 11. Fórmulas para la determinación de metabolitos secundarios	30
---	-----------

Índice de cuadros

Cuadro 1. Valores de curva	30
-----------------------------------	-----------

Cuadro 2. Curva patrón con la concentración de ácido tánico	31
--	-----------

Cuadro 3. Contenido de metabolitos secundarios en el muérdago, por especie y edad del árbol	34
--	-----------

Índice de Mapas

<u>Mapa 1. Puntos de muestreo</u>	<u>29</u>
<u>Mapa 2. Fenoles totales</u>	<u>35</u>
<u>Mapa 3. Taninos totales</u>	<u>36</u>
<u>Mapa 4. Taninos condensados</u>	<u>37</u>

Introducción

Los pinos (*Pinus*) son un género de árboles o, raramente, arbustos, de la familia Pinaceae, subfamilia Pinoideae que presentan una ramificación frecuentemente verticilada y más o menos regular. En México se tiene un gran número de especies diferentes de pinos (género *Pinus*), mayor que en cualquier otra área en el mundo, de tamaño semejante (Sánchez-González, 2008).

En México, los muérdagos enanos están atacando los bosques de alta montaña, que se establecen por encima de los 3500 msnm y afectan poblaciones de *Pinus hartwegii* (Endara-Agramont, 2010). Dichos bosques presentan severas infestaciones por muérdagos enanos y en menor proporción por muérdagos verdaderos. Ante esta problemática se realizaron estudios del bosque del Nevado de Toluca (Cedillo-Alonso, 2012) en los cuales se obtuvieron polígonos de las densidades de las plantas parásitas, así como puntos de presencia de ataques de descortezadores. EL Área de Protección de Flora y Fauna Nevado de Toluca (APFFNT) ha sido estudiada, desde una perspectiva ambiental, así como social. Sin embargo, destaca lo poco que se ha realizado en términos de sanidad del bosque.

En el APFFNT se encuentran dos especies de pino (*Pinus montezumae*, *Pinus hartwegii*), en las cuales se encuentran diversas plagas y plantas hemiparásitas que afectan a sus ecosistemas, como el muérdago enano negro (*Arceuthobium vaginatum vaginatum*) y el muérdago enano amarillo (*Arceuthobium globosum grandicaule*). La infestación de éstos se acentúa en las laderas norte, noroeste y este del Área Natural Protegida; en dichas zonas se recibe luz solar por lo que, a menor densidad arbórea, mayor posibilidad de plantas parásitas (Cedillo-Alonso, 2012).

La presencia de muérdago en el APFFNT es de poco más de 11,000 ha en el bosque de pino, lo que corresponde a más del 65%, en donde se presentan zonas con hasta el 100% del arbolado infestado en todas sus edades y tamaños (Endara-Agramont et al., 2022).

Estas problemáticas ambientales se han convertido en el centro de atención de diversos investigadores y científicos, los cuáles realizan diferentes estudios para lograr la conservación y manejo de los recursos naturales.

Los muérdagos enanos *Arceuthobium globosum* y *A. vaginatum* son plantas hemiparásitas que afectan la población de árboles *Pinus hartwegii* en el APFFNT, afectando cerca del 58% de la población de árboles de la zona (Endara-Agramont, 2014).

Los daños que causa el muérdago enano a las coníferas, son: a) hipertrofia del fuste y de las ramas en el punto infestado, b) atrofia y posterior rotura del fuste y de las ramas de las partes infestadas hacia la parte alta debido al peso de la hemiparásita, c) deformación de las ramas de los árboles afectados al culminar el ataque, d) notable retardo del crecimiento tanto en altura como en diámetro de los árboles de edad mayor, e) interferencia en la vida normal del árbol, provocando su muerte principalmente si son árboles jóvenes, f) retardo de las funciones de desarrollo, altura y diámetro, especialmente al inicio de la primavera, que es la época de mayor crecimiento de los árboles, g) debilitamiento de los árboles, los que son presa de insectos y

otros microorganismos, h) reducción considerable de la producción de semillas fértiles en los árboles atacados, llegando a nulificarlos totalmente. Estos daños son de especial importancia y justifican el establecimiento de programas de control de esta planta hemiparásita (Vega, 1976).

Debido a que la distancia de dispersión no supera los 14 m a 15 m (Robinson y Geils, 2006), y a que existen barreras físicas, como los árboles no susceptibles a la infección (Shaw, 2005), es común que se originen zonas de infección donde los muérdagos se concentran en pocos árboles vecinos. Los muérdagos enanos pueden tener un impacto imperceptible sobre el hospedero cuando la severidad (número de parásitos por hospedero) es baja; sin embargo, cuando esta variable tiene valores altos, el hospedero sufre un decremento en crecimiento, fecundidad y supervivencia (Press y Phoenix, 2005). Esto lleva a pérdidas significativas de aproximadamente 2 millones de m³ en la producción anual de madera en rollo a nivel nacional. Los parques nacionales no están exentos de la infestación por muérdago enano, ya que muchos de éstos concentran grandes masas de bosques.

Los estudios para conocer el estado de salud de los bosques han sido una herramienta útil, en este caso se ha reportado que *P. hartwegii* es uno de los principales hospederos del muérdago (Endara-Agramont, 2010).

La presente investigación tuvo por objetivo determinar el contenido de compuestos secundarios (fenoles totales, taninos totales y taninos condensados) del muérdago enano que parasita al *Pinus hartwegii* en el Nevado de Toluca para identificar la relación entre el contenido de estos fitoquímicos y las edades de los árboles. Para cuantificar la concentración de fenoles totales, taninos totales y taninos condensados se utilizó la metodología propuesta por Makkar et al. (2007) y Makkar (2003).

Los resultados obtenidos mostraron que existen diferencias significativas ($P < 0.05$) en el contenido de fenoles totales, taninos totales y taninos condensados por especie; dónde la mayor concentración se obtuvo en el muérdago amarillo. Respecto a las edades de los árboles no se observaron diferencias significativas, esto debido a que el muérdago se analizó en la misma etapa fenológica, que fue la de fructificación y dispersión de semillas.

Los resultados encontrados muestran un panorama diferente al tradicionalmente evaluado, ya que muestran que el muérdago presenta los compuestos secundarios como mecanismo para sobrevivir y afianzarse como planta hemiparásita en el *Pinus hartwegii*.

Capítulo 1 Marco Conceptual

1.1 Bosques de alta montaña

Los bosques de alta montaña se establecen por encima de los 3500 msnm y están dominados por poblaciones de *Pinus hartwegii*. Estos bosques presentan severas infestaciones por muérdagos enanos y en menor proporción por muérdagos verdaderos (Endara-Agramont, 2010).

Los bosques de alta montaña en México se distribuyen a lo largo del sistema volcánico transversal, donde se encuentran los edificios volcánicos de mayor elevación del país, entre ellos se pueden mencionar: el Pico de Orizaba (5 610 msnm), el Popocatepetl (5 465 msnm), la Iztaccíhuatl (5 230 msnm), el Nevado de Toluca (4 690 msnm), la Sierra Negra (4 585 msnm), La Malinche (4 430 msnm), el Cofre de Perote (4 220 msnm), el Monte Tláloc (4 125 msnm), el Telapón (4 065 msnm), el Ajusco (3 930 msnm), y el Cerro Papayo con 3 640 msnm (Montero, 2004). Los bosques que circundan estos volcanes presentan poblaciones de *Pinus hartwegii* (el pino de las alturas), especie adaptada a condiciones de frío, además de ser la única en México que se desarrolla hasta los 4000 msnm (Arriaga y Gómez, 2004).

1.1.1 Vegetación de los bosques de alta montaña

La vegetación se encuentra en condiciones extremas, por lo general está sujeta a fuertes vientos, insolaciones altas y temperaturas bajo cero, en el cual se puede encontrar cardo santo, enebro azul, calancapatle, almohadilla, *Pinus hartwegii*, acebo, helechos, pastizales (Steinmann et al., 2019).

1.1.2 Fauna de los bosques de alta montaña

Dentro de la fauna de los bosques de alta montaña se encuentran conejos, víbora de cascabel, aves, salamandras, coyote, colibrí, zorra gris, tuzas (Steinmann et al., 2019).

1.2 Área de protección de flora y fauna Nevado de Toluca

El Nevado de Toluca pertenece a la Área de Protección de Flora y Fauna Nevado de Toluca (APFFNT) (4690 msnm) se encuentra en el Estado de México con múltiples asentamientos

humanos a su alrededor, caracterizado por una temperatura de 14 °C y una precipitación media anual de 1212 mm (Arce et al., 2003). Los andosoles son el tipo de suelo predominante y cubren el 90% de esta área (Sotelo et al., 2010).

Se le conoce también como Xinantecátl, fue decretado el 25 de enero de 1936, siendo presidente de la República el Gral. Lázaro Cárdenas del Río y como secretario de Agricultura y Fomento el Gral. Saturnino Cedillo. Posteriormente el 10 de febrero de 1937 y publicado en el Diario Oficial el 19 de febrero de 1937. Catalogado desde 1937 como **Parque Nacional "Nevado de Toluca"** y hasta el último día del mes septiembre de 2013, dejó de serlo para convertirse en “**Área de Protección de Flora y Fauna**” a partir del 1° de octubre, así lo publicó el Diario Oficial de la Federación. Forma parte del eje Neovolcánico a una altura de 3,000 a 4,600 m.s.n.m. es la cuarta montaña más alta del país (CONANP, 2016).

Proporciona servicios ambientales las cuales son producción de oxígeno, captura de carbono, infiltración y almacenaje de agua, hábitat de especies de flora y fauna, regulación de temperatura, provee recursos medicinales y ornamentales y belleza escénica (CONANP, 2016).

1.2.1 Vegetación del área de protección de flora y fauna Nevado de Toluca

El área protegida se compone de un bosque de coníferas y encinos, también se encuentran pastizales alpinos; cuenta con 125 géneros y 255 especies de plantas vasculares (CONANP, 2016).

1.2.2 Fauna del área de protección de flora y fauna Nevado de Toluca

La riqueza faunística del APFF Nevado de Toluca está representada por 227 especies de invertebrados y vertebrados que incluyen rotíferos, artrópodos, anfibios, reptiles, aves y mamíferos (CONANP, 2016).

1.3 Pinus hartwegii

La especie de *Pinus hartwegii* también conocido como pino de las alturas es un pino adaptado a temperaturas bajas extremas que se distribuye en las montañas más altas, desde altitudes de 3,000 a 4,200 m, es la única especie de pino en México que se encuentra en el límite de la vegetación arbórea entre los 2800 y 4200 m (Perry, 1991). La especie es de gran importancia debido a su distribución geográfica limitada y su tolerancia a bajas temperaturas, las cuales pueden alcanzar hasta los -30 °C (Beaman, 1962). Los bosques de *P. hartwegii* son de gran importancia ecológica porque contribuyen en la captura de carbono y a la formación de suelo, además de que constituyen el hábitat de diferentes especies de fauna endémica (Endara-Agramont, 2010).

Algunas de las poblaciones de esta especie se encuentran seriamente amenazadas por factores naturales y antropogénicos, constituyendo en la actualidad poblaciones reducidas, fragmentadas y aisladas entre sí (López-Upton et al., 1993).

1.3.1 Distribución

La distribución natural es discontinua y está restringida a sitios de gran altitud como el Nevado de Colima, el Pico de Tancítaro, Nevado de Toluca, Ajusco, Popocatepetl, Iztaccíhuatl, Malinche y Pico de Orizaba, en la Faja Volcánica Transmexicana, donde constituye el límite altitudinal de la vegetación arbórea (Calderón de Rzedowski, 2005).

1.3.1 Taxonomía

El árbol mide de 15 a 30 m de altura, de corteza agrietada, de color pardo rojizo. Las hojas varían en número y tamaño, por lo general se observan 3 hojas, pero pueden presentarse 4 o 5; en promedio miden 8 cm de largo, de color verde claro, medianamente gruesas. Los conos son de color rojizo muy oscuro casi negro, con un largo promedio de 9 a 10 cm (Larreta, 1999).

1.3.2 Morfología

En la edad madura, la base del árbol tiende a ser ancha para continuar con una forma cilíndrica; la sección apical del árbol presenta una disminución en el diámetro. Por lo general, la copa en esta edad es reducida y se presenta en una quinta parte del árbol (Larreta, 1999).

1.4 Edades de los pinos

La edad de un árbol se define como el número de años transcurridos desde la germinación de la semilla hasta el momento en que es observado o medido (Souza, 1973). Los árboles fácilmente consiguen llegar a más de 100 años de vida (Botosso y Povoá de Mattos, 2002). A continuación, se describen las edades de los pinos:

Brinzales: Su desarrollo corresponde a cuando la regeneración se presenta en forma de manchas y los ejemplares tienen hasta un metro de altura, es un conjunto de plántulas forestales presentes en los estratos más bajos del bosque y es una planta nacida de semilla.

Latizales: Etapa de desarrollo de un rodal en que se intensifica la poda natural en los individuos, y se alcanza el máximo crecimiento en altura. Se inicia la diferenciación de copas. Existe latizal bajo, donde los individuos alcanzan 8-15 m de altura y 10 a 20 cm de diámetro; y latizal alto, donde se aprecian alturas medias de 15 a 20 m y diámetros entre 20 y 30 cm.

Juveniles: Tiene forma piramidal, la corteza tiene marcadas hendiduras a lo largo del tronco, de color café con manchas claras. Las hojas se encuentran unidas en grupos de 5 a 6 hojas, cada hoja de forma larga y delgada, la forma típica de las hojas de pino en aguja, de 20 a 30 cm de largo, los márgenes finamente aserrados, no visibles, se aprecian al tacto.

Los conos o piñas, que son los órganos reproductores femeninos, contienen las semillas, cada cono mide de 6 a 9 cm de largo y cerca de 5 a 6 cm de ancho cuando está abierto.

Adultos: Se llega a la madurez de los individuos. Se termina la poda natural. La altura de los ejemplares supera los 20 m y el diámetro varía entre 30 y 50 cm.

1.5 Parásitos de los bosques de alta montaña

Los bosques están expuestos a diversas plagas y enfermedades que pueden causar la muerte de los árboles o reducir su capacidad para proporcionar servicios ecosistémicos (FAO, 2006). Uno de los principales problemas de salud forestal es la presencia de plagas. Una plaga forestal es cualquier organismo patógeno que ocasiona daños de tipo mecánico o fisiológico a los árboles y por lo regular causan pérdidas económicas a los humanos. En México son una de las principales causas de deterioro en los bosques templados. Actualmente se reconocen 250 especies de patógenos que afectan el arbolado nacional (SEMARNAT, 2012).

Entre las problemáticas que presentan estos bosques destacan las plagas forestales: descortezadores, defoliadores, barrenadores de yemas y brotes, barrenadores de conos y semillas y finalmente los chupadores de savia y junto a estos se pueden encontrar también plantas parásitas como el muérdago enano. Los descortezadores del género *Dendroctonus*, son uno de los principales factores de mortalidad durante el desarrollo y establecimiento de los bosques y plantaciones. Ocasionan anualmente la muerte de miles de árboles provocando un grave desequilibrio ecológico (Rodríguez, 2010). Pertenecen a la familia Scolytidae, sus integrantes son considerados insectos barrenadores y defoliadores, los cuales tienen también una gran importancia comercial (Zúñiga-Bermúdez et al., 1994).

Las plantas parásitas son aquellas que dependen totalmente de otro organismo para subsistir, poseen estructuras especializadas denominadas haustorios mediante los cuales obtienen de sus hospederos el soporte y los nutrientes. Mientras que las plantas hemiparásitas son aquellas que dependen parcialmente de otros organismos para poder subsistir ya que obtienen soporte, agua y/o sales inorgánicas de su hospedero. Existen dos tipos de plantas parásitas, las de tallo y las de raíz (CONAFOR, 2007).

Las plantas parásitas de acuerdo con Serrano-Maldonado (2011) se clasifican en:

- a. Parásita obligada: un parásito que no puede terminar su ciclo vital sin un anfitrión.
- b. Parásita facultativa: un parásito que puede terminar su ciclo vital independientemente de un anfitrión.
- c. Parásitas de tallos: parásita que se fija al tallo del anfitrión.
- d. Parásitas de raíces: parásita que se fija a la raíz del anfitrión.
- e. Holoparásita: una planta que es totalmente parásita en otras plantas y no tienen ninguna clorofila, ni capacidad para realizar la fotosíntesis, por lo que extraen directamente la materia orgánica ya formada (savia elaborada) de otras plantas. No tienen órganos "captadores de luz", ni tallos que funcionen como soporte para las mismas, sólo poseen unas raíces modificadas (haustorios) que penetran en el tejido del hospedador.
- f. Hemiparásita: planta que es parásita bajo condiciones naturales y es también fotosintética en un cierto grado por lo que presentan clorofila.

Obtienen los alimentos del agua y del mineral de la planta anfitrión, sin captarlos del suelo, sustraen estas sustancias de otra planta mediante haustorios. Los muérdagos son ejemplos de este grupo, pertenecientes a la familia Loranthaceae (Tun-Garrido et al., 2007).

Los problemas que causa en los hospederos son: debilitamiento, disminución de la producción de conos y semillas, predispone al ataque de otros agentes de destrucción, reducción del crecimiento en diámetro y altura y llega a causar la muerte (Valderrama y Medina, 2002).

1.6 Muérdago

La palabra muérdago proviene del latín *mordicus*, es decir, mordedor (Marchal, 2009). Son plantas heterótrofas que fotosintetizan cierta parte y solo toman una porción de los recursos de su hospedero, mediante un sistema de raíces específicas llamadas haustorios, para completar realizar su ciclo de vida, compiten con el árbol por agua y nutrimentos e impiden su desarrollo. El muérdago es una de las plantas parasitas más importantes del grupo de las heterófitas, debido a que causa serios perjuicios sobre otros vegetales a pesar de que se sabe que existe una relación parcial de alimentación entre huésped y hospedero, la que nunca puede ser benéfica y a menudo muy dañina para este último (González, 1989). Los muérdagos contienen generalmente clorofila, la cual les permite elaborar algunos de sus propios alimentos a partir de materiales alimenticios inorgánicos tomados de su hospedero (conífera). Viven sobre las ramas de árboles y arbustos, siendo tan extraordinaria la aptitud de esta fanerógama para el parasitismo, que se les encuentra sobre hojas y coníferas de todas las alturas y latitudes y en algunos casos produciendo un auto parasitismo en especies de su propia familia (Verduzco, 1976). Cuando son abundantes sobre el árbol, provocan la muerte del mismo, sobre todo en aquellos lugares que están próximos al límite inferior de sus posibilidades de subsistencia. Se distribuyen en zonas boscosas y áreas urbanas (Cibrián et al., 2007).

Los muérdagos se dividen en muérdagos verdaderos y enanos; los verdaderos (Figura 1 A) son arbustos con hojas verdes y se distribuyen comúnmente en climas cálidos, mientras que los muérdagos enanos (Figura 1 B) son plantas de coloraciones amarillas a negras, corta altura, tallos quebradizos, hojas escumiformes, flores unisexuales, fruto ovoide, que dentro tiene una sustancia pegajosa llamada viscína, y, al madurar, explota y dispara las semillas envueltas. Se distribuyen en climas templados (Vázquez, 2006). El ciclo de vida de las hemiparásitas se divide en cuatro fases: dispersión por aire y accidentalmente por aves o mamíferos (cuando el fruto expulsa la semilla), establecimiento (cuando la semilla llega al hospedero hasta la germinación), incubación (empieza a desarrollar el sistema endofítico) y reproducción (cuando se inicia el crecimiento de los tallos aéreos con las partes reproductoras), (Hawksworth y Wiens, 1996; Queijeiro et al., 2011).

A) Muérdago verdadero.



B) Muérdago enano



Figura 1. (A), Muérdago Verdadero; (B), Muérdago enano

1.6.1 *Arceuthobium*

Los muérdagos enanos del género *Arceuthobium* son plantas hemiparásitas, pertenecen a la familia Santalaceae, se les conoce comúnmente como muérdagos enanos, estos obtienen los nutrientes, minerales y agua del hospedero, ocasionándoles diferentes daños, dentro de los cuales destacan la reducción del crecimiento en altura y diámetro. Presentan frutos con dispersión balística que les permite a las semillas alcanzar distancias de hasta 17 metros o más, también pueden dispersarse a través de vectores como aves, insectos o mamíferos (Hawksworth y Wiens, 1996).

1.6.2 *Arceuthobium globosum* (muérdago amarillo)

También conocida como retoño de ocote (Figura 2 A), puede llegar a crecer alrededor de 35 cm, son de un color amarillo claro o amarillo -verde, su floración y polinización se presenta entre marzo y abril y su semilla se libera entre junio y septiembre del otro año. El muérdago amarillo crece en las partes altas y soleadas de los árboles (Gutiérrez-Vilchis y Resendiz-Martínez, 1994).

1.6.3 *Arceuthobium vaginatum* (muérdago negro)

Llamada flor de ocote (Figura 2 B), su fase de floración sucede de agosto a junio y la fructificación de febrero a octubre. La dispersión de las semillas comprende un lapso de 12 semanas y está relacionada con un aumento en la humedad ambiental, además las condiciones de sombra retrasan las fenofases, ya que ocurren primero en sitios que reciben abundante radiación solar, el muérdago enano negro crece en las partes bajas y menos soleadas de los árboles (Gutiérrez-Vilchis y Resendiz-Martínez, 1994).

Los requerimientos ecológicos de *A. vaginatum* y *A. globosum* son muy similares, la simpatria entre estas dos especies es muy común, incluso ambas pueden hallarse en el mismo árbol, a lo que se conoce como parasitismo dual (Hawksworth y Wiens, 1996).

En México los muérdagos enanos *Arceuthobium globosum* y *Arceuthobium vaginatum* se usan para el control de tos, diabetes, como infusiones para el dolor de pulmones, reumas y nervios, y como incienso (Quiñonez, 2016).

A) *A. globosum*



B) *A. vaginatum*



Figura 2. Muérdago amarillo (A), Muérdago negro (B)

1.7 Metabolismo secundario de las plantas

Los procesos metabólicos sintetizan una gama amplia de sustancias llamadas metabolitos secundarios, los cuales tienen una marcada influencia sobre características fundamentales del fruto, tales como: sabor, color, aroma y textura. Se denominan metabolitos secundarios, ya que se distribuyen diferencialmente entre grupos taxonómicos, presentan propiedades biológicas, muchos desempeñan funciones ecológicas y se caracterizan por sus diferentes usos y aplicaciones como medicamentos, insecticidas, herbicidas, perfumes, colorantes, entre otros. Reciben también la denominación de productos naturales (García, 2009).

Los metabolitos secundarios poseen otras características, como son:

- No tener funciones metabólicas directas aparentes.
- Ser importantes para la supervivencia e interacción con el entorno.
- Presentar diferente distribución en el reino vegetal.
- No ser clasificados como secundarios basándose en su estructura, ruta biogénica o tipo de distribución.

El metabolismo secundario tiene funciones ecológicas específicas como atrayentes o repelentes de animales. Muchos son pigmentos que proporcionan color a flores y frutos, jugando un papel esencial en la reproducción atrayendo a insectos polinizadores, o atrayendo a animales que van a utilizar los frutos como fuente de alimento, contribuyendo de esta forma a la dispersión de semillas. Otros compuestos tienen función protectora frente a predadores, actuando como repelentes, proporcionando a la planta sabores amargos, haciéndolas indigestas o venenosas. También intervienen en los mecanismos de defensa de las plantas frente a diferentes patógenos, actuando como pesticidas naturales (Carril, 2009).

En la Figura 3 se observa la función directa en procesos fotosintéticos, respiratorios, asimilación de nutrientes, transporte de solutos o síntesis de proteínas, carbohidratos o lípidos, y que se denominan metabolitos secundarios (también denominados productos secundarios, productos naturales).

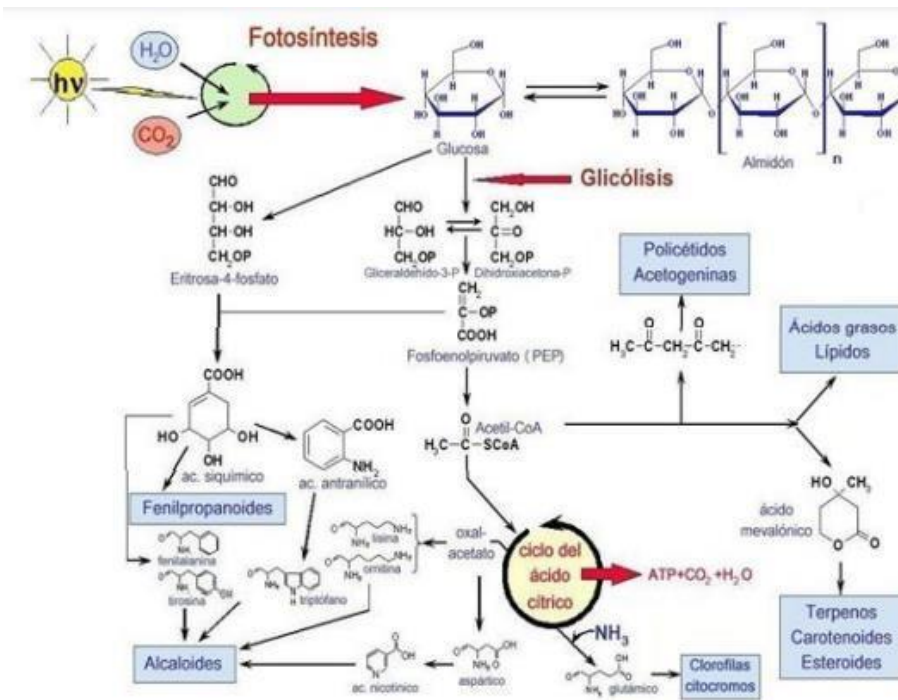
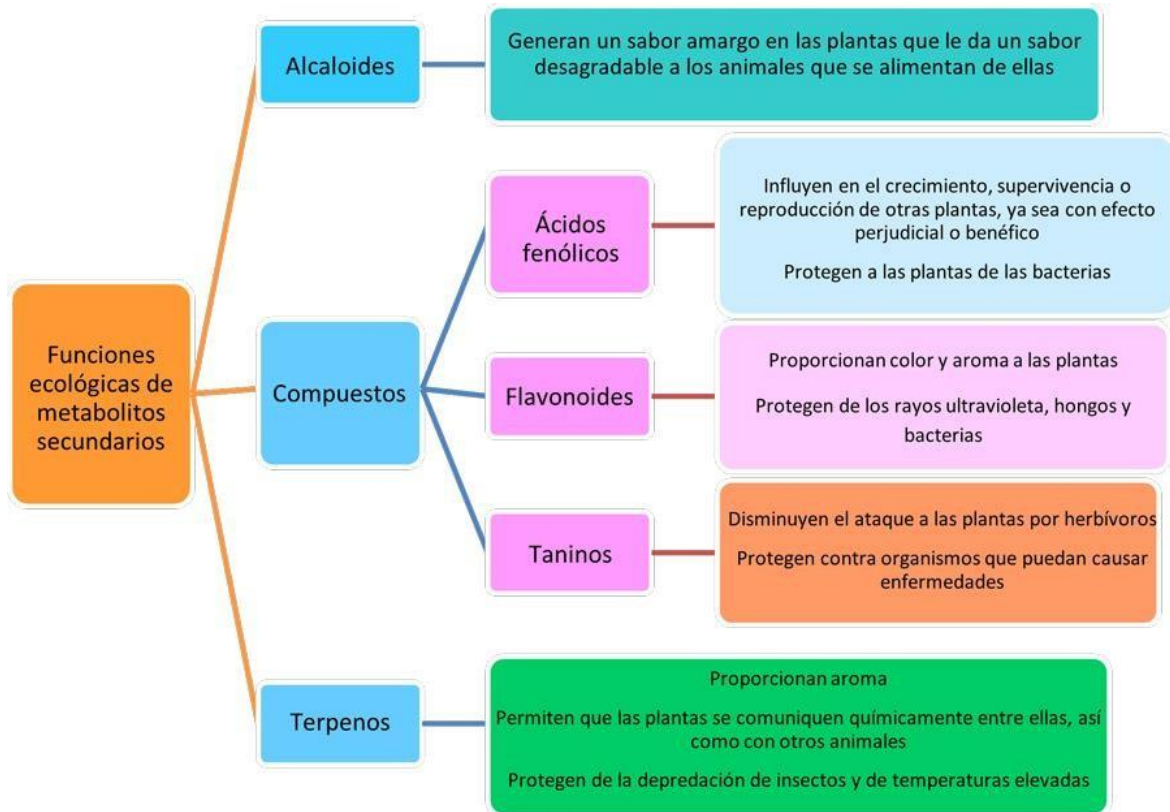


Figura 3. Procedimiento del metabolito secundario
Fuente: Ávalos García y Pérez-Urria Carril (2009).

Hay distintas clasificaciones de los metabolitos secundarios según su diversidad en estructura, función y biosíntesis (proceso en el que compuestos simples se convierten en otros más complejos). Se clasifican en tres grandes clases químicas (Figura 4): *terpenoides* (compuestos aromáticos y volátiles que dan aroma y sabor a las plantas), *fenólicos* (compuestos que tienen función de protección frente a otros organismos, así como de generador de colores atractivos para la polinización de las plantas y dispersión de semillas), y *alcaloides* (compuestos naturales para alejar a los organismos herbívoros), (Adeyemi, 2011; Hopkins, 2003).

Figura 4. Funciones ecológicas de los principales metabolitos secundarios.



Fuente: Lustre Sánchez (2022)

Los alcaloides, fenoles, flavonoides y taninos son compuestos químicos que no actúan en el metabolismo primario de las plantas, pero intervienen en las interacciones ecológicas entre la planta y su ambiente. Se sintetizan cuando las plantas están en condiciones adversas, entre ellas, el ataque por herbívoros, microorganismos y la presencia de diferentes especies que compiten por luz, agua y nutrientes o cualquier otro tipo de condición que provoque estado de tensión en la planta (Sepúlveda, 2003).

Así también, la presencia de los compuestos secundarios, tienen otras funciones ecológicas importantes como atrayentes de polinizadores (Harborne, 1988; Baas, 1989) y dispersores de semillas (Cronquist, 1977).

Se debe mencionar la ruta del ácido shikímico ya que forma parte del metabolismo secundario de las plantas, la cual ayuda a que se regeneren y se formen los fenoles, se lleva cabo a partir de los sustratos fosfoenolpiruvato y eritrosa-4-fosfato, estos dos precursores se derivan del glicólisis y la vía de la pentosa fosfato, respectivamente, y están condensadas a 3-desoxi-

darabino-heptulose-7-fosfato por la enzima DAHP sintasa. Los pasos siguientes dan como resultado la formación de 3-dehidroquinato por la enzima 3-DHQ sintasa, la 3-deshidroshikimato por la enzima DHQ deshidratasa y finalmente en el ácido shikímico por la enzima shikimato deshidrogenasa (Figura 5), (Vermerris, 2006; Ghosh, 2012; Maeda y Dudareva, 2012).

La ruta del ácido shikímico o shikimato lo realizan las plantas y microorganismos, ya que los mamíferos no pueden sintetizar la L-fenilalanina y L-tirosina, dependen de fuentes vegetales o bacterianas para proveerse de compuestos esenciales (Seigler, 1998; Maeda y Dudareva, 2012). Las plantas son capaces de producir aminoácidos aromáticos como la fenilalanina y tirosina derivados del corismato, producto final de la ruta metabólica del shikimato y son capaces de producir aminoácidos aromáticos como la fenilalanina y tirosina derivados del corismato en las plantas (Weaver y Herrmann, 1997).

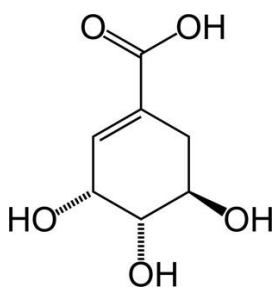


Figura 5. Estructura química Ruta del ácido shikímico.

1.8 Antioxidantes

Los antioxidantes son sustancias que retrasan o previenen la oxidación de un sustrato oxidable a pesar de estar presente en concentraciones más bajas que el sustrato. Las células y los órganos del cuerpo tienen sistemas antioxidantes, los cuales pueden ser enzimáticos, no enzimáticos o proteínas de unión. Todos actúan sinérgicamente para neutralizar las diferentes especies reactivas del oxígeno, formando una red de antioxidantes.

Los polifenoles son potentes antioxidantes con la capacidad de eliminar los radicales superóxidos, radicales lipídicos y $1O_2$; además, son capaces de estimular la producción de enzimas antioxidantes como el superóxido dismutasa (Mariaca et al., 2016).

1.10 Taninos

Los taninos son compuestos polifenólicos, solubles en agua, alcohol y acetona. Se han descrito más de 30 taninos que pueden inhibir hongos y bacterias, se encuentran en muchas plantas dicotiledóneas, especialmente en leguminosas forrajeras de regiones templadas y tropicales. Son empleados por las plantas como mecanismo de defensa contra herbívoros y patógenos y

para la conservación del nitrógeno. La característica principal de los taninos es su capacidad para formar complejos reversibles con las proteínas. Existen dos grupos principales de taninos: hidrolizables y condensados, los cuales pueden tener efectos tóxicos o anti nutricionales o benéficos en animales, dependiendo de su concentración en las plantas (Figura 6), (Márquez-Lara y Suárez-Londoño, 2008).

Los taninos inhiben la peroxidación lipídica y lipoxigenasas *in vitro*, y son capaces de eliminar radicales tales como hidroxilo, superóxido y peroxilo, que se sabe que son importantes en el estado prooxidante celular (Gyamfi, 2002).

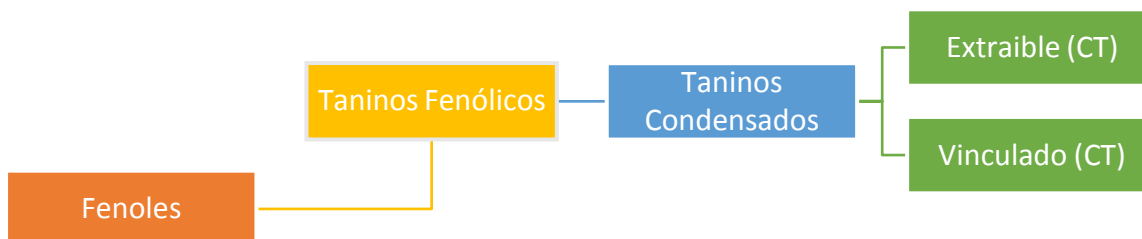


Figura 6. Categorización de los fenoles de las plantas
Fuente: Makkar et al. (2007)

1.11 Fenoles totales (FT)

Los compuestos fenólicos o polifenoles constituyen un amplio grupo de sustancias químicas, con diferentes estructuras y propiedades químicas y actividad biológica, englobando más de 8.000 compuestos distintos. Químicamente, los compuestos fenólicos son sustancias que poseen un anillo aromático, con uno o más grupos hidróxidos (Figura 7), (Hopper, 2006). Los compuestos fenólicos que contienen las plantas tienen propiedades redox, y las propiedades les permiten actuar como antioxidantes.

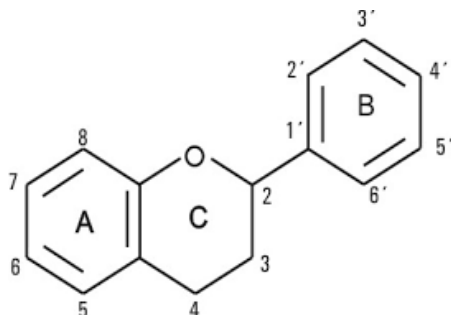


Figura 7. Estructura química de FT
Fuente: Makkar (2007)

1.12 Taninos totales (TT)

Estos son derivados por ácidos fenólicos, en particular ácido gálico y azúcares simples. Son más pequeños que los taninos condensados con mayor facilidad de dilución. Tienen la capacidad de donar electrones y detener las reacciones en cadena mediadas por las especies reactivas de oxígeno que pueden llevar a daños del material genético y peroxidación lipídica de la membrana celular (Figura 8), (Vázquez et al., 2006).

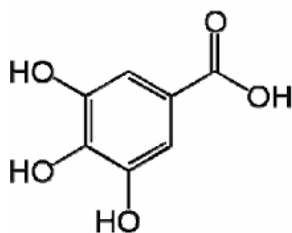


Figura 8. Estructura química de TT
Fuente: Makkar (2007)

1.13 Taninos condensados (TC)

Los taninos condensados constituyen funciones de defensa de las plantas contra bacterias, hongos y animales herbívoros, así como funciones de modulación de mecanismos de tolerancia cuando ellas se encuentran en situaciones de estrés por factores abióticos, se encuentran presentes en los tallos, hojas, plantas herbáceas y en plantas dicotiledóneas (Waghorn, 1997). Los taninos condensados producen efectos benéficos sobre el metabolismo de las proteínas en rumiantes, porque reducen la degradación de la dieta proteínica en el rumen e incrementan la absorción de aminoácidos en el intestino delgado. Los taninos tienen efectos positivos y negativos. Los efectos positivos son: la ganancia de peso, la producción de lana y la eficiencia reproductiva en ovinos, además de reducir el impacto del parasitismo gastrointestinal y el timpanismo. Los efectos negativos de los taninos condensados se relacionan con la disminución del consumo de alimentos, debido probablemente a la reducción de la palatabilidad ocasionada por los efectos astringentes de estos compuestos en la saliva, lo cual afecta la digestión de los rumiantes con consecuencias negativas sobre el crecimiento de los

animales. Los efectos de los taninos condensados en los procesos de la digestión están relacionados con la capacidad para unirse a diferentes moléculas, la cual depende de la estructura química de los taninos y de diferentes moléculas, como celulosa, enzimas digestivas, proteínas, polisacáridos, membranas de bacterias y hongos (Márquez-Lara, y Suárez-Londoño, 2008), (Figura 9).

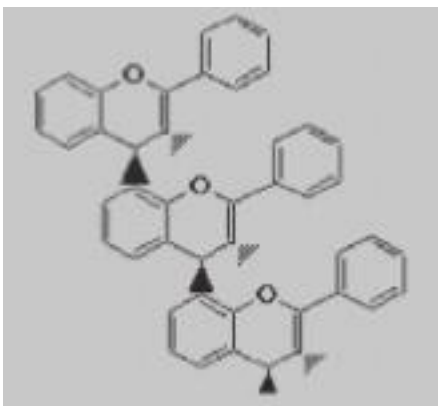


Figura 9. Estructura química de TC.

Justificación

Los muérdagos enanos constituyen la segunda causa de daño a los bosques de coníferas de México después de los incendios (Hawksworth y Wiens, 1996) y el segundo lugar es el daño biológico, después de los insectos descortezadores (Madrigal, 2007), ocasionando una pérdida anual de hasta $1.4 \text{ m}^3 \text{ año}^{-1} \text{ ha}^{-1}$ de superficie de bosque (Vázquez, 2006), ya que afectan la supervivencia y crecimiento de las coníferas infectadas. Los muérdagos enanos se establecen como plantas hemiparásitas en los *Pinus* de diversos tamaños como son brinzales, latizales, juveniles y adultos; causando daño al árbol parasitado.

Los metabolitos secundarios son sustancias muy importantes desde el punto de vista ecológico, ya que son utilizadas como mecanismo de defensa y protección en diversas especies. Lo que les permite evitar la herbivoría y el establecimiento de otras plantas alrededor de ellas, lo cual les garantiza la seguridad de completar su ciclo de vida y entonces la permanencia de la especie en el medio donde se desarrollan. El estudio realizado por Hernández-Luna et al. (2017) reporta que el muérdago contiene metabolitos secundarios. Por lo tanto, este estudio pretende conocer cuál es la concentración de fenoles totales, taninos totales y taninos condensados en el muérdago amarillo y muérdago negro que parasita a los pinos de diferentes edades, con la finalidad de aportar información que permita conocer con mayor profundidad el aspecto ecológico de la capacidad del establecimiento y permanencia del muérdago en su hábitat, como planta parásita del *Pinus hartwegii*, en el Nevado de Toluca.

Planteamiento del problema

Las plantas hemiparásitas como el muérdago, son el segundo agente causal de daño en los ecosistemas forestales, se distribuyen ampliamente en bosques de alta montaña. En el caso del Área de Protección de Flora y Fauna Nevado de Toluca, se presentan dos especies *Arceuthobium globosum* y *Arceuthobium vaginatum*, negro y amarillo respectivamente, los cuales parasitan al *Pinus hartwegii*.

Los muérdagos enanos son plantas que sintetizan sustancias fundamentales para garantizar su sobrevivencia a nivel individual y a nivel de especie; y que además su importancia trasciende hasta niveles de organización más complejos como los ecosistemas. Estas sustancias genéricamente se les conoce como metabolitos secundarios, como por ejemplo fenoles totales, taninos totales y taninos condensados.

A pesar de la relevancia que tienen la presencia de los muérdagos enanos en los pinos y el deterioro que le ocasionan, se conoce muy poco sobre la concentración de metabolitos secundarios del muérdago enano amarillo y negro y la relación que existe con respecto a la edad de los árboles. Lo cual permitirá hacer inferencias sobre la capacidad de establecimiento y permanencia del muérdago en el *Pinus hartwegii*, en el Nevado de Toluca.

Hipótesis

El mayor contenido de metabolitos secundarios se encontrará en los árboles más pequeños (brinzales), ya que al ser una planta hemiparásita fácilmente infesta a los árboles en esta condición, lo que les permitirá una mayor concentración de fitoquímicos y por lo tanto una mayor capacidad de sobrevivencia.

Objetivos

Objetivo general

Determinar los compuestos secundarios del muérdago enano que parasita al *Pinus hartwegii* en el Nevado de Toluca para identificar la relación entre el contenido de fitoquímicos y las edades de los árboles.

Objetivos específicos

1. Determinar el contenido de fenoles totales, taninos totales y taninos condensados en el muérdago amarillo y muérdago negro mediante análisis fotoquímico para la diferenciación entre especies.
2. Analizar el contenido de fenoles totales, taninos totales y taninos condensados en el muérdago amarillo y muérdago negro y la relación existente con las edades de los árboles.

Capítulo 2 Metodología

2.1 Diagrama metodológico general

En la figura 10, se muestra el diagrama metodológico general, que consta de cuatro etapas generales.

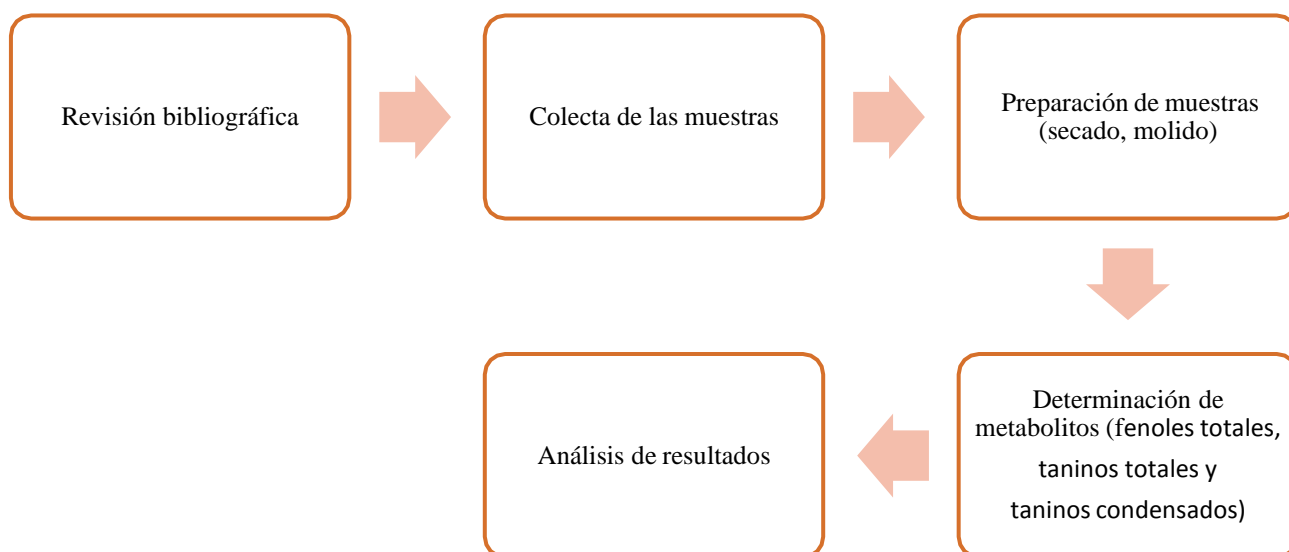


Figura 10. Esquema metodológico general

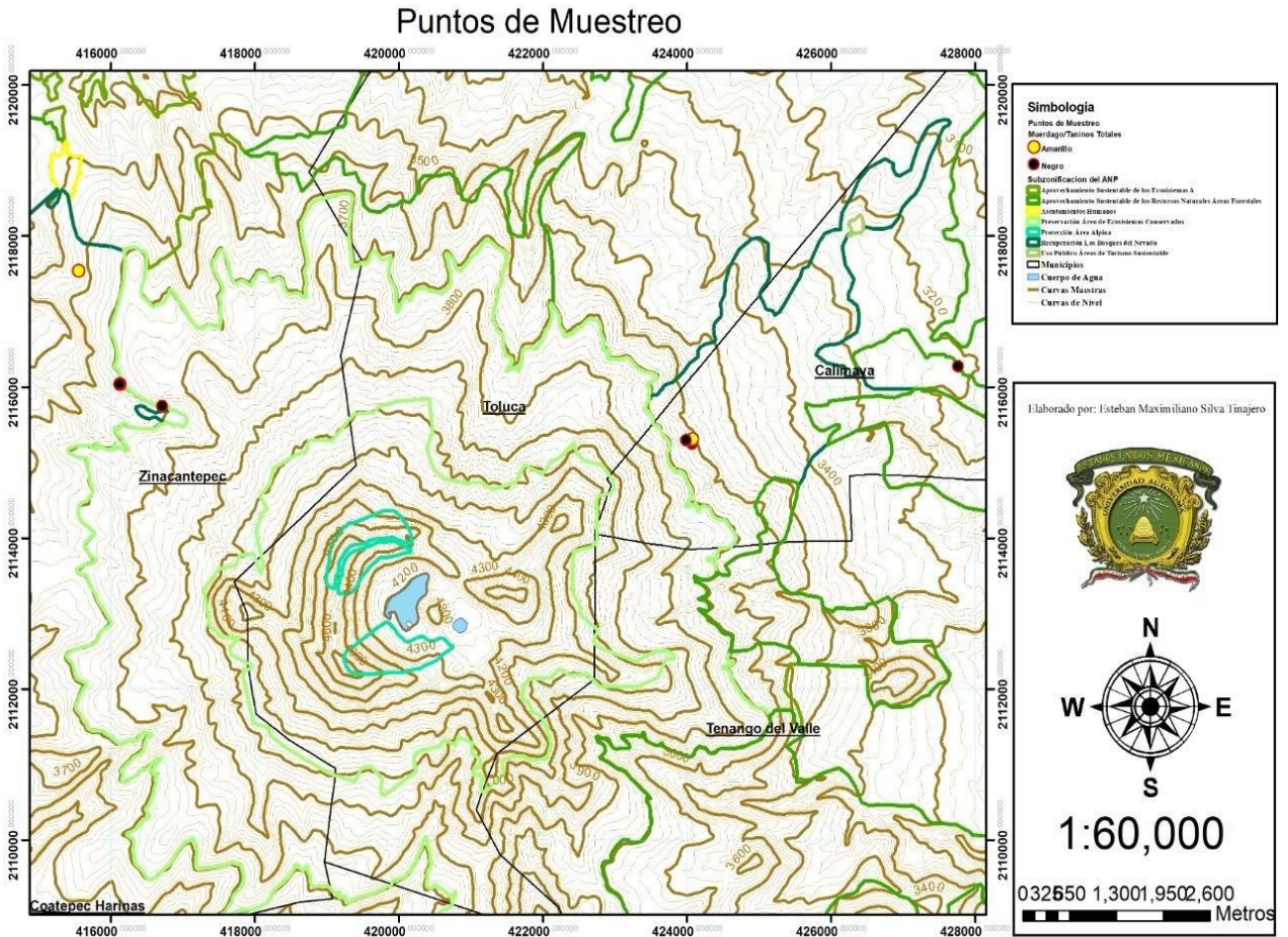
2.2 Colecta de muestras

Las muestras de muérdago se colectaron en el Área de Protección de Flora y Fauna Nevado de Toluca de agosto a octubre de 2021 (mapa 1). En cada sitio de muestreo se identificó la especie de muérdago y se realizó la colecta del mismo asociado a árboles de diferentes edades, entre los que se encontraban brízales, latizales, juveniles y adultos. Se tomaron las muestras de 10 sitios diferentes, en los ejidos de Calimaya (municipio del mismo nombre), Tlacotepec (municipio de Toluca) y San Juan de las Huertas (municipio de Zinacantepec).

Se colectaron un total de 106 muestras, las cuales se describen a continuación:

- Muérdago amarillo: se recolectaron 54 muestras, de las cuales 15 fueron de adultos, 16 de juveniles, 14 de latizales, 9 de brinzales.

- Muérdago negro: se recolectaron 52 muestras, de las cuales 21 fueron de adultos, 15 de juveniles, 10 de latizales y 6 de brinzales.



Mapa 1. Puntos de Muestreo

2.3 Determinación de metabolitos secundarios

Para la determinación de metabolitos secundarios se realizaron los análisis de fenoles totales, taninos totales y taninos condensados (figura 11). Las técnicas se describen a continuación.

Fórmula fenoles totales	Fórmula taninos totales	Fórmula taninos condensados
<ul style="list-style-type: none"> Solución: $(A_{DPPH-A} \text{ muestra}) / A_{DPPH} * 100$ 	<ul style="list-style-type: none"> Fenoles totales (%) – Taninos no fenólicos (%) = Taninos (%) 	<ul style="list-style-type: none"> TC (% MS) = $(\text{Absorbancia a } 550\text{nm} \times 78.26 \times \text{factor de dilución}) / (\% \text{ MS})$

Figura 11. Fórmulas para la determinación de metabolitos secundarios

2.4 Fenoles totales

Para la determinación del contenido de fenoles totales en el muérdago se utilizó la técnica propuesta por Makkar (2003), la cual se describe a continuación:

Para las soluciones se diluyó acetona al 70% con 30 ml de agua destilada, también se diluyeron 50 ml de agua destilada con 50 ml de folin-ciocalteu.

Se pesaron 17.350 g de carbonato de sodio al 20% y se disolvió en 150 ml de agua destilada, se utilizó ácido tánico el cual se pesó 5 mg y se disolvió en 5 ml de agua destilada y se le agregaron otros 9 ml de agua destilada para que la concentración final fuera de 0.1 mg/ml.

Para el procedimiento se pesaron en tubos ensayo 50 mg de las muestras de muérdago al cual se le agregó acetona al 70%. Después las muestras se pusieron en un baño ultrasónico durante 25 minutos con intervalos de 10 minutos y con 5 minutos de descanso, se metieron a la centrifuga a 3000 rpm durante 10 minutos a 4°C.

Se realizó una curva patrón (cuadro 1) para relacionar los valores de absorbancia de la curva con los de la concentración de ácido tánico. La ecuación lineal resultante es utilizada para calcular la concentración de ácido tánico de las muestras.

Cuadro 1. Valores de curva

Tubo	Solución de ácido tánico (µl)	Agua destilada (µl)	Folin (µl)	Carbonato de sodio (ml)
Blanco	0.0	500	250	1.25
T1	20	480	250	1.25
T2	40	460	250	1.25
T3	60	440	250	1.25
T4	80	420	250	1.25
T5	100	400	250	1.25

2.5 Taninos totales

La determinación de taninos totales se realizó mediante la técnica de Makkar (2003), la cual se describe a continuación:

Para las soluciones se diluyó acetona al 70% con 30 ml de agua destilada, también se diluyó 50 ml de agua destilada con 50 ml de Folin-ciocalteu.

Se pesaron 17.350 g de carbonato de sodio al 20% y se disolvió en 150 ml de agua destilada, también se utilizó ácido tánico (5mg) y se disolvió en 5 ml de agua destilada y se le agregaron otros 9ml de agua destilada para que la concentración final fuera de 0.1 mg/ml.

Para el procedimiento, se pesaron en tubos hach 50 mg de las muestras de muérdago al cual se le agregó acetona al 70%. Después las muestras se pusieron a baño ultrasónico durante 25 minutos con intervalos de 10 min con 5 de descanso. Del sobrante de la muestra se tomó 1 ml y se colocó en un tubo de ensayo al que se le adicionaron 100 mg de PVPP y 1 ml de agua. Se colocó en hielo y se agitó en vórtex durante 15 min, se metieron a la centrifuga a 3000 rpm durante 10 min.

Cálculos:

Se relacionaron por regresión los valores de absorbancia de la curva patrón con los de la concentración de ácido tánico (Cuadro 2). La ecuación lineal resultante es utilizada para calcular la concentración de ácido tánico de las muestras. El contenido de taninos totales es calculado como la diferencia entre los fenoles totales sin PVPP menos los fenoles totales con PVPP. Es decir:

$$\text{Fenoles totales (\%)} - \text{Taninos no fenólicos (\%)} = \text{Taninos (\%)}$$

Cuadro 2. Curva patrón con la concentración de ácido tánico

Tubo	Solución de ácido tánico (µl)	Agua destilada (µl)	Folin (µl)	Carbonato de sodio (ml)
Blanco	0.0	500	250	1.25
T1	20	480	250	1.25
T2	40	460	250	1.25
T3	60	440	250	1.25
T4	80	420	250	1.25
T5	100	400	250	1.25

2.6 Taninos condensados

Los taninos condensados se determinaron a través de la técnica de Makkar et al. (2007).

Para las soluciones se diluyó acetona al 70% con 30 ml de agua destilada, también se diluyeron 95 ml de butanol con 5ml de HCl.

Se preparo el reactivo férrico (2% de sulfato de amonio férrico en 2N HCl).

Para el procedimiento, se pesaron en tubos hach 200 mg de las muestras de muérdago al cual se le agregaron 10 ml de acetona al 70%. Después las muestras se pusieron a baño ultrasónico durante 25 minutos con intervalos de 10 min con 5 de descanso.

Se colocó en hielo durante 10 min, se metieron a la centrifugadora a 3000 rpm durante 30 minutos.

En otros tubos se agregaron 500 µl de la muestra junto con 3 ml de butanol-HCL y 100 µl de sulfato férrico. Se colocó en el digiblock a 97 °C por 60 min.

Para finalizar se hizo la lectura en el espectrofotómetro a 550 nm donde se obtuvieron los valores de absorbancia los cuales se transformaron en mg con la ayuda de la ecuación:

$$TC (\% MS) = (Absorbancia a 550nm \times 78.26 \times \text{factor de dilución}) / (\% MS)$$

2.7 Análisis de datos

Se utilizó un diseño experimental de bloques al azar, donde los bloques fueron las especies y los tratamientos fueron las edades de los árboles. Se utilizó un modelo general lineal que se presenta a continuación.

$$Y_{ij} = \mu + b_i + t_{ij} + e_{ijk}$$

Donde:

Y_{ij} es la variable respuesta

μ es la media general

b_i es el efecto debido a la especie ($i=1,2$)

t_{ij} el efecto debido a los tratamientos ($i=1,\dots,4$)

e_{ij} el error residual

Los resultados se analizaron mediante un análisis de varianza y se expresaron en medias con su respectivo error estándar (Mellado, 2022). La diferencia entre medias ($p < 0.05$) se calculó mediante la prueba de Tukey. Se empleó el comando de Modelo General Lineal del paquete estadístico MINITAB v14 (2000).

Capítulo 3 Resultados y Discusión

En el cuadro 3 se presentan los resultados del contenido de metabolitos secundarios. Se observa que respecto a la especie existen diferencias en el contenido de fenoles totales, taninos totales y taninos condensados ($P < 0.05$), la mayor concentración se presenta en el muérdago amarillo.

La presencia de metabolitos secundarios en las plantas se da debido a que estos compuestos se presentan como mecanismos de defensa para las mismas, brindando mayor posibilidad de supervivencia en el medio (Alonso Peña, 2011), ya que les permite evitar ser consumidas por los animales y estas sustancias también funcionan como alelopáticas, evitando que otras especies de plantas crezcan cerca de ellas (Makkar et al., 2007). El efecto alelopático hace que se provoque un efecto perjudicial sobre la germinación, el crecimiento o el desarrollo de otras plantas en los alrededores (Blanco, 2006), y benéfico ya que funcionan como atrayentes de polinizadores o dispersores de semillas y protegen a la planta de las radiaciones UV (Valares Masa, 2011). En este sentido, al presentar un mayor contenido de FT, TT y TC el muérdago amarillo, tiene mejores posibilidades de sobrevivir en el medio.

A pesar de la diferente edad fisiológica de los árboles, se muestra que la planta parásita, no presenta diferencias significativas ($P > 0.05$) en el contenido de fenoles totales, taninos totales ni taninos condensados en las categorías de brinzales, latizales, juveniles y adultos.

El muérdago amarillo y el muérdago negro son hemiparásitas, y presentan pigmentos que les permiten llevar a cabo la fotosíntesis, por lo tanto, hace que no dependan completamente del hospedero para su sobrevivencia, generando parte de los nutrientes requeridos. Sin embargo, el resto de los requerimientos los obtienen del hospedero.

A pesar de que el muérdago afecta más a los pinos más pequeños es decir a los brinzales (Hawksworth y Wiens, 1996), llevándolos rápidamente a la muerte, y que los adultos por el tamaño, vigor y soporte tienen una mayor capacidad y tiempo de sobrevivencia después del ataque del muérdago; en este estudio se encontró que el contenido de FT, TT, TC es el mismo para brinzales, latizales juveniles o adultos. Por lo que la producción de estas sustancias no depende de que árbol este infectando, sino depende del propio metabolismo secundario del muérdago. Se debe tomar en cuenta que las plantas de muérdago se colectaron presentando el mismo estadio vegetal de vida (fructificación y dispersión), y por lo tanto las concentraciones de los compuestos secundarios se deban también al propio estadio vegetal o etapa fenológica. De acuerdo con Makkar (2003), el contenido de metabolitos en las plantas depende de las

condiciones fisiográficas en las que crece, y también de la etapa fenológica en la que se encuentren.

Desde el punto de vista de las condiciones fisiográficas, es necesario que se profundicen los estudios sobre el sitio donde se desarrollan las plantas, ya que de acuerdo con Gutiérrez-Vilchis y Resendiz-Martínez (1994) el muérdago amarillo crece en las partes altas y soleadas de los árboles y de acuerdo con Makkar (2003) las especies que crecen en condiciones de mayores temperaturas ambientales presentan un mayor contenido de metabolitos secundarios, tal y como se presenta en este caso con el muérdago amarillo el cual está sometido a condiciones más soleadas.

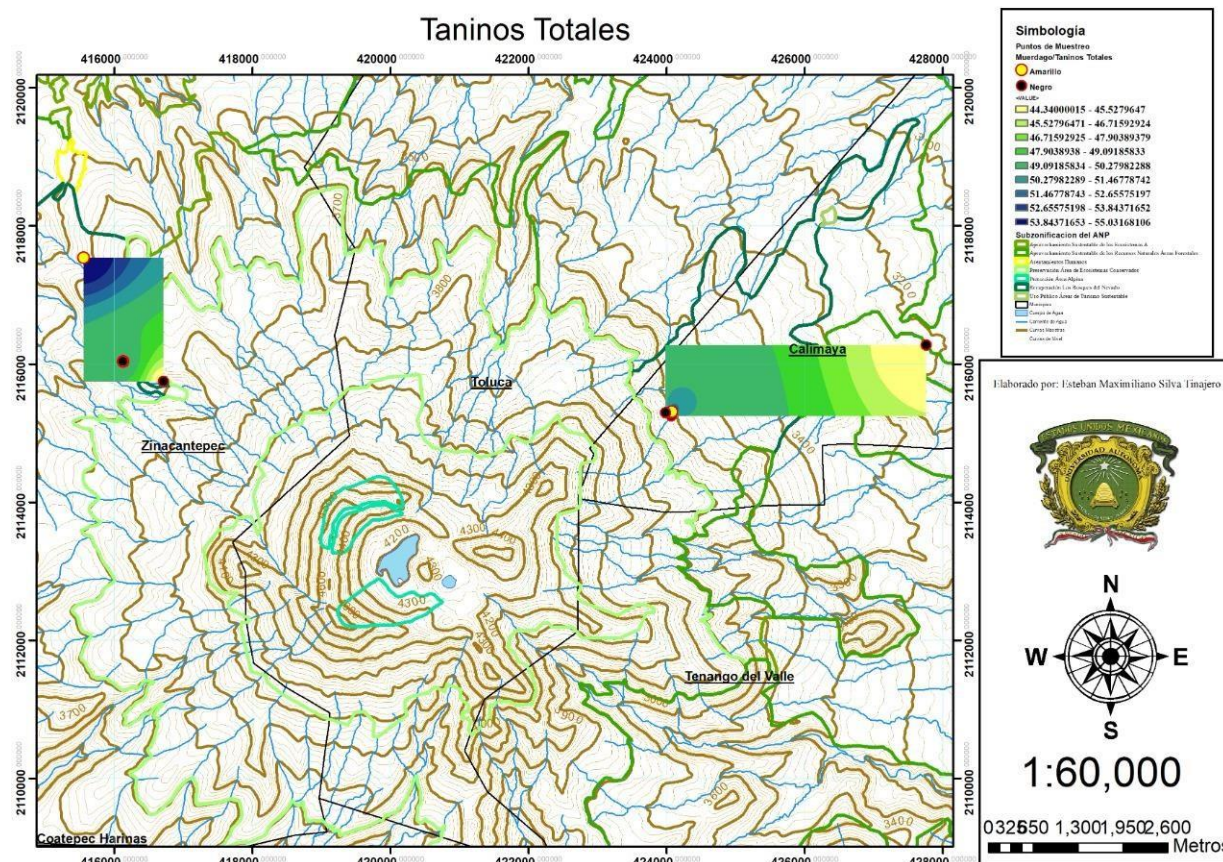
Cuadro 3. Contenido de metabolitos secundarios en el muérdago, por especie y edad del árbol

	Fenoles Totales (g/kg)	Taninos Totales (g/kg)	Taninos Condensados (g/kg)
Especie			
Amarillo	61.13 ^a	54.82 ^a	54.72 ^a
Negro	51.86 ^b	44.34 ^b	42.23 ^b
EEM	5.78	7.60	9.01
P	0.000	0.000	0.003
Edad			
Brinzales	57.51	49.25	44.94
Latizales	58.34	52.22	50.15
Juvenil	57.5	48.64	48.88
Adulto	54.78	50.02	49.69
EEM	4.08	5.44	6.37
P	0.821	0.428	0.201
Especie * Edad	0.584	0.472	0.231

EEM. Error estándar de la media

Para representar el contenido de fenoles totales, taninos totales y taninos condensados por especie y zona de colecta, se presenta la información en los mapas 2, 3 y 4 respectivamente. En el mapa 2, se muestra el contenido de fenoles totales en el muérdago; en color amarillo se presenta la concentración más baja, el color verde es la concentración media y color azul es la concentración más alta. Como se puede observar el punto alto es de 61 (g/kg), que corresponde al muérdago amarillo ubicado en el municipio de Zinacantepec, el punto medio es de 57 (g/kg)

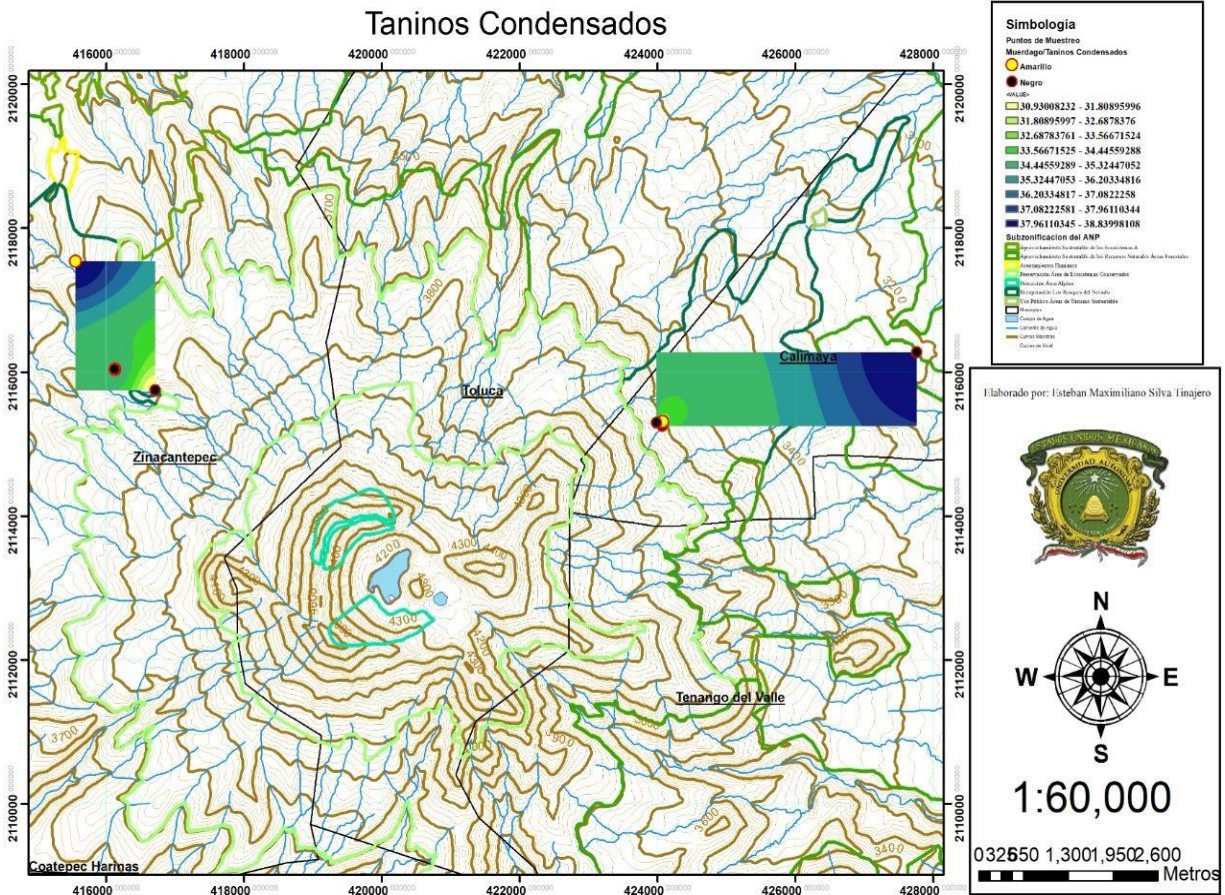
Determinación de compuestos secundarios de muérdago en diferentes edades en *Pinus hartwegii* en el Nevado De Toluca



Mapa 3. Taninos Totales

En el mapa 4, se muestra el contenido de taninos condensados en el muérdago, el color amarillo es la concentración más baja, el color verde es la concentración media y color azul es la concentración más alta, como se puede observar el punto alto es de 38 (g/kg) para el muérdago amarillo ubicado en el municipio de Zinacantepec, el punto medio es de 35 (g/kg) en muérdago negro también ubicado en Zinacantepec, el mínimo es de 31 (g/kg) en el muérdago negro el cual se encuentra en Calimaya y está dentro de la zona de aprovechamiento sustentable de los recursos naturales de áreas forestales.

Determinación de compuestos secundarios de muérdago eno en diferentes edades en *Pinus hartwegii* en el Nevado De Toluca



Mapa 4. Taninos Condensados

En los mapas 2, 3 y 4, se observa de manera gráfica que el mayor contenido de FT, TT y TC se presentan en el muérdago amarillo, pero además corresponden a muestras que se obtuvieron en la región de Zinacantepec.

Conclusiones

Como se observó en los análisis estadísticos respecto a la especie, el contenido de fenoles totales, taninos totales y taninos condensados es diferente entre especies, la que presentó el mayor contenido fue el muérdago amarillo.

De acuerdo con el contenido de fenoles totales, taninos totales y taninos condensados no se encontró una diferencia asociada a la edad de los árboles, en este caso brinzales, latizales, juveniles y adultos. Esto probablemente debido a que el muérdago colectado se encontraba en la misma etapa fisiológica.

Los resultados obtenidos en la presente investigación muestran una oportunidad para continuar con otros estudios donde se considere el estado fenológico del muérdago y que permita evidenciar con más información si los metabolitos secundarios varían con la edad de los árboles, así como también si los fitoquímicos tienen un papel importante desde el punto de vista de la conservación del muérdago y que permita su supervivencia.

Referencias bibliográficas

- Adeyemi, M. (2011). A review of secondary metabolites from plant materials for post harvest storage. *International Journal of Pure Applied Sciences Technology*. 6 (2): 94–102.
- Alonso Peña, J. R. (2011). *Manual de histología vegetal*. Madrid. Mexico. Mundo Prensa.
- Arce, J., J. Macías y L. Vázquez-Selem. (2003). La erupción pliniana de 10,5 ka del volcán Nevado de Toluca, México. G. S. Toro, estratigrafía e implicaciones de peligrosidad. P. 248.
- Arriaga, L. y Gómez, L. (2004). Posibles efectos del cambio climático en algunos componentes de la biodiversidad de México. En J. M. (Compiladores.). México, D.F: INE/SEMARNAT.
- Baas, W. J. (1989). Causes and consequences of variation in growth rate and productivity of higher plants, pp: 313-340. En: H. Lambers, M. L. Cambridge, H. Konings y T. L. Pons (eds). S PB Academic Publishing. The Hague.
- Beaman, J. H. (1962). The timberlines of Iztaccíhuatl and Popocatepetl. México: Ecology, 43. doi: 10.2307/1933367.
- Blanco, Y. (2006). La utilización de la alelopatía y sus efectos en diferentes cultivos agrícolas. *Cultivos Tropicales*, 27(3): 5-16.
- Botosso, P. C. y P. Pova de Mattos, (2002). Conhecer a idade das árvores:importância e aplicação. Series de documentos,75. Brasil: Embrapa.
- Calderón de Rzedowski, G. (2005). Flora fanerogámica del Valle de México. Michoacán, México: INECOL-CONABIO. Obtenido de Flora fanerogámica del Valle de México. Michoacán, México.
- Carril, A. Á. (2009). *Metabolismo secundario de plantas*. Madrid: Departamento de Biología Vegetal I (Fisiología Vegetal). Facultad de Biología. Universidad Complutense.
- Cedillo-Alonso, M . (2012). Distribución espacial y análisis de la presencia de plagas forestales en el Parque Nacional Nevado de Toluca (Tesis de Licenciatura). Toluca, México: Facultad de Geografía, Universidad Autónoma del Estado de México.
- Cibrián, D., R. Alvarado y D. García. (2007). Enfermedades forestales en México/ Forest diseases in Mexico. México: Universidad Autónoma Chapingo/ Secretaría de Medio

- Ambiente y Recursos Naturales-Comisión Nacional Forestal/Canadian Forest Service/Comisión.
- CONAFOR. (2007). Manual de sanidad vegetal. México: Primera edición.
- CONANP. el Programa de Manejo del APFF Nevado de Toluca. Conanp.gob.mx. https://www.conanp.gob.mx/que_hacemos/pdf/programas_manejo/RESUMEN_NEVADO_TOLUCA.pdf . Fecha de consulta agosto 2022.
- Cronquist, A. (1977). On the taxonomic significance of secondary metabolites in angiosperms. *Land Systemics and Evolution*. 1: 179-189.
- Endara-Agramont, A. R. 2010. Análisis de los procesos de recuperación en el bosque templado del Parque Nacional Nevado de Toluca. En I. d. Ciencias Agropecuarias y Rurales, Tesis de doctorado. Toluca, México: Universidad Autónoma del Estado de México.
- Endara-Agramont, A. R. (2014). Actualización del mapa de plagas y enfermedades forestales del Área de Protección de Flora y Fauna Nevado de Toluca. México. Universidad Autónoma del Estado de México.
- Endara-Agramont, A. R. R. L. Heredia-Bobadilla, L. A. García-Almaraz, A. A. Luna-Gil, S. Franco-Maass y V. D. Cibrián-Llenderal. (2022). Factores asociados con la distribución espacial de muérdagos enanos en dos poblaciones de *Pinus hartwegii* del centro de México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 93.
- FAO. (2006). Salud y vitalidad de los bosques. Hacia la ordenación forestal sostenible. Italia. Evaluación de los Recursos Forestales Mundiales 2005.
- García. (2009). Metabolismo secundario de plantas, *Serie Fisiología Vegetal*. 2 (3), 119-145.
- González, G. J. (1989). Biología y distribución de los muérdagos enanos en la unidad de Administración Forestal Tepehuanes.
- Ghosh, S. Y. (2012). Production of shikimic acid. En *Biotechnology Advances*. 30 (6): 1425-1431.
- Gutiérrez-Vilchis, L. y J. F. Resendiz-Martínez. (1994). Fenología del muérdago enano en el Desierto de los Leones, D.F. *Ciencia Forestal en México* 19, 41-62.
- Gyamfi, M. A. (2002). Antioxidant properties of Thonningianin A, isolated from the African medicinal herb, *Thonningia sanguinea*. *Biochemical Pharmacology*. 63.
- Harborne, J. B. (1988). Introduction to ecological biochemistry. Academic Press. London.

- Hawksworth, F. y D. G. Wiens. (1996). Dwarf Mistletoes: Biology, Pathology, and Systematics. Washington, D. C: United States Department of Agriculture/Forest Service.
- Hernández Luna G. B., A. R. Endara Agramont, M. González Ronquillo, J. Martínez Hernández, G. Vilmar Kozloski y J. G. Estrada Flores. (2017). La utilización del muérdago enano (*Arceuthobium globosum*) como forraje en la alimentación de rumiantes. En: Sustentabilidad Agropecuaria Experiencias de Investigación para el Desarrollo Agropecuario, Forestal y Rural. Ed. Luis Brunett Pérez, William Gómez Demetrio, Adriana del Carmen Gutiérrez Castillo, Enrique Jaimes Arriaga. Universidad Autónoma del Estado de México.
- Hopper L, C. A. (2006). A review of the health care potential of bioactive compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 86:1805-13.
- Hopkins, W. G. (2003). *Physiologie Vegetale*. De Boeck y Larcier
- Larreta, B. V. (1999). Tesis de Maestría: Caracterización de la productividad y estructura de *Pinus hartwegii* Lindl. En tres gradientes altitudinales en el cerro Potosí, Galeana, Nuevo León. Linares, Nuevo León: UANL.
- López-Upton, J., J. Jasso-Mata, J. Vargas-Hernández y J. C. Ayala-Sosa (1993). Variación de características morfológicas en conos y semillas de *Pinus greggi*. *Agrociencia*. 3: 81-95.
- Lustre-Sánchez, H. (2022). Los superpoderes de las plantas: los metabolitos secundarios en su adaptación y defensa. *Revista Digital Universitaria*. 23 (2): 1-8.
- Makkar. H. P. S. (2003). *Quantification of tannins in tree and shrub foliage*. Dordrecht, Boston, London. Kluwer Academic Publishers.
- Makkar. H. P. S., P. Siddhuraju y K. Becker. (2007). *Plant Secondary Metabolites*. Totowa, New Jersey: HUMANA PRESS.
- Madrigal, S. I. (2007). Obtención de parámetros dasométricos para evaluar efecto causado por *Arceuthobium vaginatum* en *Pinus hartwegii* del Nevado de Colima. En: *Memorias del VII Congreso Mexicano de Recursos Forestales* (pp. 1-7). Morelia, Michoacán.
- Maeda, H. y Dudareva. (2012). The shikimate pathway and aromatic amino acid biosynthesis in plants. *En Annual review of plant biology*. 63: 73-105.

- Marchal, D. V. (2009). "El muérdago en la ciudad de México". Arbol AMA. México.
- Mariaca, C. J., M. Zapata y P. Uribe. (2016). Oxidación y antioxidantes: hechos y controversias. Revista de la Asociación Colombiana de Dermatología. 3: 16-24.
- Márquez-Lara, D. y A. Suárez-Londoño. (2008). El uso de taninos condensados como alternativa nutricional y sanitaria en rumiantes. Revista de Medicina Veterinaria 1 (7): 87-109.
- Minitab, 2000. Statistical software. User's guide 1: Data graphics, and macros Ver 14. USA.
- Perry, J. P. (1991). The pines of Mexico and Central America. Portland, USA: Timber Press.
- Press, M. C. y G. K. Phoenix. (2005). Impacts of parasitic plants on natural communities. The New Phytologist. 166 (3): 737-751.
- Queijeiro, M. E., Z. Cano e I. Castellanos. (2011). Distribución diferencial de dos especies de muérdago enano sobre *Pinus hartwegii* en el área natural protegida Zoquiapan y anexas. Estado de México. Acta Botánica Mexicana. 96: 49-57.
- Quiñonez, B. S. (2016). Caracterización de los muérdagos enanos que afectan los bosques de coníferas en los estados de Durango y Sinaloa. Tesis de Maestría en Conservación y Manejo de Recursos Naturales y Medio Ambiente. México: Universidad Juárez del estado de Durango. Facultad de Ciencias Forestales. P. 121.
- Rodríguez, O. A. (2010). Fluctuación de *Dendroctonus adjunctus* Blandford (CURCULINOIDAE: SCOLYTINAE) y sus depredadores atraídos por frontalina + alfa-pineno, en la estación experimental . Boletín del Museo de Entomología de la Universidad del Valle. 11: 20-27.
- Robinson, D. C. E. y B. W. Geils (2006). Modelling dwarf mistletoe at three scales: life history, ballistics and contagion. Ecological Modelling. 199 (1): 23-38.
- Sánchez-González, A. 2008. Una visión actual de la diversidad y distribución de los pinos de México. Madera y Bosques 14 (1) :107-202.
- Seigler, D. (1998). Shikimic acid pathway. En In Plant Secondary Metabolism (págs. 94-105). Springer, Boston, MA.
- SEMARNAT. (2012). Compendio de estadísticas ambientales.
- Sepúlveda, G. H. (2003). La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. Revista Mexicana de Fitopatología 21(3).

- Serrano Maldonado, M. G. L. (2011). Antioxidant activity and citotoxic efecto of Cladocolea Ioniceroides (van Tieghem) Kuijt. Revista Mexicana de Ingenieria Quimica. 10 (2): 161-170.
- Shaw, D. C. (2005). Spatial and population characteristics of dwarf mistletoe infected trees in an old-growth Douglas-fir western hemlock forest. Canadian Journal of Forest Research (35): 990-1001.
- Sotelo, E., G. Cruz y S. Ochoa. (2010). La Clasificación FAO-WRB y los Suelos del Estado de México. México: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales: Agrícolas y Pecuarias.
- Souza, P. (1973). Terminologia forestal, glosario de termos e expressões florestais. En G. (Rj). Fundación IBGE
- Steinmann, V. W., L. Arredondo-Amezcuca, Y. Ramírez-Amezcuca, S. Maza-Villalobos Méndez, R. A. Hernández-Cárdenas y A. Mastretta-Yanes. (2019). La vegetación alpina mexicana. Biodiversitas. 142, 4-9.
- Tun-Garrido, J. (2007). Plantas parásitas y hemiparásitas. www.cicy.mx
- Valares Masa, C. (2011). Variación del metabolismo secundario en plantas debida al genotipo y al ambiente. Retrieved from Memoria para obtener el grado de doctorado en Ciencias, Universidad de Extremadura, España. <https://biblioteca.unex.es/tesis/9788469494332.pdf>
- Valderrama B. J y R. O. Medina. (2002). Evaluación de muérdago enano (“Arceuthobium spp.”) en rodales del género (*Pinus* spp.) y propuesta de manejo en la estación forestal experimental Zoquiapan. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo P. 90.
- Vázquez C., I. A. (2006). Los muérdagos (Loranthaceae) en Michoacán. I. N. Centro de Investigación Regional del Pacífico Centro, Libro Técnico No. 2. P. 98. Uruapan, Michoacán, México.
- Vázquez, I., A. Villa y S. Madrigal. (2006). Los muérdagos (Loranthaceae) en Michoacán. In Libro Técnico núm. 2. Uruapan: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias-Centro de Investigación Regional Pacífico Centro.
- Vega. (1976). El muérdago enano: enfermedad creciente en bosques de coníferas en México. México. En D. d. Forestal. S.E.R.A.

- Verduzco, J. (1976). Protección forestal. Texcoco, México. Patena (Chapingo). México.
- Vermerris, W. (2006). Phenolic compound biochemistry. Springer Science & Business Media.
- Waghorn C G, R. J. (1997). Condensed Tannins and Herbivore Nutrition. Proceedings of the XVIII. International Grassland Congress. Canada: Sección 8- Tannins Plant Breeding and Animal Effects. International Grassland Congress.
- Weaver, L. M. y Herrmann. (1997). Dynamics of the shikimate pathway in plants. En Trends in Plant Science. 2 (9): 346-351.
- Zúñiga-Bermúdez, G., M. González-Herrera, H. Fernández-Arias y I. R. Cisneros-Barrios. (1994). Estudio de la anatomía e histología del tubo digestivo de *Dendroctonus adjunctus* Blandford (Coleoptera: Scolytidae). Acta Zoológica Mexicana. 62: 23-35.