



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLAS DE HIDALGO**

Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez”

PROGRAMA INSTITUCIONAL DE MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

**Efecto del Cu^{2+} , Zn^{2+} y Fe^{3+} sobre el desarrollo y contenido de
metabolitos secundarios de *Hibiscus sabdariffa* L.**

TESIS

Presenta

ADELAIDA STEPHANY HERNÁNDEZ VALENCIA

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER

EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

ASESORA: DRA. MARTHA ELENA PEDRAZA SANTOS

Doctorado en Fisiología Vegetal

CO- ASESORA: DRA. MARÍA DE LAS NIEVES RODRIGUEZ MENDOZA
Doctorado en nutrición vegetal

URUAPAN, MICHOACÁN, MÉXICO, MARZO DE 2015





UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas

DR. HÉCTOR GUILLÉN ANDRADE
COORDINADOR GENERAL DEL PROGRAMA INSTITUCIONAL DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P R E S E N T E

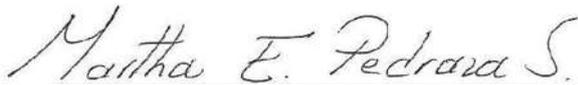
Por este conducto nos permitimos comunicarle que después de haber revisado el manuscrito final de la Tesis Titulada: “Efecto del Cu^{2+} , Zn^{2+} y Fe^{3+} sobre el desarrollo y contenido de antocianinas de *Hibiscus sabdariffa* L.” presentado por la ING. ADELAIDA STEPHANY HERNÁNDEZ VALENCIA, consideramos que reúne los requisitos suficientes para ser publicado y defendido en Examen de Grado de Maestra en Ciencias.

Sin otro particular por el momento, reiteramos a usted un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E

Morelia, Michoacán, a 17 de febrero de 2015

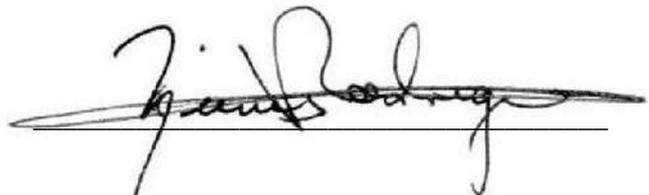
MIEMBROS DE LA COMISIÓN REVISORA



Dra. Martha Elena Pedraza Santos
Directora de Tesis



Dr. Nicolás Gutiérrez Rangel



Dra. María de las Nieves Rodríguez Mendoza
Co directora



Dr. José López Medina



M.C. David Jaen Contreras

Agradecimientos

- ◆ A Dios, por aunque el camino en veces no es fácil, siempre hay una luz en el para seguir adelante y poder apreciar las cosas buenas y oportunidades que tenemos.
- ◆ Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por el apoyo para poder realizar mis estudios de maestría.
- ◆ A mi asesora: Dra. Martha Pedraza Santos, por todo el apoyo para poder realizar mi maestría y el permitirme entrar a su grupo de trabajo.
- ◆ A mi asesora externa: Dra. María de las Nieves Rodríguez Mendoza, por todo el apoyo durante mi estancia de investigación y en la conformación de mi trabajo, por los excelentes consejos académicos y en mi formación profesional y personal.
- ◆ Al resto de mi consejo académico:
- ◆ Dr. José López Medina, gracias Dr., por participar en mi comité académico y el todo el apoyo brindado en mi tesis, por siempre darme ánimos de seguir adelante.
- ◆ Dr. Nicolás Gutiérrez Rangel, gracias por sus atinadas correcciones en mi trabajo de tesis.
- ◆ M.C. David Jaén, gracias por permitirme trabajar en su laboratorio durante la estancia de investigación y por todo el apoyo brindado en la conformación de mi trabajo.
- Al Dr. Alejandro Martínez Palacios, por siempre darme un buen consejo para seguir adelante y ayudarme a valorar que aún hay mucho que aportar en mi profesión.
- A la familia Castro Banderas, por todo el apoyo durante la etapa inicial de mi maestría con el experimento en campo, por los buenos consejos y amistad: al Señor Adolfo Castro, Señora Guadalupe Banderas, Oscar Adolfo Castro Banderas, Cinthia Castro Banderas y Christian Castro Banderas.

Dedicatoria

♥ *A mis padres.*

María de los Ángeles Valencia Rangel y José Hernández Carrillo, gracias por todo su cariño y amor, su comprensión y por siempre, siempre estar conmigo, Dios no me pudo haber dado unos mejores papás.

♥ *A mis hermanos*

José Ramón Hernández Valencia, Antonio Valentín Hernández y Ángel Daniel Hernández Valencia, gracias hermanos por todo cariño.

♥ *A mis amigos*

Ing. Angélica Acosta Alcaraz, Lic. Lizeth Esperanza García Flores, Ing. Oscar Adolfo Castro Banderas, Ing. Jesús Campoverde Toral y Lic. Martha Eugenia Aguilar por estar en las buenas y en las malas.

♥ *A mis amigos y compañeros de maestría*

M.C. Carlos Alberto Garibay Infante, M.C. Isaac Alejandro Salmerón Santiago, M.C. Yolanda Hernández, M.C. Ana Karen Escalera Ordaz, M.C. Fátima López y M.C. Cristina Alonso, gracias chicos, tal vez al iniciar esta aventura no estaban en mi camino, pero creo que Dios no se equivoca y por algo los puso en mi vida, la maestría sin ustedes no hubiera sido lo mismo.

CONTENIDO

| | Página |
|--|---------------|
| AGRADECIMIENTOS..... | i |
| DEDICATORIA..... | ii |
| ÍNDICE DE CUADROS..... | I |
| ÍNDICE DE FIGURAS..... | III |
| RESUMEN..... | V |
| ABSTRACT..... | VI |
| I.INTRODUCCIÓN GENERAL..... | 1 |
| 1.1. Objetivo general..... | 3 |
| 1.2. Objetivos específicos..... | 3 |
| 1.3. Hipótesis general..... | 3 |
| 1.4. Hipótesis específicas..... | 3 |
| CAPÍTULO I. REVISIÓN DE LITERATURA..... | 4 |
| 1.1. El cultivo de la jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.)..... | 4 |
| 1.1.1. Importancia cultural y económica de la jamaica..... | 4 |
| 1.1.2. Origen y clasificación taxonómica..... | 4 |
| 1.1.3. Características botánicas..... | 5 |
| 1.1.4. Importancia nutracéutica y funcional de <i>Hibiscus</i> <i>sabdariffa</i> L..... | 6 |
| 1.1.5. Requerimientos edafoclimáticos..... | 6 |
| 1.2. Estrés abiótico en las plantas..... | 7 |
| 1.2.1. Factores de estrés en las plantas..... | 7 |
| 1.2.2. Efectos del estrés bioquímico por iones en las plantas.. | 8 |
| 1.2.3. El hierro, cobre y zinc como activadores del estrés oxidativo..... | 8 |
| 1.2.4. Mecanismos de defensa al estrés en las plantas..... | 10 |
| 1.2.5. Especies reactivas de oxígeno (ROS) y el estrés oxidativo..... | 11 |
| 1.3. Generalidades de los compuestos fenólicos..... | 12 |
| 1.3.1. Estructuras de los flavonoides..... | 12 |
| 1.3.2. Características de las antocianinas e importancia..... | 13 |

| | | |
|---|--|----|
| 1.3.3. | Cianidina-3-sambubiosido y delphinidina-3-sambubiosido antocianinas de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. | 14 |
| 1.3.4. | Análisis y extracción de antocianinas..... | 14 |
| VI. | Literatura citada..... | 15 |
| CAPÍTULO II. DESARROLLO DE PLÁNTULAS DE JAMAICA (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.) INDUCIDAS A ESTRÉS OXIDATIVO POR IONES METÁLICOS | | 22 |
| | Resumen..... | 22 |
| I | Introducción..... | 23 |
| II | Materiales y métodos..... | 26 |
| | 2.1. Obtención de material vegetal..... | 26 |
| | 2.2. Preparación del experimento..... | 26 |
| | 2.3. Manejo del experimento..... | 27 |
| | 2.4. Tratamientos evaluados..... | 27 |
| | 2.5. Análisis de crecimiento vegetal..... | 28 |
| | 2.6. Índices de crecimiento calculados..... | 29 |
| | 2.7. Actividad antioxidante..... | 29 |
| | 2.8. Contenido nutrimental..... | 30 |
| | 2.9. Análisis estadístico..... | 30 |
| III | Resultados y discusión..... | 31 |
| | 3.1. Condiciones de humedad y temperatura..... | 31 |
| | 3.2. Análisis de crecimiento vegetal..... | 31 |
| | 3.3. Efectos en los índices de crecimiento..... | 33 |
| | 3.4. Razón de área foliar (RAF)..... | 33 |
| | 3.5. Razón de peso foliar (RPF) | 36 |
| | 3.6. Área foliar específica (AFE)..... | 38 |
| | 3.7. Tasa de asimilación neta (TAN) | 40 |
| | 3.8. Tasa absoluta de crecimiento (TAC) | 42 |
| | 3.9. Actividad antioxidante por fecha de muestreo..... | 44 |
| | 3.9.1. Capacidad antioxidante por efecto de los tratamientos... 45 | |
| | 3.10. Análisis nutrimental. | 48 |
| IV. | Conclusión..... | 50 |
| V. | Literatura citada..... | 51 |
| CAPITULO III. DESARROLLO Y PRODUCCIÓN DE JAMAICA (<i>Hibiscus</i> | | |

| | |
|--|----|
| <i>sabdariffa</i> L.) SOMETIDA A ESTRÉS CON IONES METÁLICOS DURANTE SU ETAPA DE PLÁNTULA..... | 57 |
| Resumen..... | 57 |
| I Introducción..... | 58 |
| II Materiales y métodos..... | 60 |
| 2.1. Obtención de material vegetal..... | 60 |
| 2.2. Establecimiento del experimento..... | 61 |
| 2.3. Manejo del experimento..... | 61 |
| 2.4. Tratamientos evaluados..... | 63 |
| 2.5. Variables evaluadas..... | 63 |
| 2.6. Análisis estadístico..... | 64 |
| III Resultados y discusión..... | 65 |
| 3.1. Desarrollo del cáliz..... | 65 |
| 3.2. Variables relacionadas con el desarrollo vegetativo en el cv. Reyna Morada..... | 69 |
| 3.3. Variables relacionadas con el desarrollo vegetativo en el cv. Criolla..... | 70 |
| 3.4. Rendimiento por planta..... | 72 |
| 3.5. Contenido nutrimental en follaje..... | 74 |
| IV. Conclusiones..... | 77 |
| V. Literatura citada..... | 78 |
| CAPÍTULO IV. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE CÁLICES DE JAMAICA (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.)..... | 82 |
| Resumen..... | 82 |
| I. Introducción..... | 83 |
| II. Materiales y métodos..... | 86 |
| 2.1. Obtención de material vegetal..... | 86 |
| 2.2. Preparación del experimento..... | 86 |
| 2.3. Manejo del experimento..... | 87 |
| 2.4. Tratamientos evaluados..... | 88 |
| 2.5. Variables evaluadas..... | 88 |
| 2.5.1. Preparación de los extractos acuosos..... | 88 |
| 2.5.2. pH..... | 89 |

| | | |
|-------|--|-----|
| | 2.5.3. Acidez titulable..... | 89 |
| | 2.5.4. Sólidos solubles totales (° Brix) | 89 |
| | 2.5.5. Ácido ascórbico..... | 90 |
| | 2.5.6. Antocianinas..... | 90 |
| | 2.5.7. Capacidad antioxidante..... | 91 |
| | 2.6. Análisis nutrimental..... | 91 |
| | 2.7. Análisis de datos..... | 91 |
| III | Resultados y discusión..... | 92 |
| | 3.1. Variables fisicoquímicas..... | 92 |
| | 3.2. Contenido de Antocianinas..... | 94 |
| | 3.3. Capacidad antioxidante..... | 96 |
| | 3.4. Contenido nutrimental..... | 97 |
| IV | Conclusiones..... | 100 |
| V. | Literatura citada..... | 101 |
| VI. | Conclusiones generales..... | 106 |
| VII. | Apéndice A..... | 107 |
| VIII. | Apéndice B..... | 112 |

ÍNDICE DE CUADROS

| Cuadro | | Página |
|---------------------|---|--------|
| Capítulo II | | |
| 1 | Tratamientos utilizados en plántulas de jamaica de los cultivares Reyna Morada y Criolla. | 28 |
| 2 | Ecuaciones para el cálculo de los índices de crecimiento..... | 29 |
| 3 | Efecto de los tratamientos evaluados, sobre las variables de crecimiento vegetal medidas directamente en plántulas de jamaica cv. Reyna Morada, 46 DDS. | 32 |
| 4 | Efecto de los tratamientos evaluados, sobre las variables de crecimiento vegetal medidas directamente en plántulas de jamaica cv. Criolla 46 DDS. | 33 |
| 5 | Efecto de los tratamientos en la razón de área foliar (RAF), en plántulas de jamaica de los cv. Reyna Morada y Criolla..... | 34 |
| 6 | Cuadro de separación de medias de Tukey para RPF promedio en plántulas de jamaica, cv. Reyna Morada y Criolla asperjadas con iones metálicos Cu, Zn y Fe. | 36 |
| 7 | Cuadro de separación de medias de Tukey para la AEF para plántulas de jamaica, cv. Reyna Morada y Criolla asperjadas con iones Cu, Zn y Fe. | 39 |
| 8 | Cuadro de separación de medias de Tukey para la capacidad antioxidante en plántulas de jamaica, cv. Reyna Morada y Criolla asperjadas con iones Cu, Zn y Fe, en cuatro fechas de muestreo. | 45 |
| 9 | Efecto de tres tratamientos inductores de estrés (Cu, Zn y Fe) en las concentraciones de ocho nutrimentos determinados en hojas de plántulas de jamaica cv. Reyna Morada a los 47 DDS..... | 48 |
| 10 | Efecto de tres tratamientos inductores de estrés (Cu, Zn y Fe) en las concentraciones de ocho nutrimentos determinados en hojas de plántulas de jamaica cv. Reyna Morada a los 47 DDS..... | 49 |
| Capítulo III | | |
| 1 | Tratamientos utilizados en plántulas de jamaica de los cultivares Reyna Morada y Criolla. | 63 |
| 2 | Efecto de la aspersión de tres iones metálicos, aplicados en la etapa de plántula en jamaica ‘Reyna Morada’ cultivada en invernadero, sobre el desarrollo de los cálices, 103 DDS..... | 65 |
| 3 | Efecto de la aspersión de tres iones metálicos, aplicados en la etapa de plántula en jamaica ‘Criolla’ cultivada en invernadero, sobre el desarrollo de los cálices, 103 días después de siembra..... | 66 |
| 4 | Peso fresco (g) de cálices de jamaica ‘Reyna Morada’ procedentes de plantas asperjadas con iones metálicos durante su etapa de plántula, en ocho etapas de desarrollo (de E1 a E8)..... | 67 |
| 5 | Peso fresco (g) de cálices de jamaica ‘Criolla’, procedentes de plantas asperjadas con iones metálicos durante su etapa de plántula, en ocho etapas de desarrollo (de E1 a E8)..... | 67 |
| 6 | Peso seco (g) de cálices de jamaica ‘Reyna Morada’ procedentes de plantas asperjadas con iones metálicos durante su etapa de plántula, en | |

| | | |
|----|--|-----|
| | ocho etapas de desarrollo (de E1 a E8). Tratamiento..... | 68 |
| 7 | Peso seco (g) de cálices de jamaica ‘Criolla’ procedentes de plantas asperjadas con iones metálicos durante su etapa de plántula, en ocho etapas de desarrollo (de E1 a E8)..... | 68 |
| 8 | Efecto de la aspersión de tres iones metálicos, aplicados en la etapa de plántula en jamaica ‘Reyna Morada’ cultivada en invernadero, sobre variables asociadas con el desarrollo vegetativo. | 69 |
| 9 | Efecto de la aspersión de tres iones metálicos, aplicados en la etapa de plántula en jamaica ‘Criolla’ cultivada en invernadero; sobre variables asociadas con el desarrollo vegetativo. | 71 |
| 10 | Rendimiento por planta de cálices de jamaica cv. Reyna Morada, en respuesta a las aspersiones de Cu, Zn y Fe aplicadas en etapa de plántula. | 72 |
| 11 | Concentración nutrimental en hojas de jamaica cv. Reyna Morada, determinada 103 días después de siembra, afectada por aspersiones foliares de Cu ² , Zn ² y Fe realizadas durante la etapa de plántula. | 75 |
| 12 | Concentración nutrimental en hojas de jamaica cv. Criolla, determinada 103 días después de siembra, afectada por aspersiones foliares de Cu ² , Zn ² y Fe realizadas durante la etapa de plántula. | 76 |
| | Capítulo IV | |
| 1 | Tratamientos utilizados en plántulas de jamaica de los cultivares Reyna Morada y Criolla. | 88 |
| 2 | Efecto de la aplicación foliar de Cu, Zn, y Fe en plántula de Hibiscus sabdariffa L. sobre la acidez titulable, pH, ácido ascórbico y sólidos solubles en extractos acuosos de cálices cv. Reyna morada. | 92 |
| 3 | Concentración de las antocianinas delfinidina-3-sambubiosido (delfinidina) y cianidina-3-sambubiosido (cianidina) aisladas de extracto de cálices de Jamaica del cv. Reyna. | 95 |
| 4 | Porcentajes de inhibición del radical DPPH de cálices de jamaica (Hibiscus sabdariffa L) de los cv. Reyna y Criolla, en respuesta a la aspersión de iones metálicos. | 97 |
| 5 | Efecto de la aplicación foliar de Cu, Zn, y Fe en plántula de Hibiscus sabdariffa L. sobre el contenido nutrimental en cálices del cv. Reyna morada, cosechados 103 DDS. | 98 |
| 6 | Efecto de la aplicación foliar de Cu, Zn, y Fe en plántula de Hibiscus sabdariffa L. sobre el contenido nutrimental en cálices del cv. Criolla, cosechados 103 DDS. | 99 |
| | VII. Apéndice B | |
| 1 | Curva de calibración de Trólox, para determinación de capacidad antioxidante mediante el método de DPPH..... | 112 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| Figura | Capítulo I | Página |
|--------------|---|--------|
| 1 | A) Estructura de los flavonoides, flavan (C6-C3-C6) y B) El estado de oxidación de subgrupos de flavonoides. Modificado de Martens et al. (2010)..... | 13 |
| Capítulo II | | |
| 1 | Comportamiento de la RAF a través del tiempo, con relación a la aplicación foliar de tres iones metálicos en plantas de jamaica ‘Reyna Morada’ (A) y ‘Criolla’ (B). | 35 |
| 2 | Dinámica de la razón de peso foliar (RPF) en jamaica en función de las aspersiones de Cu, Zn y Fe. A) cv. Reyna Morada y B) cv. Criolla. | 38 |
| 3 | Tendencia del área foliar específica (AFE), promedio para plántulas de jamaica, en la evaluación de los iones metálicos Cu, Zn y Fe. A) Reyna Morada y B) Criolla. | 40 |
| 4 | Tendencia de la tasa de asimilación neta (TAN) para plántulas de jamaica, en la evaluación de los iones asperjados Cu, Zn y Fe. A) Reyna Morada y B) Criolla. | 42 |
| 5 | Tendencia de la tasa absoluta de crecimiento (TAC) para plántulas de jamaica cv. Reyna Morada, en la evaluación de los iones asperjados (Cu, Zn y Fe). | 43 |
| 6 | Tendencia de la tasa absoluta de crecimiento (TAC) para plántulas de jamaica cv. Reyna Morada, en la evaluación de los iones asperjados (Cu, Zn y Fe). | 44 |
| 7 | Porcentaje de capacidad antioxidante como efecto de las aspersiones de tres iones (Cu, Zn y FE) en hojas de plántulas de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L., cv. Reyna Morada. | 45 |
| 8 | Porcentaje de capacidad antioxidante como efecto de las aspersiones de tres iones (Cu, Zn y FE) en hojas de plántulas de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L., cv. Criolla. | 46 |
| Capítulo III | | |
| 1 | Cálices de jamaica ‘Reyna Morada’ (A) y ‘Criolla’ (B) en ocho etapas de desarrollo. De izquierda a derecha, en ambos cultivares, la primera corresponde a la E1 y la última a la E8. | 62 |
| 2 | Desarrollo de plantas de jamaica ‘Reyna Morada’, 103 días después de siembra, que fueron asperjadas durante su etapa de plántulas con Cu, Zn y Fe. | 70 |
| 3 | Desarrollo de plantas de jamaica cv. Criolla, 103 días después de siembra, que fueron asperjadas durante su etapa de plántulas con Cu, Zn y Fe. | 72 |
| 4 | Rendimiento por planta de cálices de jamaica cv. Criolla, en respuesta a las aspersiones de Cu, Zn y Fe aplicadas en la etapa de plántula. | 74 |

Capítulo VI

| | | |
|---------------|--|-----|
| 1 | Efecto de la aplicación foliar de Cu, Zn, y Fe en plántula de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. sobre la acidez titulable, pH, ácido ascórbico y sólidos solubles en extractos acuosos de cálices cv. Criolla. | 94 |
| 2 | Efecto de la aplicación foliar de Cu, Zn, y Fe en plántula de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. sobre la concentración de las antocianinas delfinidina y cianidina en el cv. Criolla, 103 DDS. | 96 |
| VII. Apéndice | | |
| A1 | Acomodo de hojas vegetales sobre la hoja de papel con la medida de referencia para calibrar el software. | 107 |
| A2 | Ventana con herramientas de trabajo del software ImageJ. | 108 |
| A3 | Configurar la selección de la línea (1 cm) de referencia (A) con la opción "STRAIGHT" (B), después la opción en "ANALYZE" (C) seleccionar "SET SCALE" (D) y en la opción "UNIT OF LENGTH" se indica cm (E). | 108 |
| A4 | Conversión de color a negro para análisis de área foliar utilizando la opción "PROCESS", después "BINARY" y al final se selecciona "MAKE BINARY". | 109 |
| A5 | Selección de cada una de las hojas para su análisis foliar empleando la opción "WAND". | 110 |
| A6 | Solicitud del valor de las medias del área foliar de las hojas analizadas a través de la opción "MEASURE". | 110 |

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo general, evaluar la aplicación foliar de Cu, Fe y Zn sobre el contenido nutrimental de *Hibiscus sabdariffa* L en diferentes etapas fenológicas y la producción y calidad nutracéutica de los cálices. Para cumplir el objetivo se llevó a cabo dos experimentos en condiciones de invernadero empleando los cultivares de jamaica Reyna Morada y Criolla, con un diseño completamente al azar. Las plántulas de ambos cultivares fueron inducidas al estrés mediante aspersiones foliares de los iones Cu (0.15 %), Zn (0.15 %) y Fe (0.075 %) a los 18, 25, 32 y 39 DDS (días después de la siembra). En la primera etapa, se evaluó el desarrollo de las plántulas a los 26, 32, 39 y 46 DDS, empleando los índices de crecimiento RAF (razón de área foliar), RPF (razón de peso foliar), AFE (área foliar específica), TAN (tasa de asimilación neta) y TAC (tasa absoluta de crecimiento), así como la capacidad antioxidante y contenido nutrimental en hojas. En la segunda etapa, las plántulas asperjadas se trasplantaron a contenedores, con una mezcla de fibra de coco lavada, perlita, vermicomposta y tierra de monte, hasta la producción de los cálices. A la cosecha las variables evaluadas en la planta fueron: diámetro y altura de tallo, área foliar, número de hojas, materia seca de tallo y hojas. En los cálices, número, diámetro, longitud, materia fresca y seca, así como el contenido nutrimental. Los resultados en plántulas indican una respuesta favorable en el cv. Reyna Morada, el Fe elevó el índice de RAF en 17.71 % y AFE en 22.72 % en comparación al control. En RPF, el control fue estadísticamente diferente a los tratamientos de los iones. La TAC se incrementó 6.13 % por el Cu en contraste al control, la actividad antioxidante se redujo en ambos cultivares con la aplicación de Cu. A la cosecha se observó que la aplicación foliar de los nutrimentos modificaron la respuesta del cv. Criolla. El Zn incrementó 25.85 % la altura de planta, el Fe promovió el desarrollo del área foliar y peso seco de hojas en 83.07 % y 94.66 % respectivamente en relación al tratamiento de Cu. En el desarrollo de cáliz, el diámetro aumentó por efecto del Fe en 14.62 % y el largo así como el número de cálices por el Zn en 3.69 % y 98.45 %, respectivamente. El rendimiento de cálices se incrementó en 96.69 % por el Zn y 54.7 % por el Fe. Se favoreció la acumulación de N, K, Mg y Zn en el cv. Reyna Morada con la aplicación de Fe. En las propiedades nutracéuticas de los extractos acuosos de cálices se encontró que el cv. Reyna no modificó ninguna de las variables estudiadas con la aplicación de los iones, excepto en el contenido nutrimental, mientras que el en el cv., Criolla, el pH se vio modificado por efecto de los tratamientos de Cu y Zn al ir en tendencia a la alcalinidad con un incremento de 5.04 % y 3.85 % respectivamente, el ácido ascórbico se incrementó 93.10 % en el tratamiento de Fe y los grados Brix se redujeron 12.5 % por efecto de los tratamientos de Cu y Zn, con respecto al control. El contenido de antocianinas se incrementó, delfinidina en 27.34 % y cianidina en 23.52 % por efecto del Cu. Los resultados muestran que la aspersión de los iones en etapa de plántula modifican el desarrollo de las plántulas, el contenido de nutrientes, antocianinas y algunas variables fisicoquímicas. La respuesta en los dos cultivares no es similar.

Palabras clave: flor de jamaica, DPPH, antocianinas, contenido nutrimental.

ABSTRACT

The present study was overall goal, evaluate foliar application of Cu, Fe and Zn on the nutritional content of *Hibiscus sabdariffa* L., in different phenological stages and nutraceutical production and quality of the chalice. To meet the objective was conducted two experiments under greenhouse conditions using cultivars Jamaica Reyna and Creole Cottage with a completely randomized design. Seedlings of both cultivars were induced stress by foliar sprays ions Cu (0.15%), Zn (0.15%) and Fe (0.075%) at 18, 25, 32 and 39 DDS (days after sowing). In the first stage, the development of seedlings at 26, 32, 39 and 46 DDS was evaluated using growth rates RAF (leaf area ratio), FLR (leaf weight ratio), AFE (specific leaf area) TAN (net assimilation rate) and CT (absolute growth rate) and the antioxidant capacity and nutrient content in leaves. In the second stage, sprayed seedlings were transplanted into containers, with a mixture washed coir, perlite, vermicompost and forest soil to the production of the chalice. At harvest the plant variables evaluated were: stem diameter and height, leaf area, number of leaves, dry matter of stem and leaves. In the chalice, number, diameter, length, fresh and dry matter as well as the nutritional content. The results indicate a favorable response seedlings cv. Reyna Residence, Fe index rose 17.71% RAF and AFE in 22.72% compared to control. In RPF, control was statistically different treatments ions. The TAC was increased by 6.13% Cu in contrast to the control, the antioxidant activity decreased in both cultivars with application of Cu. At harvest was observed that foliar application of nutrients modified response cv. Criolla. 25.85% Zn increased plant height, Fe promoted the development of leaf area and dry weight of leaves in 83.07% and 94.66% respectively in relation to the treatment of Cu. In developing cup, the diameter increased due to 14.62% Fe and length and the number of the calyx-3.69% Zn and 98.45% respectively. Chalice performance increased by 96.69% Zn and 54.7% for Fe. The accumulation of N, K, Mg and Zn were favored in cv. Reyna Residence applying Fe. In the nutraceutical properties of aqueous extracts chalice found that cv. Reyna did not change any of the variables studied with the application of ions, except in the nutrient content, while in cv., Creole, the pH was modified by treatment effect of Cu and Zn to go tendency to an increase alkalinity of 5.04% and 3.85% respectively, 93.10% ascorbic acid was increased by treatment of Fe and 12.5% Brix were reduced by treatment effect of Cu and Zn with respect to control. The anthocyanin content was increased to 27.34% delphinidin and cyanidin in 23.52% of Cu effect. The results show that the spray of ions in the seedling stage modified seedling development, nutrient content, and some physicochemical variables anthocyanins. The answer in both cultivars is not similar.

Palabras clave: Hibiscus, DPPH, anthocyanins, nutrient content.

I.INTRODUCCIÓN GENERAL

La jamaica, *Hibiscus sabdariffa* L., pertenece a la familia malvácea. Su origen es África tropical y su cultivo se produce en México, Centroamérica, Sudamérica y el Sudeste Asiático (Peng *et al.*, 2011). En México, la importancia de la jamaica se debe a los usos potenciales que se le dan, ya que de los cálices se obtienen concentrados, jugos, jaleas, mermeladas, helados, licores, harinas, entre otros, además de tener propiedades medicinales, de cosmetología y productos farmacéuticos (SAGARPA-ASERCA, 1999).

La composición química y la cantidad de metabolitos secundarios de las plantas dependen en gran medida de factores ambientales, cuando son sometidas a condiciones adversas, se genera un efecto que desarrolla una respuesta en procesos fisiológicos, bioquímicos y metabólicos (Benavides *et al.*, 2001). El cultivo de jamaica contiene alrededor de 18 compuestos fenólicos, entre los que destacan ácidos como el L-ascórbico, araquídico, cítrico, esteárico y málico; además de pectinas, fitoesteroles y polifenoles (Sayago *et al.*, 2007). La alta concentración de metabolitos secundarios en la flor de jamaica se asocia a efectos terapéuticos positivos sobre el perfil lipídico, hipertensión y aterosclerosis, de aquí radica la importancia que se le ha dado en los últimos tiempos (Guardiola y Mach, 2014). La inducción controlada de estrés a través de compuestos señalizadores o prooxidantes es una herramienta conocida, cada vez más utilizada para explorar las respuestas fisiológicas y metabólicas adaptativas de las plantas (Kessmann *et al.*, 1994). Esto da la posibilidad de manipular la concentración o cantidad relativa de los metabolitos a través de técnicas de manejo agronómico. Por ello se considera factible su aplicación con el propósito de promover y/o incrementar la biosíntesis de compuestos en las plantas (Gantet y Memelink, 2002). En el caso de iones libres de metales, el factor inductor de la respuesta puede

ocasionar la acumulación de radicales libres que lleva a cambios en el metabolismo redox de las plantas (Stohs y Bagchi, 1995).

Este mecanismo de toxicidad de los metales pueden originar, a través de una cascada de señales, la modificación de la expresión genética y la obtención de fenotipos con una composición química diferente (Benavides *et al.*, 2002) y ya ha sido descrito para el Cu (Mengel y Kirkby, 2001) y el Fe (Xing *et al.*, 2010). Dentro de los compuestos que se pueden formar en la planta a efecto del estrés oxidativo se encuentran los antioxidantes. Los antioxidantes son sustancias sintéticas o naturales que se añaden a productos para retardar el deterioro causado por acción de los radicales libres (Huang *et al.*, 2005).

Por lo antes mencionado, en el presente trabajo se evaluó los efectos de la aplicación foliar de los iones Cu, Zn y Fe, sobre el desarrollo de plántulas, planta, producción y calidad de cálices.

1.1. Objetivo general

- Evaluar la aplicación foliar de cobre, zinc y hierro sobre el contenido nutrimental de *Hibiscus sabdariffa* L., en diferentes etapas fenológicas y la producción y calidad nutracéutica de los cálices.

1.2. Objetivos específicos

- Cuantificar la calidad nutrimental de plántulas de jamaica en función de las aplicaciones foliares de cobre, zinc y hierro.
- Medir la respuesta fisiológica de las plantas de jamaica asperjadas con zinc, hierro y cobre en plántulas.
- Determinar el rendimiento y la concentración de antocianinas y concentración nutrimental de los cálices como respuesta a la aplicación foliar a nivel de plántula de cobre, zinc y hierro.

1.3. Hipótesis general

- La aplicación vía foliar de cobre, zinc y hierro en plantas de jamaica, incrementa el desarrollo de las plantas y estimula la acumulación de antocianinas al inducir un estrés oxidativo.

1.4. Hipótesis específicas

- La absorción foliar de cobre, zinc y hierro incrementan la calidad nutrimental de las plántulas de Jamaica lo que da una alternativa para consumo como quelite.
- La aplicación foliar de los tres metales en plántula producirá respuestas diferentes en el desarrollo de las plantas.
- El estrés oxidativo inducido por el cobre, zinc y hierro promueve la inducción y acumulación de antocianinas en los cálices de jamaica.

CAPÍTULO I. REVISIÓN DE LITERATURA

1.1. El cultivo de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.)

De la planta (*Hibiscus sabdariffa* L.) (*Malvaceae*) se obtiene una bebida sin alcohol, generalmente llamado té rojo (Prenesti *et al.*, 2007). La jamaica es originaria de África y también se le conoce como Rosa de Jamaica, Rosa de Abisinia o Karkade.

1.1.1. Importancia cultural y económica de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.)

Esta planta es ampliamente cultivada en África, el sur de China, América Central y se ha utilizado en alimentos y medicinas desde hace un largo tiempo (Sayago *et al.*, 2007). Los Estados Unidos de Norteamérica y Alemania son los principales mercados consumidores de los cálices secos de jamaica (Plotto *et al.*, 2004). El cáliz de jamaica de mejor calidad, proviene de Tailandia y de Sudan; sin embargo, el principal proveedor es China aun que el producto es menos confiable y con un menor control de calidad (Mohamed *et al.*, 2012). México es el séptimo país productor de Jamaica a nivel mundial y este cultivo es clasificado dentro del país como un cultivo no tradicional, se encuentra dentro del sector de especies y plantas medicinales (Gordillo, 2012).

Entre los principales estados productores de flor de jamaica de la República Mexicana destacan: Guerrero, Oaxaca, Michoacán, Nayarit, Puebla entre otros. El estado de Michoacán como el tercer productor, se encuentra representado por los municipios de La Huacana, Tzitzio, Churumuco, Aquila, Tumbiscatio (SAGARPA, 2011).

1.1.2. Origen y clasificación taxonómica

La jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L), cuyo nombre deriva del griego “*hibiskos*” que significa malvavisco común, se considera representante de la familia malvácea (Ortiz, 2009).

Su clasificación taxonómica de acuerdo con Solórzano y Macario (2002) y USDA (2006).

Reino: *Plantae*

Sub-reino: *Tracheobionta*

Superdivisión: *Spermatophyta*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Subclase: *Dilleniidae*

Orden: *Malvales*

Familia: *Malvaceae*

Género: *Hibiscus*

Especie: *sabdariffa* L.

1.1.3. Características botánicas

La jamaica es una planta arbustiva semileñosa anual o bianual, puede alcanzar una altura de uno a tres metros. Presenta abundantes tallos, ramificados, de corteza roja, con hojas alternas de bordes irregulares aserrados (Solórzano y Macario 2002, USDA 2006).

Las flores son bisexuales, solitarias y sésiles en las axilas de las hojas, sus pétalos según la variedad son amarillo o rosa pálido con centro de color vino intenso y se desprenden en uno o dos días; la flor tiene numerosos estambres y un ovario superior de cinco carpelos cerrados, al desprenderse los pétalos se desarrolla una fructificación en forma de copa (Solórzano y Macario, 2002).

El fruto o infrutescencia consiste en un ápice cónico o cáliz, de color rojo brillante a oscuro, el cual está conformado por cinco a siete sépalos ovalados que alcanzan de dos a tres centímetros de largo. El cáliz carnoso envuelve una cápsula de forma ovoide, fibrosa con vellosidades urticantes y en su interior puede contener hasta 20 semillas, las cuales son

reniformes con un color marrón oscuro a negro (Solórzano y Macario 2002, López, 2004).

Los cálices carnosos comestibles se recogen después de 15- 20 días de floración. Una sola planta produce alrededor de 1.5 kg de cálices, aproximadamente 8 ton ha⁻¹ y el rendimiento de hoja puede ser aproximadamente de 10 ton ha⁻¹ (Plotto *et al.*, 2004).

1.1.4. Importancia nutracéutica y funcional de *Hibiscus sabdariffa* L.

La composición fitoquímica de *Hibiscus sabdariffa* L. se asocia a efectos antioxidantes, hipotensores y antiteroscleróticos debido a un alto contenido en polifenoles (Guardiola y Mach, 2014). En los cálices carnosos y de un color rojo intenso en estado fresco se presentan altas concentraciones de ácido L-ascórbico, ácido araquídico, ácido cítrico, ácido esteárico y ácido málico, además de pectinas, fitoesteroles (Sayago *et al.*, 2007) y al menos 18 compuestos fenólicos diferentes (Peng *et al.*, 2011).

1.1.5. Requerimientos edafoclimáticos

La jamaica es un cultivo tropical y subtropical normalmente limitado a latitudes entre 35° L N y 25° L S., a una altura de hasta 990 msnm, es una planta muy sensible a las heladas, su intervalo de temperatura correspondiente al crecimiento es de 10 – 36 °C, con un óptimo de entre 16 – 32 °C. Su requerimiento hídrico anual de precipitación en etapa de crecimiento es de 500 – 3500 mm, con un óptimo entre 1000 – 3000 mm. La jamaica es una planta de buen desarrollo a plena luz del sol y no es tolerante a la sombra, con un fotoperiodo de día corto, ya que requiere de 12 a 12.5 horas de luz para la floración y producción de frutos (FAO, 2007).

En función a las condiciones edáficas la jamaica requiere de un suelo permeable, de textura franco arenoso, sin embargo se adapta a una variedad de suelos. No tolera las inundaciones o el agua estancada. La jamaica reporta un intervalo de pH del suelo para su crecimiento de

4.5 a 8.5 con el óptimo entre 5.5 a 7.5 y bajo contenido de sales de $<4 \text{ dS m}^{-1}$ (FAO, 2007).

1.2. Estrés abiótico en las plantas

1.2.1. Factores de estrés en las plantas

Las condiciones externas que afectan las plantas pueden ser bióticas o abióticas, ya que provocan un exceso o déficit en el ambiente físico o químico, entre estas condiciones se encuentra un amplio rango de estrés por la luz, bajas temperaturas, sequía, salinidad, ozono, compuestos xenobióticos e infecciones por patógenos, potencialmente perjudiciales para las plantas (Breusegem *et al.*, 2001). El estrés se identifica como una afección que atenta a las condiciones óptimas para la vida. Esas condiciones producen cambios en todos los niveles funcionales de los organismos. Desde un punto de vista biológico, el estrés tiene un influencia amplia, refiriéndose a los cambios que alteran el estado fisiológico de las plantas (Larcher, 1995).

Muchos factores ambientales pueden inducir estrés oxidativo en las células por generación de O_2^- . Por lo tanto, la producción de antioxidantes constituye una importante respuesta de adaptación a soportar condiciones adversas, por lo que se considera que una alta capacidad antioxidante en las células se relaciona con una mayor tolerancia frente a diferentes condiciones de estrés (Thomas *et al.*, 1999).

En el caso de iones libres de metales como factor inductor de estrés se puede esperar como respuesta la acumulación de radicales libres (Pinto *et al.*, 2003).

1.2.2. Efectos del estrés bioquímico por iones en las plantas

Actualmente está muy documentado que los elementos tales como Cu, Mo, Ni, Cl, y Zn, entre otros, son esenciales en bajas concentraciones para el crecimiento vegetal. (Reeves y Baker, 2000). Sin embargo, más allá de ciertas concentraciones umbral, estos mismos elementos se vuelven tóxicos para la mayoría de las especies de plantas (Blaylock y Huang, 2000). La intoxicación en plantas con metales induce el estrés oxidativo ya que funciona como factor inductor en el mecanismo de generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), (Pinto *et al.*, 2003) esto debido a la alteración en la transferencia de electrones durante los procesos de fotosíntesis y respiración (Silveira *et al.*, 2005; Abdul *et al.*, 2009). Por ejemplo, los metales de transición (Fe^{3+} y Cu^{2+}) participan en el ciclo de Haber- Weiss y producen H_2O_2 (Winterbourn, 1982). Esto desencadena la degeneración de biomoléculas como los lípidos promoviendo su peroxidación, fragmentación de proteínas, oxidación de aminoácidos (Bartels y Sunkar, 2005), daños a la estructura de los ácidos nucleicos, clorofila e inactivación de las enzimas (Sairam y Tyagi, 2004; Gueta *et al.*, 1997).

1.2.3. El hierro, cobre y zinc como activadores del estrés oxidativo

El hierro es un oligoelemento esencial cuya importancia biológica surge de su participación en las funciones metabólicas vitales al ser un componente de la hemoglobina, la mioglobina y los citocromos (Sandberg, 2002). Mientras que el cobre y el zinc son micronutrientes esenciales para la actividad de muchas enzimas y parte de las moléculas que juegan un papel clave en el transporte de electrones en el aparato fotosintético (Raven *et al.*, 1999).

El Fe, Cu y Zn son metales esenciales que se suministran a las plantas en concentraciones menores de 10 ppm; sin embargo, en sobredosis se cree que puede inducir

un estrés oxidativo, por un aumento en la concentración en estado estacionario de las (ROS) dentro de los compartimentos subcelulares de la célula de la planta que se derivan del metabolismo de oxígeno (Sinha y Saxena, 2006).

El mecanismo de toxicidad de los metales en forma iónica fue descrito para el cobre (Mengel y Kirkby, 2001), el hierro (Xing *et al.*, 2010) y el zinc (Lasat *et al.*, 2000). Se ha reportado que el cobre produce estrés oxidativo, que inicia con la interrupción del paso de electrones en el fotosistema I, y provoca un daño irreversible en la célula (Ke, 2007 y Yruela 1996; De Vos *et al.*, 1989).

En una investigación realizada por Sinha y Saxena (2006), en la que indujeron estrés en *Bacopa monnieri* L. modificando la concentración de Fe en la solución nutritiva se observó que el estrés inducido por el hierro, promueve la peroxidación lipídica y el órgano más afectado fue la raíz. La enzima superóxido dismutasa aumentó en las plantas tratadas con el metal, mientras que la actividad de la peroxidasa aumentó en las raíces, pero no en hojas, la enzima ascorbato peroxidasa y el contenido de ácido ascórbico incrementaron su concentración en las plantas tratadas.

En *T. arvense* la toxicidad de Zn se relacionó con la escasa capacidad de esta especie para acumular Zn^{2+} en las vacuolas de las hojas (Lasat *et al.*, 2000). El Zn^{2+} en exceso en las plantas puede afectar profundamente los sistemas homeostáticos al interferir en la captación, transporte y la regulación de los iones esenciales (Wang *et al.*, 2009) y puede dar como resultado la interrupción de los procesos metabólicos como la fotosíntesis, por lo que se puede llegar a presentar una reducción del crecimiento (Sagardoy *et al.*, 2009).

Paradójicamente, estos metales trazas juegan un papel importante en el transporte de electrones, en la actividad fotosintética en los tilacoides y participan en las enzimas que

eliminan las ROS como la ascorbato peroxidasa (APX) (Fe^{3+}), superóxido Fe-dismutasa (SOD) y Cu- Zn- SOD. Además, son parte de los componentes esenciales de los fotosistemas (Fe^{3+}) o portadores de electrones móviles, tales como el hierro-citocromo C_6 y la plastocianina que contiene Cu (Pinto *et al.*, 2003). Por otra parte, el zinc juega un papel importante en el sistema de defensa de las células contra el estrés oxidativo, y por lo tanto es un agente de protección contra la oxidación de varios componentes vitales de la célula tales como la clorofila y lípidos de la membrana (Cakmak, 2000), pero es tóxico en altas concentraciones (Wang *et al.*, 2009).

Sinha y Saxena en 2006; sugieren que la ascorbato peroxidasa y el ácido ascórbico juegan un papel importante en la defensa antioxidante en hojas de la planta *Bacopa monnieri* L. ya que mostraron aumento coordinados en sus niveles al inducirse un estrés oxidativo con hierro.

1.2.4 Mecanismos de defensa al estrés en las plantas

El daño que sufre la planta por el estrés oxidativo va desde efectos múltiples como alta permeabilidad de la membrana celular lo que ocasiona la salida de potasio (De Vos *et al.*, 1989), inactivación y daños en proteínas y en casos extremos rupturas de la cadena de ADN (Halliwell, 1987). Al momento de percibir el estrés, la planta, detiene funciones fisiológicas básicas y reduce su vigor. El funcionamiento del sistema antioxidante es relevante debido a su naturaleza protectora, al controlar la proliferación de especies reactivas de oxígeno. Este sistema incluye compuestos enzimáticos, así como metabolitos no enzimáticos (Adbul *et al.*, 2009).

Se considera cuatro fases de la planta en respuesta al estrés, la primera es la fase de alarma donde detiene sus funciones. La segunda es la fase de resistencia donde la planta adapta su metabolismo celular, se activa la maquinaria para la reparación de las células

dañadas y expresión de las adaptaciones morfológicas adecuadas a las condiciones. La tercera es la fase de agotamiento, que comprende el periodo en que la planta sobrevive a las condiciones de estrés, pero al mantenerse por mucho tiempo, la capacidad de resistencia se agota y la planta vuelve a detener sus funciones. La cuarta y última fase es la de regeneración, que se da es cuando la situación de estrés desaparece, las funciones fisiológicas pueden regenerarse y se puede alcanzar un nuevo estado fisiológico óptimo para las condiciones presentes (Azcón y Talón, 2008).

1.2.5 Especies reactivas de oxígeno (ROS) y el estrés oxidativo

El metabolismo oxidativo, es un proceso biológico normal, y este es capaz de generar radicales libres oxigenados, altamente reactivos, llamados especies reactivas de oxígeno que incluyen el radical superóxido (O_2^-), el peróxido de hidrogeno (H_2O_2), el radical óxido nítrico ($NO\cdot$) y el oxígeno singulete (1O_2) (Murillo, 2002). Estas especies son subproductos del metabolismo oxidativo y son una amenaza constante para todos los organismos aeróbicos. Todas las ROS son extremadamente perjudiciales para los organismos a altas concentraciones ya que tienen la capacidad de oxidar proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, a menudo conducen a alteraciones en la estructura celular y mutagenesis (Halliwell y Gutteridge, 1999).

La producción de ROS constituye una amenaza grave para organismos fotosintéticos, ya que una fuente biológica común de O_2^- es la reducción de un solo electrón de oxígeno molecular por las cadenas transportadoras de electrones. Debido al intenso flujo de electrones y en condiciones de alta concentraciones de iones metálicos y oxígeno, las mitocondrias y cloroplastos son compartimentos altamente susceptibles a la lesión oxidativa (Pinto *et al.*, 2003).

1.3. Generalidades de los compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son compuestos biológicamente activos, cuyo papel está asociado a la prevención de varias enfermedades relacionadas a estrés oxidativo como cáncer, enfermedad cardiovascular (ECV) o neurodegenerativa (Scalbert *et al*, 2005 y Zhao, 2009). Estos compuestos son el producto del metabolismo secundario de las plantas, que desempeñan varias funciones de protección al ataque de herbívoros o patógenos y algunas veces como pigmentos atrayentes de polinizadores (Gordillo, 2012). Los compuestos fenólicos incluyen desde compuestos con un solo anillo fenólico en su estructura, como los ácidos fenólicos, hasta compuestos altamente polimerizados. También dichos compuestos pueden tener formas conjugadas (glucósidos) con uno o más residuos de azúcares y estos unidos a grupos hidroxilo o directamente al anillo fenólico (Scalbert *et al.*, 2005). Generalmente la estructura básica del esqueleto fenólico posee anillos aromáticos con uno o más sustituyentes hidroxilo y dobles enlaces conjugados que les confieren sus propiedades antioxidantes (Russell, 2011).

1.3.1. Estructuras de los flavonoides

Dentro de los compuestos fenólicos, los flavonoides son el grupo más extenso. Actualmente se conocen alrededor de 5000 flavonoides provenientes de frutas y verduras. Son sintetizados a partir de una molécula de fenilalanina y 3 de malonil-CoA por la ruta del sikimato. Su forma general posee 15 átomos de carbono que consta de dos anillos fenilo, unidos por un esqueleto de tres átomos de carbono, estructura C6-C3-C6 que en la mayoría de las veces forma un anillo heterocíclico (Harborne, 1993).

El grupo comprende antocianidinas, flavonoles, iso-flavonoles, flavonas, iso-flavonas, flavanes, flavanoles, auronas, benzo-furones y cumarinas (Figura 1).

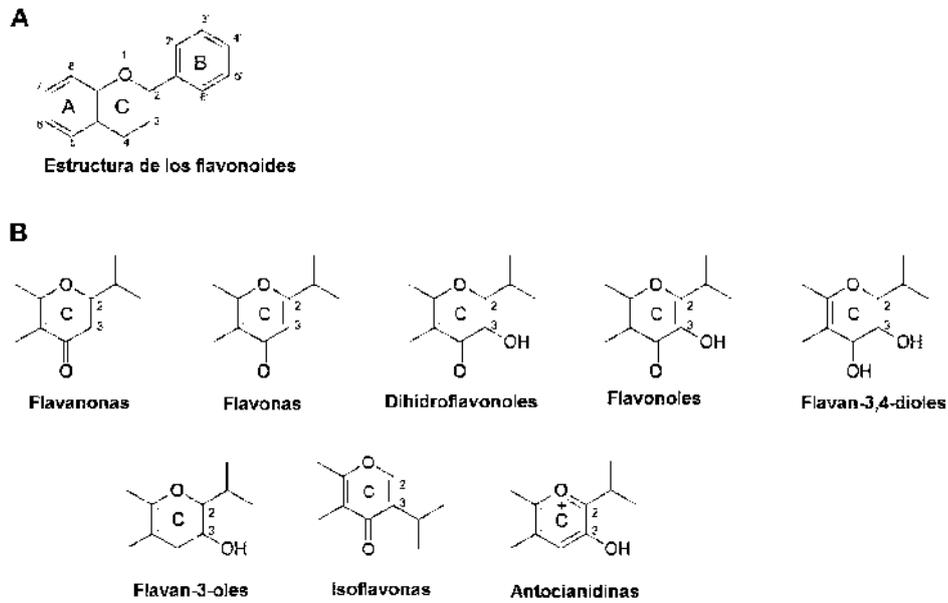


Figura 1. A) Estructura de los flavonoides, flavan (C6-C3-C6) y B) El estado de oxidación de subgrupos de flavonoides. Modificado de Martens *et al.* (2010).

1.3.2. Características de las antocianinas e importancia

Las antocianinas son pigmentos que están en las vacuolas de los tejidos epidérmicos de flores y frutos, que confieren una gama de colores: rojo, púrpura o azul. Su función en las plantas es de atraer a los insectos polinizadores. Además tienen una acción protectora, antioxidante y defensa de la planta (Chalker, 1999). Como miembro de los flavonoides posee un esqueleto C6-C3-C6. En la naturaleza, es difícil encontrarlas debido a su baja estabilidad (Prior y Wu, 2006). La estabilidad de las antocianinas aumenta según lo hace el número de metoxilos en el anillo B y disminuye con el número de hidroxilos (Brouillard, 2010). Las antocianinas se caracterizan por su alto poder reductor y su rápida biosíntesis en respuesta a bajas temperaturas, radiación ultravioleta o ataque de patógenos (Kon *et al.*, 2003).

1.3.3. Cianidina-3-sambubiosido y delphinidina-3-sambubiosido antocianinas de *Hibiscus sabdariffa* L.

Las antocianinas se consideran como la principal fuente de antioxidantes en jamaica (Tsai *et al.*, 2002). Las dos antocianinas identificadas como cianidina-3-sambubiosido y delphinidina-3-sambubiosido han sido reportadas como las principales contribuyentes a la respuesta antioxidante, en las variedades rojas de jamaica (Christian y Jackson., 2009). Estos pigmentos son bastante inestables tanto en el procesamiento como en el almacenamiento, factores como la luz, pH, temperatura, oxígeno, ácido ascórbico y el azúcar, influyen en su degradación o estabilidad (Tsai *et al.*, 2004).

1.3.4. Análisis y extracción de antocianinas

Las antocianinas se extraen con disolventes como etanol o metanol, adicionando una pequeña porción de ácido con el fin de obtener la formación de catión flavilo que es estable en medios ácidos (Metivier *et al.*, 1989) y también se pueden extraer en agua a ebullición (Tsai *et al.*, 2002). Las extracciones se pueden realizar a partir de frutos deshidratados, liofilizados o incluso congelados. Actualmente se utilizan nuevas técnicas para extraer las antocianinas con el uso del microondas, fluidos supercríticos y por alta presión (Zou *et al.*, 2012).

VI. LITERATURA CITADA

- Abdul C., K. Riadh, R. Gopi, P. Manivannan, I. Jallali, H. Jasim, Z. Chang-Xing, S. Hong, R. Panneerselvam. 2009. Antioxidant defense responses physiological plasticity in higher plants under abiotic constraints. *Acta Plant Physiology*. 31: 427-436.
- Azcón B. J., M. Talón. 2008. *Fundamentos de fisiología vegetal*. Edit. Mc Graw Hill. México D. F. 319 p.
- Bartels D., R. Sunkar. 2005. Drought and salt tolerance in plants. *Critical Reviews in Plant Science* 24 (1): 23-28.
- Benavides M., A., H. Ramírez R., V. Robledo T., R. Maiti., E. Cornejo O., J. Hernández D., A. Sandoval R..., R. Mendoza V., E. Samaniego C., J.G. Ramírez M., E. Bacopulos T., A. Aguilera C. y L.O. Fuentes L. 2002. *Ecofisiología y bioquímica del estrés en plantas*. Primera ed. Departamento de Horticultura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila. 228 p.
- Benavides M., A., J. Romero, G., A.S. Ledesma, P., J.M. Raygoza, C. 2001. La aplicación foliar de quitosano en ácido acético aumenta la biomasa de la lechuga. *Biotam Nueva Serie* 12(3):1-6.
- Blaylock M.J., J.W. Huang. 2000. *Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean up the Environment*. John Wiley and Sons, New York, pp. 53–70.
- Breusegem V. F., E. Vranova, J. Dat, D. Inze. 2001. The role of active oxygen species in plant signal transduction. *Plant Science* 161: 405-414.
- Brouillard R., S. Chassaing, G. Isorez, S. M. Kueny and P. Figueiredo. 2010. The visible flavonoids or anthocyanins: from research to applications. In: Santos-Buelga C, Escribano-Bailon MT and Lattanzio V, (eds.). *Recent Advances in Polyphenol Research*. Oxford, UK: Wiley-Blackwell. 374 p.
- Cakmak I. 2000. Possible roles of zinc in protecting plant cells from damage caused by reactive oxygen species. *New Phytologist* 146:185-205.

- Castañeda O. A., M. H. Pacheco, M. E. H. Paéz, J. A. Rodríguez, V. C. A. Gálan. 2009. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry* 4 (113): 859-871.
- Chalker S. L. 1999. Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses. *Photochemistry and Photobiology* 70 (1): 1-9.
- Christian R., J. Jackson. 2009. Changes in total phenolic and monomeric anthocyanin composition and antioxidant activity of three varieties of sorrel (*Hibiscus sabdariffa*) during maturity. *Journal of Food Composition and Analysis* 7-8 (22): 663-667.
- De Vos C, R. Vooijs, H. Schat. 1989. Copper induced damage to the permeability barrier in roots of *Silene Cucubalus*. *Journal of Plant Physiology* 35 (2): 165-169.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2007. <http://www.fao.org/corp/statistics/es> (Consulta: 18/11/2013).
- Gantet P., y J. Memelink. 2002. Transcription factors: tools to engineer the production of pharmacologically active plant metabolites. *Trends in Pharmacological Science* 23: 563-569.
- Gordillo B. 2012. Relación color-composición fenólicos en vinos tintos de clima cálido. Evaluación de la co-pigmentación por Colorimetría Triestímulo. Tesis doctoral. Universidad de Sevilla. España. 88 p.
- Guardiola S., Mach, N. 2014. Potencial terapéutico del *Hibiscus sabdariffa*: una revisión de las evidencias científicas. *Endocrinología y Nutrición*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.endonu.2013.10.012>.
- Gueta D. Y., Z. Yaniv, B. H. Ben. 1997. Salt and oxidative stress: similar and specific responses and their relation to salt tolerance in citrus. *Planta* 203: 460-469.
- Halliwell B. 1987. Oxidative damage, lipid peroxidation and antioxidant protection in chloroplasts. *Chemistry and Physics of Lipids* 2 (44):327-340.
- Halliwell B. 1997. Antioxidants in human health and disease. *Annual Review of Nutrition* 16:33- 50.

- Halliwell B., J. Gutteridge. 1999. Free Radicals in Biology and Medicine. 3^a Ed. Oxford University Press, Nueva York. 936 p.
- Harborne J.B. 1993. The anthocyanins. In: Harborne JB (ed.). The flavonoids: advances in research since 1986. London: Chapman & Hall.20 p.
- Huan D.B, and R. Prior L. 2005. The Chemistry behind Antioxidant capacity assays. Journal Agriculture Food Chemistry 53: 1841-1856.
- Ke S. 2007. Effects of copper on the photosynthesis and oxidative metabolism of *Amaranthus tricolor* seedlings. Agricultural Sciences in China 10 (6):1182-1192.
- Kessmann H., C. Hofmann., T. Maetzke., J. Herzog., E. Ward., S. Theo., S. Uknes and J. Ryals. 1994. Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. Annual Review of Phytopathology 32: 439-459.
- Kong J. M., L. S. Chiam., N. K. Goh., C. Brouillard. 2003. Analysis and biological activities of Anthocyanin. Phytochemistry 5 (64):923-933.
- Kubola J., S. Siriamornpun .2008. Phenolic contents and antioxidant activities of bitter gourd (*Mormordica charantia* L.) leaf, stem and fruit fraction extract *in vitro*. Food Chemistry 4 (110):881-890.
- Larcher W. 1995. Physiological Plant Ecology, Berlin, Heidelberg, Springer-Verlang. 506 p.
- Lasat M., N. Pence., D. Garvin. L. Kochian. 2000. Molecular physiology of zinc transport in the Zn hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. Journal of Experimental Botany 342 (51): 71-79.
- Liu L., Y. Sun., T. Laura, X. Liang., H. Ye., X. Zeag. 2009. Determination of polyphenolic content and antioxidant activity of kudingcha made from *Ilex kudingcha* C.J. Tseng. Food Chemistry. 1 (112):35-41.
- López M. 2004. La Flor de Jamaica gana terreno en Nicaragua. Artículo en línea en la redacción Internet del Diario La Prensa de Nicaragua. Sección agro y campo, edición n° 23532. Disponible en: http://wwwni.laprensa.com.ni/archivo/2004/agosto/05/campoyagro/campo_y_agro_20040805-01.html Consulta: abril, 2013.

- Mengel K. y E.A. Kirkby. 2001. Principles of Plant Nutrition. 5th ed. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 849 p.
- Metivier R. P., F. J. Francis., F. M. Clydesdale. 1980. Solvent extraction of anthocyanins from wine pomace. J. Food Sci. 4 (45): 1099-1110.
- Mohamed B.B., A.A. Sulaiman., A.A. Dahab. 2012. Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) in Sudan, cultivation and uses. Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences 1 (6): 48-54.
- Murillo E .2002. Actividad antioxidante de bebidas de frutas y de Té comercializadas en Costa Rica. Universidad de Panama/Instituto de Alimentación y Nutrición (IANUT).
- Ortiz M. S. 2009. Composición en macronutrientes, minerales y metales pesados en cálices de jamaica cultivada en el estado de Monagas. Revista Voces: Tecnología y Pensamiento 1 (3): 61-75.
- Peng C.H., C. Chyau, K. Cha, C. Wang. 2011. *Hibiscus sabdariffa* polyphenolic extract inhibits hyperglycemia, hyperlipidemia, and glycation-oxidative stress while improving insulin resistance. Journal of Agricultural and Food Chemistry 59: 9901-9909.
- Pinto E., T. Sigaud, M. Leitao, O. Okamoto, D. Morse, P. Colepicolo. 2003. Heavy metal-induced oxidative stress in algae. Journal of Phycology 6 (39):1008–1018.
- Plotto A., F. Mazaud, A. Röttger, K. Steffel. 2004. Hibiscus: Post-Production of improved market access. In Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 19 p.
- Prenci E., S. Berto, P. Daniele. 2007. Antioxidant power quantification of decoction and cold infusions of *Hibiscus sabdariffa* flowers. Food Chemistry 2 (100): 433-438.
- Prior R.L. and Wu, X. 2006. Anthocyanins: Structural characteristics that result in unique metabolic patterns and biological activities. Free Radical Research 10 (40): 1014-1028.
- Raven J., M. Evans, R. Korb 1999. The role of trace metals in the photosynthetic electron transport O₂ evolving organisms. Photosynthesis Research 60: 111-149.

- Reeves, R., and A. Baker, 2000. *Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean Up the Environment*. John Wiley & Sons. New York. 302 p.
- Russell W.R., G.G. Duthie. 2011. Influences of food constituents on gut health: The case for phenolic acids. *Proceedings of the Nutrition Society* 70: 389-396.
- Sáenz L. R., Z. P. Fernández, M. T. Tena. 2003. Development and validation of a capillary zone electrophoresis method for the quantitative determination of anthocyanins in wine. *Journal of Chromatography A*. 990 (1):247-258.
- Sagardoy R., A. Morales, A. López, A. Abardía, J. Abardía. 2009. Effects of zinc toxicity on sugar beet (*Beta vulgaris* L.) plants grown in hidroponía. *Plant Biology* 11 (3): 339-350.
- SAGARPA.2011. Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). Basededatos electrónica:<http://w4.siap.sagarpa.gob.mx/AppEstado/monografias/Especies/Jamaica.html>.
- SAGARPA–ASERCA.1999. México, proveedor de plantas medicinales al mundo. *Claridades Agropecuarias* 73:13-21.
- Sairam R., A. Tyagi. 2004. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Current Science* 3 (86): 407-421.
- Sandberg A. 2002. Bioavailability of minerals in legumes. *British Journal of Nutrition* 3 (88): 281-285.
- Sayago A.S., S Arranz., J Serrano. And I. Goni. 2007. Dietary fiber content and associated antioxidant compounds in Roselle flower (*Hibiscus sabdariffa* L.) beverage. *Journal Agriculture Food Chemistry* 55: 9901-9909.
- Scalbert, A., C. Manach, C. Morand, C. Remesy, L. Jimenez.2005. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 45: 287-306.
- Schwarz M., S. Hillebrand, S. Habben, A. Degenhardt, P. Winterhalther. 2003. Application of High-speed countercurrent chromatography to the large-scale isolation of Anthocyanins. *Biochemical Engineering Journal* 3 (14): 179-189.

- Silveira J., J. Lima, F. Calvancanti, J. Maia, R. Viagas. 2005. Salt induced oxidative response in plants: damage or protection? En Custodio R, Araújo E, Gomez L, Cavalcante U (Eds.) Estresses Ambientais: Danos e Benefícios em Plantas. MXM Grafica. Recife, Brasil pp: 106-117.
- Sinha S., R. Saxena. 2006. Effect of iron on lipid peroxidation and enzymatic and non-enzymatic antioxidants and Bacoside-A content in medicinal plant *Bacopa monnieri* L. Chemosphere 8 (62):1340-1350.
- Solórzano R., T. Macario. 2002. Estudio de factibilidad del cultivo, procesamiento y comercialización de la Rosa de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*). Documento en línea. Disponible en: http://volensamerica.Org/spip/IMG/doc/estudiomercadorosajamaica_altertec.doc. Consulta: Febrero, 2013.
- Steiner A. 1961. A universal method for preparing nutriment solutions of certain desired composition. Plant and Soil 15:134-154.
- Stohs S. J. y D. Bagchi. 1995. Oxidative Mechanisms in the Toxicity of Metal Ions. Free Radical Biology and Medicine 18: 321-336.
- Stohs S.J. y D. Bagchi. 1995. Oxidative Mechanisms in the Toxicity of Metal Ions. Free Radical Biology and Medicine 18: 321-336.
- Thomas et al., 1999
- Tsai P., H. Huang. 2004. Effect of polymerization of the antioxidant capacity in Roselle anthocyanin. Food Research International 37:313-318.
- Tsai P., J. Pearse, B. Camdem, B. Jordan. 2002. Anthocyanin and Antioxidant capacity in Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract. Food Research International 35(4): 351-356.
- USDA 2006. Classification for Kingdom Plantae Down to Species *Hibiscus sabdariffa* L. Base de datos en línea del Departamento de Agricultura de Estados Unidos. Disponible en:<http://plants.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=profile&symbol=HISA2&display=31>. Consulta: Mayo, 2013.

- Wang C., S. Zhang, P. Wang, J. Hou, W. Zhang, W. Li, Z. Lin. 2009. The effect of excess Zn on mineral nutrition and antioxidative response in rapeseed plants
- Xing W., H. Wenming y G Liu. 2010. Effect of excess iron and copper on physiology of aquatic plant *Spirodela polyrrhiza* L. Schleid. *Environmental Toxicology* 25: 103-112.
- Yruela I., J. Puesto, P. Alonso, R. Picores. 1996. Photoinhibition of Photosystem II from Higher Plants. Effect of copper inhibition. *J Biol Chem.* 271:27408-27415.
- Zhao B. 2009. Natural antioxidants protect neurons in Alzheimer's disease and parkinson's disease. *Neurochemical Research* 34: 630-638.
- Zou T., D. Wang. H. Gou .2012. Optimatization of microwave-assisted extraction of anthocyanins from mulberry and indentification of anthocyanins in Extract using, HPLC-ESI-MS. *Journal of Food Science* 77:46-50.

CAPÍTULO II. DESARROLLO DE PLÁNTULAS DE JAMAICA (*Hibiscus sabdarriffa* L.) INDUCIDAS A ESTRÉS OXIDATIVO POR IONES METÁLICOS

RESUMEN

Se evaluó el efecto de la aplicación foliar de Cu, Zn y Fe en el desarrollo de plántulas de jamaica de los cultivares: Reyna Morada y Criolla, cultivadas en invernadero. A partir del 26 DDS, semanalmente se midió: el área foliar, peso seco, altura de planta, diámetro de tallo y volumen radicular. Con los valores de área foliar y peso seco se calcularon la razón de área foliar (RAF), razón de peso foliar (RPF), área foliar específica (AFE), tasa de asimilación neta (TAN) y tasa de crecimiento relativo (TAC); además, se determinó la capacidad antioxidante por el método del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) y se hizo un análisis nutrimental, ambos, en plántulas de 46 DDS. El cv. Reyna Morada respondió más a las aspersiones foliares como lo determinan los índices de crecimiento, con la aplicación del Fe la RAF incremento 17.71 % y AFE en 22.72 % en comparación al control. En el índice de RPF, el control fue estadísticamente diferente a los tratamientos de los iones. La TAN fluctuó por efecto de los tres iones durante la evaluación del experimento La TAC se incrementó 6.13 % por el Cu en contraste el control. En cuanto a la actividad antioxidante el tratamiento de Cu redujo dicha capacidad en ambos cultivares. Y por último el contenido nutrimental en cv. Reyna Morada, el Fe y Zn modificaron la concentración de Ca y Mg. y en el caso del tratamiento de Cu promovió una mayor acumulación del mismo como efecto de la aspersión.

Palabras clave: estrés oxidativo, DPPH, índices de crecimiento.

I.INTRODUCCIÓN

La Jamaica es una planta herbácea, anual, de fotoperiodo corto, perteneciente a la familia Malvácea (Ojeda *et al.*, 2012); propia de climas subtropicales secos. Su uso está enfocado a los cálices deshidratados, apreciados comercialmente por sus extractos de color rojo, de gran importancia en la industria de alimentos y farmacéutica (Galicia *et al.*, 2008). Su cultivo se extiende por México, Centro y Sudamérica así como en el Sudeste Asiático (Guardiola, 2014). En México, ubicado en el séptimo lugar de la producción mundial (5.15 % del total), con un rendimiento promedio de 256 kg.ha⁻¹ la producción se concentra en los estados de Guerrero, Oaxaca, Michoacán, Nayarit y Puebla (Cid y Guerrero, 2012), (Ariza *et al.*, 2014).

Es común encontrar preparados comerciales de concentrados de cálices y hojas para preparar infusiones (Crozier *et al.*, 2009). En la medicina tradicional su consumo como infusión se ha posicionado con alta aceptación, ya que diversas investigaciones evidencian un efecto terapéutico de los extractos de esta especie sobre el estrés oxidativo, perfil lipídico, hipertensión y aterosclerosis; debido a su alta concentración de compuestos fenólicos (Guardiola, 2014).

La composición y la cantidad de metabolitos secundarios de las plantas dependen en gran medida de factores ambientales, pues cuando son sometidas a condiciones adversas, se genera un efecto que desarrolla una respuesta en procesos fisiológicos, bioquímicos y metabólicos (Benavides *et al.*, 2001). Esto indica la posibilidad de manipular la concentración o cantidad relativa de los metabolitos a través de técnicas de manejo agronómico. La inducción controlada de estrés por medio de compuestos señalizadores o prooxidantes es una herramienta conocida, cada vez más utilizada para explorar las respuestas fisiológicas y metabólicas adaptativas de las plantas (Kessmann *et al.*, 1994).

Por ello se considera factible su aplicación para promover y/o incrementar la biosíntesis de compuestos de interés en las plantas (Gantet y Memelink, 2002).

En el caso de iones libres de metales, el factor inductor de la respuesta puede ocasionar la acumulación de radicales libres que lleva a cambios en el metabolismo redóx de las plantas (Stohs y Bagchi, 1995). La toxicidad de los metales en forma iónica pueden originar, a través de una cascada de señales, la modificación de la expresión genética y la obtención de fenotipos con una composición química diferente (Benavides *et al.*, 2002), como ha sido descrito para el Cu (Mangel y Kirkby, 2001) y el Fe (Xing *et al.*, 2010).

Entre los compuestos que se pueden formar en la planta por efecto del estrés oxidativo se encuentran los antioxidantes, sustancias sintéticas o naturales que se añaden a algunos productos para retardar el deterioro causado por los radicales libres (Huang *et al.*, 2005).

La producción de plántulas de jamaica puede ser una buena opción para el consumo de esta especie en México como ocurre en diversos países de África, donde esta práctica es muy común. Además, el extracto de las hojas en lugar de los cálices representa una posible fuente de mayores compuestos polifenólicos (Da Costa *et al.*, 2014) y puede ser redituable, siempre y cuando se proporcione un buen manejo agronómico.

En la producción de plántulas, es importante que el cultivo se desarrolle en un ambiente microclimático que favorezca la producción, con la obtención de plantas sanas y vigorosas, aspectos importantes en un sistema de producción intensivo (Ayala y Valdez, 2008).

Para evaluar el efecto ambiental en el crecimiento y desarrollo de las plantas, se cuenta con el análisis de crecimiento vegetal (Mora *et al.*, 2005); disciplina relacionada con la Ecofisiología y la Agronomía que incluye términos y herramientas de cálculo (Cuellar y Arriata., 2010) mediante los cuales han sido descritos cambios en características morfológicas, fisiológicas y reproductivas de muchas especies de plantas (Quintero y Barraza, 2009).

Con base en lo anterior, el objetivo de esta investigación fue estudiar el efecto de las aspersiones foliares de Cu, Zn y Fe en plántulas de jamaica de los cultivares Reyna Morada y Criolla, cultivadas en invernadero en el desarrollo, contenido de antioxidantes y contenido nutrimental.

II.MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se realizó en el invernadero y laboratorios de Nutrición Vegetal y Tecnología Postcosecha del Colegio de Postgraduados (CP), Campus Montecillo, ubicado a 19° 29' latitud norte y 98° 54' longitud oeste, en Montecillo, Texcoco, Estado de México.

2.1. Obtención de material vegetal

Se utilizaron plántulas obtenidas de semilla de los cultivares Criolla y Reyna Morada, donada por productores del municipio de la Huacana, en Michoacán, México.

La jamaica cv. Criolla, posee flores con pétalos rosa pálido con bordes amarillo claros; las anteras maduras son amarillo claras y el estigma es rojo oscuro. Su cáliz, es de color rojo oscuro al momento de la cosecha, mide de 1.4 a 6.0 cm de largo y de 0.5 a 2.5 cm de diámetro. La semilla es de color café oscuro, y de forma arriñonada; el peso de 100 semillas varía de 1.4 a 2.1 g; el ciclo de este cultivo hasta la cosecha es de 160 a 180 días (Ariza *et al.*, 2014).

El cv. Reyna Morada, presenta flores de color amarillo rosado y cáliz rojo intenso, que alcanza hasta 7.5 cm de largo y de 5.95 g de peso, en promedio puede alcanzar un rendimiento de 70-80 g planta⁻¹ y su ciclo hasta la cosecha es de 150-165 días (Díaz y Ramos, 2011).

2.2. Preparación del experimento

Previo a la siembra, las semillas de cada cultivar se desinfectaron con 10 gotas L⁻¹ (v/v) de Hipoclorito de sodio comercial (6%), durante 15 minutos, se enjuagaron con agua destilada y se colocaron en una solución de 10 gotas L⁻¹ (v/v) de Microdin ® (plata

ionizada), en la cual se mantuvieron durante 15 minutos, se enjuagaron nuevamente y al final se colocaron en agua destilada durante 6 h para su imbibición.

Las semillas, ya embebidas, se colocaron en charolas de polipropileno rígido con 50 cavidades redondas, con dimensiones de 52.7 cm de largo, 26.19 cm de ancho, 6.0 cm de altura y 4.28 L de volumen por charola. En total se requirieron seis charolas por cultivar. Se utilizó como sustrato turba Sphagnum. Las charolas se regaron a diario con agua destilada hasta la germinación y formación de hojas verdaderas. Posteriormente, el riego se hizo con la solución nutritiva de Steiner (Steiner, 1984), cuya composición base fue es e (meq·litro⁻¹): 12 NO₃⁻, 1 H₂PO₄⁻, 7 SO₄²⁻, 7 K, 4 Mg y 9 Ca y micronutrientes), cuando salen las hojas verdaderas el riego se hizo con la solución a 25%, durante 12 días, al 50 % por 15 días y al 100 % hasta finalizar el experimento. Las charolas se mantuvieron dentro de un invernadero de estructura metálica tipo túnel con 3 m de ancho x 6 m de largo por 3.5 m de altura.

2.3. Manejo del experimento

En el almácigo, las aspersiones correspondientes a cada uno de los tratamientos (Fe, Cu y Zn) del experimento se realizaron a los 18, 26, y 40 días después de la siembra (DDS), utilizando como fuentes Zn SO₄·7H₂O, CuSO₄, Fe EDTA 13%. En cada solución se agregó como adherente 1 cc L⁻¹ de Inex®.

2.4. Tratamientos evaluados

Se probaron cuatro tratamientos (Cuadro 1), con 50 plántulas por tratamiento, que se evaluaron paulatinamente a los 26, 32, 39 y 46 DDS.

Cuadro 1. Tratamientos utilizados en plántulas de jamaica de los cultivares Reyna Morada y Criolla.

| Tratamientos | Descripción |
|---------------------|--|
| 1 | Plantas sin aplicaciones foliares en almácigo. Control |
| 2 | Plantas tratadas en almácigo con fertilización foliar de Cu^{+2} (0.15 %) |
| 3 | Plantas tratadas en almácigo con fertilización foliar de Zn^{+2} (0.15 %) |
| 4 | Plantas tratadas en almácigo con fertilización foliar de Fe^{+} (0.075 %) |

2.5. Análisis de crecimiento vegetal

A los 26, 32, 39 y 46 DDS se cosecharon de cada tratamiento y cultivar diez repeticiones, y se midió diámetro y longitud de tallo, volumen radicular, área foliar y peso seco (en estufa de aire forzado por 72 horas a 70 °C), algunos de estos datos se utilizaron para calcular los índices de crecimiento considerados. El diámetro de tallo se midió con un vernier digital Truper ®; en la base del tallo, inmediatamente arriba del cuello de la raíz (en mm) mientras que la longitud del mismo se obtuvo midiendo desde la base del tallo hasta la punta del ápice (en cm). El volumen de raíz se determinó empleando probetas graduadas de 10 y 50 mL; para ello se separó la raíz de la parte aérea, se retiró el exceso de sustrato, se colocó un volumen de agua en la probeta, con la ayuda de una pinza de relojero se sumergió la raíz y se registró el volumen final alcanzado (cm³). Para medir el área foliar se retiraron las hojas verdaderas y cotiledóneas del tallo, se colocaron en una hoja blanca con una línea de referencia de 1 cm y se capturó una imagen por planta. Se utilizó una cámara FUJIFILM® modelo Fine Pix JX500 14 mega pixeles, las imágenes se guardaron en formato JPEG y se procesaron en el software ImageJ® (Apéndice A)

2.6. Índices de crecimiento calculados

Los índices de crecimiento calculados fueron: razón de área foliar (RAF), que se define como la relación de área foliar y el peso total de la planta, se expresa en m^2 (hoja) kg^{-1} (planta). Área específica foliar (AEF) definida como la razón entre el área de la hoja y su peso seco. Razón de peso foliar (RPF) es un índice de la cantidad de follaje de la planta, expresado con respecto a su peso total. Tasa de asimilación neta (TAN) que se define como la tasa de incremento en el peso seco de la planta por unidad de área foliar, se expresa en kg (planta) m^{-2} (hoja) día^{-1} y Tasa absoluta de crecimiento (TAC) que es igual al área foliar posterior menos el área foliar inicial entre el periodo de tiempo entre ambas (Cuadro 2).

Cuadro 2. Ecuaciones para el cálculo de los índices de crecimiento

| Índices de crecimiento | Ecuación | Unidades |
|---|---|---|
| Razón de área foliar (RAF) | $= \text{Aft}/\text{Pst}$ | $\text{cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ |
| Razón de peso foliar (RPF) | $= \text{Psh} / \text{Pst}$ | $\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ |
| Área Foliar Específica (AFE) | $= 1/(\text{Af}) \cdot [(\text{P}_2 - \text{P}_1)/(\text{t}_2 - \text{t}_1)]$ | $\text{cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ |
| Tasa de Asimilación Neta (TAN) | $= \text{Ps}_2 - \text{Ps}_1 / \text{Af}_2 - \text{Af}_1 \cdot \ln(\text{Ps}_2) - \ln(\text{Ps}_1) / \text{t}_2 - \text{t}_1$ | $\text{g} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{día}^{-1}$ |
| Tasa absoluta de Crecimiento (TAC) | $= \text{Af}_2 - \text{Af}_1 / \text{t}$ | $\text{cm}^2 \cdot \text{día}^{-1}$ |

Aft: área foliar total, Pst: biomasa seca total, Psh: biomasa seca de hojas, Ps_2 y Ps_1 : biomasa seca de la plántula al final y al inicio de un periodo determinado, t_1 y t_2 : tiempo transcurrido entre dos muestreos, Af_2 y Af_1 : área foliar por plántula al final y al inicio del mismo periodo y \ln : logaritmo natural.

2.7. Actividad antioxidante

De las diez plantas cosechadas de cada tratamiento y muestreo, se destinaron tres para determinar esta variable, pero para ello, previo al análisis se colocaron a -70°C para asegurar su conservación hasta su procesamiento. La actividad antioxidante se evaluó por el método del radical libre DPPH (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazil), (Brand *et al.*, 1995), (APÉNDICE B).

2.8. Contenido nutrimental

El contenido nutrimental se determinó en hojas muestreadas 46 DDS. Después de cosechadas las plantas, se les separaron, secaron y molieron las hojas. Los nutrimentos analizados fueron N, P, K, Ca y Mg, Fe, Cu y Zn. La determinación de N se hizo por el método Kjeldahal. Para las determinaciones de Fe, Cu, Zn, P, K, Ca y Mg, se realizó la digestión húmeda con una mezcla de ácido nítrico y perclórico (relación 2:1, v: v), (Alcántar y Sandoval, 1999), el extracto obtenido se leyó en el espectrofotómetro de emisión atómica de inducción con plasma acoplado (ICP-AES VARIAN Liberty™ II).

2.9. Análisis estadísticos

Los datos obtenidos fueron analizados de la siguiente forma: los índices de crecimiento se analizaron con el procedimiento análisis de varianza (ANOVA), mediante el programa estadístico SAS Institute versión 9.0 (SAS, 2004) y se ajustaron mediante funciones polinomial de segundo orden, con la ayuda del software Curve expert®. En los gráficos que se presentan en el presente trabajo se representa el promedio obtenido de siete repeticiones. En la capacidad antioxidante se realizó un análisis de parcelas divididas, en el contenido nutrimental un ANOVA y las medias fueron comparadas por la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

III.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Condiciones de humedad y temperatura

Las condiciones de humedad y temperatura dentro del invernadero, tuvieron un promedio de 25.50 ° C y 49.39 % humedad relativa, durante el desarrollo del presente experimento (Figura). De acuerdo con Da costa *et al.* 2014, la jamaica se desarrolla con una temperatura mínima de 20 °C y una humedad relativa del aire de aproximadamente 70 a 85 % (% HR), por lo que este experimento se desarrolló bajo condiciones de temperatura favorable, pero la humedad relativa fue más baja de lo recomendada y de acuerdo con Sánchez y Aguirreolea (2008), las hojas al sufrir un déficit hídrico, debido a que el suministro de agua no se mantiene al mismo nivel que la transpiración, pueden sufrir un efecto indeseable: la inhibición de la fotosíntesis, como consecuencia de la reducción del suministro de ATP y fijación de CO₂, sin embargo de ser un error experimental fue homogéneo para todo el experimento.

3.2. Análisis de crecimiento vegetal

En el cv Reyna Morada, los análisis estadísticos de los datos obtenidos a los 46 DDS, indicaron diferencias estadísticas en diámetro del tallo, volumen radical y peso seco. Con la aplicación foliar de Cu, el diámetro de tallo resultó 7.06 % mayor y el volumen radical 14.58% en comparación con el control. Los valores más bajos de peso seco correspondieron a los tratamientos con Fe y Zn. De acuerdo con lo anterior, el tratamiento con Cu no indujo ningún tipo de estrés en la planta, a diferencia del Zn y Fe, que manifestaron el grado de agobio provocado, al disminuir el desarrollo de la jamaica en diámetro de tallo, volumen radical y peso seco (Cuadro 3)

El desarrollo de raíz por el Cu, puede ser como lo menciona Joo (2006), al observar que metales como el Pb y el Cu se acumulan principalmente en las raíces, y solo pequeñas

cantidades se transportan al brote, lo que pudo haber llevado a una mayor actividad del Cu en esa zona y al no presentarse agobio por este elemento, no debió haber daño en la tasa de fijación de CO₂ por la plastocianina la principal proteína que contiene Cu (Kirkby y Romheld, 2007), de modo que el contenido de almidón y carbohidratos en la planta no se redujeron como con los otros iones. Por otro lado el efecto negativo del Zn y Fe sobre el crecimiento, se puede deber a que el primero en cantidades en exceso, puede afectar los sistemas homeostáticos iónicos normales al interferir con la captación, el transporte así como en la regulación de los iones esenciales y llevar a la interrupción de los procesos metabólicos como la fotosíntesis y repercutir sobre el crecimiento (Cherif *et al.*, 2012). Mientras que el Fe, ejerce efecto sobre los procesos de respiración y la fotosíntesis, donde participa en la transferencia de electrones a través reacciones redóx reversibles, por lo que un desbalance en la cantidad adecuada del Fe, puede llevar a la desestabilidad de dichos procesos (Kim y Guerinot., 2007).

Cuadro 3. Efecto de los tratamientos evaluados, sobre las variables de crecimiento vegetal medidas directamente en plántulas de jamaica cv. Reyna Morada, 46 DDS.

| Tratamiento | Diámetro de tallo (mm) | Longitud de tallo (cm) | Volumen radicular (cm ³) | Área foliar (cm ²) | Peso seco (g) |
|-------------|------------------------|------------------------|--------------------------------------|--------------------------------|---------------|
| Control | 3.67 ab | 10.42 a | 5.21 ab | 27.05 a | 0.83 a |
| Cu | 3.93 a | 11.76 a | 5.97 a | 27.84 a | 0.90 a |
| Zn | 3.40 b | 11.38 a | 4.75 bc | 25.12 a | 0.77 ab |
| Fe | 3.49 b | 10.98 a | 3.82 c | 22.64 a | 0.64 b |
| DMS | 0.35 | 1.35 | 1.11 | 6.91 | 0.16 |

Medias con letras distintas en la misma columna, indican diferencias significativas (Tuckey, 0.05). DMS = diferencia mínima significativa.

En la variedad Criolla, la aplicación de Fe disminuyó significativamente el volumen radicular en 25.47 % y el peso seco se redujo 14.48 % respecto al testigo, aspecto similar al cv. Reyna Morada (Cuadro 4).

Cuadro 4. Efecto de los tratamientos evaluados, sobre las variables de crecimiento vegetal medidas directamente en plántulas de jamaica cv. Criolla 46 DDS.

| | Diámetro de tallo (mm) | Longitud de tallo (cm) | Volumen radicular (cm ³) | Área foliar (cm ²) | Peso seco (g) |
|---------|------------------------|------------------------|--------------------------------------|--------------------------------|---------------|
| Control | 3.50 a | 10.28 a | 5.42 a | 24.39 a | 0.76 ab |
| Cu | 3.52 a | 10.78 a | 4.92 ab | 26.35 a | 0.82 a |
| Zn | 3.42 a | 9.76 a | 4.91 ab | 23.54 a | 0.77 ab |
| Fe | 3.42 a | 10.94 a | 4.04 b | 24.39 a | 0.65 b |
| DMS | 0.34 | 1.26 | 1.07 | 4.44 | 0.14 |

Medias con letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas (Tuckey, 0.05). DMS = diferencia mínima significativa.

3.3. Efectos en los índices de crecimiento

El efecto de los tres iones fue diferente en cada índice de crecimiento y diferente también para cada cultivar.

3.4. Razón de área foliar (RAF)

El tratamiento foliar de Fe fue el que produjo una RAF de 74.83 cm² g⁻¹, y en cv Criolla de 76.46 cm² g⁻¹, que fue superior en 17.71 % y 12.60% respectivamente más que el control. Esta respuesta de las plántulas se atribuye a un mayor desarrollo de las hojas en menor tiempo con la aplicación de hierro que permitió a la planta constituir un área foliar en virtud de una oferta suficiente de nutrientes (Cuadro 5). Cabe recordar que la mayor parte del Fe activo dentro de la planta participa en las reacciones redox de cloroplastos, mitocondrias y peroxisomas, componentes importantes para la producción de clorofila y energía de la planta implicados directamente en el desarrollo vegetativo de la planta (Benavides, 2000).

Cuadro 5. Efecto de los tratamientos en la razón de área foliar (RAF), en plántulas de jamaica de los cv. Reyna Morada y Criolla.

| Tratamiento | Reyna Morada | Criolla |
|-------------|--|----------|
| | RAF cm ² g ⁻¹ | |
| Control | 63.577 ab | 67.905 a |
| Cu | 66.516 ab | 64.039 a |
| Zn | 54.217 b | 63.906 a |
| Fe | 74.837 a | 76.467 a |
| DMS/HSD | 12.999 | 14.084 |

Medias con la misma letra, dentro de columnas, son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$.

Al observar el comportamiento de la RAF asociada con cada tratamiento a través del tiempo (Figura 1 A y B), en todos los casos se muestran curvas descendentes cuyo ajuste a modelos exponenciales tuvo R^2 mayores de 0.66. Estas tendencias indican que, la RAF fue mayor al principio y disminuyó conforme fue transcurriendo el tiempo, hasta alcanzar valores mínimos 46 DDS. Esto parece indicar que cuando las plantas son más jóvenes, el aumento de tamaño (en este caso del área de la hoja) está dado por un aumento sólo de volumen (tejidos más succulentos), pero conforme ésta va madurando se empieza acumular más materia seca tanto en hojas como en raíces, por lo que el valor del índice disminuye. Por otro lado, aunque no se hicieron comparaciones estadísticas entre curvas, las diferencias significativas detectadas en los valores promedio de la RAF entre los tratamientos con Fe y Zn son muy evidentes en los primeros muestreos (Figura 1a).

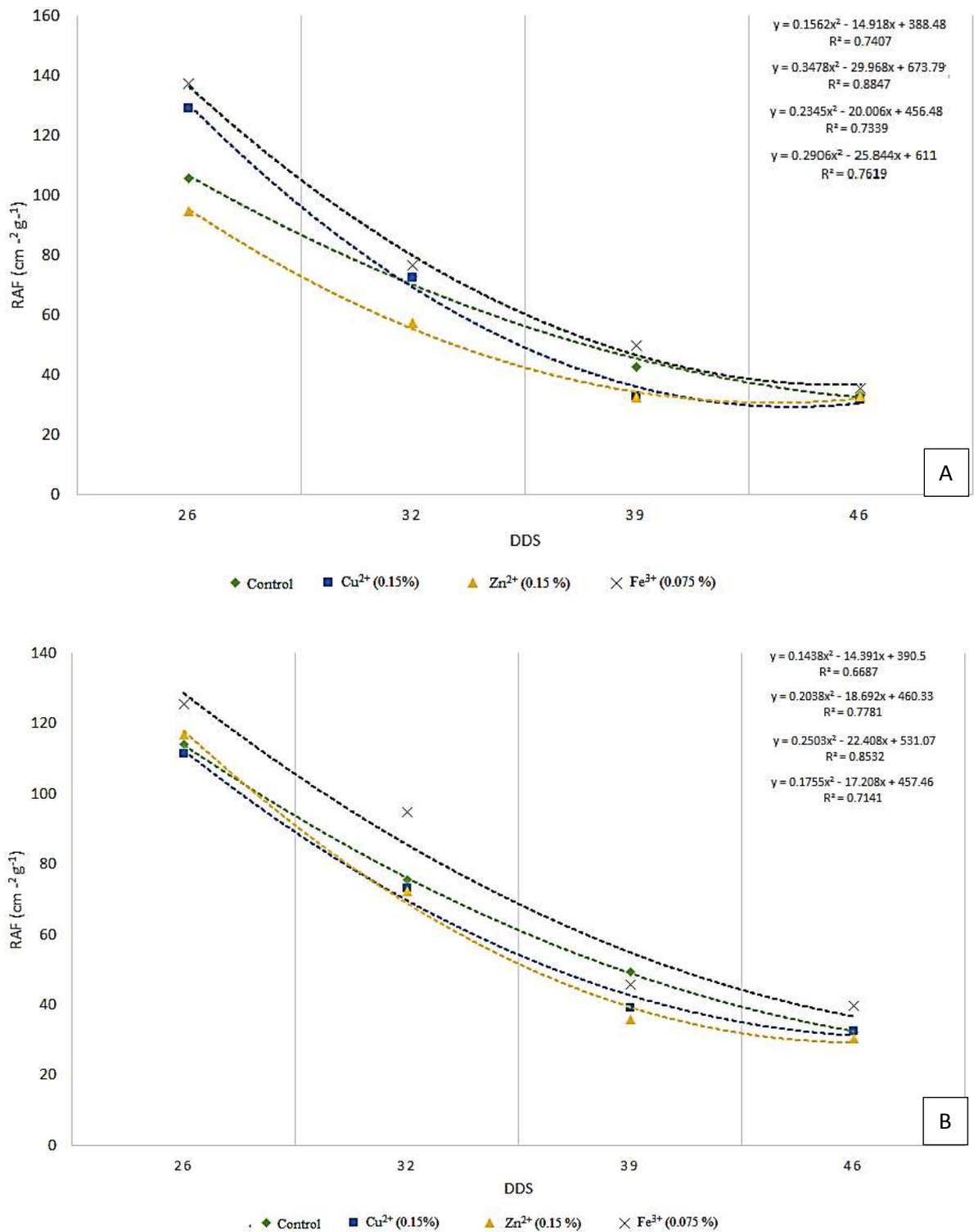


Figura 1. Comportamiento de la RAF a través del tiempo, con relación a la aplicación foliar de tres iones metálicos en plantas de jamaica ‘Reyna Morada’ (A) y ‘Criolla’ (B).

3.5. Razón de peso foliar (RPF)

El tratamiento control en el cv. Reyna Morada, fue el que presento una mayor RPF de hasta $0.822 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$, los otros tratamiento tuvieron un valor menor de RPF, el que presento una menor acumulación fue el de Fe de $0.792 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$, que corresponde a 3.65 % menos. Lo que indica que el tratamiento de Fe promovió una menor acumulación de materia seca en la lámina foliar, respecto a la materia seca total acumulada en la planta esto puede deberse a que la planta presento una mayor acumulación de peso en el tallo y pequeñas ramitas, esto para poder ir consolidando una estructura más fuerte al ir incrementando de tamaño. La acumulación de materia seca se considera un criterio apropiado para medir el crecimiento y la magnitud del sistema de asimilación de la planta (Taiz y Zeiger, 1991).

El cv. Criolla no presento diferencias significativas para RPF, al parecer el cultivar no es susceptible a presentar efecto ninguno de los tratamientos sobre la acumulación de materia seca (Cuadro 6).

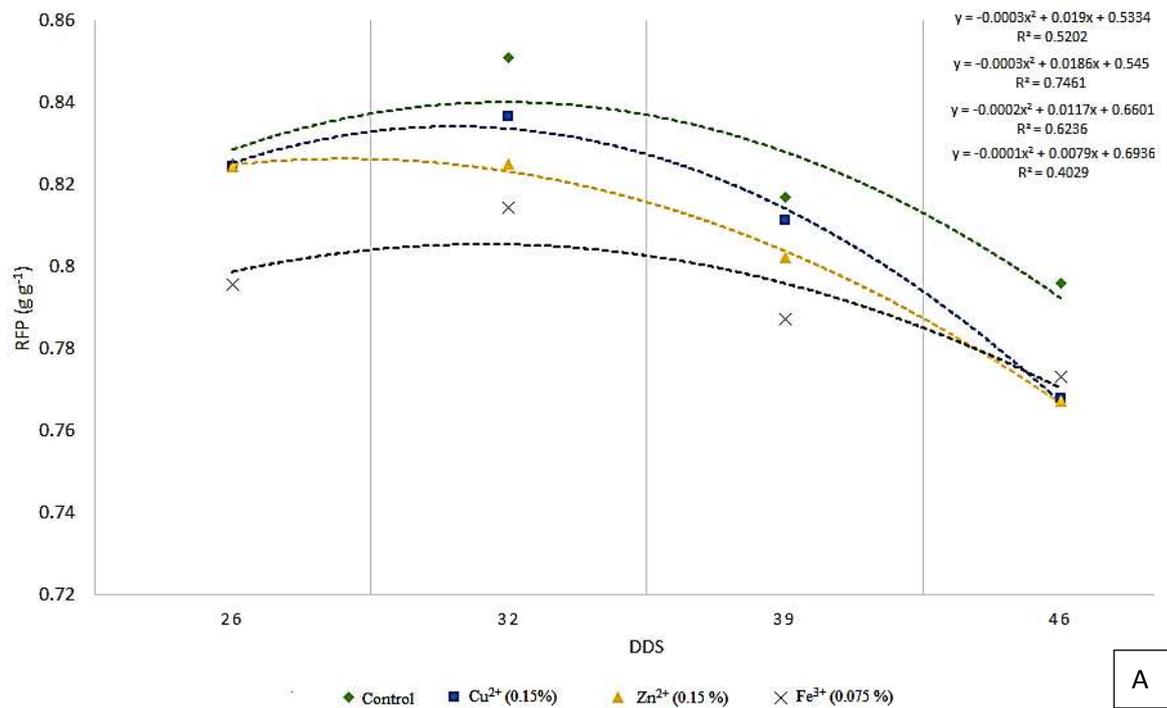
Cuadro 6. Cuadro de separación de medias de Tukey para RPF promedio en plántulas de jamaica, cv. Reyna Morada y Criolla asperjadas con iones metálicos Cu, Zn y Fe.

| Tratamiento | Reyna Morada | Criolla |
|-------------|-------------------------------------|---------|
| | RPF $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ | |
| Control | 0.822 a | 0.804 a |
| Cu | 0.810 ab | 0.807 a |
| Zn | 0.804 ab | 0.804 a |
| Fe | 0.792 b | 0.789 a |
| DMS/HSD | 0.0188 | 0.0214 |

Medias con la misma letra, dentro de columnas, son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$.

Las tendencias indican un aumento para RPF hacia el día 32 DDS, después a este, se presentó una reducción. Al inicio las plántulas contaban con sus hojas cotiledonares, mismas que se mantuvieron y fueron entrando a la senectud conforme pasaba el tiempo, al día 46 DDS las hojas permanecían unidas a los tallos pero ya eran senescentes, las hojas

verdaderas se fueron desarrollando progresivamente, sin embargo al día 34 comenzó una reducción de este índice, mismo que pudo haberse debido a la translocación de materia seca desde las hojas a la estructura de las nuevas ramas que darían soporte a nuevas hojas que estaban presentes al día 46 DDS, hojas que tenían un bajo contenido de materia seca ya que eran muy jóvenes y no eran fotosintéticamente activas, los valores de R2, fueron por debajo de 0.74 (Figura 2 A y B).



A

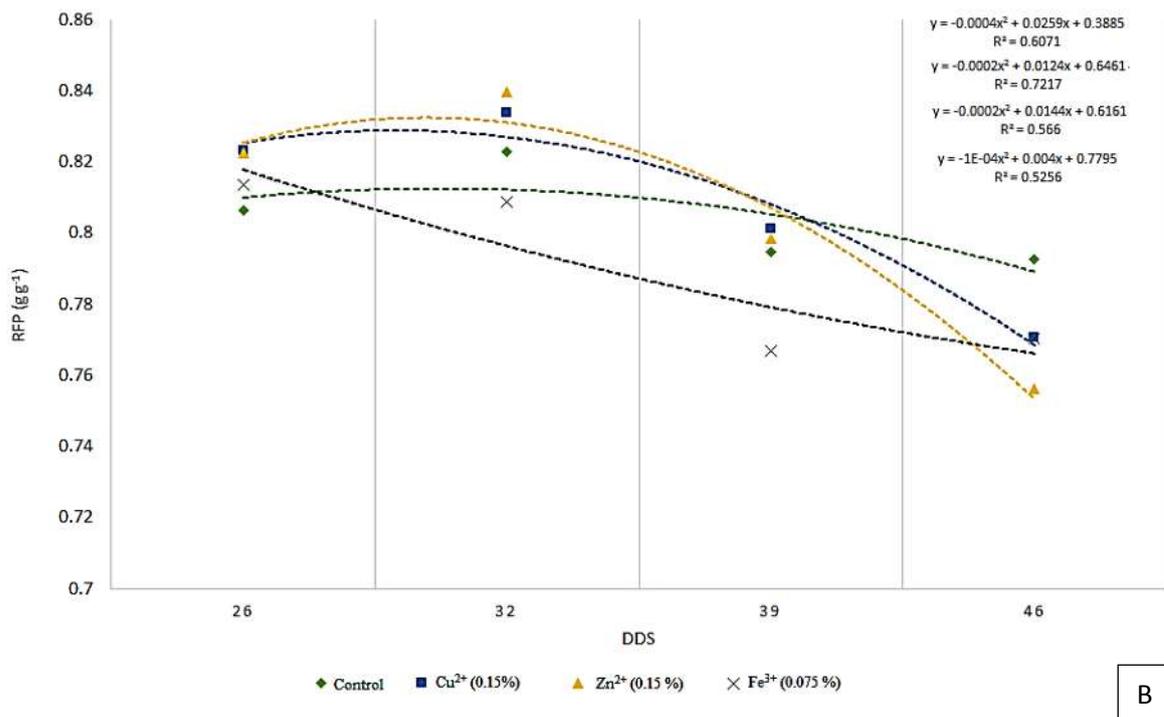


Figura 2. Dinámica de la razón de peso foliar (RPF) en jamaica en función de las aspersiones de Cu, Zn y Fe. A) cv. Reyna Morada y B) cv. Criolla.

3.6. Área foliar específica (AFE)

El mayor valor promedio de AFE en el cv. Reyna Morada con diferencias significativas, fue el del tratamiento de Fe con $94.520 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$, que corresponde al 22.57 % más que el control. Estadísticamente se formó un segundo grupo que ocupó el tratamiento de Cu con una AFE de 81.263 que correspondió a 5.38 % más que el control. Lo que indica que el Fe promovió la asignación de recursos a la planta, en algunos casos esos recursos se pueden destinar a defensas (barreras) físicas para evitar la herbívora, ya que dicha protección es importante en plantas cultivadas (Granados *et al.*, 2008). El tratamiento de Zn se comportó de forma similar al control. El cv. Criolla presentó la misma tendencia, sin embargo no se presentaron diferencias significativas entre sus tratamientos, la disminución en el AFE

implica mayor dureza debido a hojas más gruesas y/o más densas (Granados *et al.*, 2008).

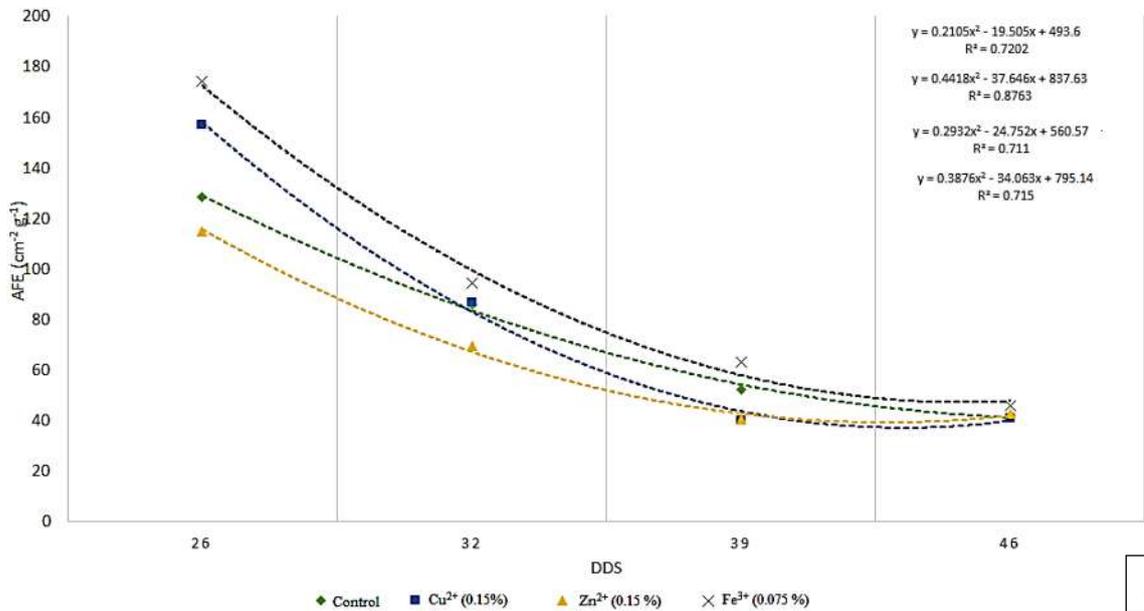
(Cuadro 7).

Cuadro 7. Cuadro de separación de medias de Tukey para la AEF para plántulas de jamaica, cv. Reyna Morada y Criolla asperjadas con iones Cu, Zn y Fe.

| Tratamiento | Reyna Morada | Criolla |
|-------------|-----------------------|----------|
| | AFE | |
| | $m^2 g^{-1}$ | |
| Control | 77.109 b ^z | 84.890 a |
| Cu | 81.263 ab | 78.554 a |
| Zn | 66.946 b | 78.531 a |
| Fe | 94.520 a | 96.162 a |
| DMS/HSD | 17.153 | 18.555 |

Medias con la misma letra, dentro de columnas, son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$.

El AFE para las plántulas de jamaica en los dos cultivares presentaron una tendencia decreciente conforme trascurría el tiempo (Figura 3).



A

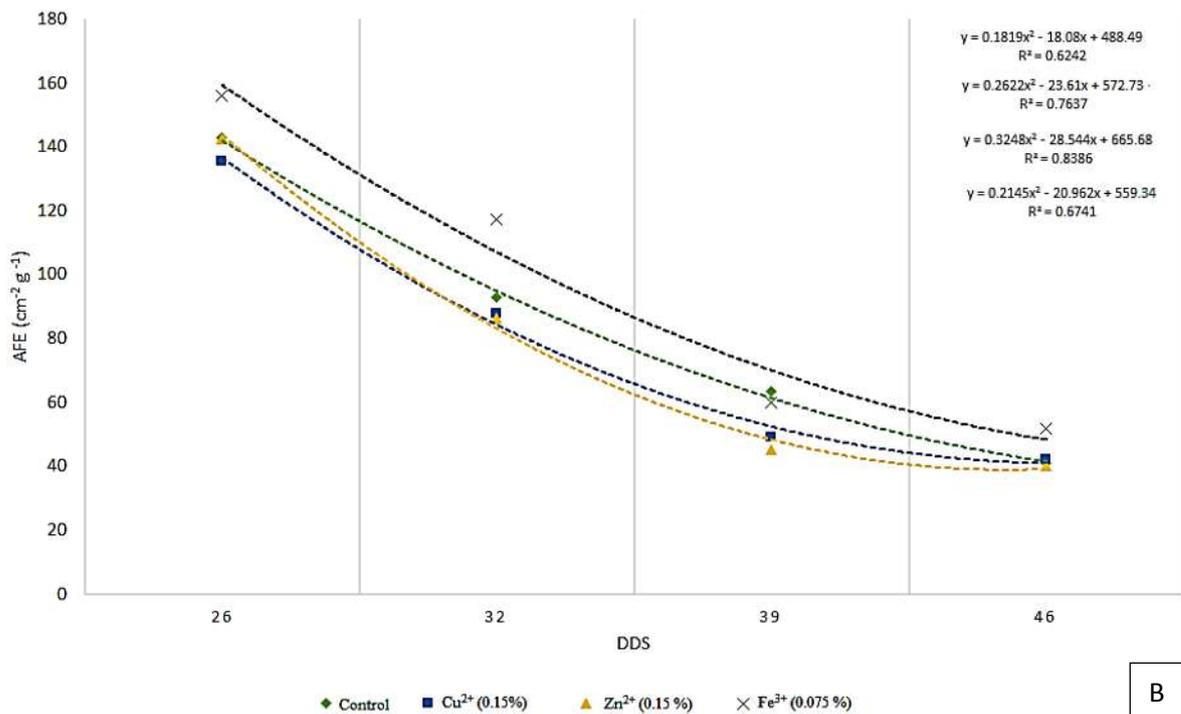


Figura 3. Tendencia del área foliar específica (AFE), promedio para plántulas de jamaica, en la evaluación de los iones metálicos Cu, Zn y Fe. A) Reyna Morada y B) Criolla.

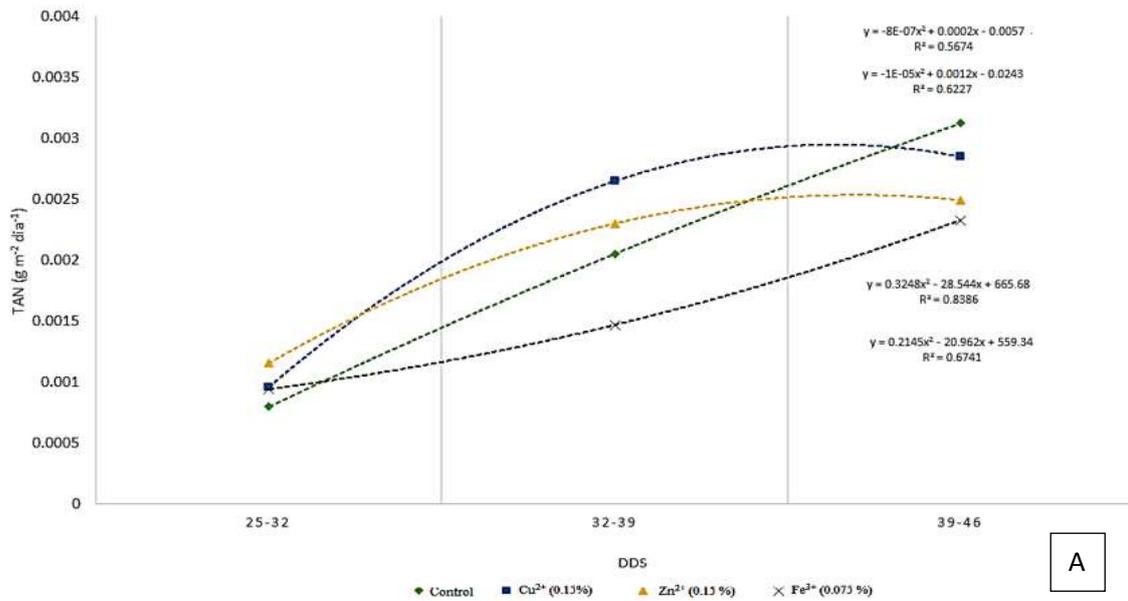
Como ya se sabe este índice está relacionado con la distribución y asignación de asimilados dentro del proceso de fotosíntesis y es una variable que interfiere en el crecimiento de las plantas (Caldwell., 1994). Los valores del AFE indican una mayor cantidad de área foliar por peso de hoja al inicio y fue disminuyendo conforme transcurría el tiempo. Cabe recordar que las hojas jóvenes son estructuras dependientes, ya que importan y consumen nutrientes provenientes de las reservas de las raíces y otros tejidos y al ir madurando, estas hojas se convierten en un exportador neto de nutrientes, que las lleva a alcanzar un máximo de producción antes de la senescencia (Granados *et al.*, 2008).

3.7. Tasa de asimilación neta (TAN)

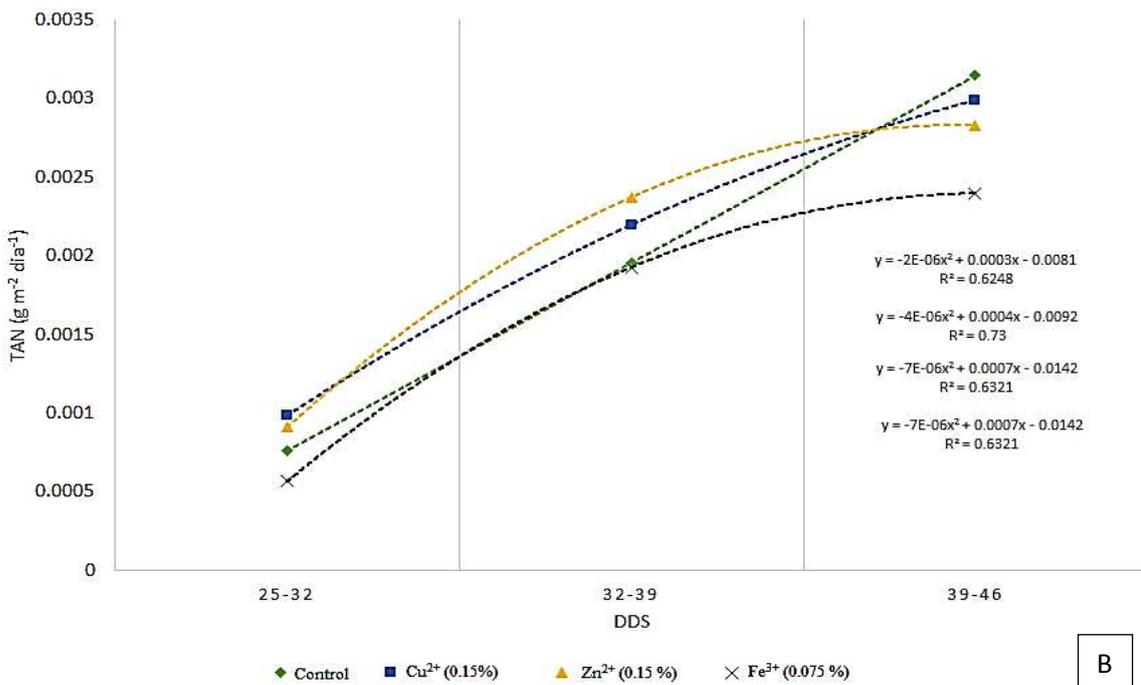
Los valores de TAN para plántulas del cv. Reyna Morada se presentan en la Figura 4, en la que se observa que la diferencia entre los tratamientos empieza a ser notoria a partir del periodo 32-39 DDS. Durante el desarrollo de las plántulas los valores de TAN

más altos se presentaron por varios tratamientos, para el primer periodo del día 32 que comprende del día 26 al 32 la TAN mas alta fue por el tratamiento de Zn con $0.0015 \text{ g cm}^{-2} \text{ dia}^{-1}$, en el siguiente periodo del 39 (32-39) la TAN más alta fue por el tratamiento de Cu con $0.0026 \text{ g cm}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ y en el último periodo de 46 (39-46) el control presentó una TAN de $0.003 \text{ g cm}^{-2} \text{ dia}^{-1}$, mientras la menor TAN fue el tratamiento de Fe con un valor de $0.0023 \text{ g cm}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ que corresponde a 25.81 % menos que el control (Figura 4 A)

Por otra parte para el cv. Criolla la TAN (32) fue más alta por el tratamiento de Cu con $0.0009 \text{ g cm}^{-2} \text{ dia}^{-1}$, al periodo del día 39 la TAN más alta fue para Zn con $0.0023 \text{ g cm}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ y en el último periodo del día 46 fue para el control $0.00314 \text{ g cm}^{-2} \text{ dia}^{-1}$. Al igual que el otro cv., el tratamiento más bajo en TAN fue el Fe, que presento un valor de $0.0023 \text{ g cm}^{-2} \text{ dia}^{-1}$, que corresponde al 25.81 % (Figura 4 B). Así bien se puede observar que las plántulas de jamaica, tuvieron un desarrollo normal. La fluctuación de la TAN por los tratamientos pudieron haberse desencadenado como una mínima modificación en la fotosíntesis, sin embargó el mayor efecto negativo como ya lo vimos fue provocado por el Fe, este fenómeno pudo haberse generado, a una cuestión directamente relacionada con este elemento, que como ya lo mencionamos juega un papel importante en la fotosíntesis, no solo por su acción en la síntesis de clorofilas, también, por su influencia en la morfología de los cloroplastos (Marschaner, 1987) y que en este índice se traduce como la inducción del Fe a una menor cantidad de biomasa acumulada en función del área foliar y el tiempo, que puede deberse a una menor eficiencia de las hojas para producir nuevo crecimiento vegetal (Díaz *et al.*, 2013).



A



B

Figura 4. Tendencia de la tasa de asimilación neta (TAN) para plántulas de jamaica, en la evaluación de los iones asperjados Cu, Zn y Fe. A) Reyna Morada y B) Criolla.

3.8. Tasa absoluta de crecimiento (TAC)

La tasa absoluta de crecimiento muestra como es el desarrollo del área foliar en la planta en función del tiempo. La TAC en el cv. Criolla se incrementó gradualmente conforme pasaba el tiempo, el tratamiento de Cu obtuvo la mayor TAC de $1.73 \text{ cm}^2 \text{ día}^{-1}$

que fue 6.13 % superior al testigo, en la menor TAC fue por el tratamiento de Fe con 0.91 $\text{cm}^2 \text{dia}^{-1}$ que corresponde a 43.18 % menos que el control (Figura 5). La tendencia nos indica que el Zn mantuvo una mejor correlación entre su efecto y la TAC con un valor de R^2 de 0.99.

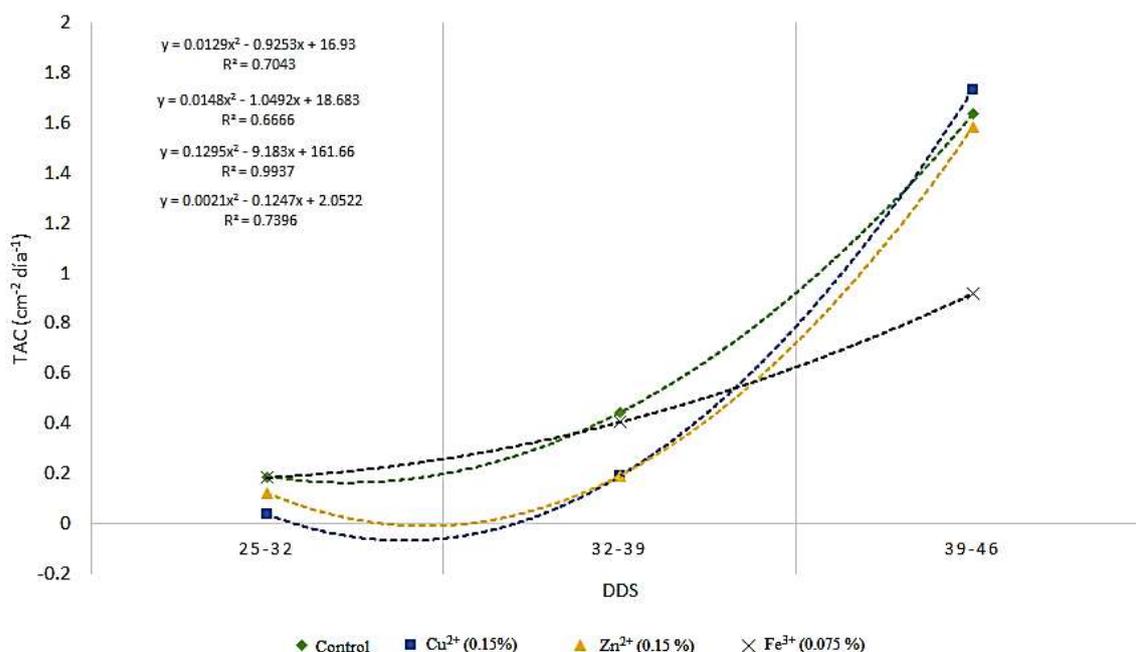


Figura 5. Tendencia de la tasa absoluta de crecimiento (TAC) para plántulas de Jamaica cv. Reyna Morada, en la evaluación de los iones asperjados (Cu, Zn y Fe).

En el cv. Criolla, el tratamiento de Cu, fue el que presentó una mayor TAC con un valor de $1.55 \text{ cm}^2 \text{ dia}^{-1}$, que representa el 15.67 % más que la TAC del tratamiento control. El Cu desempeña funciones catalíticas, siendo parte de varias enzimas importantes está presente en la plastocianina de los cloroplastos, un componente importante del sistema transportador de electrones de la fotosíntesis (Medina *et al.*, 1999). Mientras que la TAC más baja, se presentó por efecto del tratamiento de Zn con $1.30 \text{ cm}^2 \text{ dia}^{-1}$ que corresponde a 2.99 % menos que el control, con un valor de R^2 de 0.63 (Figura 6).

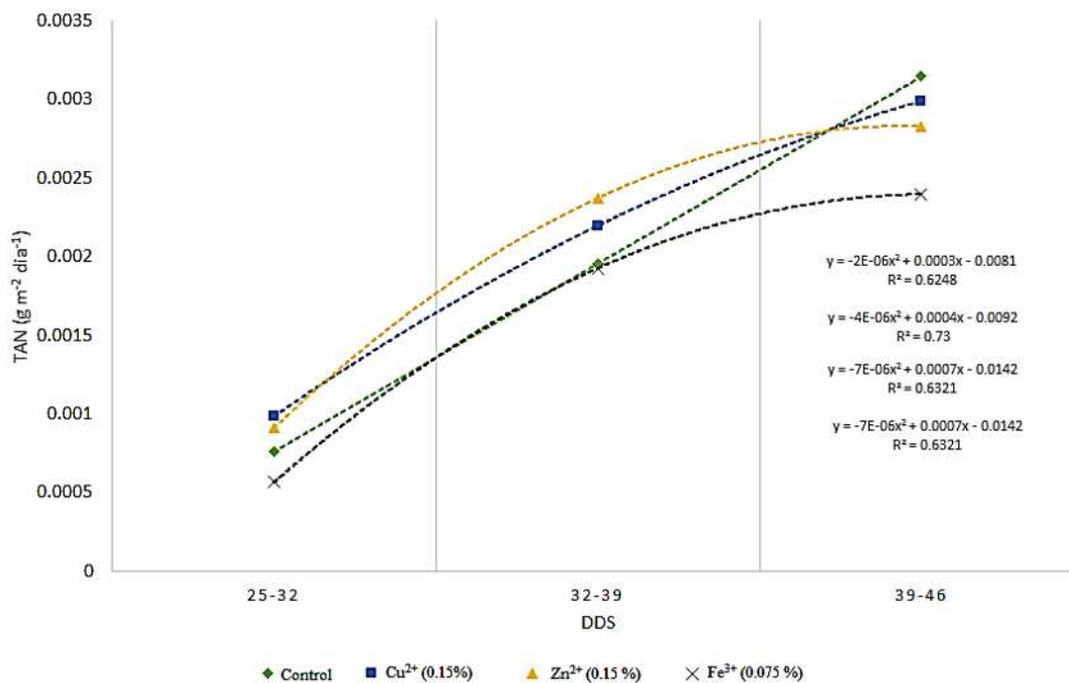


Figura 6. Tendencia de la tasa absoluta de crecimiento (TAC) para plántulas de jamaica cv. Reyna Morada, en la evaluación de los iones asperjados (Cu, Zn y Fe).

3.9. Actividad antioxidante por fecha de muestreo

La capacidad antioxidante evaluada indica el porcentaje de antioxidantes activos en las hojas de las plántulas que inhiben la actividad del radical libre DPPH (Cuadro 8). El análisis estadístico mostró que la mayor cantidad de antioxidantes en las plántulas de jamaica del cv. Reyna Morada se encontraron al día 32 DDS, después de esta fecha el día 39 y 46 se reducen en 31.71 % y 27.22 % respectivamente.

Cuadro 8. Cuadro de separación de medias de Tukey para la capacidad antioxidante en plántulas de jamaica, cv. Reyna Morada y Criolla asperjadas con iones Cu, Zn y Fe, en cuatro fechas de muestreo.

| Muestro | Reyna Morada | Criolla |
|---------|-----------------------------|---------|
| | % de inhibición del radical | |
| 26 DDS | 74.70 b | 74.42 a |
| 32 DDS | 89.68 a | 80.61 a |
| 39 DDS | 61.25 c | 60.84 b |
| 46 DDS | 65.27 c | 59.38 b |
| DMS | 7.30 | 11.65 |

DMS= Diferencia mínima significativa. Medias con la misma letra, dentro de columnas, son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey

a una $P \leq 0.05$.

3.9.1. Capacidad antioxidante por efecto de los tratamientos

Dentro de las cuatro fechas de muestreo el cv. Reyna Morada, solo presento diferencias significativas en dos muestreos, en el primero el tratamiento de Zn presento 5.85 % mayor contenido de capacidad antioxidante que el control. El Cu y Fe, formaron un segundo grupo donde incrementaron la capacidad en 3.43 y 3.36 % respectivamente (Figura 7).

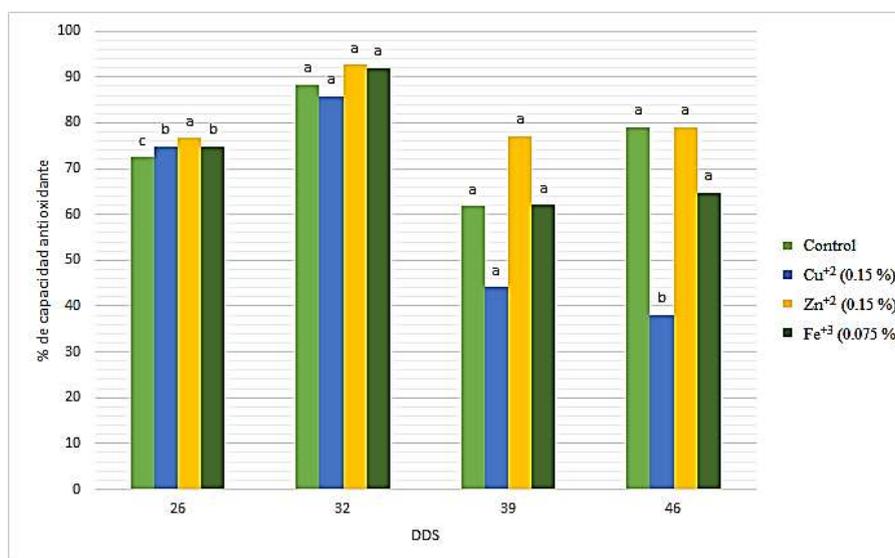


Figura 7. Porcentaje de capacidad antioxidante como efecto de las asperciones de tres iones (Cu, Zn y FE) en hojas de plántulas de *Hibiscus sabdariffa* L., cv. Reyna Morada.

El cv. Criolla presento diferencias significativas en los últimos dos muestreos, donde se formaron tres grupos en ambas fechas, al día 39 la capacidad antioxidante se redujo 23.92 % por efecto del Cu, y en un segundo grupo se redujo por el Zn y el Fe en 10.08 y 12.85 % al compararlo con el control. Al día 46 se presentó el mismo efecto, donde el Cu se redujó 77.74 %, en un segundo grupo el Zn y el Fe, presentaron 19.91 y 16.21 % respectivamente, al comparar con el control (Figura 8).

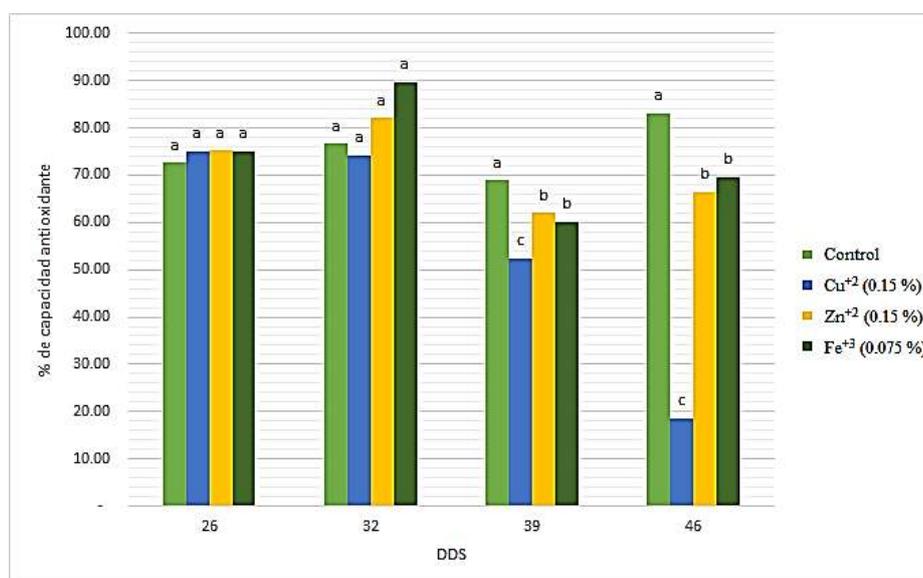


Figura 8. Porcentaje de capacidad antioxidante como efecto de las aspersiones de tres iones (Cu, Zn y FE) en hojas de plántulas de *Hibiscus sabdariffa* L., cv. Criolla.

Estos resultados señalan que los efectos del estrés, aunque se puedan reflejar en algunas variables de desarrollo, como fue el caso de la disminución del área foliar y peso provocados por las aspersiones de Fe y Zn, no siempre inciden directamente en un incremento de la actividad antioxidante. Con relación a los efectos provocados por el Cu, más que estrés, mostraron una tendencia a favorecer el desarrollo y en este caso, la disminución significativa provocada en la capacidad antioxidante parece confirmarlo. Por último, es importante señalar que las respuestas observadas difieren entre las variedades estudiadas.

En una investigación realizada por Kováčik *et al.*, 2008, en plantas de *Matricaria chamomilla* tratadas con Cu en la solución nutritiva, encontraron que se incrementó la actividad de guaiacol peroxidasa (GPOD) asociada a la producción de H₂O₂ para la oxidación de substratos fenólicos, precursores de lignina, auxinas y metabolitos secundarios (Jouili *et al.*, 2011), y donde la concentración fue mayor en raíces que en hojas, ya que el Cu es un elemento que tiende a acumularse en esa área, esta podría ser una de las razones por la cual no se presenta una actividad antioxidante fuerte por efecto del Cu en las hojas analizadas, considerando que conforme se hacían las aspersiones el sistema radicular iba incrementando su peso y que el tratamiento de Cu mostro un mayor peso seco en comparación al control.

Tradicionalmente se atribuye una fuerte capacidad antioxidante a los calices de *Hibiscus sabdariffa* L., esto debido a la fuerte relación que existe entre la actividad antioxidante y la concentración de antocianinas (Tsai *et al.*, 2002). Sin embargo no es la única parte que podría ser aprovechable para consumo humano, ya que el consumo de plántulas como verdura al igual que se consume la lechuga, espinacas, acelgas entre otras., podría ser una buena opción para la ingesta de antioxidantes, además de alrededor de 18 compuestos fenólicos diferentes de acuerdo a un estudio realizado en *H. sabdariffa* L. por Peng *et al.*, 2011. De acuerdo a Ibarra *et al.*, (2011) una inhibición de por lo menos 50 % de la concentración de DPPH representa una buena actividad antioxidante y es verificable que las hojas de jamaica de forma natural mantiene una buena capacidad antioxidante en los dos cultivares. A pesar del fuerte potencial que varios estudios etnobotánicos que arrojan y describen sobre *Hibiscus sabdariffa* L, en cuanto a la parte que se consume, las propiedades y su forma de preparación, no hay especificaciones de su docificación (Dickel *et al.*, 2007).

3.10. Análisis nutrimental

En el cv. Reyna Morada, las aplicaciones foliares modificaron significativamente las concentraciones de Ca, Mg, Fe y Cu (Cuadro 9). Por efecto del Fe y Zn, las concentraciones de Ca disminuyeron casi el 50% con respecto al tratamiento con Cu, que resultó estadísticamente similar al control, la reducción del Ca es un factor desfavorable, ya que este elemento es importante al conformar la estructura celular como estabilizador de la pared celular y membrana plasmática, además de intervenir en los procesos de división y elongación celular (Sáenz *et al.*, 2001). En el caso del Cu, como era de esperarse, su aplicación se reflejó directamente en una mayor concentración del elemento en las hojas; a diferencia del Fe que no incrementó su concentración foliar pero sí pareciera antagónico a la concentración de Zn.. Al comparar algunos elementos analizados con los reportados en hojas en jamaica, como en el caso del fosforo, de acuerdo con Ismail *et al.*, 2008 las hojas contienen 2,140 mg kg⁻¹ (2.14g 100 g) y hierro 48 mg kg⁻¹ valores muy similares a nuestros controles.

Cuadro 9. Efecto de tres tratamientos inductores de estrés (Cu, Zn y Fe) en las concentraciones de ocho nutrimentos determinados en hojas de plántulas de jamaica cv. Reyna Morada a los 47 DDS.

| Tratamiento | N | P | K | Ca | Mg | Cu | Zn | Fe |
|-------------|---------|--------|---------------------|---------|---------|---------|----------------------|----------|
| | | | g. kg ⁻¹ | | | | mg. kg ⁻¹ | |
| Control | 16.60 a | 2.12 a | 9.27 a | 8.22 ab | 3.73 ab | 2.16 b | 38.61 a | 49.35 ab |
| Cu | 12.91 a | 2.20 a | 10.05 a | 9.09 a | 4.34 a | 27.72 a | 31.40 a | 74.65 a |
| Zn | 15.94 a | 1.81 a | 11.25 a | 5.48 bc | 3.04 b | 2.24 b | 42.61 a | 36.40 b |
| Fe | 13.39 a | 1.52 a | 7.29 a | 4.75 c | 2.67 b | 1.70 b | 22.00 a | 58.18 ab |
| DMS | 8.99 | 0.71 | 4.58 | 2.95 | 1.21 | 7.23 | 22.44 | 38.06 |

DMS= Diferencia mínima significativa. Medias con la misma letra, dentro de columnas, son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey

a una $P \leq 0.05$.

En el cv. Criolla, únicamente se detectaron diferencias significativas en la concentración de cobre foliar, la cual como en el caso anterior, se incrementó significativamente (10.49 veces más que el control) debido a la aspersión del mismo elemento (Cuadro 10).

Cuadro 10. Efecto de tres tratamientos inductores de estrés (Cu, Zn y Fe) en las concentraciones de ocho nutrimentos determinados en hojas de plántulas de jamaica cv. Criolla a los 47 DDS.

| F.V | N | P | K | Ca | Mg | Cu | Zn | Fe |
|---------|---------|--------|---------------------|--------|--------|---------|----------------------|---------|
| | | | g. kg ⁻¹ | | | | mg. kg ⁻¹ | |
| Control | 14.45 a | 1.89 a | 9.70 a | 6.32 a | 3.28 a | 1.74 b | 22.31 a | 42.88 a |
| Cu | 14.98 a | 1.64 a | 9.88 a | 5.03 a | 2.99 a | 18.26 a | 18.26 a | 34.43 a |
| Zn | 15.13 a | 2.24 a | 10.91 a | 7.27 a | 3.51 a | 1.90 b | 38.59 a | 51.04 a |
| Fe | 10.11 a | 1.68 a | 7.87 a | 5.35 a | 2.87 a | 1.79 b | 36.02 a | 53.87 a |
| DMS | 8.46 | 0.91 | 5.40 | 2.97 | 1.64 | 4.86 | 26.39 | 30.26 |

DMS= Diferencia mínima significativa. Medias con la misma letra, dentro de columnas, son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey

a una $P \leq 0.05$.

IV.CONCLUSIÓN

El cv. Reyna morada tuvo una mejor respuesta a las aspersiones foliares de los iones aplicados.

Los índices permiten vislumbrar un efecto en la fisiología de las plántulas, producido por el Fe sobre el grosor y el área de la lámina foliar.

El Fe parece tener un mayor efecto sobre la absorción de otros elementos en las plántulas.

Solo el Cu provoca efectos en la capacidad antioxidante en hojas de las plántulas.

Se recomienda esta práctica para la obtención de plántulas con mayores propiedades nutracéuticas.

V.LITERATURA CITADA

- Alcántar G., G. y M. Sandoval, V.1999. Manual de análisis químico de tejido vegetal. Publicación Especial No. 10. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A.C. Chapingo, Edo. de México. 156 p.
- Ariza F. R., V. Serrano A., S. Navarro G., M. E. Ovand C., E. Vázquez G., A. Barrios A., A. C. Michel A., S. H. Guzmán M. y M. A. Otero S. 2014. Variedades mexicanas de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) 'Alma Blanca' y 'Rosaliz' de color claro y 'Cotzaltzin' y 'Teconapa' de color rojo. Revista Fitotecnia Mexicana. 37: 181-185.
- Ayala S., A. y L. A. Valdez, A. 2008. El polvo de coco como sustrato alternativo para la obtención de plantas ornamentales para trasplante. Revista Chapingo Serie Horticultura 14: 161-167.
- Benavidez M., A., J. Romero, G., A. S. Ledesma, P., y J. M. Raygosa, C. 2001. La aplicación foliar de quitosano en ácido acético aumenta la biomasa de la lechuga. Biotam Nueva Serie 12:1-6.
- Benavidez M.A. 2000. Absorción y asimilación de hierro en las plantas. Ciencia UANL 3(1):50-57
- Brand W. W., M. E. Cuvelier, and C. Berset. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT - Food Science and Technology 28: 25-30.
- Caldwell M.M. and S. Flint D.1994. Stratospheric ozone reduction, solar UV-B radiation and terrestrial ecosystems. Climatic Change 28: 375-394.

- Cherif J., Mediouni C., B. Ammar W., and Jemal W. 2011. interactions of zinc and cadmium toxicity in their effects on growth and in antioxidative systems in tomato plants (*Solanum lycopersicum*). Journal of Environmental Sciences 23(5):837-44.
- Cid O. S. y J. A. Guerrero-Beltrán. 2012. Propiedades funcionales de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos 6 (2): 47-63.
- Crozier A., I. B. Jaganath, and M. N. Clifford. 2009. Dietary phenolics: Chemistry, bioavailability and effects on health. Natural Product Reports 26: 1001-1043.
- Cuellar N. D. y J.M. Arrieta H. 2010. Evaluación de respuestas fisiológicas de la planta arbórea *Hibiscus rosasinensis* L, (Cayeno) en condiciones de campo y vivero. Revista Corpoica: Ciencia y Tecnología Agropecuaria. 11: 61-72.
- Da Costa R., I., B. Bonnlaender, H. Sievers, I. Pischel, and M. Heinrich. 2014. *Hibiscus sabdariffa* L. - A phytochemical and pharmacological review. Food Chemistry 165: 424-443.
- Díaz L.E., J. Loeza C., J. Morales R., A. Domínguez L. y O. Franco M. 2013. Eficiencia en el uso de la radiación, tasa de asimilación neta e integral térmica en función del fósforo en maíz (*Zea mays* L.). Agrocência 2 (47): 135-146.
- Díaz P., B., J. Ramos D. y C. Hernández. 2011. El cultivo de rosa de jamaica. IV Congreso de Estudiantes Universitarios de Ciencia, Tecnología e Ingeniería Agronómica. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid. pp: 181-184.
- Dickel M. L., S. M. Kuze Rates and M. R. Ritter. 2007. Plants popularly used for losing weight purposes in Porto Alegre, South Brazil. Journal of Ethnopharmacology 109: 60-71.

- Galicia F. L. A., Y. Salinas M., B. M. Espinoza G y C. Sánchez F. 2008. Caracterización fisicoquímica y actividad antioxidante de extractos de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) nacional e importada. Revista Chapingo Serie Horticultura 14: 121-129.
- Gantet P. and J. Memelink. 2002. Transcription factors: tools to engineer the production of pharmacologically active plant metabolites. Trends in Pharmacological Science 23: 563-569.
- Granados D.S., P. Ruiz P. y H. Barrera E. 2008. Ecología de la herbívora. Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente 14 (1): 51-63.
- Guardiola S. y N. Mach. 2014. Potencial terapéutico del *Hibiscus sabdariffa*: Una revisión de las evidencias científicas. Endocrinología y Nutrición 61: 274-295.
- Huang D., B. Ou, and R. L. Prior. 2005. The Chemistry behind antioxidant capacity assays. Journal of Agriculture and Food Chemistry 53: 1841-1856.
- Ibarra E., E. M. Pacheco S., R. García M., R. San Miguel C., G. Ramirez V. y R. M. Soto H. 2011. Actividad antioxidante de alcaloides de *Erythrina americana* Miller. Revista Fitotecnia Mexicana 34: 241-246.
- Ismail A., E. H. Khairul I., and H. S. Mohd N. 2008. Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) Seeds - Nutritional composition, protein quality and health benefits. Food Global Science Books 2: 1-16.
- Joo W.J., T. Choi, L., J Lee. S. Lee, K., M. Jung, S., N. Kim, and Kim, J. M. 2006. Metal Filament Growth in Electrically Conductive Polymers for Nonvolatile Memory Application. The Journal of Physical Chemistry B. 110:23812–23816

- Jouili H., H. Bouazizi, and E. E. Ferjani. 2011. Plant peroxidases: biomarkers of metallic stress. *Acta Physiologiae Plantarum* 33: 2075-2082.
- Kessmann H., T. Staub, C. Hofmann, T. Maetzke, J. Herzog, E. Ward, S. Theo, S. Uknes and J. Ryals. 1994. Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. *Annual Review of Phytopathology* 32: 439-459.
- Kim S. A. and Guerinot M.L. 2007. Mining iron: Iron uptake and transport in plants. *FEBS Letters* 581(12):2273-2280
- Kováčik J., M. Bačkor, and J. Kaduková. 2008. Physiological responses of *Matricaria chamomilla* to cadmium and copper excess. *Environmental Toxicology* 23: 123-130.
- Mangel K., E. A. Kirkby, H. Kosegart, and T. Appel. 2001. Principles of Plant Nutrition. 5th ed. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 849 p.
- Marschaner H., V. Roemheld and M. Kissel. 1987. Localization of phytosiderophore release and of iron uptake of iron. *Journal Plantarum* 71:157-167.
- Medina M. C. M., E. Medina M., J. H. Aguilar P., S. J. García G. 1999. Aspersiones foliares de manganeso y cobre en nogal pecanero. *Terra Latinoamericana* 17 (4): 317-323.
- Mora A., R., J. Ortiz, C., A. Rivera, P., M. C. Mendoza, C., Ma. T. Colinas, L, H. Lozoya, S. y J. E. Rodríguez, P. 2005. Cinética de la acumulación y distribución de biomasa en genotipos de papa establecidos en condiciones de secano. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 11: 135-142.

- Ojeda D., E. Jiménez, F. A. Zimilpa, A. Herrera, A., J. Tortoriello y L. Álvarez. 2012. Principios activos antihipertensivos presentes en la flor de jamaica. *Ciencia y Desarrollo*. 258:01-06.
- Peng C. H., C. C. Chyau, K. C. Chang, T. H. Chan, C. J. Huang, and C. N. Huang. 2011. *Hibiscus sabdariffa* polyphenolic extract inhibits hyperglycemia, hiperlipidemia, and glycation-oxidative stress while improving insulin resistance. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 59: 9901-9909.
- Quintero I. y F. Barraza. 2009. Densidad poblacional y plasticidad fenotípica del ají picante (*Capsicum annum* L.) cv. Cayene Long Slim. *Revista Intropica*: 4: 55-66.
- Sáenz M.A., Blanco A., Monge E., Val J. 2001. Caracterización de la deficiencia de calcio en plantas de tomate utilizando parámetros fisiológicos. *Información técnica económica agraria* 1(97): 26-38.
- Sánchez D. y M. Aguirreolea, J. 2008. Transpiración y control estomático. *En: Fundamentos de Fisiología Vegetal*. 2ª Edición. McGraw-Hill. pp. 41-56.
- SAS Institute. 2004. SAS Institute ver. 9.0. Cary. N.C. USA.
- Steiner A. A. 1984. The universal nutrient solution. *In: Proceedings of IWOSC 1984 6th International Congress on Soilless Culture*. Wageningen, the Netherlands. pp: 633-649.
- Stohs S. J. and D. Bagchi. 1995. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radical Biology and Medicine* 18: 321-336.
- Taiz L. and E. Zeiger. 1991. *Plant physiology*. Benjamin/Cummings Series in the Life Sciences. California. USA. 565 p.

Tsai P. J., J. McIntosh, P. Pearce, B. Camden, and B. R. Jordan. 2002. Anthocyanin and antioxidant capacity in Roselle extract (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Food Research International* 35: 351-356.

Xing W., H. Wenming, and G. Liu. 2010. Effect of excess iron and copper on physiology of aquatic plant *Spirodela polyrrhiza* L. *Schleid. Toxicology* 25: 103-112.

CAPÍTULO III. DESARROLLO Y PRODUCCIÓN DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.) SOMETIDA A ESTRÉS CON IONES METÁLICOS DURANTE SU ETAPA DE PLÁNTULA

RESUMEN

Bajo condiciones de invernadero se evaluó el desarrollo de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) cv. Reyna Morada y Criolla provenientes de plántulas a las que se les hizo la aplicación foliar de soluciones de Cu (0.15 %), Zn (0.15 %) y Fe (0.075 %). Las plantas se mantuvieron en contenedores de 12 pulgadas con sustrato compuesto de una mezcla de fibra de coco, perlita, vermicomposta y tierra de monte, en proporciones 1:1:1:1, respectivamente y con un riego semanal de solución nutritiva Steiner al 100 % y dos riegos con agua. A la cosecha las variables evaluadas en la planta fueron diámetro y altura de tallo, área foliar, número de hojas, materia seca de tallo y hojas. En cáliz se determinó el número, diámetro, longitud, materia fresca y materia seca, y contenido nutrimental. El trabajo se hizo bajo un diseño experimental completamente al azar con diez repeticiones. Los resultados mostraron que la aplicación foliar de los nutrimentos modificaron la respuesta del cv. Criolla más que en el cv Reyna Morada. El Zn incrementó 25.85% la altura de planta, mientras que el Fe tuvo influencia en el desarrollo del área foliar y peso seco de hojas en 83.07 % y 94.66 %, respectivamente en relación al tratamiento de Cu. En el desarrollo de cáliz, el diámetro aumentó por efecto del Fe en un 14.62 % y el largo así como el número de cálices por el Zn en 3.69 % y 98.45 %, respectivamente. El rendimiento de cálices se incrementó en 96.69 % por el Zn y 54.7 % por el Fe. Se favoreció la acumulación de N, K, Mg y Zn en el cv. Reyna morada con la aplicación en plántula de Fe. En el cv. Criolla también hubo respuesta en algunas variables, por efecto del tratamiento de Fe.

Palabras clave: cobre, zinc, hierro, rendimiento, estrés oxidativo.

I.INTRODUCCIÓN

La jamaica, *Hibiscus sabdariffa* L., pertenece a la familia malvácea. Su origen es África tropical y su cultivo se lleva a cabo en México, Centroamérica, Sudamérica y el Sudeste Asiático (Peng *et al.*, 2011). El principal uso de la jamaica está enfocado al aprovechamiento de los cálices deshidratados, de amplio uso en bebidas, alimentos, cosméticos y productos farmacéuticos (SAGARPA-ASERCA, 1999). Este cultivo contiene alrededor de 18 compuestos fenólicos, entre los que destacan ácidos como el L-ascórbico, araquídico, cítrico, esteárico y málico; además de pectinas, fitoesteroles y polifenoles (Sayago *et al.*, 2007). La alta concentración de metabolitos secundarios en jamaica la asocia con efectos terapéuticos positivos sobre el perfil lipídico, hipertensión y aterosclerosis (Guardiola y Mach, 2014).

Las actuales técnicas de manejo agronómico brindan la posibilidad de elevar la concentración de metabolitos secundarios, mediante la manipulación de las plantas y la inducción controlada del estrés con el uso de compuestos señaladores o prooxidantes como el ácido salicílico o metales pesados (Kessmann *et al.*, 1994 y Valdés *et al.*, 2012). En el caso de iones libres de metales, tales como el aluminio (Silva, 2012), o metales capaces de modificar su estado de oxidación, como el hierro y el cobre ($\text{Cu}^+ / \text{Cu}^{2+}$ o $\text{Fe}^{2+} / \text{Fe}^{3+}$), pueden participar en las reacciones de Haber-Weiss y Fenton que da como resultado la formación del radical hidroxilo (Azpilicueta *et al.*, 2010); de ese modo, el factor inductor de la respuesta puede ocasionar la acumulación de radicales libres (Stoys y Bagchi, 1995). Los radicales libres altamente reactivos (RLO) son átomos o grupos de átomos con un electrón libre. Para lograr su estabilidad electroquímica, los radicales libres inician una reacción en cadena que puede dañar a macromoléculas biológicas como lípidos, proteínas,

carbohidratos y ácidos nucleicos, y desequilibrar la homeostasis del organismo que los contiene (Elejalde, 2001).

La función de los elementos químicos esenciales para las plantas cultivadas ha sido muy bien estudiada, al grado de que se conoce que éstas sintetizan sus componentes metabólicos y estructurales con elementos químicos presentes en el medio que las rodea (Alcántar *et al.*, 2009). El Cu, Zn y Fe son esenciales para la vida y se consideran metales pesados por contar con una densidad mayor de 4.5 g.cm^{-3} (Ernst, 1996). El Cu juega un doble papel en el metabolismo de los organismos fotosintéticos; es un componente importante en las oxidasas y en la cadena de transporte de electrones (plastocianina); aunque a altas concentraciones también es altamente tóxico (Fernandes y Henriques, 1991). El Zn influye en procesos fotosintéticos; es un componente esencial de enzimas para la producción de energía, regulación y síntesis de proteínas (Webb, 1994). A concentraciones mayores a las requeridas, el Zn inhibe la fijación de CO_2 , actúa en el transporte de hidratos de carbono en el floema, y altera la permeabilidad de la membrana celular (Marschner, 1998). El Fe es componente de múltiples enzimas y juega un papel importante en la transferencia de electrones (reacciones redox), en los citocromos (Alcántar, 2009); sin embargo, concentraciones excesivas pueden generar estrés oxidativo, debido al aumento en la concentración de especies reactivas de oxígeno (ROS) dentro de los compartimientos subcelulares de las plantas (Sinha y Saxena, 2006), estos efectos se asocian, generalmente a síntomas de toxicidad y con frecuencia se genera reducción del crecimiento y la producción (Alcántar *et al.*, 2009). Las plantas reaccionan en algunos casos deteniendo sus funciones fisiológicas básicas (Benavides *et al.*, 2002; Tadeo y Gómez., 2008).

En base a lo antes documentado, el objetivo de la presente investigación fue evaluar la respuesta en crecimiento, rendimiento y concentración nutrimental de dos cultivares de

jamaica ‘Reyna Morada’ y ‘Criolla’ a la aspersión foliar de soluciones iónicas de Cu, Zn y Fe, bajo condiciones de invernadero.

II.MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se realizó en el invernadero y laboratorios de Nutrición Vegetal y Tecnología Postcosecha del Colegio de Postgraduados (CP), Campus Montecillo, ubicado a 19° 29’ latitud norte y 98° 54’ longitud oeste, en Montecillo, Texcoco, Estado de México.

2.1. Obtención de material vegetal

Se utilizaron plántulas obtenidas de semilla de los cultivares Criolla y Reyna Morada, donada por productores del municipio de la Huacana, en Michoacán, México.

La jamaica cv. Criolla, posee flores con pétalos rosa pálido con bordes amarillo claros; las anteras maduras son amarillo claras y el estigma es rojo oscuro. Su cáliz, es de color rojo oscuro al momento de la cosecha, mide de 1.4 a 6.0 cm de largo y de 0.5 a 2.5 cm de diámetro. La semilla es de color café oscuro y de forma arriñonada; el peso de 100 semillas varía de 1.4 a 2.1 g; el ciclo de este cultivo hasta la cosecha es de 160 a 180 días (Ariza *et al.*, 2014).

El cv. Reyna Morada, presenta flores de color amarillo rosado y cáliz rojo intenso, que alcanza hasta 7.5 cm de largo y de 5.95 g de peso, en promedio puede alcanzar un rendimiento de 70-80 g planta⁻¹ y su ciclo hasta la cosecha es de 150-165 días (Díaz y Ramos, 2011).

2.2. Establecimiento del experimento

Previo a la siembra, las semillas de cada cultivar se desinfectaron con 10 gotas L^{-1} (v/v) de Hipoclorito de sodio comercial (6%), durante 15 minutos, se enjuagaron con agua destilada y se colocaron en una solución de 10 gotas L^{-1} (v/v) de Microdin ® (plata ionizada), en la cual se mantuvieron durante 15 minutos, se enjuagaron nuevamente y al final se colocaron en agua destilada durante 6 h para su imbibición.

Las semillas, ya embebidas, se colocaron en charolas de polipropileno rígido con 50 cavidades redondas, con dimensiones de 52.7 cm de largo, 26.19 cm de ancho, 6.0 cm de altura y 4.28 L de volumen por charola. En total se requirieron seis charolas por cultivar. Se utilizó como sustrato turba Sphagnum. Las charolas se regaron a diario con agua destilada hasta la germinación y formación de hojas verdaderas. Posteriormente, el riego se hizo con la solución nutritiva de Steiner (Steiner, 1984), cuya composición base fue la siguiente ($meq \cdot litro^{-1}$): 12 NO_3^- , 1 $H_2PO_4^-$, 7 SO_4^{2-} , 7 K, 4 Mg y 9 Ca y micronutrientes), cuando salen las hojas verdaderas el riego se hizo con la solución a 25%, durante 12 días, al 50 % por 15 días y al 100 % hasta finalizar el experimento.

Las charolas se mantuvieron dentro de un invernadero de estructura metálica tipo túnel con 3 m de ancho x 6 m de largo por 3.5 m de altura.

2.3. Manejo del experimento

En el almácigo, las aspersiones correspondientes a cada uno de los tratamientos (Fe, Cu y Zn) del experimento se realizaron a los 18, 25, 32 y 39 días después de la siembra (DDS). Además de los iones considerados, a cada mezcla se le agregó 1 cc L^{-1} de adherente Inex ®.

Siete días después de la última aspersión (47 DDS) se seleccionaron diez plántulas por tratamiento y se trasplantaron a bolsas de plástico de 35 x 35 cm, como sustrato se utilizó una mezcla de fibra de coco lavada, perlita, vermicomposta y tierra de monte, en proporciones 1:1:1:1, respectivamente. Las plantas se mantuvieron en invernadero 103 DDS, se regaron una vez por semana con solución nutritiva Steiner al 100 %, y cada dos días con agua de la llave. La cosecha se realizó manualmente y una vez colectados los cálices, se clasificaron de acuerdo con su estado de desarrollo (Figura 1): E1) botón recién formado (0.1 cm de longitud), E2) botón con cáliz y corola recién formados (0.3 cm), E3) botón floral con cáliz en desarrollo (0.8 cm), E4) botón floral con cáliz más desarrollado (1.2 cm), E5) cálices en formación antes de la floración (2.0 cm), E6) Flor abierta (.5 cm), E7) Post-floración (4.0 cm) y E8) cáliz carnososo con fruto semi-maduro (5 cm).



Figura 1. Cálices de jamaica ‘Reyna Morada’ (A) y ‘Criolla’ (B) en ocho etapas de desarrollo. De izquierda a derecha, en ambos cultivares, la primera corresponde a la E1 y la última a la E8.

2.4. Tratamientos evaluados

Se probaron cuatro tratamientos (Cuadro 1), con diez repeticiones por tratamiento.

Cuadro 1. Tratamientos utilizados en plántulas de jamaica de los cultivares Reyna Morada y Criolla.

| Tratamientos | Descripción |
|--------------|--|
| 1 | Plantas sin aplicaciones foliares en almácigo. Control |
| 2 | Plantas tratadas en almácigo con fertilización foliar de sulfato de Cu^{+2} (0.15 %) |
| 3 | Plantas tratadas en almácigo con fertilización foliar de sulfato de Zn^{+2} (0.15 %) |
| 4 | Plantas tratadas en almácigo con fertilización foliar de quelato de Fe^{+} (EDTA) (0.075 %) |

2.5. Variables evaluadas

Las variables registradas en ambos cultivares fueron: altura de planta diámetro de tallo, número de hojas, área foliar, materia seca de tallo y hojas, ancho y largo de cáliz, peso fresco y seco de los cálices en los ocho etapas de desarrollo determinados y, concentración nutrimental foliar.

La altura de planta se midió en centímetros, con un flexómetro, a partir del cuello de la raíz hasta el ápice de las hojas terminales. El diámetro de tallo, diámetro y ancho de tallo del cáliz se registró en milímetros, con un vernier digital Truper®, a 0.5 cm del suelo.

El área foliar se midió con un integrador LI-COR LI-100®. La materia seca de hojas y cálices se obtuvo por deshidratación en una estufa de secado por aire forzado a 70 °C durante 72 h; su peso se registró con una balanza analítica. Finalmente, el análisis nutrimental se determinó en hojas fotosintéticamente activas muestreadas 103 DDS. El N se determinó por el método Kjeldahl; para el P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, B y Mn, se realizó

con digestión húmeda triácida y el extracto obtenido se leyó en el espectrofotómetro de emisión atómica de inducción con plasma acoplado (ICP-AES VARIAN Liberty™ II), los resultados del análisis nutrimental, se multiplicaron por el peso seco de la planta para determinar la cantidad extraída de cada elemento.

2.6. Análisis estadístico

Los datos se procesaron con análisis de varianza (ANOVA) y las prueba de separación de medias correspondiente (Tukey, $P \geq 0.05$) con el paquete estadístico SAS (SAS Institute versión 9.0).

III.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Desarrollo del cáliz

Estadísticamente no hubo diferencias en ninguna de las variables evaluadas en el cáliz del cv. Reyna Morada, ya que no fueron afectadas por las aspersiones foliares de Cu, Zn y Fe que se hicieron en almácigo. En promedio, se produjeron 22.9 cálices por planta, de 5.0 cm diámetro y 6.05 cm de longitud, cuyo peso de materia fresca fue de 8.5 g. La materia seca del cáliz más frutos fue de 2.42 g y 1.1 g el peso seco de cáliz (Cuadro 2). En el tamaño, los cálices de plantas que no recibieron aspersiones de iones fueron más grandes. De manera general, el tamaño del cáliz tanto en longitud como en diámetro resultó superior (26.62 y 54 %, respectivamente) a los promedios reportado por Ramírez *et al* (2011), en cálices del mismo cultivar, obtenidos en una parcela experimental; los cuales tuvieron 4.44 cm de longitud y 2.5 cm de diámetro. Estas diferencias se atribuyen a que las condiciones ambientales y de manejo en invernadero fueron mejores que las de campo y se reflejaron claramente en el desarrollo de los cálices.

Cuadro 2. Efecto de la aspersión de tres iones metálicos, aplicados en la etapa de plántula en jamaica ‘Reyna Morada’ cultivada en invernadero, sobre el desarrollo de los cálices, 103 DDS.

| Tratamiento | Diámetro de cáliz (cm) | Largo de cáliz (cm) | Número de cáliz | Peso seco cáliz fruto (g) | Peso fresco cáliz fruto (g) | Peso seco cáliz (g) |
|-------------|------------------------|---------------------|-----------------|---------------------------|-----------------------------|---------------------|
| Control | 5.13 a | 6.25 a | 24.20 a | 2.52 a | 8.31 a | 1.18 a |
| Cu | 4.95 a | 5.84 a | 22.20 a | 2.46 a | 8.01 a | 1.06 a |
| Zn | 5.03 a | 6.15 a | 19.30 a | 2.68 a | 9.12 a | 1.18 a |
| Fe | 5.04 a | 5.97 a | 25.90 a | 2.04 a | 7.98 a | 0.98 a |
| DMS | 0.32 | 0.52 | 12.96 | 0.81 | 1.25 | 0.30 |

DMS= diferencia mínima significativa. Medias con la misma letra, dentro de columnas, indican que no hay diferencias significativas,

(Tukey, $P \leq 0.05$).

En la jamaica Criolla, se detectaron diferencias significativas para diámetro, longitud y número de cálices (Cuadro 3). El mayor y menor diámetro de cáliz se registró en los tratamientos con Fe (5.8 cm) y Cu (4.7 cm), respectivamente. Este comportamiento puede estar relacionado con una mayor actividad fotosintética favorecida por el Fe y por un efecto fitotóxico residual del Cu. En la longitud del cáliz debería esperarse algo similar; sin embargo, el tratamiento con Fe resultó mucho más pequeño. Con respecto al número de cálices, hubo una respuesta favorable a las aspersiones foliares en plántula. El tratamiento con Zn (19.4 cálices) fue el único que superó estadísticamente al control (8.5 cálices), lo cual indica que posiblemente la aportación de este elemento por la solución nutritiva es insuficiente para que la planta manifieste su máximo potencial productivo, por lo que aplicaciones adicionales por vía foliar favorecieron su producción. En un experimento realizado por Ozturk *et al.* (2003) en plantas de *T. caerulea* se observó algo similar, al suministrar una dosis superior de Zn se incrementó el número de brotes florales.

Cuadro 3. Efecto de la aspersión de tres iones metálicos, aplicados en la etapa de plántula en jamaica ‘Criolla’ cultivada en invernadero, sobre el desarrollo de los cálices, 103 días después de siembra.

| Tratamiento | Diámetro de cáliz (cm) | Largo de cáliz (cm) | Número de cálices | Peso seco cáliz fruto (g) | Peso fresco cáliz fruto (g) | Peso seco cáliz (g) |
|-------------|------------------------|---------------------|-------------------|---------------------------|-----------------------------|---------------------|
| Control | 5.06 bc | 5.95 ab | 19.40 b | 1.94 a | 8.16 a | 1.11 a |
| Cu | 4.68 c | 5.60 bc | 22.00 ab | 1.44 a | 7.10 a | 1.17 a |
| Zn | 5.23 b | 6.17 a | 38.50 a | 1.92 a | 8.54 a | 1.05 a |
| Fe | 5.80 a | 5.19 c | 32.70 ab | 1.96 a | 7.72 a | 0.95 a |
| DMS | 0.47 | 0.50 | 16.90 | 0.75 | 1.62 | 0.39 |

DMS= diferencia mínima significativa. Medias con la misma letra, dentro de columnas, indican que no hay diferencias significativas,

(Tukey, $P \leq 0.05$).

Durante las ocho etapas de desarrollo de los cálices del jamaica cv. Reyna Morada, no se observaron diferencias estadísticas en el peso fresco en función de los tratamientos de aspersión realizados durante su etapa de plántula. A través del tiempo,

como es de esperarse, se observa claramente que el peso se va incrementando conforme aumenta la edad (Cuadro 4).

Cuadro 4. Peso fresco (g) de cálices de jamaica ‘Reyna Morada’ procedentes de plantas asperjadas con iones metálicos durante su etapa de plántula, en ocho etapas de desarrollo (de E1 a E8).

| Tratamiento | E1 | E2 | E3 | E4 | E5 | E6 | E7 | E8 |
|-------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Control | 0.08 a | 0.14 a | 0.35 a | 0.91 a | 1.44 a | 2.2 a | 3.46 a | 8.31 a |
| Cu | 0.08 a | 0.12 a | 0.32 a | 0.62 a | 1.35 a | 1.7 a | 3.34 a | 8.01 a |
| Zn | 0.1 a | 0.15 a | 0.32 a | 0.74 a | 1.35 a | 2.01 a | 3.55 a | 9.12 a |
| Fe | 0.06 a | 0.13 a | 0.29 a | 0.75 a | 1.38 a | 1.94 a | 3.05 a | 7.99 a |
| DMS | 0.04 | 0.07 | 0.11 | 0.29 | 0.66 | 0.76 | 1.15 | 1.28 |

DMS= diferencia mínima significativa. E= etapa de desarrollo. Medias con la misma letra, dentro de columnas, indican que no hay diferencias significativas, (Tukey, $P \leq 0.05$). E1) botón recién formado (0.1 cm de longitud), E2) botón con cáliz y corola recién formados (0.3 cm), E3) botón floral con cáliz en desarrollo (0.8 cm), E4) botón floral con cáliz más desarrollado (1.2 cm), E5) cálices en formación antes de la floración (2.0 cm), E6) Flor abierta (.5 cm), E7) Post-floración (4.0 cm) y E8) cáliz carnoso con fruto semi-maduro (5 cm).

En los cálices del cv. Criolla se detectaron diferencias entre tratamientos durante E1 y E4 (Cuadro 5), en ambas, el control superó a los otros tratamientos. Esta respuesta puede atribuirse al efecto estresante de las aspersiones de los iones en las primeras etapas de desarrollo de la planta, que posiblemente limitaron la absorción de agua o incrementaron la transpiración y que se relaciona estrechamente con la relación fuente-demanda.

Cuadro 5. Peso fresco (g) de cálices de jamaica ‘Criolla’, procedentes de plantas asperjadas con iones metálicos durante su etapa de plántula, en ocho etapas de desarrollo (de E1 a E8).

| Tratamiento | E1 | E2 | E3 | E4 | E5 | E6 | E7 | E8 |
|-------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Control | 0.09 a | 0.18 a | 0.39 a | 0.94 a | 1.04 a | 1.66 a | 3.60 a | 8.16 a |
| Cu | 0.04 b | 0.14 a | 0.29 a | 0.55 b | 1.01 a | 1.45 a | 2.94 a | 7.10 a |
| Zn | 0.04 b | 0.16 a | 0.39 a | 0.65 b | 1.14 a | 1.63 a | 3.25 a | 8.54 a |
| Fe | 0.04 b | 0.12 a | 0.31 a | 0.61 b | 0.98 a | 1.76 a | 2.77 a | 7.72 a |
| DMS | 0.03 | 0.10 | 0.14 | 0.27 | 0.51 | 0.70 | 0.91 | 3.80 |

DMS= diferencia mínima significativa. E= etapa de desarrollo. Medias con la misma letra, dentro de columnas, indican que no hay diferencias significativas, (Tukey, $P \leq 0.05$). E1) botón recién formado (0.1 cm de longitud), E2) botón con cáliz y corola recién formados (0.3 cm), E3) botón floral con cáliz en desarrollo (0.8 cm), E4) botón floral con cáliz más desarrollado (1.2 cm), E5) cálices en formación antes de la floración (2.0 cm), E6) Flor abierta (.5 cm), E7) Post-floración (4.0 cm) y E8) cáliz carnoso con fruto semi-maduro (5 cm).

En la acumulación de materia seca de los cálices del cv. Reyna Morada, no se detectaron diferencias por efecto de los tratamientos en ninguna de las ocho etapas de desarrollo (Cuadro 6).

Cuadro 6. Peso seco (g) de cálices de jamaica ‘Reyna Morada’ procedentes de plantas asperjadas con iones metálicos durante su etapa de plántula, en ocho etapas de desarrollo (de E1 a E8). Tratamiento

| | E1 | E2 | E3 | E4 | E5 | E6 | E7 | E8 |
|---------|---------|---------|---------|---------|--------|--------|--------|--------|
| Control | 0.01 a | 0.04 a | 0.056 a | 0.094 a | 0.15 a | 0.25 a | 0.47 a | 1.17 a |
| Cu | 0.03 a | 0.05 a | 0.106 a | 0.13 a | 0.23 a | 0.22 a | 0.42 a | 1.06 a |
| Zn | 0.01 a | 0.022 a | 0.053 a | 0.12 a | 0.16 a | 0.23 a | 0.42 a | 1.18 a |
| Fe | 0.008 a | 0.022 a | 0.039 a | 0.082 a | 0.15 a | 0.21 a | 0.32 a | 0.98 a |
| DMS | 0.04 | 3.86 | 0.09 | 0.09 | 0.25 | 0.10 | 0.16 | 0.31 |

DMS= diferencia mínima significativa. E= etapa de desarrollo. Medias con la misma letra, dentro de columnas, indican que no hay diferencias significativas, (Tukey, $P \leq 0.05$). E1) botón recién formado (0.1 cm de longitud), E2) botón con cáliz y corola recién formados (0.3 cm), E3) botón floral con cáliz en desarrollo (0.8 cm), E4) botón floral con cáliz más desarrollado (1.2 cm), E5) cálices en formación antes de la floración (2.0 cm), E6) Flor abierta (.5 cm), E7) Post-floración (4.0 cm) y E8) cáliz carnoso con fruto semi-maduro (5 cm).

En el cv. Criolla sólo se detectaron diferencias significativas en E6, que corresponde a la etapa de floración, en la cual la acumulación de materia seca disminuyó 41.67 % en el tratamiento con Cu, lo cual al parecer sigue manifestando un efecto residual estresante provocado por este elemento en la fase de plántula (Cuadro 7).

Cuadro 7. Peso seco (g) de cálices de jamaica ‘Criolla’ procedentes de plantas asperjadas con iones metálicos durante su etapa de plántula, en ocho etapas de desarrollo (de E1 a E8).

| Tratamiento | E1 | E2 | E3 | E4 | E5 | E6 | E7 | E8 |
|-------------|---------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Control | 0.013 a | 0.02 a | 0.05 a | 0.18 a | 0.12 a | 0.24 a | 0.38 a | 1.11 a |
| Cu | 0.007 a | 0.02 a | 0.04 a | 0.08 a | 0.11 a | 0.14 b | 0.48 a | 1.17 a |
| Zn | 0.013 a | 0.03 a | 0.05 a | 0.09 a | 0.13 a | 0.18ab | 0.36 a | 1.05 a |
| Fe | 0.009 a | 0.02 a | 0.04 a | 0.07 a | 0.15 a | 0.20ab | 0.41 a | 0.95 a |
| DMS | 0.01 | 0.01 | 0.02 | 0.11 | 0.12 | 0.09 | 0.29 | 0.39 |

DMS= diferencia mínima significativa. E= etapa de desarrollo. Medias con la misma letra, dentro de columnas, indican que no hay diferencias significativas, (Tukey, $P \leq 0.05$). E1) botón recién formado (0.1 cm de longitud), E2) botón con cáliz y corola recién formados (0.3 cm), E3) botón floral con cáliz en desarrollo (0.8 cm), E4) botón floral con cáliz más desarrollado (1.2 cm), E5) cálices en formación antes de la floración (2.0 cm), E6) Flor abierta (.5 cm), E7) Post-floración (4.0 cm) y E8) cáliz carnoso con fruto semi-maduro (5 cm).

3.2. Variables relacionadas con el desarrollo vegetativo en el cv. Reyna Morada

En respuesta a los tratamientos aplicados durante su etapa de plántulas, en el cv. Reyna Morada no se detectaron diferencias significativas para ninguna variable asociada con el desarrollo vegetativo (Cuadro 8 y Figura 2); cuyos valores promedio fueron: altura de planta, de 6.14 cm; diámetro de tallo, de 9.71 mm; peso seco de tallo, 8.61g; área foliar, 877.70 cm²; número de hojas, 49.7 y peso seco de hojas, 7.79 g.

Cuadro 8 . Efecto de la aspersión de tres iones metálicos, aplicados en la etapa de plántula en jamaica ‘Reyna Morada’ cultivada en invernadero, sobre variables asociadas con el desarrollo vegetativo.

| Tratamiento | Altura (cm) | Diámetro tallo (mm) | Peso seco tallo (g) | Área foliar (cm ²) | Número de hojas | Peso seco de hojas (g) |
|-------------|-------------|---------------------|---------------------|--------------------------------|-----------------|------------------------|
| Control | 59.60 a | 9.59 a | 9.07 a | 837.4 a | 52.30 a | 8.93 a |
| Cu | 61.95 a | 9.47 a | 8.93 a | 740.0 a | 45.30 a | 7.50 a |
| Zn | 61.75 a | 9.82 a | 6.63 a | 694.2 a | 45.40 a | 6.80 a |
| Fe | 62.30 a | 9.99 a | 9.83 a | 830.9 a | 54.50 a | 7.95 a |
| DMS | 9.81 | 1.45 | 5.12 | 408.33 | 19.94 | 4.13 |

DMS= diferencia mínima significativa. Medias con la misma letra, dentro de columnas, indican que no hay diferencias significativas,

(Tukey, $P \leq 0.05$).



Figura 2. Desarrollo de plantas de jamaica ‘Reyna Morada’, 103 días después de siembra, que fueron asperjadas durante su etapa de plántulas con Cu, Zn y Fe.

3.3. Variables relacionadas con el desarrollo vegetativo en el cv. Criolla

En el cv. Criolla se detectaron diferencias significativas en cuatro variables de este grupo (Cuadro 9 y Figura 4). Las plantas asperjadas con Zn superaron en altura (25.84 %) únicamente al tratamiento con Cu, que midió 53.2 cm. De acuerdo con Bonilla (2008), el Zn interviene en el desarrollo de las hojas y entrenudos. Su efecto en el desarrollo del tallo se relaciona con la producción de ácido indolacético, pues hay una relación fuerte entre los niveles de Zn y la concentración de la auxina. El hecho de no encontrar diferencias en el peso seco del tallo, indica que el efecto del Zn sólo provocó alargamiento de los tejidos pero no acumulación de materia seca.

El área foliar, número de hojas, y peso seco de hojas se incrementó significativamente 83.07, 53.05 y 94.66 %, respectivamente con Fe, pero sólo respecto al de Cu, pues estadísticamente fue similar a los otros dos (Cuadro 9 y Figura 3). Bonilla (2008), también menciona la esencialidad del Fe en los vegetales, por su participación en la

biosíntesis de la molécula de clorofila, en el transporte de electrones y en la regulación de la actividad enzimática asociado a la fotosíntesis. Peil y Gálvez (2005) indican que los asimilados, producidos por la fotosíntesis en los órganos fuente (principalmente las hojas), se almacenan (materia seca) o translocan vía floema, a los diferentes sitios de demanda (frutos o raíces). En este caso, el enunciado anterior puede explicar las diferencias observadas entre los tratamiento con Fe y Cu, pero no con relación a los otros dos, que estadísticamente resultaron similares entre sí. Los valores menores observados en el tratamiento con Cu, posiblemente estén asociados con un efecto residual del estrés inducido a las plántulas con las aspersiones de este elemento.

Cuadro 9 . Efecto de la aspersión de tres iones metálicos, aplicados en la etapa de plántula en jamaica ‘Criolla’ cultivada en invernadero; sobre variables asociadas con el desarrollo vegetativo.

| Tratamiento | Altura (cm) | Diámetro tallo (mm) | Peso seco tallo (g) | Área foliar(cm ²) | Número de hojas | Peso seco hojas (g) |
|-------------|-------------|---------------------|---------------------|-------------------------------|-----------------|---------------------|
| Control | 62.10 ab | 10.03 a | 8.11 a | 693.1 ab | 49.20 ab | 7.08ab |
| Cu | 53.20 b | 8.99 a | 7.95 a | 555.3 b | 42.60 b | 5.62 b |
| Zn | 66.95 a | 10.47 a | 9.09 a | 850.9 ab | 57.60 ab | 8.71ab |
| Fe | 62.40 ab | 10.75 a | 12.85 a | 1016.6 a | 65.20 a | 10.94a |
| DMS | 10.51 | 1.87 | 5.78 | 402.84 | 20.83 | 4.01 |

DMS= diferencia mínima significativa. Medias con la misma letra, dentro de columnas, indican que no hay diferencias significativas,

(Tukey, $P \leq 0.05$).



Figura 3. Desarrollo de plantas de jamaica cv. Criolla, 103 días después de siembra, que fueron asperjadas durante su etapa de plántulas con Cu, Zn y Fe.

3.4. Rendimiento por planta

En el cultivo Reyna Morada (Cuadro 10) no hubo diferencias estadísticas significativas en el rendimiento de cálices por planta (g); que resultó considerablemente menor al obtenido por Díaz y Ramos (2011), quienes registraron promedios de 70 a 80 g por planta. Esto indica que bajo condiciones de campo, a cielo abierto, las plantas son más productivas. Lo anterior también aclara por qué en campo los cálices son más pequeñas, pues al producir más disminuye su tamaño. Además, comprueba el efecto positivo del raleo para incrementar el tamaño de los frutos en distintas especies (Peil y Gálvez, 2005).

Cuadro 10. Rendimiento por planta de cálices de jamaica cv. Reyna Morada, en respuesta a las aspersiones de Cu, Zn y Fe aplicadas en etapa de plántula.

| Tratamiento | Rendimiento (g.planta ⁻¹) |
|-------------|--|
| Control | 28.56 a |
| Cu | 23.94 a |
| Zn | 23.30 a |
| Fe | 25.09 a |
| DMS | 16.53 |

DMS= diferencia mínima significativa. Medias con la misma letra, dentro de columnas, indican que no hay diferencias significativas, (Tukey, $P \leq 0.05$).

En el cultivar Criolla se incrementó más del 90 % el rendimiento por efecto de la aplicación foliar Zn en plántulas, esto en comparación con los tratamientos de Cu y el control. (Figura 5).

En un sistema de jamaica asociada con maíz, en el estado de Guerrero (Navarro, 2004), se siembran 50,000 plantas por hectárea y producen 380 kg ha⁻¹. Bajo el sistema utilizado en este experimento, los tratamientos con Zn y Fe a una densidad de 50,000 plantas por hectárea, producirían 2,000 y 1,600 kg ha⁻¹, respectivamente. Cabe resaltar que en este experimento además de las aspersiones al follaje, se llevó a cabo la nutrición por la raíz de manera puntual, así como su producción en invernadero en una zona al 2250 msnm. Lo que explica por qué los bajos rendimientos; por lo que se considera que bajo condiciones de campo, el manejo nutrimental es un factor al que se le debe dar mayor importancia.

El rendimiento obtenido en el presente trabajo también supera el de un experimento establecido en Sinaloa (Pérez, 2010), donde se cosecharon 967.5 y 1,225 kg ha⁻¹, en las variedades Criolla de Puebla y Criolla de Nayarit, respectivamente. En dicho experimento, la germinación también se realizó en almacigo e invernadero, y las plantas se trasplantaron al mes de emerger. Esto indica que el trasplante no repercute en gran medida para la adaptación de la jamaica a condiciones de campo, por lo que puede ser una buena alternativa a la siembra directa, si la factibilidad económica lo permite.

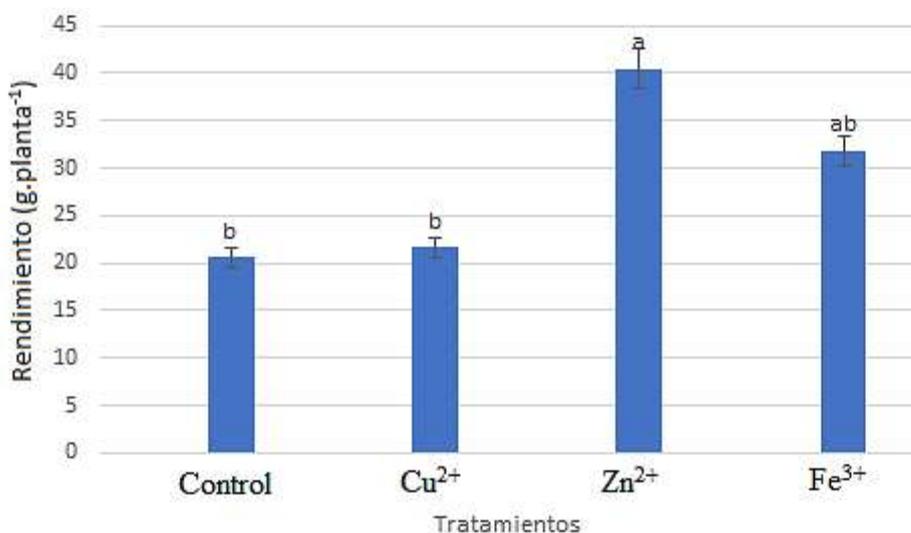


Figura 4. Rendimiento por planta de cálices de jamaica cv. Criolla, en respuesta a las aspersiones de Cu, Zn y Fe aplicadas en la etapa de plántula.

3.5. Contenido nutrimental en follaje

La aplicación en etapa de plántula de los iones Cu, Zn y Fe, ejerció efectos significativos ($P \leq 0.05$) sobre la concentración de P, K, Mg y Zn determinados en hojas fotosintéticamente activas 103 DDS (Cuadro 11).

La concentración de P, K, Mg se incrementó en 22.64 %, 69.35 % y 56.23 %, respectivamente por efecto del Fe, en comparación con el tratamiento de Zn. En cuanto a la concentración de Zn del tejido estudiado, el control superó claramente a los tratamientos con este elemento y con Cu.

La interacción que hay entre el Fe y el P se debe a que el P interfiere en el transporte interno de Fe, al formarse fosfatos de hierro, el Fe también se encuentra unido a fosfoproteínas (en forma Fe^{2+} o Fe^{3+}) importantes en el equilibrio de las células, la síntesis de hemo y clorofila (Fernández, 2007)

El K juega un papel esencial en el crecimiento y metabolismo de la planta, activando enzimas, como osmorregulador para mantener la presión de turgencia de los tejidos y en la apertura y cierre estomático; su deficiencia puede afectar la fotosíntesis y la fijación neta de CO₂ (Sánchez *et al.*, 2006). La participación del Fe y el Mg en conjunto, en las plantas, se debe principalmente a que el Fe interviene en la síntesis de clorofila, conforma la estructura de los cloroplastos y participa en el funcionamiento de los mismos, además este elemento también participa en el transporte de electrones de los fotosistemas (Romheld y Marschner, 1981).

Cuadro 11. Concentración nutrimental en hojas de jamaica cv. Reyna Morada, determinada 103 días después de siembra, afectada por aspersiones foliares de Cu², Zn² y Fe realizadas durante la etapa de plántula.

| F.V | N | P | K | Ca | Mg | B | Cu | Zn | Fe | Mn |
|---------|---------------------|----------|----------|---------|----------|---------|---------------------|-----------|----------|---------|
| | g .kg ⁻¹ | | | | | | mg.kg ⁻¹ | | | |
| Control | 8.82 a | 16.71 ab | 64.71 ab | 59.85 a | 31.67 ab | 310.0a | 50.0 a | 320.46 a | 622.6 a | 672.9 a |
| Cu | 11.28 a | 15.89 ab | 74.7 ab | 43.09 a | 30.5 ab | 380.0 a | 50.0 a | 89.75 b | 401.06 a | 769.9 a |
| Zn | 11.28 a | 15.9 b | 46.21 b | 45.64 a | 24.7 b | 260.1 a | 30.0 a | 111.27 b | 370.04 a | 598.9 a |
| Fe | 12.86 a | 19.56 a | 78.26 a | 33.84 a | 38.59 a | 390.2 a | 40.1 a | 146.02 ab | 504.12 a | 716.6 a |
| DMS | 14.11 | 3.99 | 31.31 | 70.94 | 9.76 | 230.0 | 30.2 | 199.52 | 276.16 | 24.0 |

F.V.= fuente de variación .DMS= diferencia mínima significativa. Medias con la misma letra, dentro de columnas, son estadísticamente iguales (Tukey, P ≤ 0.05).

En las hojas del cv. Criolla se presentaron efectos significativos en todos los nutrimentos analizados. Sin excepción, en las plántulas donde se aplicó al follaje el Fe, se observaron las mayores concentraciones de los elementos, en tanto que el control y el tratamiento con Cu registraron los menores niveles. La mayor acumulación se puede deber al mayor desarrollo de las plantas del tratamiento de Fe, ya que presento mayor área foliar y peso seco, pero no mayor rendimiento, situación que pudo provocar que los nutrientes se acumularan sólo en las hojas y tallos (Cuadro 12).

Cuadro 12. Concentración nutrimental en hojas de jamaica cv. Criolla, determinada 103 días después de siembra, afectada por aspersiones foliares de Cu², Zn² y Fe realizadas durante la etapa de plántula.

| F.V | N | P | K | Ca | Mg | B | Cu | Zn | Fe | Mn |
|---------|---------------------|----------|----------|----------|----------|-----------|---------------------|-----------|-----------|----------|
| | g .kg ⁻¹ | | | | | | mg.kg ⁻¹ | | | |
| Control | 6.8 b | 15.14 cb | 53.01 b | 22.7 b | 2.9 b | 48.56 b | 5.80 b | 10.0 b | 59.45 b | 92.0 b |
| Cu | 6.64 b | 14.2 c | 63.95 b | 57.70 ab | 2.18 b | 470.90 ab | 50.82 b | 98.97 b | 47.47 b | 104.0 ab |
| Zn | 8.72 ab | 19.17 b | 74.51 ab | 64.12 a | 41.06 ab | 574.96 ab | 65.52 b | 155.91 ab | 557.76 ab | 126. ab |
| Fe | 1.87 a | 24.96 a | 98.1 a | 86.2 a | 50.95 a | 726.04 a | 159.89 a | 295.22 a | 756.19 a | 1492.7 a |
| DMS | 5.61 | 4.28 | 31.75 | 41.56 | 10.07 | 266.27 | 89.86 | 145.7 | 280.74 | 544.2 |

F.V.= fuente de variación .DMS= diferencia mínima significativa. Medias con la misma letra, dentro de columnas, son estadísticamente iguales (Tukey, P ≤ 0.05).

IV.CONCLUSIONES

La aplicación foliar de iones metálicos (Fe, Cu y Zn) a plántulas de cv. Criolla favoreció el desarrollo de las plantas en el invernadero y el rendimiento en comparación con el cv. Reyna Morada.

Considerando que el cáliz es la parte comercial de la planta, es posible decir que la aplicación de Zn favoreció el desarrollo del cáliz e incremento el rendimiento.

El Fe, mejoró el desarrollo del área foliar y la acumulación de materia seca en la planta, así como la concentración nutrimental.

El Cu, induce una respuesta efecto desfavorable en las variables analizadas.

V.LITERATURA CITADA

- Alcántar G., G., L. I. Trejo T., L. Fernández P, y M. N. Rodríguez M. 2009. Elementos esenciales. pp: 8-4. *In:* Alcántar, G., L. I. Trejo T. (eds.) *Nutrición de Cultivos*. Ed. Colegio de Postgraduados y Mundi-Prensa. México D. F. 451 p.
- Ariza F., R., V. Serrano A., S. Navarro G., M.E. Ovando C., E. Vázquez G., A. Barrios A., A.C. Michel A., S.H. Guzmán M., y M. Sánchez O. 2014. Variedades mexicanas de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) Alma blanca y Rosaliz de color claro y Cotxaltzin y Teconapa de color rojo. *Revista Fitotecnia Mexicana* 7 (2):181-185.
- Azpilicueta C., L. Pena., y S. Gallego. 2010. Los metales y las plantas entre la nutrición y la toxicidad. *Revista Ciencia Hoy* 116 (20): 12-16.
- Benavides M., A., H. Ramírez R., V. Robledo T., R. Maiti., E. Cornejo O., J. Hernández D., A. Sandoval R..., R. Mendoza V., E. Samaniego C., J.G. Ramírez M., E. Bacopulos T., A. Aguilera C. y L.O. Fuentes L.2002. *Ecofisiología y bioquímica del estrés en plantas*. Primera ed. Departamento de Horticultura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila. 228 p.
- Bonilla I. 2008. Introducción a la nutrición mineral de las plantas. Los elementos minerales. pp. 10-121.*In:* J. Azcón., y M. Talón (eds.). *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. Edit. Mc Graw Hill. México DF. 651p.
- Díaz P., B y J. Ramos D. 2011. El cultivo de rosa de jamaica. IV Congreso de Estudiantes Universitarios de Ciencia, Tecnología e Ingeniería Agronómica. Madrid, España. pp. 181-184.
- Elejalde G. J. I. 2001. Oxidative stress, disease and antioxidant treatment. *Anales de Medicina Interna* 18: 26-5.

- Ernst W. H. 1996. Schwermetalle. Pp: 191-220. *In*: Brunold, Ch., A. Rüegsegger y R. Brändle (eds). Stress bei Pflanzen. UTB für Wissenschaft. Verlag Paul Haupt, Stuttgart.
- Fernandes J. C. and F. S. Henriques. 1991. Biochemical, physiological and structural effects of excess copper in plants. *The Botanical Review* 57: 246-27.
- Fernández M. T. 2007. Fósforo: amigo o enemigo. Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar- 2: 51:57.
- Guardiola S., y N. Mach. 2014. Potencial terapéutico del *Hibiscus sabdariffa*: una revisión de las evidencias científicas. *Endocrinología y Nutrición*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.endonu.201.10.012>
- Kessmann H., C. Hofmann., T. Maetzke., J. Herzog., E. Ward., S. Theo., S. Uknes, and J. Ryals. 1994. Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. *Annual Review of Phytopathology* 2: 49-459.
- Marschner H. 1998. Mineral nutrition of higher plants. Academic Press, San Diego, CA. pp. 1-96.
- Navarro G., S. 2004. Tecnología para la producción de jamaica. Fundación Produce Guerrero. 8: 4-12.
- Ozturk L., S. Karanlik., F. Ozkutlu., I. Cakmak., and L. K. Kochian. 2003. Shoot biomass and absorption of zinc / cadmium hyperaccumulator *Thlaspi* species and no batteries in response to growth on a calcareous and zinc deficient. *Plant Science* 164: 1095-1101.

- Peil R., M., y J. L. Gálvez. 2005. Reparto de materia seca como factor determinante de la producción de las hortalizas de fruto cultivadas en invernadero. *Revista Brasileira de Agrociência* 11: 05-11.
- Peng C., H., C. C. Chyau, K., C. Chan, T., H. Chan, C., J. Wang, and C. N. Huang. 2011. *Hibiscus sabdariffa* polyphenolic extract inhibits hyperglycemia, hyperlipidemia, and glycation-oxidative stress while improving insulin resistance. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 9901-9909.
- Pérez V., L. 2010. Jamaica con potencial productivo y rentable para Sinaloa. Centro de Validación y transferencias de Tecnología, A.C., Fundación Produce Sinaloa. 18 p.
- Ramírez C., B. F. de J. Caro, B., M. G. Valdivia, R., M. H. Ramírez, L., y M. L. Machuca, S. 2011. Cambios en tamaño y características químicas de cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) durante su maduración. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 17 (Ed. Especial 2): 19-1.
- Romheld V., and H. Marschner. 1981. Iron deficiency stress induced morphological and physiological changes in root tips of sunflowers. *Plant Physiology* 5: 54-60.
- SAGARPA –ASERCA.1999. México, proveedor de plantas medicinales al mundo. *Claridades Agropecuarias* 7: 1-21.
- Sánchez C., E., J. M. Soto P., J. M. Ruíz S. y R. Romero M. 2006. Biomasa, actividad enzimática y compuestos nitrogenados en plantas de frijol ejotero bajo diferentes dosis de potasio. *Agricultura Técnica en México* 2: 27-7.

- Sáyago A., S., S. Arranz, J. Serrano, and I. Goñi. 2007. Dietary fiber content and associated antioxidant compounds in Roselle flower (*Hibiscus sabdariffa* L.) beverage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55:7886-7890.
- Silva S. 2012. Aluminium toxicity targets in plants. *Journal of Botany*. 1: 8 p.
- Sinha S. and R. Saxena. 2006. Effect of iron on lipid peroxidation, and enzymatic and non-enzymatic antioxidants and bacoside-A content in medicinal plant *Bacopa monnieri* L. *Chemosphere*. 62: 40-150.
- Steiner A. A. 1984. The universal nutrient solution. *In: Proceedings of 6 th International Congress on Soilless Culture*. Wageningen, The Netherlands. pp: 64-69.
- Stohs S., J., and D. Bagchi. 1995. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radical Biology and Medicine* 18: 21-6.
- Tadeo F., R. y A. Gómez, C. 2008. Fisiología de las plantas y el estrés. pp: 577-597. *In: J. Azcón-Bieto y M. Talón (eds.). Fundamentos de Fisiología Vegetal*. McGraw-Hill Interamericana. Madrid. 651 p.
- Valdés O, F. J., C. Rivas M., A. Benavides M., M. A. Núñez G., J. Verde S., A. Oranday C. y V. Robledo T. 2012. Efectos de iones y sales en la productividad y acumulación de prolina en *Lippia graveolens* H.B.K. *Revista Internacional de Botánica Experimental* 81: 191-198.
- Webb M., J. 1994. Recent aspects of Mn and Zn absorption and translocation in cereals. pp. 183- 186. *In: J. A. Manthey, D. E. Crowley, and D. G. Luster (eds.). Biochemistry of metal micronutrients in the rhizosphere*. CRC Press, Boca Raton, FL. 373p.

CAPÍTULO IV. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CARACTERÍSTICAS

FISICOQUÍMICAS DE CÁLCICES DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.)

RESUMEN

Las variables fisicoquímicas, como pH, acidez titulable, contenido de ácido ascórbico, contenido de sólidos solubles (° Brix), capacidad antioxidante y el contenido nutrimental; son criterios de calidad considerados por el consumidor; estas variables se relacionan directamente con las condiciones ambientales y de manejo en las cuales se desarrolla el cultivo. Debido a que no se cuenta con información sobre el efecto de la aplicación foliar de Cu, Zn y Fe en la inducción de estrés oxidativo en etapa de plántulas y su posible efecto en la etapa reproductiva, el objetivo del presente trabajo fue cuantificar el efecto de estos tres iones en cálices de dos cultivares de *Hibiscus sabdariffa* L. (Reyna Morada y Criolla) sobre variables fisicoquímicas, capacidad antioxidante y contenido nutrimental. Los análisis se realizaron a partir de materia seca y extractos acuosos de cálices de jamaica obtenidos de plantas asperjadas en etapa de almácigo y llevadas hasta producción. Entre los resultados obtenidos se encontró que el cv. Reyna no modificó ninguna de las variables estudiadas con la aplicación de los iones, excepto en el contenido nutrimental, mientras que el cv. Criolla, el pH se vio modificado por efecto de los tratamientos de Cu y Zn al ir en tendencia a la alcalinidad con un incremento de 5.04 % y 3.85 % por encima del control y el ácido ascórbico se incrementó 93.10% en el tratamiento de Fe al en comparación con el control, mientras que los grados Brix se redujeron 12.5 % por efecto de los tratamientos de Cu y Zn, con respecto al control. El contenido de antocianinas se incrementó; delfinidina en 27.34 % y cianidina en 23.52 % por efecto del Cu. En el análisis nutrimental del extracto acuoso el cv. Reyna morada presentó diferencias significativas en la concentración de N en el tratamiento de Fe con 35.13 %, mientras que en el cv. Criolla se encontró diferencia en el contenido de Mg, Mn y Cu, donde el Mn se incrementó por efecto del Cu, mientras el Mg (22.28 %) y Cu (25 %) se redujeron por efecto de los tres iones.

Palabras clave: flor de jamaica, antocianinas, DPPH, nutrientes.

I.INTRODUCCIÓN

La jamaica es una planta herbácea, anual, de la familia de las Malváceas. Sus tallos y cálices de color rojo y hojas aserradas (Guardiola y Mach, 2014) contienen antocianinas, derivadas de los flavonoides y que le confieren un pigmento rojo a esta planta, pero que además tienen efectos benéficos para la salud por sus altas propiedades antioxidantes (Prenci *et al.*, 2007). Por lo general, la jamaica se utiliza para infusiones, ya se han empleado las hojas o cálices solos, o en combinación con otras plantas (Plotto, 2004). El extracto de los cálices es a la vez un buen colorante (Tsai *et al.*, 2002), equivalente (16 a 25 %) en capacidad antioxidante al té verde (Ramírez *et al.*, 2012). Al fraccionar los compuestos responsables de la actividad antioxidante en jamaica en el sistema HPLC, se componen de un pigmento rojo que se identificó como la antocianina delfinidina-3-sambubiosido, mientras que un pigmento rosa correspondió a la antocianina cianidina-3-sambubiosido (Tsai *et al.*; 2002 y Da-Costa *et al.*, 2014).

La capacidad antioxidante de los fenoles depende de su biodisponibilidad y absorción dentro de un organismo, en tanto que su concentración en la planta está en función de varios factores como el clima, tipo de suelo, tipo de cultivo y exposición al sol entre otros (Barbosa *et al.*, 2008). Además del ácido alfa lipoico, las vitaminas C, E y A, los polifenoles son antioxidantes no enzimáticos o secundarios, con capacidad para destruir directamente a las especies reactivas de oxígeno (ROS) (Clarkson y Thompson, 2000). Al no formarse una defensa antioxidante al 100 %, la formación de radicales libres se incrementa en el organismo, a lo que se denomina estrés oxidativo (Barbosa *et al.*, 2008). La oxidación, que se puede generar en las moléculas biológicas, membranas y tejidos, es inducida por el oxígeno activo y mediada por los radicales libres (Prenci *et al.*, 2007; Castañeda *et al.*, 2008). Dicho estrés oxidativo se asocia a la patogénesis de enfermedades en humanos como: arteriosclerosis, artritis, demencia, cáncer entre otras (Patel, 2014).

Dentro de las especies con oxígeno activo se encuentran los radicales superóxido ($O_2^{\cdot-}$), el peróxido de hidrogeno (H_2O_2), el óxido nítrico (NO) y el oxígeno singulete (O_2) (Castañeda *et al.*, 2008).

En una planta, los niveles celulares de ROS son estrictamente regulados por una compleja red de defensa antioxidante, que incluye reacciones enzimáticas y moléculas amortiguadoras antioxidantes que mantienen la homeostasis en todos los compartimentos celulares (Martí *et al.*, 2009). Así, la defensa antioxidante actúa controlando las cascadas de oxidación y protegiendo a las células contra daños oxidativos. Esta defensa puede minimizar la producción de ROS o incluso eliminar las ya producidas, reduciendo la posibilidad de daño celular (Moller, 2007).

Es bien sabido que elementos químicos como Cu, Mo, Ni, Cl y Zn, entre otros, son esenciales para el crecimiento vegetal (Reeves y Baker, 2000). Sin embargo, más allá de ciertas concentraciones umbral, estos mismos elementos se vuelven tóxicos para la mayoría de las especies de plantas (Blaylock y Huang, 2000), donde pueden provocar cambios transitorios en los niveles de determinados iones y moléculas (lípidos, especies reactivas de oxígeno (ROS) y antioxidantes). Debido a su capacidad de catalizar la formación de radicales libres dañinos y para iniciar la peroxidación de lípidos, el Cu puede ser extremadamente fitotóxico, principalmente en el proceso de fotosíntesis (Sgherri *et al.*, 2007), mientras que el Fe, en concentraciones excesivas, puede generar estrés oxidativo al incrementar la concentración de ROS dentro de los compartimentos celulares (Sinha y Sexena, 2006). Las antocianinas que se producen por efecto del estrés oxidativo pueden ayudar a combatir los radicales libres. En extractos de cálices de jamaica, se observó una mayor actividad mientras más concentradas estuvieron las antocianinas; pero al reducir Fe^{3+} a Fe^{2+} y la capacidad antioxidante por el método de DPPH, se observó una misma tendencia en cuanto a la reducción del radical y del ión (Medina *et al.*, 2013).

Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue determinar el efecto de aspersiones foliares con Cu, Zn y Fe en etapa de plántula, sobre las variables fisicoquímicas, contenido de antocianinas, capacidad antioxidante y el contenido nutrimental en extractos acuosos de cálices de jamaica cvs. Criolla y Reyna Morada, 57 días después de la última aspersión.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se realizó en el invernadero y laboratorios de Nutrición Vegetal y Tecnología Postcosecha del Colegio de Postgraduados (CP), Campus Montecillo, ubicado a 19° 29' latitud norte y 98° 54' longitud oeste, en Montecillo, Texcoco, Estado de México.

2.1. Obtención de material vegetal

Se utilizaron plántulas obtenidas de semilla de los cultivares Criolla y Reyna Morada, donada por productores del municipio de la Huacana, en Michoacán, México.

La jamaica cv. Criolla, posee flores con pétalos rosa pálido con bordes amarillo claros; las anteras maduras son amarillo claras y el estigma es rojo oscuro. Su cáliz, es de color rojo oscuro al momento de la cosecha, mide de 1.4 a 6.0 cm de largo y de 0.5 a 2.5 cm de diámetro. La semilla es de color café oscuro, y de forma arriñonada; el peso de 100 semillas varía de 1.4 a 2.1 g; el ciclo de este cultivo hasta la cosecha es de 160 a 180 días (Ariza *et al.*, 2014).

El cv. Reyna Morada, presenta flores de color amarillo rosado y cáliz rojo intenso, que alcanza hasta 7.5 cm de largo y de 5.95 g de peso, en promedio puede alcanzar un rendimiento de 70-80 g planta⁻¹ y su ciclo hasta la cosecha es de 150-165 días (Díaz *et al.*, 2011).

2.2. Preparación del experimento

Previo a la siembra, las semillas de cada cultivar se desinfectaron con 10 gotas L⁻¹ (v/v) de Hipoclorito de sodio comercial (6%), durante 15 minutos, se enjuagaron con agua destilada y se colocaron en una solución de 10 gotas L⁻¹ (v/v) de Microdin ® (plata

ionizada), en la cual se mantuvieron durante 15 minutos, se enjuagaron nuevamente y al final se colocaron en agua destilada durante 6 h para su imbibición.

Las semillas, ya embebidas, se colocaron en charolas de polipropileno rígido con 50 cavidades redondas, con dimensiones de 52.7 cm de largo, 26.19 cm de ancho, 6.0 cm de altura y 4.28 L de volumen por charola. En total se requirieron seis charolas por cultivar. Se utilizó como sustrato turba Sphagnum. Las charolas se regaron a diario con agua destilada hasta la germinación y formación de hojas verdaderas. Posteriormente, el riego se hizo con la solución nutritiva de Steiner (Steiner, 1984), cuya composición base fue la siguiente ($\text{meq}\cdot\text{litro}^{-1}$): 12 NO_3^- , 1 H_2PO_4^- , 7 SO_4^{2-} , 7 K, 4 Mg y 9 Ca y micronutrientes), cuando salen las hojas verdaderas el riego se hizo con la solución a 25%, durante 12 días, al 50 % por 15 días y al 100 % hasta finalizar el experimento.

Las charolas se mantuvieron dentro de un invernadero de estructura metálica tipo túnel con 3 m de ancho x 6 m de largo por 3.5 m de altura.

2.3. Manejo del experimento

Siete días después de la última aspersion (47 DDS) se seleccionaron diez plántulas por tratamiento y se trasplantaron a bolsas de plástico de 35 x 35 cm, como sustrato se utilizó una mezcla de fibra de coco lavada, perlita, vermicomposta y tierra de monte, en proporciones 1:1:1:1, respectivamente. Las plantas se mantuvieron en invernadero 103 DDS, se regaron una vez por semana con solución nutritiva Steiner al 100 %, y cada dos días con agua de la llave. Los cálices se cosecharon manualmente, se pesaron y midieron, se colocaron en bolsas de papel estraza y se llevaron a una cámara de secado donde permanecieron 72 horas a 40 °C.

2.4. Tratamientos evaluados

Se probaron cuatro tratamientos en invernadero, las plantas estuvieron bajo un diseño completamente al azar con diez repeticiones por tratamiento; en total se contó con 80 unidades experimentales, 40 por cada cultivar, mismos que se describen en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Tratamientos utilizados en plántulas de jamaica de los cultivares Reyna Morada y Criolla.

| Tratamientos | Descripción |
|--------------|--|
| 1 | Plantas sin aplicaciones foliares en almácigo. Control |
| 2 | Plantas tratadas en almácigo con fertilización foliar de sulfato de Cu^{+2} (0.15 %) |
| 3 | Plantas tratadas en almácigo con fertilización foliar de sulfato de Zn^{+2} (0.15 %) |
| 4 | Plantas tratadas en almácigo con fertilización foliar de quelato de Fe^{+} (EDTA) (0.075 %) |

2.5. Variables evaluadas

2.5.1. Preparación de los extractos acuosos

Los extractos acuosos, se hicieron por cuadruplicado. Cada uno estaba compuesto de la mezcla macerada de cálices de dos unidades experimentales de un mismo tratamiento. De cada duplicado se pesaron 2.5 g de cálices y una vez pesados se colocaron en frascos de vidrio Schott Duran ® de 250 mL, donde se agregaron 200 mL de agua destilada, se dejaron reposar por 24 h a temperatura ambiente y en oscuridad, para posteriormente someterlos a baño maría durante 15 minutos a 40 °C. En los extractos se midieron las siguientes variables:

2.5.2. pH

El pH se midió con un potenciómetro Beckman pH Meter ®, en 5 mL del extracto obtenido; se hizo una lectura por repetición.

2.5.3. Acidez titulable

La acidez titulable se determinó con la metodología de la AOAC (Métodos Oficiales de Análisis), (AOAC, 1980). De cada una de las muestras se utilizó 5 mL de extracto acuoso, se le colocaron unas gotas de fenolftaleína y se le realizó la titulación con NaOH 0.089 N y con el pH (8.2-8.3) de virado de color rosa sublimado a rosa intenso como punto final de la titulación. El resultado se expresó como porcentaje del ácido cítrico presente mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ acidez} = \text{GB} * \text{N} * \text{P}_{\text{eq}} * 100 / \text{A}$$

Donde:

GB = Gasto de bureta [NaOH] mL

N = Normalidad del agente titulante

P_{eq} = del ácido de muestra (0.064 para ácido cítrico)

A = Alícuota en mL de muestra (5 ml).

2.5.4. Sólidos solubles totales (° Brix)

Los sólidos solubles totales se midieron por el método 932.12 de la AOAC (1990), que consiste en tomar una gota del extracto acuoso, a temperatura de 22 ± 1 °C, y colocarla en el sensor óptico de un refractómetro digital (P-R32 marca Atago Palette ® cuya capacidad de medición es de 0 a 32 %).

2.5.5. Ácido ascórbico

El ácido ascórbico se determinó por el método del 2,6 diclorofenol indofenol (AOAC, 2000). La alícuota de 5 mL de la muestra se tituló con una solución estandarizada de 2,6 diclorofenol indofenol, se le colocaron unas gotas de fenolftaleína y se tituló hasta obtener un color rosa permanente, el contenido se estimó por referencias contra soluciones de ácido ascórbico de concentraciones conocidas y se expresó en mg por 100⁻¹ g de ácido ascórbico. Al considerar que el tratamiento térmico que se emplea para preparar los extractos (92 °C) puede provocar una reducción del contenido de vitamina C hasta de 72.4 % (Salinas *et al.*, 2012), en este caso se procesaron a 40 °C durante 15 m. El contenido de vitamina C se estimó con la siguiente ecuación:

$$\text{mg de ácido ascórbico} = (\text{Gasto}) (\text{FDye}) (\text{Vt}) (100) / (\text{V alícuota}) (\text{pm})$$

Donde:

Gasto = Gasto de la titulación (mL)

F Dye =Factor de la solución indicadora

V t =Volumen de la muestra total (mL)

V alícuota= Volumen de la alícuota (mL)

P m = peso de la muestra (g)

El factor Dye se calculó por medio de la siguiente fórmula: Factor Dye = 0.5/gasto en la titulación.

2.5.6. Antocianinas

Las antocianinas se determinaron por cuatuplicado a partir de 2 g de cálices secos pesados en una balanza electrónica (OHAUS Voyager ® Pro VP114CN) y macerados. Los cálices se colocaron en frascos de vidrio transparentes con tapa negra (previamente forrados con papel aluminio para aislarlos de la luz), con una capacidad de 25 mL, a cada muestra se le adicionó 10 mL de metanol acidificado (1 % HCL, v/v) y se dejaron reposar

72 hrs a 4 °C, después de incubación se realizó una dilución 1:50. Para determinar delphinidina se leyó la absorbancia a 510 nm, en tanto que para cianidina la lectura se tomó a 530 nm en un espectrofotómetro Genesys ® 10 UV (Termo Spectronic). Los contenidos de ambas antocianinas se calcularon con la siguiente expresión:

$$\text{Antocianinas} \left(\frac{\text{mg}}{\text{g}} \right) = \text{absorbancia} \times \text{factor de dilución} / \epsilon$$

Donde:

Factor de dilución = $(100/2 * 50/1) = 2,500$

Coefficiente de extinción de metanol acidificado (ϵ) = 98.2

2.5.7. Capacidad antioxidante

La determinación de la capacidad antioxidante de los cálices se hizo por planta cosechada. La actividad antioxidante se evaluó por el método del radical libre DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil), como lo describen Brand *et al.* (1995), con una curva de calibración a base de DDPH y trólox (Apéndice B).

2.6. Análisis nutrimental

El contenido nutrimental se determinó por triplicado en el extracto acuoso de los cálices. La determinación de N total se hizo por el método Kjeldahl; las determinaciones de P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, B y S, se hizo a través de la lectura en el espectrofotómetro de emisión atómica de inducción con plasma acoplado (ICP-AES VARIAN Liberty™ II).

2.7. Análisis de datos

Se realizó un análisis de varianza para cada variable, y las pruebas de comparación de medias correspondientes, mediante el procedimiento ANOVA (Tukey, P = 0.05), con la ayuda del software estadístico SAS (SAS Institute versión 9.0).

III.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Variables fisicoquímicas

En el cultivar Reyna Morada, la acidez titulable y el pH en los extractos acuosos de los cálices no se modificó por efecto de los tratamientos en los dos cultivares, estadísticamente no hubo diferencias significativas. El efecto del Cu favoreció la concentración del ácido ascórbico, ya que tuvo un incremento de 58.82 % con respecto al control. De acuerdo con Troncoso y Guija (1998), el ácido ascórbico en presencia de trazas de metales de transición, como el Cu, se genera radicales hidroxilo a través de un proceso de autooxidación, reacción que resulta en la formación de especies reactivas como son los radicales libres hidroxilo. El efecto que eventualmente puede ejercer el ácido ascórbico depende de la concentración de éste, y en tal sentido, el mismo puede comportarse como un eficiente antioxidante, o en su defecto, actuar como un prooxidante. En el presente trabajo, la mayor cantidad del ácido por el Cu en Reyna Morada pudo ser en respuesta a la expresión genética del cultivar en función a las condiciones presentes durante su desarrollo. Por último, los grados Brix no presentaron diferencias estadísticas entre tratamientos. (Cuadro 2).

Cuadro 2. Efecto de la aplicación foliar de Cu, Zn, y Fe en plántula de *Hibiscus sabdariffa* L. sobre la acidez titulable, pH, ácido ascórbico y solidos solubles en extractos acuosos de cálices cv. Reyna morada.

| Tratamiento | Acidez titulable (%) | pH | Ácido ascórbico mg ⁻¹ ácido ascórbico. 100 ml de muestra | Solidos Solubles (°Brix) |
|-------------|----------------------|--------|---|--------------------------|
| Control | 0.30 a | 3.37 a | 10.54 b | 0.77 a |
| Cu | 0.27 a | 3.39 a | 16.74 a | 0.75 a |
| Zn | 0.30 a | 3.36 a | 9.92 b | 0.80 a |
| Fe | 0.28 a | 3.42 a | 7.44 b | 0.72 a |
| DMS | 0.089 | 0.060 | 4.63 | 0.15 |

DMS = diferencia mínima significativa. Medias con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales (Tukey, $P \leq 0.05$).

En el cultivar Criolla, se encontraron diferencias estadísticas en pH, sólidos solubles, y ácido ascórbico. En acidez titulable todos los tratamientos fueron estadísticamente iguales; sin embargo, se presentó una reducción del 33.34 % por efecto del Cu (Figura 1 A). De acuerdo con Prenesti *et al.*, (2007), el papel que juega la acidez es de protección para las moléculas fenólicas, ya que ayuda a la preservación del color y del poder antioxidante de éstas. En cuanto a pH, el Cu y Zn superaron significativamente a los otros tratamientos (5.04 % y 3.85 %) más que el control, respectivamente (Figura 1 B). En el contenido de ácido ascórbico, el tratamiento de Fe superó estadísticamente a los otros tres, alcanzando sus niveles máximos comparado con el control (3.10 %) (Figura 1 C). De acuerdo con Ismail (2008), el contenido de vitamina C de cálices ricos tienen un valor promedio de 14 mg.100g⁻¹, cifra 24 % inferior a la obtenida con el tratamiento de Fe, lo cual indica que su aplicación favorece su síntesis en el cv. Criolla; situación deseable, ya que la Vitamina C, o ácido L-ascórbico (AA), es una vitamina esencial y un importante agente antioxidante hidrosoluble (Serra y Cafaro, 2007). Salinas *et al.*, (2012) observaron que los cultivares con mayores contenidos de vitamina C, también presentaban en común un bajo contenido de antocianinas y acidez. Este mismo fenómeno se presentó en los dos cultivares evaluados en el presente trabajo. Mayores concentraciones de ácido ascórbico se asocian con pHs bajos, porque la mayor concentración de iones H⁺ protege al ácido de la oxidación (Salinas *et al.*, 2012). Y por último, el contenido de los sólidos solubles, en los tratamientos de Cu y Zn los °Brix disminuyeron 12.5 % con respecto al control, pero resultaron estadísticamente iguales que el tratamiento con Fe (Figura 1 D).

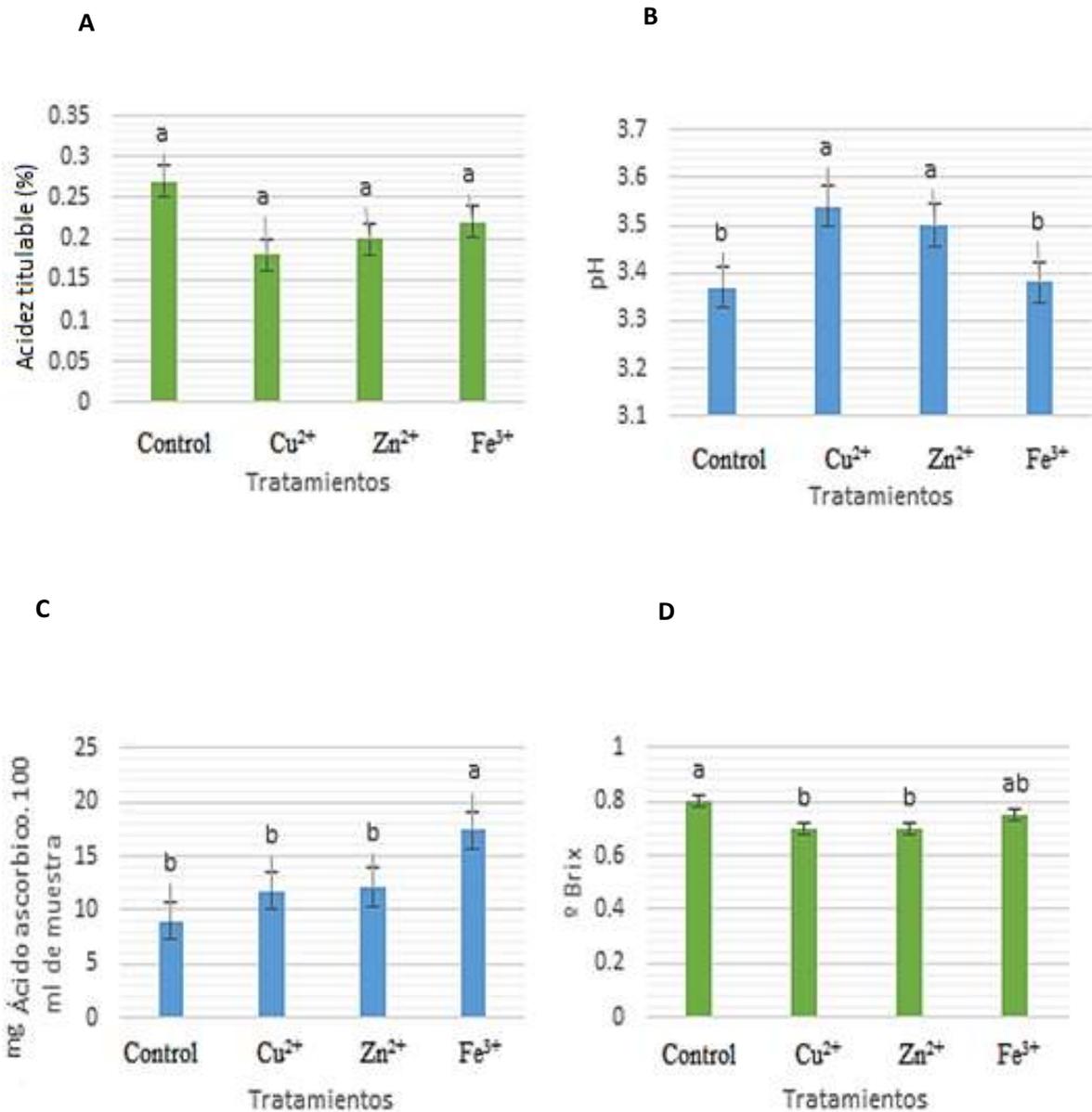


Figura 1. Efecto de la aplicación foliar de Cu, Zn, y Fe en plántula de *Hibiscus sabdariffa* L. sobre la acidez titulable, pH, ácido ascórbico y sólidos solubles en extractos acuosos de cálices cv. Criolla.

3.2. Contenido de Antocianinas

Los contenidos de las antocianinas delfinidina-3-sambubiosido (delfinidina) y cianidina-3-sambubiosido (cianidina) en los extractos acuosos de cálices del cv. Reyna no fueron afectados significativamente por las aspersiones foliares de Cu, Zn y Fe (Cuadro 3).

Cuadro 3. Concentración de las antocianinas delfinidina-3-sambubiosido (delfinidina) y cianidina-3-sambubiosido (cianidina) aisladas de extracto de cálices de Jamaica del cv. Reyna.

| Tratamiento | Delfinidina mg.100 g ⁻¹ | Cianidina mg.100 g ⁻¹ |
|-------------|---------------------------------------|-------------------------------------|
| Control | 12.06 a | 15.27 a |
| Cu | 11.93 a | 15.08 a |
| Zn | 12.44 a | 15.84 a |
| Fe | 13.86 a | 17.52 a |
| DMS | 3.93 | 5.05 |

DMS = diferencia mínima significativa. Medias con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales (Tukey, $P \leq 0.05$).

Por otra parte, en el cv. Criolla en relación al control, la concentración de delfinidina se incrementó 27.34 % y 25 % en los tratamiento con Cu y Zn; y disminuyó 29.69 % en el tratamiento con Fe, respecto al control (Figura 2). En la concentración de cianidina, se observó prácticamente la misma respuesta, aunque sus magnitudes fueron mayores en todos los casos, donde el tratamiento de Cu y Zn tuvieron 23.52 % y 20.58 % respectivamente más que el control, mientras que el Fe se redujo en 31.18 %. Los incrementos en las concentraciones de estas antocianinas por las aspersiones de Cu y Zn en etapa temprana, indican que con un manejo adecuado de la nutriciones posible mejorar la calidad nutracéutica de la jamaica. Al suministrar delfinidina y cianidina a ratas de laboratorio, éstas se absorben rápidamente en el tracto gastrointestinal y derivan en la protección contra la aterosclerosis y el cáncer (Tsai *et al.*, 2002); por lo tanto, como estas antocianinas son la principal fuente de la capacidad antioxidante en el extracto de jamaica, el promover su consumo en la población puede representar un ahorro económico importante tanto para los consumidores como para el sector salud.

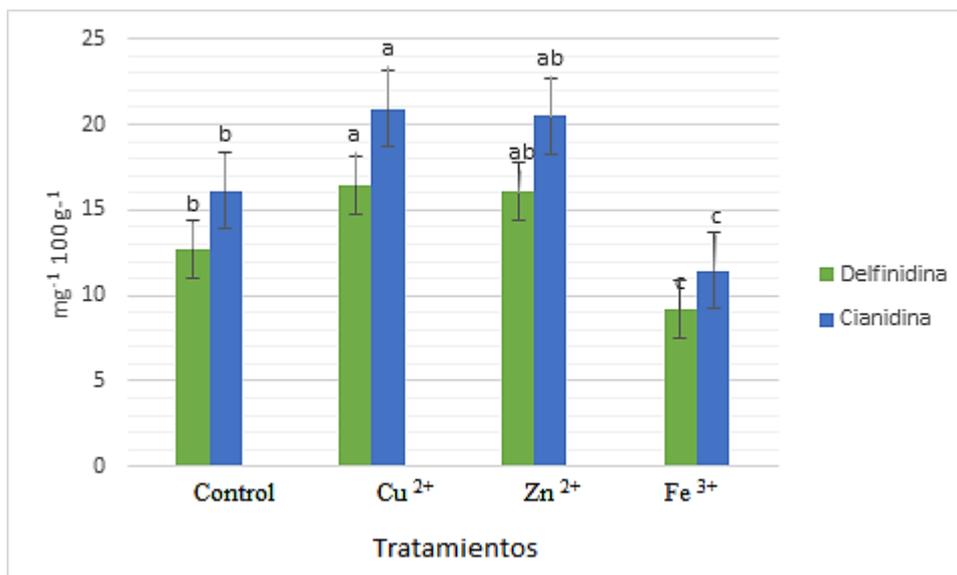


Figura 2. Efecto de la aplicación foliar de Cu, Zn, y Fe en plántula de *Hibiscus sabdariffa* L. sobre la concentración de las antocianinas delphinidina y cianidina en el cv. Criolla, 103 DDS.

3.3. Capacidad antioxidante

Ninguno de los tratamientos utilizados mostraron efecto significativo sobre la capacidad antioxidante (Cuadro 4); sin embargo, se ha señalado (Ibarra *et al.*, 2011) que una inhibición de por lo menos 50 % de la concentración de DPPH representa una buena actividad antioxidante y de acuerdo con Tsai *et al.* (2002), el beneficio nutricional de la jamaica como antioxidante depende de la disponibilidad de las antocianinas, que en todos los casos superaron los 12 mg.100g⁻¹ en este estudio. Los cálices de jamaica recolectados 35 días después de la floración presentan mayor concentración de antioxidantes que los cálices más inmaduros (Christian y Jackson, 2009), esta puede ser una de las causas de la baja capacidad de antioxidantes en el presente trabajo, ya que los cálices se cosecharon en madurez fisiológica.

Cuadro 4. Porcentajes de inhibición del radical DPPH de cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L) de los cv. Reyna y Criolla, en respuesta a la aspersion de iones metálicos.

| Tratamiento | Cultivar | |
|-------------|---------------------------------|---------|
| | Reyna Morada | Criolla |
| | Inhibición del radical DPPH (%) | |
| Control | 65.23 a | 61.01 a |
| Cu | 69.86 a | 77.74 a |
| Zn | 70.00 a | 79.63 a |
| Fe | 71.71 a | 69.84 a |
| DMS | 29.702 | 25.84 |

DMS = diferencia mínima significativa. Medias con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales (Tukey, $P \leq 0.05$).

3.4. Contenido nutrimental

En el cv. Reyna Morada, no se detectaron diferencias significativas para ninguno de los nutrimentos analizados (Cuadro 5). Al comparar el nivel más alto de Cu que se obtuvo ($0.04 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$), estos resultaron considerablemente menores a los obtenidos por Ortíz (2009), que observó un contenido de $0.09 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ de Cu, lo que asocia a las prácticas de manejo al emplear el cobre como preventivo a fitopatógenos. Por otra parte, el contenido de Fe aquí obtenido varió de $0.03\text{-}0.06 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$; otros trabajos indican $27.14 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ (Ortíz, 2009) y hasta $57 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ (Ismail *et al.*, 2008) del mismo elemento. En cuanto al Zn, el contenido de este elemento en el presente trabajo fue de $0.14\text{-}0.23 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$, similar a lo reportado por Ortíz (2009). Estadísticamente el único elemento que presentó diferencias fue el N, donde el tratamiento de Fe fue el que presentó un mayor contenido de $1.50 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$, que corresponde al 35.13 % más que el control. De acuerdo con la base de datos de nutrientes de USDA (2015) para cáliz de *Hibiscus sabdariffa*, el N lo indican como contenido de proteína y presentan un valor de $0.96 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$, al obtener el porcentaje de proteína mediante el factor de conversión de nitrógeno a proteína (6.25), en el presente trabajo se obtuvo $0.93 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ de proteína, un valor similar al reportado. Cabe señalar que

un bajo contenido de N en cáliz se puede deber a la gran cantidad que demanda de este elemento la semilla, que tiene un alto contenido de proteína cruda (27.78 %), entre otros elementos la semilla también requiere de K ($1,329 \pm 1,47 \text{ mg}\cdot 100^{-1} \text{ g}$), Na ($659 \pm 1,58 \text{ mg}\cdot 100^{-1} \text{ g}$), Ca ($647 \pm 1,21 \text{ mg}\cdot 100^{-1} \text{ g}$), P ($510 \pm 1,58 \text{ mg}\cdot 100^{-1} \text{ g}$) y de Mg ($442,8 \pm 1,80 \text{ mg}\cdot 100^{-1} \text{ g}$) (Nzikou *et al.*, 2011).

Cuadro 5. Efecto de la aplicación foliar de Cu, Zn, y Fe en plántula de *Hibiscus sabdariffa* L. sobre el contenido nutrimental en cálices del cv. Reyna morada, cosechados 103 DDS.

| Tratamiento | N | P | K | Ca | Mg | S | Fe | Zn | Mn | Cu | B |
|-------------|------------------------|---------|----------|---------|---------|---------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | mg. 100g ⁻¹ | | | | | | | | | | |
| Control | 111.3 b | 27.59 a | 118.93 a | 44.57 a | 49.56 a | 12.25 a | 0.10 a | 0.23 a | 0.26 a | 0.04 a | 0.27 a |
| Cu | 129.9 ab | 25.37 a | 113.65 a | 45.27 a | 47.29 a | 9.06 a | 0.06 a | 0.23 a | 0.21 a | 0.04 a | 0.27 a |
| Zn | 111.3 b | 26.82 a | 118.19 | 54.61 a | 53.08 a | 9.78 a | 0.10 a | 0.19 a | 0.23 a | 0.03 a | 0.29 a |
| Fe | 150.96 a | 23.45 a | 101.72 a | 49.84 a | 42.21 a | 9.90 a | 0.07 a | 0.15 a | 0.21 a | 0.03 a | 0.26 a |
| DMS | 37.3 | 4.81 | 54.69 | 14.70 | 16.49 | 3.94 | 0.13 | 0.20 | 0.13 | 0.03 | 0.06 |

DMS = diferencia mínima significativa. Medias con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales (Tukey, $P \leq 0.05$).

En el cv. Criolla, sólo se detectaron efectos de los tratamientos en la concentración de Mg, Mn y Cu, El Mg, se redujo en los tratamientos con los iones, donde el nivel más bajo correspondió al tratamiento de Fe con 22.28 % menos que el control, con una concentración de $44.11 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$, un valor bajo de acuerdo a lo reportado por USDA (2015) de $51 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$, lo que parece indicar que los tres iones afectan la concentración del Mg, ya que el control presenta un valor por encima de lo reportado de $56.75 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$. El Mn incrementó su concentración con la adición de Cu y Zn (Cuadro 6), pero sin alcanzar los niveles tóxicos ($200 \text{ a } 5,300 \text{ mg}\cdot \text{kg}^{-1}$) que indica Reisenauer (1994). La buena asimilación de Mn es importante para la planta porque es uno de los elementos que más contribuyen al funcionamiento de varios procesos biológicos incluyendo la fotosíntesis, la respiración y la asimilación de nitrógeno. El Mn también es importante ya que puede ser cofactor de la superóxido dismutasa (Mn-SOD) una metaloenzima que cataliza la

disminución de ROS frente a una situación de estrés oxidativo (Bonilla, 2008). Los niveles de Cu también se redujeron por efecto de los tres iones, 25 % menos que el control y 66.67 % con respecto a lo reportado por Ortíz (2009).

Cuadro 6. Efecto de la aplicación foliar de Cu, Zn, y Fe en plántula de *Hibiscus sabdariffa* L. sobre el contenido nutrimental en cálices del cv. Criolla, cosechados 103 DDS.

| Tratamiento | N | P | K | Ca | Mg | S | Fe | Zn | Mn | Cu | B |
|-------------|------------------------|---------|----------|---------|----------|---------|--------|--------|---------|--------|--------|
| | mg. 100g ⁻¹ | | | | | | | | | | |
| Control | 92.6 a | 26.65 a | 116.03 a | 55.15 a | 56.75 a | 8.65 a | 0.06 a | 0.27 a | 0.28 c | 0.04 a | 0.32 a |
| Cu | 104.3 a | 24.11 a | 108.42 a | 53.26 a | 47.10 ab | 8.56 a | 0.09 a | 0.20 a | 0.41 a | 0.03 b | 0.28 a |
| Zn | 147.4 a | 25.71 a | 108.48 a | 58.03 a | 46.05 b | 11.93 a | 0.10 a | 0.12 a | 0.39 ab | 0.03 b | 0.29 a |
| Fe | 139.3 a | 26.72 a | 90.36 a | 52.69 a | 44.11 b | 11.01 a | 0.14 a | 0.27 a | 0.32 b | 0.03 b | 0.30 a |
| DMS | 107 | 5.36 | 28.82 | 12.09 | 10.06 | 6.12 | 0.14 | 0.17 | 0.09 | 0.007 | 0.11 |

DMS = diferencia mínima significativa. Medias con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales (Tukey, $P \leq 0.05$).

IV.CONCLUSIONES

La aplicación foliar de Fe, Cu y Zn a plántulas de Jamaica cv. Criolla modificó el pH y ácido ascórbico del extracto de cálices, en comparación con el cv Reyna Morada que no presento diferencias significativas en las pruebas fisicoquímicas.

La aplicación de Cu y Zn en cv Criolla incrementa la cantidad de antocianinas.

No se presentó significancia en el contenido de antioxidantes.

V.LITERATURA CITADA

- AOAC. 1980. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists
13th Ed. St. Paul, Minnesota, USA. 1018 p.
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th Ed. Association of Official Analytical
Chemists. St. Paul Minnesota, USA. 1298 p.
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemist
(AOAC). 17th Ed. St. Paul Minnesota, USA.1026 p.
- Ariza F., R., V. Serrano A., S. Navarro G., M. E. Ovando C., E. Vázquez G., A. Barrios A.,
A. C. Michel A., S. H. Guzmán M., y M. Sánchez O. 2014. Variedades mexicanas
de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) “Alma blanca” y “Rosaliz” de color claro y
“Cotxaltzin y Teconapa” de color rojo. Revista Fitotecnia Mexicana 37: 181-185.
- Barbosa K. B. F., J. Bressan., M. A. Zulet y J. A. Martínez. 2008. Influencia de la dieta
sobre marcadores plasmáticos de estrés oxidativo en humanos. Anales del Sistema
Sanitario de Navarra 32: 259-280.
- Blaylock M. J., and J. W. Huang. 1999. Phytoextraction of metals. pp. 53-70. *In*: I. Raskin
and B. D. Burt (eds.). Phytoremediation of toxic metals: Using plants to clean the
environment. John Wiley. 304 p.
- Bonilla I. 2008. Introducción a la nutrición mineral de las plantas. Los elementos
minerales. pp. 112-113. *En*: J. Azcón y M. Talón (eds.). Fundamentos de Fisiología
Vegetal. Editorial Mc Graw Hill. Barcelona. 651 p.
- Brand W., M. E. Cuvelier, and C. Berset. 1995. Use of free radical method to evaluate
Antioxidant activity. Food Science & Technology 28: 25-30.

- Castañeda C., B., E. Ramos Ll. y L. Ibáñez V. 2008. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. *Revista Horizonte Médico* 8(1): 56-72.
- Christian K. R. and J. C. Jackson. 2009. Changes in total phenolic and monomeric anthocyanin composition and antioxidant activity of three varieties of sorrel (*Hibiscus sabdariffa*) during maturity. *Journal of Food Composition and Analysis* 22: 663-667.
- Clarkson P. M. and H. S. Thompson. 2000. Antioxidants: What role do they play in physical activity and health?. *The American Journal of Clinical Nutrition* 72(Suppl.): 637-646.
- Da-Costa R., I., B. Bonnlaender, H. Sievers., I. Pischel., and M. Heinrich. 2014. *Hibiscus sabdariffa* L. – A phytochemical and pharmacological review. *Food Chemistry* 165: 424-443.
- Díaz P., B., J. Ramos D. y C. Hernández. 2011. El cultivo de rosa de jamaica. pp. 181-184. *En: P. García R. y M. A. Pérez C. (eds.). Memorias del IV Congreso de Estudiantes Universitarios de Ciencia, Tecnología e Ingeniería Agronómica. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid. 10-11 de mayo de 2011. 193 p.*
- Guardiola S., y N. Mach. 2014. Potencial terapéutico del *Hibiscus sabdariffa*: una revisión de las evidencias científicas. *Endocrinología y Nutrición*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.endonu.2013.10.012>. (Revisado: 27/09/2014).

- Ibarra E., E. M. Pacheco S., R. García M., R. San Miguel C., G. Ramírez V. y R. M. Soto H. 2011. Actividad antioxidante de alcaloides de *Erythrina americana* Miller. *Revista Fitotecnia Mexicana* 34: 241-246.
- Ismail A., E. H. Khairul I., and H. S. Mohd N. 2008. Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) seeds nutritional composition, protein quality and health benefits. *Food Global Science Books* 2: 1-16.
- Martí M. C., D. Camejo, N. Fernández, G. R. Rellán, A. S. Marqués, F. Sevilla, and A. Jiménez. 2009. Effect of oil refinery sludges on the growth and antioxidant system of alfalfa plants. *Journal of Hazardous Materials* 172: 879-885.
- Medina C., R. E., M. T. Sumaya, M., M. L. Machuca, S., L.M. Sánchez, H., R. Balois, M., y E. I. Jiménez, R. 2013. Actividad antioxidante de extractos de cálices deshidratados de 64 variedades de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) en función de fenólicos y antocianinas totales. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*. 22 (No. Esp.): 41-44.
- Moller I. M., P. E. Jensen, and A. Hansson. 2007. Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annual Review of Plant Biology* 58: 459-481.
- Nzikou J.M., G. Bouanga, K., L. Matos, F.B. Ganongo, P., P.S. Mboungou, M., F.E. Moutoula, E. Panyoo, A., T.H. Silou and S. Desobry. 2011. Characteristics and Nutritional Evaluation of seed oil from Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) in Congo-Brazzaville. *Journal of Biological Sciences* 3(2): 141-146.
- Ortíz M., S. 2009. Composición en macronutrientes, minerales y metales pesados en cálices de jamaica cultivada en el estado Monagas. *Revista Voces: Tecnología y Pensamiento* 3: 61-75.

- Patel S. 2014. *Hibiscus sabdariffa*: An ideal candidate still little explored in nutraceutical applications. *Biomedicine and Preventive Nutrition* 4: 23-27.
- Plotto A. 2004. Hibiscus: Post-production management for improved market access. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 19 p. Disponible en: http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/inpho/docs/Post_Harvest_Compedium_-_Hibiscus.pdf (Fecha de acceso: 3 de marzo de 2015)
- Prenci E., S. Berto, P. G. Daniele, and S. Toso. 2007. Antioxidant power quantification of decoction and cold in infusions of *Hibiscus sabdariffa* flowers. *Food Chemistry* 100: 433-438.
- Ramírez R., M. M., M. L. Plaza., A. Azeredo., M. O. Balaban and M. R. Marshall. 2012. Phytochemical, sensory attributes and aroma stability of dense phase carbon dioxide processed *Hibiscus sabdariffa* beverage during storage. *Food Chemistry* 134: 1425-1431.
- Reeves R., and A. Baker, 2000. *Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean Up the Environment*. John Wiley & Sons. New York. 302 p.
- Reisenauer H. M. 1994. The interactions of manganese and iron. pp. 147-164. *In*: A. J. Manthey, E. D. Crowley, and G. D. Luster (eds.). *Biochemistry of Metal Micronutrients in the Rhizosphere*. CRC Press, Boca Raton, Florida. 384 p.
- Salinas M., Y., A. R. E. Zúñiga, H., L. B. Jiménez, D. T., V. Serrano, A. y C. Sánchez, F. 2012. Color en cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L) y su relación con características fisicoquímicas de sus extractos acuosos. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 18: 395-407.

- Serra H. M. y T. A. Cafaro. 2007. Ácido ascórbico: desde la química hasta su crucial función protectora en ojo. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana* 41: 525-532.
- Sgherri C., M. F. Quartacci., y F. Navari. 2007. A principios de producción de especies de oxígeno activado en apoplasto raíz de trigo después de exceso de cobre. *Diario de Fisiología Vegetal*-164: 1152-1160.
- Sinha S. and R. Saxena. 2006. Effect of iron on lipid peroxidation and enzymatic and non-enzymatic antioxidants and Bacoside-A content in medicinal plant *Bacopa monnieri* L. *Chemosphere* 62: 1340-1350.
- Steiner A. A. 1984. The universal nutrient solution. *In: Proceedings of IWOSC 1984 6 th International Congress on Soilless Culture. Wageningen, The Netherlands. pp: 6-649.*
- Troncoso L. y E. Guija. 1998. Cinética de autooxidación del ascorbato por iones cúpricos. *Anales de la Facultad de Medicina* 59: 105-110.
- Tsai P.J., J. McIntosh., P. Perce., B. Camden, and B. R. Jordan. 2002. Anthocyanin and antioxidant capacity in Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract. *Food Research International* 35: 351-356.
- USDA. 2015. National nutrient database for Standard Reference. <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2425?fgcd=&manu=&lfacet=&format=Full&count=&max=35&offset=&sort=&qlookup=09311> (Revisado: 18 /02/2015).

VI. CONCLUSIONES GENERALES

- La aplicación foliar de Fe en plántula tuvo un efecto positivo sobre los valores en la RAF y AFE y la aplicación de Cu incrementó el valor de TAC. En el cv Reyna Morada se modificó el contenido nutrimental con la aplicación foliar de Fe y Zn. La capacidad antioxidante en hojas de las plántulas se redujo por la aplicación de Cu.
- En el cv. Criolla, la aplicación de Zn mejoró la altura de las plantas y favoreció la diferenciación floral. El Fe incremento el área foliar y peso seco de hojas, así como el diámetro de cáliz, mientras que el Zn promovió la longitud del mismo. El contenido nutrimental en follaje mejoró en ambos cultivares por la aplicación foliar de Fe en las plántulas.
- En el cv Criolla, la cantidad de antocianinas se incrementó con la aplicación de Cu y Zn y el contenido de ácido ascórbico aumentó por el Fe aplicado en plántula. El contenido nutrimental en cáliz de las dos cultivares se modificó con la aplicación de los iones.
- Hay una respuesta diferencial entre los dos cultivares a la aplicación foliar de Fe, Zn y Cu.

VII. APÉNDICE A.

Determinación del área foliar empleando el software ImageJ

El software ImageJ ®, es un software libre para análisis de imágenes y para determinar el área foliar en forma simple, precisa y a un bajo costo (Rincón *et al.*, 2012), se puede descargar desde internet, en la dirección; <http://rsbweb.nih.gov/ij/download.html> y se elige de acuerdo al sistema operativo del equipo con que se cuente, Mac OS X, Linux o Windows. Esta forma de determinar el área foliar es muy útil para cultivos de hojas chica o para plántulas. Se separan las hojas del tallo y se colocan sobre una hoja de papel blanca a la que se le traza una pequeña línea de un cm con la ayuda de una regla, que se utilizará como un punto de referencia (Figura A1).

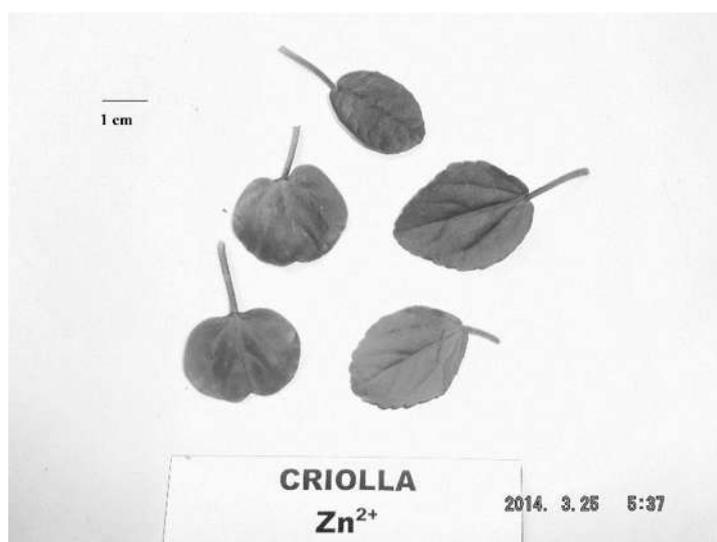


Figura A1. Acomodo de hojas vegetales sobre la hoja de papel con la medida de referencia para calibrar el software.

1. Ya que se tienen bien identificadas las hojas, se captura la imagen (siempre con la misma cámara y la misma configuración de acuerdo al número de pixeles) utilizando una altura determinada, la cual también debe ser constante.

2. Cuando se tienen las fotos, se abre el programa y muestra la ventana (Figura A2) con diferentes opciones para el análisis.



Figura A2. Ventana con herramientas de trabajo del software ImageJ.

3. Para abrir una foto que se va a analizar, se da clic en “FILE” se despliega el menú y se selecciona “OPEN” se busca la carpeta donde se encuentran guardadas las fotos y se selecciona la foto a analizar.

4. Cuando el programa abre la foto se selecciona la opción “STRAIGHT” , después se selecciona la escala marcada en la hoja de papel, posterior se selecciona la opción “ANALYZE”, se despliega un menú y se selecciona la opción “SET SCALE” y en la opción “UNIT OF LENGTH” y se escribe cm, ya que es la unidad de referencia (Figura A3).

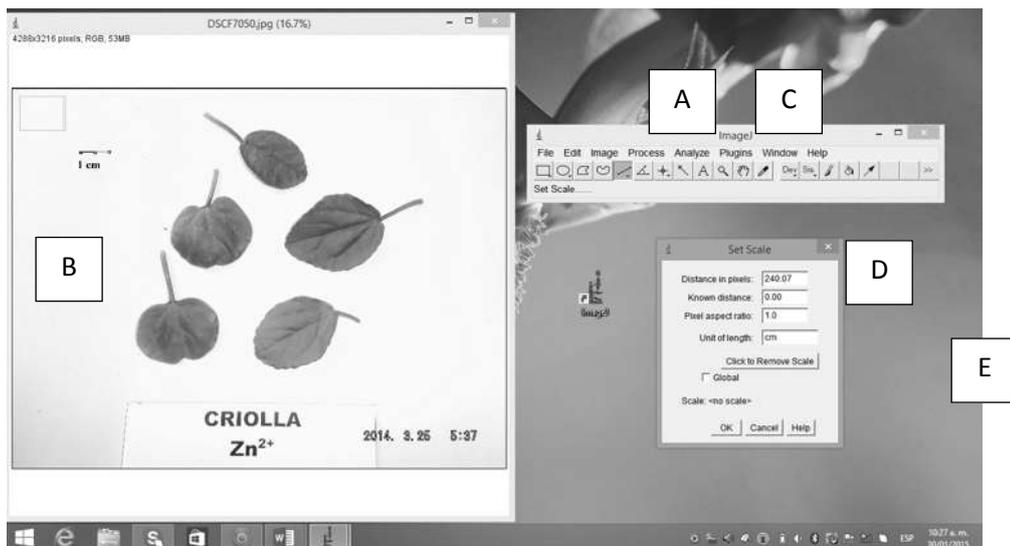


Figura A3. Configurar la selección de la línea (1 cm) de referencia (A) con la opción “STRAIGHT” (B), después la opción en “ANALYZE” (C) seleccionar “SET SCALE” (D) y en la opción “UNIT OF LENGTH” se indica cm (E).

5. Una vez que se configura la unidad de referencia, se selecciona la opción “PROCESS”, se despliega un menú, se selecciona la opción “BINARY” después la opción “MAKE BINARY” y las imágenes de las hojas cambian a color negro (Figura A4).

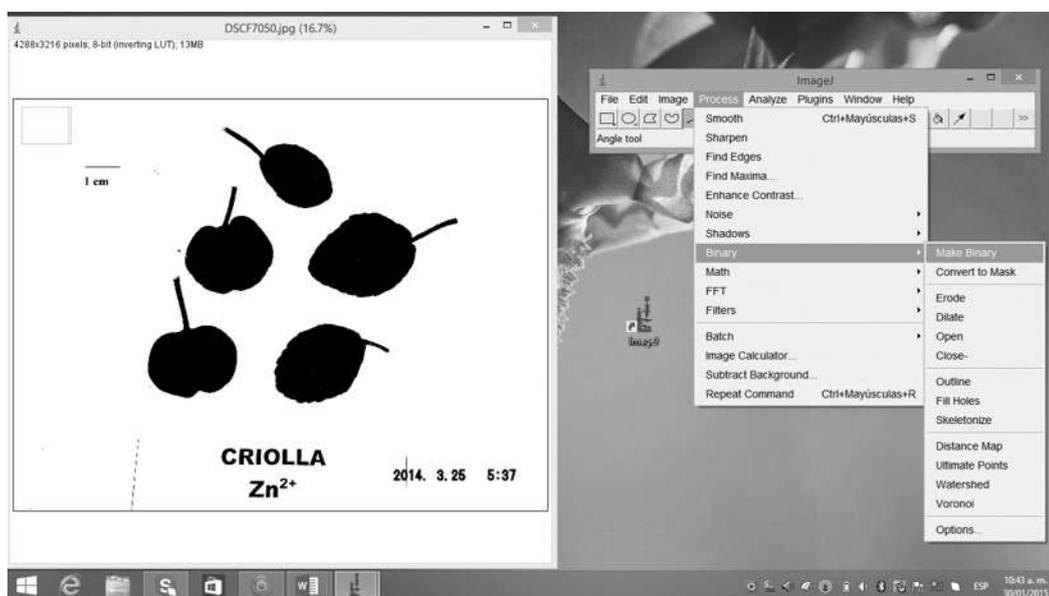


Figura A4. Conversión de color a negro para análisis de área foliar utilizando la opción “PROCESS”, después “BINARY” y al final se selecciona “MAKE BINARY”.

5. Ya que se cambiaron las imágenes a color negro, se selecciona la opción “WAND”  con la ayuda del botón “SHIFT” del teclado y con el clic derecho del ratón, se selecciona imagen por imagen, manteniendo la selección de todas, indica la selección con una línea amarilla en el contorno de cada hoja de la planta seleccionada (Figura A5).

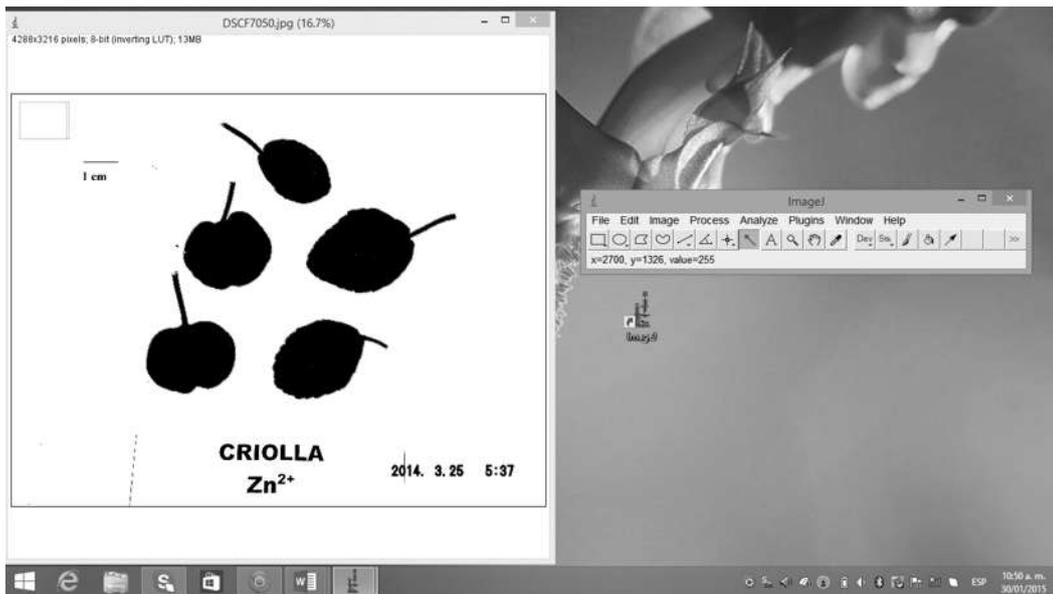


Figura A5. Selección de cada una de las hojas para su análisis foliar empleando la opción “WAND”.

6. Con las hojas de la planta seleccionadas, se utiliza la opción “ANALYZE” se despliega el menú y se selecciona la opción “MEASURE” (Figura 6).

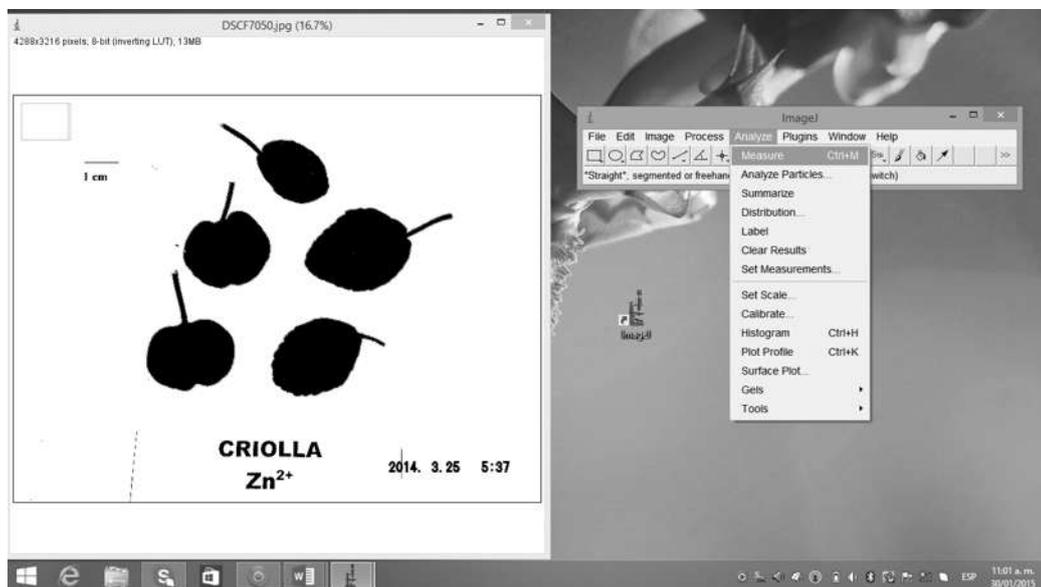


Figura A6. Solicitud del valor de las medias del área foliar de las hojas analizadas a través de la opción “MEASURE”.

7. Al presionar la opción “MEASURE” se abre automáticamente una nueva ventana, donde indica el número que corresponde a la fotografía analizada, el área, la media y un valor mínimo y uno máximo, se recomienda utilizar el valor de la media. Una vez que

se cuenta con los valores de todas las hojas analizadas se selecciona la opción “FILE”, después “SAVE AS”, se abre una nueva ventana para guardar el archivo y se crea un archivo en el programa EXCEL.

VIII. APÉNDICE B.

7.1. Capacidad antioxidante

Se utilizaron 7.5 mg de DPPH, 10.31 mg de trólox (97 %) (6-hidroxy-2, 5, 7,8-tetramethylchromane-2-carboxyl acid) y se llevaron a aforo a 50 y 100 mL respectivamente. Se macero el material vegetal congelado a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$, se pesó 100 mg de las hojas congeladas y maceradas, se colocaron en tubos Eppy® de 2 mL, se agregaron 1.5 mL de etanol al 60 % y se incubó por 24 hrs en refrigeración a $3\text{ }^{\circ}\text{C}$. Al cumplirse las 24 hrs las muestras se centrifugan a 15,000 rpm por 20 min, se colecta 400 μL del sobrenadante y se adicionan 600 μL de metanol al 80 % y agitar en el vórtex. Se adiciona 1 mL de la solución de DPPH, se agitó en el vórtex, se dejó incubar por un periodo de 60 min a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ en oscuridad. Y se tomó la lectura en un espectrofotómetro Thermo scientific (Genesys 10 UV)®, a una longitud de onda de 517 nm, se utilizó 800 μL etanol al 60 % más 1,200 μL de metanol al 80 % como blanco y como referencia se utilizó una curva de calibración que se realizó con ocho niveles en la concentración de Trólox (Cuadro 2).

Cuadro 2. Curva de calibración de Trólox, para determinación de capacidad antioxidante mediante el método de DPPH.

| Concentración trolox (μg) | Solución trolox (μL) | Metanol 80 % (μL) | DPPH (μL) | Volumen total |
|--|-----------------------------------|--------------------------------|------------------------|---------------------|
| 0 | 0 | 1,000 | 1,000 | 2,000 μL |
| 1.25 | 25 | 975 | 1,000 | 2,000 μL |
| 2.5 | 50 | 950 | 1,000 | 2,000 μL |
| 5 | 100 | 900 | 1,000 | 2,000 μL |
| 10 | 200 | 800 | 1,000 | 2,000 μL |
| 15 | 300 | 700 | 1,000 | 2,000 μL |
| 20 | 400 | 600 | 1,000 | 2,000 μL |
| 25 | 500 | 500 | 1,000 | 2,000 μL |