



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

COORDINACIÓN GENERAL ACADÉMICA

Coordinación de Bibliotecas

Biblioteca Digital

La presente tesis es publicada a texto completo en virtud de que el autor ha dado su autorización por escrito para la incorporación del documento a la Biblioteca Digital y al Repositorio Institucional de la Universidad de Guadalajara, esto sin sufrir menoscabo sobre sus derechos como autor de la obra y los usos que posteriormente quiera darle a la misma.



Universidad de Guadalajara

Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, (CUCBA)

Determinación de la concentración de azúcares del zapote negro *Diospyros digyna* Jacq. y zapotillo negro *Diospyros rekoii* Standl.

TESIS

QUE PRESENTA,

Luis Alberto Sánchez Monroy

COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE
LICENCIADO EN BIOLOGIA.



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias
Secretaría Académica
Coordinación de la carrera de Biología

C. Luis Alberto Sánchez Monroy
Presente

Manifestamos a usted que con esta fecha, ha sido **aprobado** su tema de titulación en la modalidad de Tesis, Tesina e Informes, opción específica Tesis con el trabajo intitulado: "**Determinación, de la concentración de azúcares del zapote negro *Diospyros digyna Jacq.* y zapotillo negro *Diospyros rekoii Standl***", para obtener el título de Licenciado en Biología.
Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado como **Director** de dicho trabajo a la **Dra. Julia Zañudo Hernández**.

Asesor interno: M.C. Ernesto Ramírez Briones

Sin más por el momento, aprovechamos la ocasión para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"PIENSA Y TRABAJA"

Las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jal. 08 de noviembre 2017

MTRA. CINTHYA ARACELI LÓPEZ LÓPEZ
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN

COMITE DE
TITULACION



MTRA. ROSA MARÍA DOMÍNGUEZ ARIAS
SECRETARIO DEL COMITÉ DE TITULACIÓN

Recibida Original
24/11/17

Camino Ing. Ramón Padilla Sánchez No. 2100, C.P. 45510
Predio Las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jalisco, México.
Teléfono: Directo: 3777-1168, Conmutador: 3777-1150 Ext: 33118
www.cuaba.udg.mx



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
 Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias
 Secretaría Académica
 Coordinación de la carrera de Biología

MC.- Martín Pedro Tena Meza. Sinodal Titular
 Dr.- Juan Francisco Zamora Natera. Sinodal Titular
 Dr.- José Pedro Castruita Domínguez Sinodal Titular
 Dr.- Ramón Rodríguez Macías Sinodal suplente

P R E S E N T E

Por medio de la presente comunicamos a usted que ha sido designado como SINODAL, para el trabajo de titulación "Determinación, de la concentración de azúcares del zapote negro *Diospyros digyna Jacq.* y zapotillo negro *Diospyros reko Standl*", elaborado por el alumno, Luis Alberto Sánchez Monroy con la modalidad: Tesis, Tesina e informes opción específica Tesis.

Recuerde que como sinodal, se espera de usted aportaciones para mejorar el trabajo y le corresponde a usted evaluar y en su caso aprobar el presente proyecto, para lo cual le suplicamos no exceder de **ocho días hábiles**.

Sin más por el momento, aprovechamos la presente para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"PIENSA Y TRABAJA"

Las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jal. 8 de noviembre de 2017

[Handwritten signature]
 Recibi
 24/Nov/2017

[Handwritten signature]
 Recibi
 8/Dic/2017

[Handwritten signature]
MTRA. CINTHYA ARACELI LÓPEZ LÓPEZ
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN



RECIBI
 8/12/17

[Handwritten signature]
MTRA. ROSA MARÍA DOMÍNGUEZ ARIAS
SECRETARIO DEL COMITÉ DE TITULACIÓN

[Handwritten signature]
 Recibi protocolo
 24-Nov-2017

Se sugiere incluir al Dr. Ramón Rodríguez Macías, tengo duda de la inclusión del Mtro. Martín Tena porque creo que está de licencia

Camino Ing. Ramón Padilla Sánchez No. 2100, C.P. 45510
 Predio Las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jalisco, México.
 Teléfono: Directo: 3777-1168, Comutador: 3777-1150 Ext: 33118
 www.cueba.udg.mx

Guadalajara, Jalisco México. 2016.

Este trabajo fue realizado en el CINVESTAV unidad Irapuato en el Laboratorio de la Fisiología de la Defensa de Plantas perteneciente a al departamento de Bioquímica y biotecnología Vegetal, bajo la dirección de la Dra. Julia Zañudo Hernández y la codirección del Dr. Ernesto Ramírez Briones.

Agradecimientos

A la Universidad de Guadalajara por ser una institución de competitividad a nivel nacional comprometida con la formación de ciudadanos consientes y desear un México más productivo. A mi directora de tesis, la Dra. Julia Zañudo Hernández por haberme brindado su apoyo para realizar este trabajo, así como por sus valiosas ideas y aportaciones al manuscrito.

A mi codirector de tesis el Dr. Ernesto Ramírez Briones por haberme brindado su apoyo en las técnicas de laboratorio empleadas en este trabajo y en la revisión del manuscrito, pero sobre todo por haber tenido paciencia y buen sentido del humor a lo largo del proceso.

Al Dr. John Délano Frier por haber abierto las puertas de su laboratorio para realizar las pruebas que avalan esta investigación.

A la Q.F.B. Norma Martínez Gallardo por haberme brindado su ayuda en las técnicas de laboratorio que avalan esta investigación.

A mis Sinodales el M. en C. Martín Pedro Tena Meza, al Dr. Juan Francisco Zamora Nátera, al Dr. José Pedro Castruita Domínguez y al Dr. Ramón Rodríguez Macías, por sus consejos y observaciones para la publicación de esta tesis.

Al CINVESTAV unidad Irapuato por su compromiso en resolver problemas agroalimenticios en el país, así como por establecer intercambios académicos, tecnológicos y científicos que mantienen una posición de vanguardia en sus áreas de trabajo a nivel nacional e internacional.

A todos los profesores e investigadores del Instituto de Botánica y del Departamento de Ecología de la Universidad de Guadalajara.

A mis amigos de la vida y de la Universidad de Guadalajara.

A mi familia en general, pero en especial a mi Mamá, Adriana Pilar Monroy Reguillo y a mi Hermano, Adrián Sánchez Monroy; por su cariño y amor incondicional y a mi d Abuelo, Rafael Monroy Corona por su disciplina y consejos que nunca olvidaré.

Índice

Introducción	1
Planteamiento del problema	4
Antecedentes	5
• Surgimiento de la familia Ebenaceae	5
• Distribución geográfica de <i>Diospyros digyna</i> Jacq. y <i>Diospyros reko</i> i Standl. en México	5
• Explotación de recursos naturales en México	11
• Estudios realizados en <i>Diospyros</i> spp	12
• <i>Diospyros</i> como especie vegetal para el consumo humano	12
• Taxonomía química del género <i>Diospyros</i>	14
Justificación	15
Objetivos	17
Hipótesis	17
Marco Teórico	18
• Estudios de capacidad antioxidante y antibacterial en <i>Diospyros</i>	18
• Antecedentes de estudios asociados al género <i>Diospyros</i>	19
• Clasificación taxonómica	21
• Descripción botánica	22

• Etnobotánica del zapote negro <i>Diospyros digyna</i> y el zapotillo negro <i>Diospyros rekoï</i>	23
• Relación de la captura de carbono en los ecosistemas con la acumulación de carbohidratos en las plantas	23
• Interés humano (Domesticación)	24
• Métodos enzimáticos para la determinación de carbohidratos	24
• Determinación de la glucosa por el método de la hexoquinasa	25
Materiales y métodos	29
Resultados	32
• Determinación de la concentración de azúcares por estacionalidad	34
Discusión	40
Conclusión	45
Apéndices	47
Bibliografía	48

Introducción

El cambio de uso de suelo, aunado a la carencia de alimentos, el alza de precios en el mercado y el mal diseño de los modelos que administran los recursos naturales de las naciones son problemas que prevalecen y deben ser atendidos a la brevedad (Jones 2008). La tasa de deforestación no se conoce con precisión, aunque se estima que oscila entre 370 y 670 mil ha al año para principio de los noventa tan solo en los bosques templados y las selvas (Masera *et al.*, 1997). Las causas que más impacto tienen en la deforestación como se mencionó anteriormente, son la conversión a ganadería y a cultivos agrícolas. Estos factores varían en importancia según el tipo de ecosistema (Ordóñez, 1998). En México, la disponibilidad de recursos para los pequeños productores del sector agropecuario es mínima, pues desde hace ya varios años, tanto la banca comercial como la de desarrollo han disminuido, su apoyo para estas actividades, principalmente para la conservación y comercialización de especies nativas. En un estudio realizado por la CEPAL (Comisión Económica para América Latina y el Caribe), en 2009, se afirma que "desde 2008, se observa una baja en el crédito a las actividades agropecuarias tanto para el mercado local como para la exportación, así como un endurecimiento en las condiciones para su acceso. Esta tendencia podría acentuarse ante la creciente escasez de divisas" (CEPAL, 2009).

México, desde el punto de vista etnobotánico cuenta con un amplio patrimonio, sin embargo, muestra dos comportamientos bien diferenciados, por un lado, la pérdida del conocimiento de las especies, derivado del proceso de uniformidad de costumbres y modos de vida (Pardo y Gómez, 2003) y por el otro los aislados movimientos por el rescate del uso y conocimiento de nuestra flora. El rescate de este acervo se da principalmente en especies de uso más amplio y en aquellas que el conocimiento prehispánico logró transmitirse dentro de la reconstrucción de la historia en la época colonial. Para el género *Diospyros* con más de 20 especies en distintos tipos de vegetación tanto en México como en Mesoamérica (por la cultura olmeca), tiene indicios de domesticación y de su aprovechamiento farmacológico (Leonti et al. 2013); su situación es subvalorada ya que la mayoría de los estudios son en la especie de mayor consumo (*D. digyna*) y son enfocados únicamente en aspectos nutracéuticos del fruto, dejando a lado el conocimiento ancestral que hay en el resto de las especies. La planta que dio nombre a decenas de municipios en México presenta una disminución en su presencia en mercados y tianguis, debido a que el consumo de los frutos de diversas especies es cada vez menor e incluso su cultivo se considera en riesgo (Provance et al. 2013).

Diospyros digyna Jacq. y *Diospyros reko*i Standl. reciben los nombres comunes de zapote negro, zapote, zapote prieto, totocuitlatzapotl, guayabota, zapote de mico y ébano. En Puebla a *D. digyna* le dan el nombre común de sawat (totonaco) y tilzapotl (náhuatl); en San Luis Potosí, munek'(tenek), (Atlas de las plantas de las de la Medicina Tradicional Mexicana <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx>), (Los Zapotes de Hernández, 1903).

Diospyros digyna Jacq. está asociada a otras, tales como *Brosimum alicastrum* Sw. *Mirandaceltis monoica* (Hemsl.) Sharp *Carpodiptera ameliae* Lundell *Dendropanax arboreus* (L.) Decne. & Planch. A grandes rasgos, sus coordenadas geográficas son 90° a 105°30'N y de 14°45'a 21°30' W, está distribuido principalmente en la vertiente del golfo, desde Puebla y Veracruz hasta el norte de Chiapas (Provance M. and Sanders A. 2006).

Los frutos del género *Diospyros*, son consumidos habitualmente por la población y su uso está extendido en las regiones donde se encuentran los frutos, poseen un alto contenido de antioxidantes, por lo que consumir estos productos es recomendable para la salud de las personas. Las poblaciones de *Diospyros* se encuentran en baja densidad y muy dispersas en las áreas geográficas lo que dificulta en ocasiones encontrar individuos en las zonas se puede encontrar una densidad de población de un individuo en cada 5 ha o menor. Debido a esta

condición es importante resaltar el manejo forestal que se debe tomar en cuenta para resguardar la existencia del zapote negro *Diospyros digyna* Jacq. y el zapotillo negro *Diospyros reko*i Standl., (Provance M. and Sanders A. 2006).

Sus requerimientos ambientales comprenden altitudes que van desde los 1500 a 1800 (msnm) con suelos arcillosos, generalmente de origen aluvial y con mal drenaje, en bosques secos o en aluviales cerca de escurrimientos de agua o lagunas donde puede haber inundaciones. (Pennington T., Sarukhán J. 2005).

La determinación de los azúcares de *Diospyros digyna* Jacq. y *Diospyros reko*i Standl. nos permitirá conocer los patrones de comportamiento de éstos respecto al cambio ambiental influenciado por la temperatura y los cambios en la disponibilidad de agua, para poder dar un manejo de las plantas, así como de la cosecha de los frutos para su mejor aprovechamiento.

Planteamiento del problema

Las especies responden a diferentes condiciones ambientales de acuerdo a los estreses a los que estén sometidos o a los cambios que han sufrido de acuerdo a su ambiente original (Rao et al., 2002). Las variables ambientales están continuamente fluctuando (Martín Vide et al., 2007), y la disponibilidad de agua por precipitación varía también según los años (Wheeler y Martin-Vide, 1992); en las localidades. En este estudio, las condiciones ambientales cambiaron entre los años, por lo que es probable que los individuos de *Diospyros rekoi* Standl. encontrados en la región de Teocuitatlán y *Diospyros digyna* Jacq. en Taretan Michoacán hayan representado un cambio en la aclimatación, particularmente en la producción de metabolitos primarios como es la síntesis de carbohidratos no estructurales (glucosa, fructosa, sacarosa) que son indispensables para su mantenimiento y desarrollo. Poder relacionarlos con los factores ambientales en donde habitan permitirá conocer su grado de estrés ambiental al que se encuentran sometidas, el cuál es de suma importancia para comprender como autorregulan sus funciones fisiológicas. Por otro lado, el zapote negro y el zapotillo negro actualmente se encuentran prácticamente en desuso, por lo que este trabajo pretende contribuir al rescate de su consumo e incluirlos en la dieta cotidiana, resaltando su valor etnobotánico, así como encontrar iniciativas para un programa de apoyo que proteja la existencia de estas dos especies.

Antecedentes

Surgimiento de la familia Ebenaceae

De acuerdo a Raven Axelrod (1974) esta familia se originó en el Cretácico en Gondwana occidental y presumen que se estableció y diversificó en Eurasia y América del Norte en el Paleoceno. Sin embargo, no hay un estudio panbiogeográfico congruente con esta teoría. Dada su presencia en todos los trópicos del mundo, se espera que en México haya tenido oportunidad de adecuarse a una gran variedad de condiciones ecológicas tanto tropicales como templadas.

Distribución geográfica de *Diospyros digyna* Jacq. y *Diospyros rekoii* Standl. en México

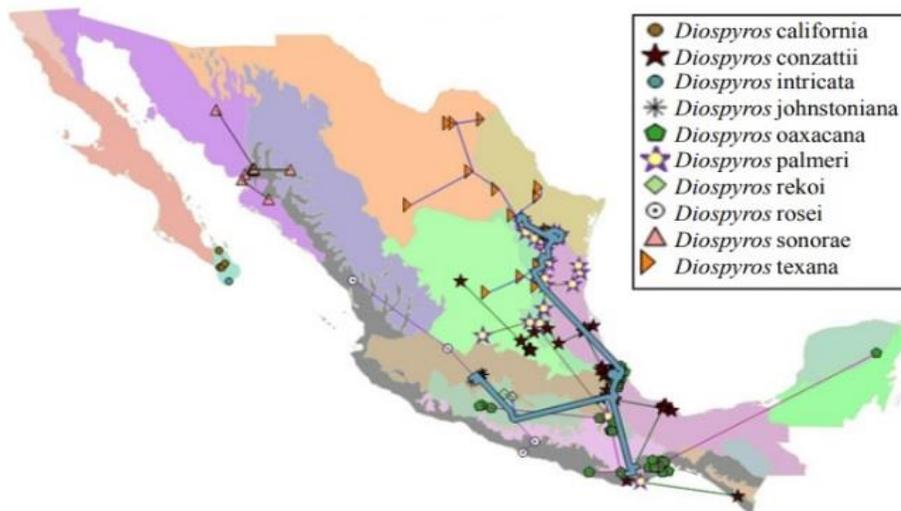
De forma general las especies de *Diospyros* se distribuyen principalmente en la zona Neotropical y transicional Mexicana de Montaña. (García Díaz R. et al., 2015).

García Díaz R. et al., (2015) en su trabajo Análisis panbiogeográfico de *Diospyros* spp. (Ebenaceae) en México (mapa 1); determinó la distribución biogeográfica para las 20 especies del género *Diospyros*, entre ellas *Diospyros digyna* Jacq. y *Diospyros rekoii* Standl. integradas en Global Biodiversity Information Facility (GBIF) (mapa 2 y 3). Aplicó un método combinado para el análisis de trazos y dos análisis de parsimonia de endemismos asociados al mapa de regiones biogeográficas de México y al de tipos de vegetación propuestos por Rzedowski (2006), en el cuál agrupó las provincias del Altiplano Norte (Chihuahuense), Altiplano Sur (Zacatecano-Potosino), Baja California, California, Costa del pacífico, Del cabo, Depresión del Balsas, Eje Volcánico, Golfo de México, Los Altos de Chiapas, Oaxaca, Petén, Sierra Madre del Sur, Sierra Madre Occidental, Sierra Madre Oriental, Soconusco, Sonorense, Tamaulipeca y Yucatán (cuadro 1) .

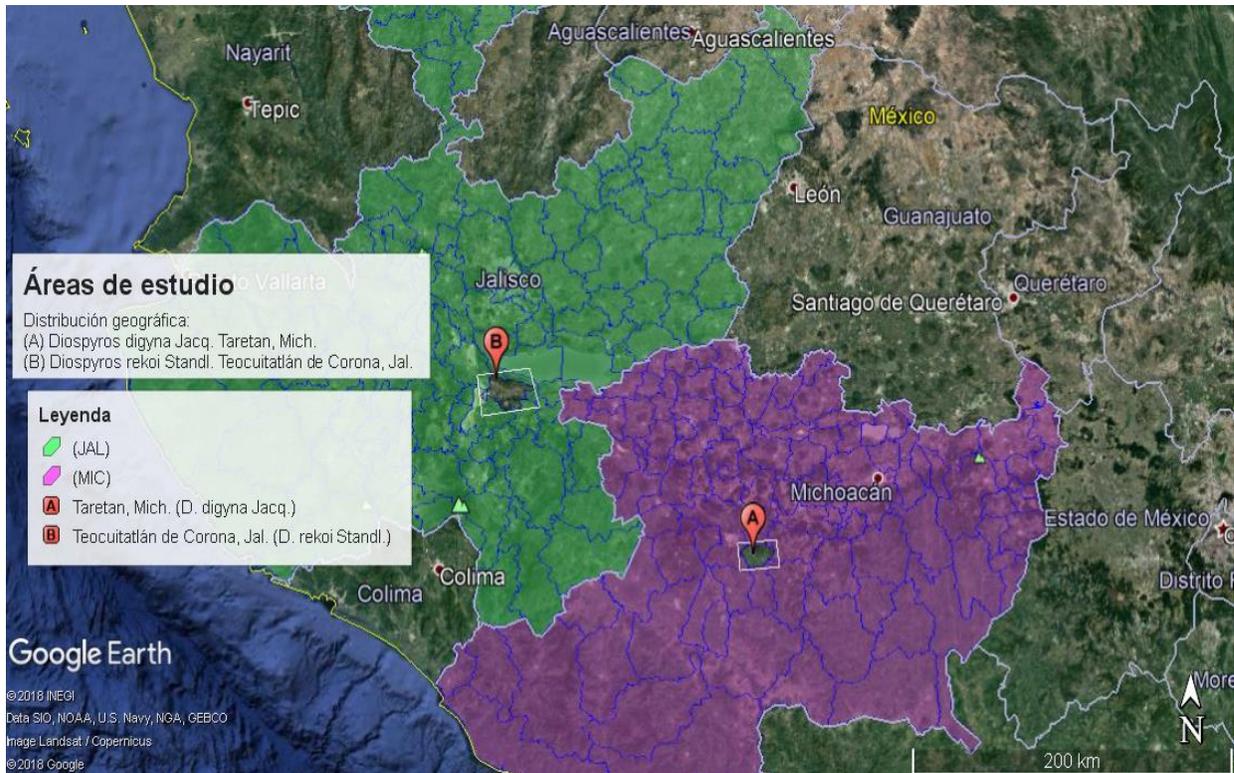
Mapa No. 1 (Apoyo de material visual) Distribución geográfica de *Diospyros digyna* Jacq. en México apareciendo en la descripción del mapa bajo el sinonimo de *Diospyros nigra* (J.F. Gmel.) Perr. con presencia en doce provincias, entre ellas (Costa Pacífica, Petén, Depresión del Balsas, Yucatán, Golfo de México, Sierra Madre del Sur, Altos de Chiapas, Eje Volcanico, Oaxaca, Altiplano Zacatecano-Potosino, y Soconusco).



Mapa No. 2 (Apoyo de material visual). Distribución geográfica de *Diospyros rekoii* Standl. en México, (García Díaz R. et al., 2015) con presencia en una sola provincia perteneciente a la Depresión del Balsas



Mapa No. 3 (Apoyo material ilustrativo) Distribución geográfica en México de: (A) *Diospyros digyna* Jacq. Taretan Mich. (B) *Diospyros rekoi* Standl. Teocuitatlán de Corona Jal. Data SIO, NOAA, U.S. Navy, NGA, GEBCO 2018 INEGI Image Landsat / Copernicus 2018 Google.



Con el fin de trazar los patrones de distribución de las especies de *Diospyros* en México, se sugirió la agrupación propuesta por Provance y Sanders (2006), (2009) y Provance et al., (2008), basándose en análisis taxonómicos convencionales, (García Díaz R. et al., 2015).

Tabla No. 1 (Material de apoyo visual). Especies de *Diospyros* agrupadas por (A) Provance et al. (2008); (B) Provance y Sanders (2006); y (C) Provance y Sanders (2009). Taxa reportada en México. (García Díaz R. et al., 2015).

Complejo	<i>D. rosei</i> (A)	<i>D. salicifolia</i> (B)	<i>D. tetrasperma</i> (C)	<i>D. campechiana</i> (D)
Distinción morfológica	Peciolos ligeramente alados, y venación acrolángulada, donde las principales venas laterales casi forman bucles con venas superadyacentes.	Flores femeninas solitarias, marcadamente acrescentes, 3-4 lobuladas, cáliz mirtriforme persistente en el fruto.	Flores femeninas solitarias, débilmente acrescentes, 4-5 lobuladas, cáliz no mirtriforme persistente en el fruto. Fruto +/- gelatinoso.	Inflorescencias femeninas de 1-4 flores; cáliz débilmente unido al fruto que permanece en el peciolo.
Especies aceptadas	<i>D. rosei</i> Standl. *, <i>D. oaxacana</i> Standl. *, <i>D. palmeri</i> Eastwood. *, <i>D. californica</i> LM. Johnston *, <i>D. sonora</i> Standl. *, <i>D. texana</i> Scheele *, <i>D. conzattii</i> Standl. * <i>Diospyros reko</i> Standl.	<i>D. salicifolia</i> Humb & Bonpl ex Wild. *, <i>D. acapulcensis</i> Kunth *, <i>D. aequoris</i> Standl. *, y <i>D. intricata</i> (A. Gray) Standl. *.	<i>D. tetrasperma</i> Sw. *, <i>D. anisandra</i> Blake * <i>D. johnstoniana</i> Standl & Steyer. *, <i>D. bumeloides</i> Standl. y <i>D. yatesiana</i> Standl. Ex. Lundell*.	<i>D. campechiana</i> Lundell*, <i>D. hartmanniana</i> Knapp y <i>D. panamensis</i> Knapp. <i>Diospyros digyna</i> Jacq.
Especies no aceptadas	<i>D. riojae</i> Gomez-Pompa, <i>D. gomezorium</i> Provance & Sanders (= <i>D. conzattii</i> Standl.), <i>D. xolocotzi</i> Madrigal & Rzedowski (= <i>D. johnstoniana</i> Standl & Steyer., <i>D. torresii</i> M, C. Provance & AC. Sanders (<i>D. oaxacana</i> Standl.) y <i>D. morenoi</i> A. Pool (<i>D. reko</i> Standl.).	<i>D. yucateensis</i> Lundell (= <i>D. Salicifolia</i> Humb & Bonpl ex Wild.).		

La especie de mayor distribución es *Diospyros digyna* Jacq. con presencia en 12 de las 17 provincias biogeográficas mexicanas; esto se debe, principalmente, a que es la especie de mayor interés antrópico por sus bayas comestibles y es cultivada extensivamente (Whiterfoord y Knapp, 2009). Por el contrario, *Diospyros reko* Standl. está restringida a una sola provincia, comprometiendo su supervivencia (García Díaz R. et al., 2015).

Tabla No. 2 (Material de apoyo visual con modificaciones). Matriz de presencia/ausencia de los trazos individuales de *Diospyros digyna* Jacq. y *Diospyros reko* Standl. en las provincias biogeográficas propuestas por Rzedowski (2006), (García Díaz et al., 2015).

Provincia	<i>Diospyros digyna</i> Jacq.	<i>Diospyros reko</i> Standl.
Raíz	0	0
Costa Pacífica	1	0
Petén	1	0
Depresión del Balsas	1	1
Yucatán	1	0
Golfo de México	1	0
Sierra Madre Occidental	1	0
Sierra Madre del Sur	1	0
Altos de Chiapas	1	0
Eje Volcánico	1	0
Oaxaca	1	0
Altiplano Zacatecano- Potosino	1	0
Chihuahuense	0	0
Tamaulipense	0	0
Sonorense	0	0
Sierra Madre Occidental	0	0
Baja California	0	0
Del Cabo	0	0
Sosonusco	1	0

Además de una clasificación geográfica caracterizada por provincias, Rzedowski (2006), también diseñó una clasificación que caracteriza a cada una de las provincias de México por tipo de vegetación, por lo que en el siguiente cuadro se pretende idear de forma más representativa la presencia o ausencia de *Diospyros digyna* Jacq. y *Diospyros rekoii* Standl. en los tipos de vegetación según corresponde.

Tabla No. 3 (Material de apoyo visual con modificaciones). Matriz de presencia/ausencia de las especies de *Diospyros digyna* Jacq. y *Diospyros rekoii* Standl. propuesto por Rzedowski (2006), (García Díaz R. et al., 2015).

Tipos de vegetación	<i>Diospyros digyna</i> Jacq.	<i>Diospyros rekoii</i> Standl
Raíz	0	0
Bosque tropical caducifolio	1	1
Bosque tropical subcaducifolio	1	0
Bosque tropical perennifolio	1	0
Matorral xerófilo	1	0
Bosque de pino-encino	1	0
Bosque mesófilo	1	0
Bosque espinoso	0	0
Pastizal	0	0

Explotación de recursos naturales en México

Dentro del sector primario las actividades más importantes son las relacionadas con la agricultura, pues representan alrededor de 55%, mientras que la ganadería 36%, y la silvicultura y pesca tan solo 9%. Posteriormente a la entrada en vigor del TLCAN (Tratado de Libre Comercio de América del Norte) la actividad económica de México se ha estancado, al pasar de tasas de crecimiento promedio anual de 5%.

El poco dinamismo del sector agrícola, crisis recurrentes y baja disponibilidad de créditos son condiciones económicas a las cuales se enfrenta un productor, influyendo en el interés por promover cultivos o especies que son nativas de México y que además se encuentren con la incertidumbre de aceptación de la población para su consumo. Aunado a esto, algunos autores consideran que, "las condiciones geográficas de un país o región inciden sobre su desempeño a través de la productividad agrícola y la salud de la población", encontrando que existe una relación entre el PIB agrícola per cápita y algunas variables geográficas (Galvis, 2001). Sin embargo, los lugares con una alta diversidad biológico vegetal, presentan un importante potencial para el aprovechamiento y conocimiento de los recursos genéticos, pues se considera los múltiples usos que pueden tener. El principal uso es mediante el consumo fresco, en donde podemos encontrar muchas plantas y frutos que son aprovechados a escala regional, nacional e incluso internacional, considerando las dos últimas en la que se podría explotar mejor, por lo exótico que pueden resultar estos productos (Leroy, 1968; Samson, 1986). Además, a esto, es importante que los productos vegetales sean atractivos por sus características organolépticas, así como el contar con un origen tradicional (Pereira et al., 2012). Este carácter exótico ha presentado un creciente interés, mostrándose principalmente en estudios de carácter fitoquímico y ecológico (Figueiredo et al., 2008).

Estudios realizados en *Diospyros* spp

A nivel de planta entera los metabolitos primarios reportados son azúcares (glucosa, fructosa, arabinosa, ácido galacturónico, lactosa, manitol, glucopiranososa, rafinosa, ramnosa, sacarosa y xilosa), lípidos (ácido octadecanoico, hidroxiocadecanoico, ácido malválico, ácido estercúlico y ácidos grasos de cadena larga) y algunos aminoácidos (alanina, ácido aspártico, cisteína, ácido glutámico, glicina, leucina, metionina, serina, tirosina, treonina, citrullina, hidroxiprolina, norvalina) (Mallavadhani et al. 1998, Peyrat et al. 2016).

Sin embargo, la unión de los estudios químicos y fisiológicos ha demostrado la gran cantidad y diversidad de compuestos orgánicos que biosintetizan las plantas, que pueden ser de aprovechamiento como algunos metabolitos primarios (aminoácidos, carbohidratos, lípidos e intermediarios metabólicos) y secundarios (terpenos, fenoles, alcaloides, glucosinolatos, etc.), que en conjunto constituyen parámetros de caracterización fitoquímica de especies con potenciales bioactivos o diversos usos ambientales. Esta unión entre estudios fitoquímicos y ecológicos permite llevar la explotación sustentable de especies vegetales no solo desde un punto de vista tradicional donde son más relevantes los aspectos económicos, sino que consideran su importancia ecológica y sociocultural y en el caso de especies arbóreas también los múltiples servicios ambientales que puede ofrecer (Tamunaidu y Saka, 2011, Pereira et al., 2012).

***Diospyros* como especie vegetal para el consumo humano**

En los últimos años, la explotación sustentable de especies vegetales, no solo parte desde un punto de vista tradicional, donde son más relevantes los aspectos económicos, sino que consideran su importancia ecológica y sociocultural; además en el caso de especies arbóreas también los múltiples servicios ambientales que puede ofrecer (Tamunaidu y Saka, 2011, Pereira et al., 2012).

No obstante, los actuales problemas de degradación y pérdida de cobertura vegetal contribuyen a mostrar que es importante contar con mayor información de las especies arbóreas, en particular de las que cuentan con un interés por sus frutos, (Marinidou et al., 2013). De esta manera, el género *Diospyros* el cual cuenta con alrededor de 400 especies la mayoría de porte arbóreo y arbustivo, es de gran interés el consumo de sus frutos, por el contenido de moléculas con propiedades bioactivas y su uso ornamental, (Leonti et al. 2013).

En México, se presentan alrededor de 20 especies con importancia por sus frutos comestibles (Carranza-González, 2000) de los cuales en la región de Jalisco-Michoacán se encuentran ocho especies con diferente nivel de importancia, así como variedad de usos; el de mayor importancia por el nivel de consumo y un cultivo extensivo, es el Zapote negro (*Diospyros digyna*) un árbol frutal presente en México y América Central, distribuido en la vertiente del pacífico desde la zona costera de Jalisco hasta la costa de Chiapas y en la vertiente del golfo desde el norte de Puebla y Veracruz hasta el norte de Chiapas; se observa en afloramientos rocosos, ambientes húmedos y áreas degradadas (Pennington y Sarukhan, 2005). Son árboles de 6 a 20 metros de altura y un diámetro a la altura de pecho (DAP) estándar de 1 m, con el tronco frecuentemente acanalado, ramas ascendentes y luego colgantes, copa redonda y densa de hasta 10 metros, por lo tanto, con una densidad vegetal amplia. Esta especie, se adapta mejor a suelos arcillosos, generalmente de origen aluvial con mal drenaje, así como a zonas cálidas de hasta 1800 msnm y con clima bien distribuido en temporada húmeda y seca. En México se asocia a bosque tropical subcaducifolio cerca de escurrimientos de agua y lagunas. Cuenta con una amplia aceptación por el uso de su madera, así como el aprovechamiento de sus frutos comestibles que son ricos en calcio, vitamina E y C (Carranza-González, 2000; Yahia et al 2011).

En contraste con el zapote negro está el zapotillo negro (*Diospyros rekoii*), un árbol con usos a escala microregional, distribuido en la vertiente del pacífico desde Jalisco hasta Oaxaca en la sierra madre del sur y la faja volcánica transmexicana, con reportes de presencia en Nicaragua. Está presente de manera aislada en bosques caducifolios o subcaducifolios de tipo tropical o pino-encino e incluso en matorrales, prefiere los suelos rocosos y se ha observado en altitudes de los 300 a los 1800 msnm. Son árboles deciduos de hasta 20 metros de alto con un DAP estándar de 60 cm, con madera suave de color ligeramente oscuro y de olor agradable, cuenta con copa muy densa y ramas ascendentes. Se distingue por presentar indumento en hojas y frutos inmaduros que se vuelven glabros una vez maduros. No se han descrito usos adicionales más allá del consumo de sus frutos (Wallnöfer 2009).

El género *Diospyros* se ha estudiado a partir de especies asiáticas y africanas, las cuales se encuentran bien caracterizadas. Dentro de los cuales destacan, sobre el contenido de azúcares, fenoles y ácidos orgánicos en las especies *D. kaki*, *D. lotus* y *D. virginiana*, además de las variaciones de ácidos fenólicos en el crecimiento de los frutos de *D. lotus* (Ayaz y Kadioglu., 1997). Por otra parte, Thuong y colaboradores en 2008 realizaron la caracterización fitoquímica de hojas en distintas etapas de crecimiento de *D. kaki* encontrando nuevos

compuestos a los anteriormente descritos para la especie. Adicionalmente, se realizaron estudios que muestran variaciones en los compuestos bioactivos de corteza dependiendo de la localidad geográfica de la colecta en árboles de *D. marítima*, pues encontraron diferencias significativas en el contenido de compuestos e incluso nuevos y diferentes compuestos en uno de los extractos (Gu et al., 2004).

Para *Diospyros digyna* Jacq., actualmente solo se ha reportado su uso empírico o tradicional como ligero laxante y para contrarrestar los efectos de la diabetes (Devalaraja et al., 2011); con reportes científicos para el tratamiento de cáncer (Alonso-Castro et al., 2011). Igualmente, se cuenta con información fitoquímica del fruto referente al contenido de vitamina C (Corral-Aguayo et al., 2008), carotenoides, fenoles y actividad antioxidante (Yahia et al., 2011) y contenido de antocianinas (Moo-Huchin et al. 2014). No obstante, estos estudios se realizaron en frutos colectados de mercados sin indagación respecto al origen, por lo que las variaciones ambientales y el estrés que pudo estar presente en los árboles que produjeron dichos frutos no es conocido y no es posible investigar que origina diferencias en la concentración de sus componentes químicos.

Taxonomía química del género *Diospyros*

En las plantas superiores se encuentra diversidad de compuestos químicos que permiten realizar una aproximación moderna a la clasificación de las plantas, adicional a las clasificaciones tradicionales que utilizan características morfológicas y anatómicas, esta se denomina como quimiotaxonomía o taxonomía química, la cual se fundamenta de manera principal en la estructura química de los metabolitos secundarios y en rutas biosintéticas que como se mencionó antes, son normalmente específicas y restringidas a un grupo taxonómico en particular (Singh et al., 2016). La taxonomía química es considerada una mejor forma de clasificación, por los avances en las técnicas analíticas a través de la obtención de perfiles metabólicos que resultan más asequibles comparados con métodos moleculares. Existen diversas familias que han sido ampliamente estudiadas desde el punto de vista químico como son la familia Malvaceae, Ranunculaceae, Magnoliaceae, Polygonaceae y Solanaceae, las cuales son más conocidas (Sivarajan, 1991) no obstante, existen familias poco estudiadas como el caso de Ebenaceae de la cual forma parte el género *Diospyros*. Los primeros estudios quimiotaxonomicos del género se reportaron en 1900 a partir de la identificación de taninos en frutos de *D. kaki* (pérsimo japonés), sin embargo, el aislamiento de los ácidos ursólico, betulínico y oleanólico en extractos etanólicos de cálices de este fruto marcaron el formal inicio de la investigación de los triterpenoides del género (Mallavadhani et al., 1998). Actualmente se han estudiado cerca de 130 especies de *Diospyros* caracterizados por la presencia de carotenoides, taninos, azúcares, carbohidratos, lípidos, compuestos aromáticos, flavonoides, cumarinas, esteroides, terpenoides y

naftoquinonas en hoja, tallo, raíz, flor, fruto, semilla y corteza, siendo los triterpenos y las naftoquinonas los que se han encontrado de manera más abundante y con presencia en prácticamente todos los tejidos (Mallavadhani et al., 1998) lo que nos indicaría que forman parte de la huella química del género.

Justificación

Los vegetales mínimamente procesados son denominados como cualquier fruta u hortaliza que ha sido alterada físicamente a partir de su forma original pero que mantiene su estado fresco (IFPA, 2002). El desarrollo de nuevos productos a través de la producción de procesos novedosos o estrategias de conservación e implementación de nuevos alimentos al mercado ofrecen un futuro prometedor para el mantenimiento de las células de quienes consumen productos naturales ricos con capacidad antioxidante (características organolépticas). *Diospyros digyna* Jacq. posee una concentración total de carotenoides de 399.4 µg de β-caroteno/100 g de peso en fresco, siendo la luteína el mayor carotenoide identificado, también posee una concentración de tocoferol de 672.0 µg /100 g en peso fresco, la luteína está considerada como la vitamina de los ojos. La utilizan para la prevención de enfermedades como la degradación macular senil (DMS), las cataratas y la retinitis pigmentosa, algunas personas también la utilizan para la prevención de cáncer de colon, y de mama, la diabetes de tipo II y las enfermedades cardiovasculares, (Merino-Sánchez L., 2011).

Una característica química muy particular de la familia Ebenaceae es la presencia de polifenoles (metabolitos secundarios) los cuales están involucrados en sus procesos bióticos, como la protección de los rayos UV, la defensa ante el herbivorismo, la regulación de fitohormonas del tipo auxinas, la atracción de animales polinizadores y de animales dispersores de semillas y frutos, inducción de la nodulación por parte de las bacterias fijadoras de nitrógeno así como protección de hongos y bacterias. Sin embargo, la constitución química precisa de estos compuestos aún no se ha determinado, aunque la evidencia preliminar sugiere que en su mayoría son flavonoides, (Ramírez-Briones E. et al., 2017).

Los azúcares de los frutos del zapote negro *Diospyros digyna* Jacq. y el zapotillo negro *Diospyros rekoii* Standl. representan una fuente de ingresos económicos para incluirlos en sistemas de producción para fines alimenticios y/o producción de endulzantes de origen natural, además de su capacidad antioxidante

que mantiene la vitalidad de las células de quienes consumen sus frutos, (Merino-Sánchez L., 2011).

La especie *Diospyros rekoï* solo cuenta con estudios respecto a su distribución biogeográfica y su descripción botánica, indagar sobre sus procesos ecofisiológicos ampliará el conocimiento para futuras investigaciones.

La relación de la concentración de los carbohidratos no estructurales (glucosa, fructosa, sacarosa) con el ambiente en donde se desarrollan, ejemplifican los procesos de adaptación de las especies mencionadas y su relación con los ecosistemas donde habitan.

El zapote negro *Diospyros digyna* Jacq. y *Diospyros rekoï* Standl. son de gran importancia etnobotánica (García Díaz R. et al., 2015), por lo que su estudio retoma sus antiguos usos para fines comerciales y científicos con la finalidad de conocer su estado actual respecto al estrés ambiental al que se encuentran sometidos.

Objetivos

Objetivo General.

Determinar la concentración de azúcares del zapote negro *Diospyros digyna* Jacq. y zapotillo negro *Diospyros rekoii* Standl.

Objetivos particulares.

1. Comparar la concentración de los carbohidratos no estructurales glucosa, fructosa, sacarosa en dos especies de *Diospyros digyna* Jacq. y *Diospyros rekoii* Standl.
2. Relacionar la concentración de carbohidratos no estructurales con el ambiente donde se desarrollan las especies de *Diospyros digyna* Jacq. y *Diospyros rekoii* Standl.

Hipótesis

El ambiente influye en la fisiología de las plantas, así como la zona en donde habitan, por lo que la temperatura, la precipitación y la disponibilidad de agua probablemente actuarán en las diferencias de las concentraciones de azúcares no estructurales como glucosa, fructosa y sacarosa en *Diospyros digyna* Jacq. y *Diospyros rekoii* Standl.

Marco Teórico

El género *Diospyros* es el más representativo de la familia Ebenaceae con más de 500 especies, más de 100 en el continente americano y más de 20 en el territorio mexicano. La última revisión comprensiva del género data del siglo XIX (Hiern, 1873); aunque recientemente las especies mesoamericanas han sido revisadas (Whitefoord y Knapp, 2009; Provance y Sanders, 2006; 2009; Provance *et al.*, 2008) y actualmente se lleva a cabo una revisión de las especies neotropicales (Wallnöfer, 1999), aunado a la existencia de un estudio biogeográfico de este género en México (García Díaz R. *et al.*, 2015). La distribución principal se presenta en zonas tropicales y subtropicales, muchas de las especies del género son árboles dioicos de porte bajo y medio que crecen en bosques a bajas densidades poblacionales. Pocas especies han penetrado a zonas montañosas y templadas. Muchas de estas especies crecen en regiones húmedas, cerca de ríos o zonas inundables, así como algunas prefieren tipos de vegetación secos, sabanas y bosques caducifolios (Wallnöfer, 2001).

Estudios de actividad antioxidante y antibacterial en *Diospyros*.

La especie *Diospyros kaki* es la especie más reconocida por sus frutos y madera (ébano), producido a gran escala por múltiples variedades en Asia Oriental, China, Japón y Corea (Singh Joshi, 2011). En México la especie más aprovechada es *Diospyros digyna* Jacq. que se conocen como zapote negro o Tilzapot en idioma Nahuatl; existen otras de importancia restringida a nivel local como *Diospyros konzattii* (Whitefoord y Knapp, 2009; Provance *et al.*, 2013).

Una gran cantidad de extractos de *Diospyros* han sido probados contra distintas cepas de bacterias Gram positivas y Gram negativas, mostrando en su mayoría una importante actividad antibacteriana debido a la presencia de naftoquinonas, principalmente como la diospirina, iso-diospirina, lupeol, estigmasterol y ácido betulínico (Rauf *et al.*, 2017). Asimismo, al probar extractos metanólicos de *D. canaliculata* contra infecciones fúngicas oportunistas, mostraron ser muy eficientes comparados con inhibidores estándar como el paraquat. Por lo tanto, estos extractos son excelentes candidatos para generar formulaciones antifúngicas considerando su bajo nivel de toxicidad. (Dzoyem *et al.* 2011).

El consumo frecuente de frutas y vegetales ha sido asociado a la baja incidencia de enfermedades degenerativas, tales como cáncer, enfermedades cardíacas, inflamatorias y del sistema inmunológico, además de disfunciones neurológicas y de cataratas. Estos hechos están relacionados con la presencia de varios compuestos antioxidantes en las frutas y en los vegetales (Wang et al., 1997; Fogliano et al., 1999).

Los antioxidantes tienen como función impedir que los radicales libres dañen las células y los tejidos (Fogliano et al., 1999). En la industria alimenticia el uso de antioxidantes no es reciente, sin embargo, se nota una tendencia en sustituir antioxidantes artificiales por naturales (Amarowicz et al., 2004).

Las principales clases de antioxidantes que pueden estar presentes naturalmente en los alimentos son los compuestos fenólicos (ácidos fenólicos, flavonoides y taninos), carotenoides tocoferoles, ácido ascórbico y sus derivados (Velioglu et al., 1998; Amarowicz et al., 2004). Los compuestos fenólicos han recibido mucha atención de los últimos años sobre todo por inhibir la peroxidación lipídica y la lipoxigenasa in vitro (Sousa et al., 2007). La acción de estos antioxidantes puede ocurrir por medio de la oxidación, en la que ellos mismos serían los reactivos, o por interacción con metales de transición (Fe^{+2} y Cu^{+2}). Los polifenoles son efectivos donantes de hidrógeno y su potencial antioxidante está correlacionado con el número y la posición de los grupos hidroxílicos y conjugaciones, así como con la presencia de electrones donantes en el anillo aromático β , debido a la capacidad que ese anillo aromático tiene que soportar el anillo desparejado de electrones localizado en el sistema de electrones (Ramírez – Tortoza et al., 2001).

Antecedentes de estudios asociados al género *Diospyros*

Diospyros kaki L. es una de las especies más estudiadas del género *Diospyros*

El caqui *Diospyros kaki* L. es una fruta que contiene alto contenido de polifenoles, incluyendo flavonoides, ácido gálico, ácido p-cumárico, catequinas y taninos condensados; de esta forma varios investigadores se han dedicado al estudio de sus propiedades (Gorinstein et al., 2001, Park et al., 2006, Gu et al., 2008. Chen et al., 2008, Milani et al., 2010) y antimicrobianas (Milani et al., 2009). Por esta razón es considerable conocer más acerca de las distintas especies que comprenden el género *Diospyros*.

Según Caetano et al., (2009), la solubilidad de los compuestos fenólicos en un determinado solvente es una característica peculiar de una composición química de la planta o de la fruta, lo que explica la inexistencia de un procedimiento universal estándar, apuntando a la necesidad de selección cuidadosa del método de extracción para cada una de las fuentes naturales de antioxidantes. Varios estudios

han reportado la relación entre el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante de productos vegetales (Velioglu et al., 1998; Katsube et al., 2004; Chen et al., 2008). Park et al. (2006) observaron una elevada correlación entre el contenido de compuestos polifenólicos encontrados en extractos de caqui (*Diospyros kaki* L. var. Triumph) y el porcentaje de inhibición de la oxidación por medio de la prueba de captura de radicales libres DPPH. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en el experimento de la actividad antioxidante y antimicrobiana in vitro de extractos de caqui (*Diospyros Kaki* L.), una vez que el extracto oleoso de romero, el extracto hidroetanólico bruto de caqui y la fracción residual, que presentaron los mayores contenidos de compuestos fenólicos, también presentaron la mayor actividad antioxidante y, consecuentemente, presentaron los menores valores de concentración inhibitoria (Park et al., 2006) En las condiciones de este estudio, el extracto bruto de caqui y su fracción residual presentaron mayor contenido de compuestos fenólicos que las demás fracciones probadas, además de la actividad de eliminación del radical DPPH fue superior sugiriendo que los compuestos fenólicos tuvieron significativa contribución a la actividad antioxidante. Se sugiere que el extracto hidroetanólico crudo de caqui y la fracción residual presentan posibilidad de ser aplicados en alimentos, mereciendo estudios más avanzados en ese sentido; el extracto hidroetanólico bruto de caqui y las fracciones hexánica clorofórmica, acetato de etilo y la fracción residual no presentaron actividad contra las bacterias probadas (Milani et al., 2012).

Clasificación taxonómica

- Clase. Equisetopsida C. Agardh
- Subclase. Magnoliidae Novák ex Takht.
- superorden: Asteranae Takht.
- Orden. Ericales Bercht. & J. Presl
- Familia. Ebenaceae Gürke
- género: *Diospyros* L.
- especie: *Diospyros digyna* Jacq.

- Clase. Equisetopsida C. Agardh
- Subclase. Magnoliidae Novák ex Takht.
- superorden: Asteranae Takht.
- Orden. Ericales Bercht. & J. Presl
- Familia. Ebenaceae Gürke
- género: *Diospyros* L.
- especie: *Diospyros rekoii* Standl.

Descripción botánica

El carácter morfológico primitivo de Ebenaceae es sympetalae es decir tiene los pétalos fusionados, tienen un cáliz separado de la corola y sus pétalos fusionados, al menos en la base de la corola. Pose megasporas que también son de carácter primitivo y sugiere, junto con otros personajes de la familia, que pudo tener alguna relación con el orden Myrtales, no tiene tejido parietal en el microsporangio por lo que indica que Ebenaceae proviene de alguna familia superior de Archiclamydeae porque en las familias inferiores el tejido parietal suele ocurrir en el megasporangio. La formación del saco embrionario se produce de manera habitual, y en general no proporciona evidencia alguna para la evolución de las dicotiledóneas. Es cierto en general que los gametofitos de las angiospermas son de menor valor para la evidencia relativa a la evolución que los esporofitos. (Kono Yasui, 1915)

Árboles 8-35 m; corteza negra, acanalada; ramitas negras o amarillentas, con frecuencia diminutamente estrigilosas. Hojas 12-18(-30) × 3-5(-7) cm, espaciadas a lo largo de las ramas, oblongo-elípticas o lanceolado-elípticas, coriáceas o subcoriáceas, glabras excepto por unos cuantos tricomas estrigilosos, verde-gris o negruzcas cuando secas, el haz brillante, el envés opaco, la nervadura ligeramente elevada en ambas superficies, la base redondeada o cuneada, los márgenes algunas veces revolutos, el ápice generalmente obtuso, ocasionalmente acuminado; nervaduras laterales 8-15 pares; pecíolo 5-15(-40) mm. Inflorescencias axilares o en la base del vástago en el crecimiento actual. Flores estaminadas subsésiles, en címulas con c. 5 flores; pedúnculo de la címula c. 5 mm; cáliz hasta 10 mm, puberulento, el tubo c. 5 mm, los lobos estrigiloso-tomentulosos abaxialmente; estambres c. 20, incluidos, hasta 9 mm, en su mayoría en pares; pistilodio diminuto, setuloso. Flores pistiladas solitarias u ocasionalmente en aglomerados de 1-3; cáliz ligeramente más largo y la corola ligeramente más corta y ancha que en las flores estaminadas; estaminodios c. 12, 3-8 mm; ovario c. 5 mm, subgloboso, tomentuloso; lóculos 8 o 10, 1-ovulados; estilos 4-5, c. 5 mm, unidos basalmente. Bayas (3-)6-8 cm de diámetro, subglobosas, glabras cuando maduras, negras; pedicelo en el fruto 2-4 mm, muy robusto y leñoso; cáliz en el fruto 3.5-4 cm

de diámetro, pateniforme, someramente lobado, los lobos 4, 1-1.5 cm, anchamente ovados o suborbiculares, los márgenes engrosados y undulados; semillas 8 o 10 o menos por aborto, c. 2 x 1 cm. Selvas riparias, bosques montanos, frecuentemente cultivada. T (*Matuda*, F); Ch (*Matuda*, F); Y (*Gaumer et al.* BM); C (*S. Ramírez*, MEXU); QR (*Cabrera y de Cabrera 6542*, MEXU); B (*Gentle 1187*, NY); G (*Steyermark*, F); H (*Hazlett*, MO); ES (*Calderón*, US); N (*Standley*, F); CR (*Allen*, BM); P (*Gentry*, NY). 20-1700 m. (México, Mesoamérica, Colombia, extensamente cultivada en los trópicos por sus frutos comestibles.)

Existen 2 localidades registradas para la especie *Diospyros reko* Standl. una en el estado de Jalisco ubicada en el municipio de Teocuitatán de Corona asociada a Bosque Tropical Caducifolio (BTC) y otra perteneciente al estado Guerrero en el municipio de Ahotla, localidad asociada a BTC en la Depresión del Balsas. Está asociado a especies vegetales tales como *Euphorbia tanquahuete* Sessé & Moc. *Ficus petiolaris* Kunth *Jacaratia mexicana* A. DC. *Hylocereus* spp. (Provance M. and Sanders A. 2006)

Etnobotánica del zapote negro *Diospyros digyna* y el zapotillo negro *Diospyros reko*

En el estado de Guerrero el zapote negro *Diospyros digyna* se emplea para curar la sarna. Con este propósito se muelen los frutos tiernos hasta lograr una pasta espesa que se coloca en la zona afectada. En Michoacán, se usa para los nervios, la cocción de la corteza junto con la cáscara de zapote blanco y de la pulpa de chompantle, se toma como té por las noches. Para usarse en paño en la cara se aplica las veces que sea necesario la pulpa del fruto inmaduro. (Atlas de las plantas de la Medicina Tradicional Mexicana).

Relación de la captura de carbono en los ecosistemas con la acumulación de carbohidratos en las plantas

La proporción de los hidratos de carbono en los ecosistemas esta intrínsecamente relacionado con el aumento de la temperatura ambiental que cambia en los diferentes periodos estacionales, (Tan Z. et al., 2012). El aumento de los fosfatos de hexosas no interviene en la degradación de los hidratos de carbono debido a que las especies estudiadas *Diospyros digyna* y *D. reko* presentan altos niveles de adaptabilidad en los ecosistemas donde habitan, debido a su fisionomía arborea (Tan Z. et al., 2012).

El efecto que tienen los cambios de temperatura, fotoperiodo, disponibilidad de agua y nutrientes en la síntesis de metabolitos, es relativamente comprendido, puesto que se asume que mediante su presencia la planta puede amortiguar los cambios ambientales que se presenten, sin embargo, dependiendo de la señal que perciba

la planta generará metabolitos específicos. Es importante resaltar como diversos autores (Rodziewicz et al., 2014; Scognamiglio et al., 2014; Zandalinas et al., 2017), han mostrado que la interacción de estresores repercute en la respuesta de la planta, por ejemplo la combinación más frecuente en el medio natural que es la disponibilidad de agua, temperatura y radiación no tendrá una misma respuesta en la planta si adicionalmente existe una condición de exceso de salinidad en forma de Na^+ ya que esta condición adicional puede incrementar o disminuir la síntesis de algún metabolito relacionado con la respuesta a estrés por radiación. Al realizar una comparación entre los factores climáticos, edáficos químicos y edáficos físicos podemos verificar que todos tienen importante influencia en la síntesis de metabolitos secundarios, sin embargo, los factores climáticos junto con los edáficos químicos tendrán una mayor participación con respecto a los edáficos físicos debido al dinamismo que presentan tales factores. Aunque se ha mencionado como todos los factores ambientales influyen en la síntesis de metabolitos, existe poca información concluyente respecto a la influencia que tienen algunos aspectos edáficos químicos y la mayoría de aspectos edáficos físicos debido a que la planta tiene adaptaciones fisiológicas que le ayudan a tolerar tales circunstancias adicionales a que como se mencionó son factores poco dinámicos (Poschenrieder et al., 2008).

Adicionalmente a los factores abióticos existen factores bióticos relacionados con la variación de metabolitos secundarios sin embargo detrás de estos cambios existen teorías motivo de discusión debido a que las hipótesis planteadas consideran múltiples aspectos que explican la evolución de los patrones de variación estacional y ontogénica (Koricheva y Barton, 2012). Una de las hipótesis que explica la evolución en los cambios temporales, considera que son respuestas adaptativas a la presión ejercida por herbívoros, polinizadores patógenos y plantas que representan competencia, resultando en diversas consecuencias ecológicas que han sido documentadas por estudios que muestran cambios en el tiempo de alimentación de los herbívoros en bosques tropicales y templados o por la atracción de enemigos naturales de los herbívoros. (Dicke et al., 2012).

Interés humano (Domesticación)

El nivel de manejo de estas dos especies y el ambiente en el que crecen los árboles está asociado con diferencias considerables en la firmeza del pericarpio y la proporción del arilo con su semilla principalmente, características de interés humano y que pueden alterar las capacidades de dispersión y sobrevivencia en condiciones naturales. Por ello se considera que existe un proceso de domesticación de *Diospyros digyna* Jacq. donde el móvil principal puede ser la pronta maduración de los frutos y el tamaño del arilo, además del aumento en sólidos solubles, peso y luminosidad (García-Díaz R. (et al. 2015. <http://memoriasocla.agro.unlp.edu.ar>)

Métodos enzimáticos para la determinación de carbohidratos

Los carbohidratos pueden determinarse también enzimáticamente. Existe un gran número de enzimas que catalizan reacciones sobre los carbohidratos y sus derivados y algunas de ellas se utilizan en los métodos analíticos para la determinación de glúcidos, (Roca P. et al., 2003). Los métodos enzimáticos para la cuantificación de monosacáridos presentan una elevada especificidad, sin embargo, algunas enzimas pueden reaccionar con más de un monosacárido como ocurre con la enzima hexoquinasa que se utiliza generalmente para medir la glucosa de una muestra pero que no es específica para la determinación de dicha glucosa ya que puede catalizar la fosforilación de otras hexosas, (Roca P. et al., 2003). Además, aunque muchas enzimas están comercializadas en estado casi puro existe la posibilidad de que en el purificado de la enzima utilizada se dé también la presencia de pequeñas cantidades de otras enzimas cuyo sustrato podría encontrarse en el medio de reacción, (Roca P. et al., 2003).

Determinación de la glucosa por el método de la hexoquinasa

Pilar Roca, Jordi Oliver y Ana María Rodríguez en su libro titulado “Bioquímica, técnicas y métodos (2003) esquematizaron las rutas enzimáticas involucradas en la degradación de carbohidratos no estructurales (glucosa, fructosa y sacarosa) las cuales se describen a continuación:

Figura 1. (Material de apoyo ilustrativo). Determinación de la fructosa utilizando hexoquinasa, en la cuál se acopla una segunda reacción que actúa como indicadora de la primera la cuál aprovecha la reacción de del NADP+

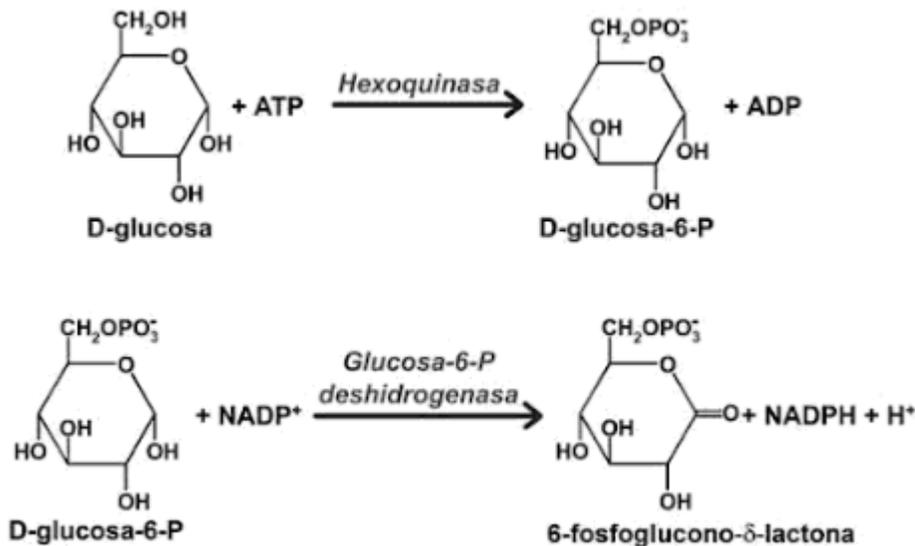


Figura 2. (Material de apoyo ilustrativo). Otras hexosas pueden ser analizadas por métodos similares, por ejemplo: la D-galactosidasa puede ser determinada utilizando la galactosa deshidrogenasa, que la oxida a D-galacto-1-4-lactona, produciéndose NADH en la reacción, (Roca P. et al., 2003).

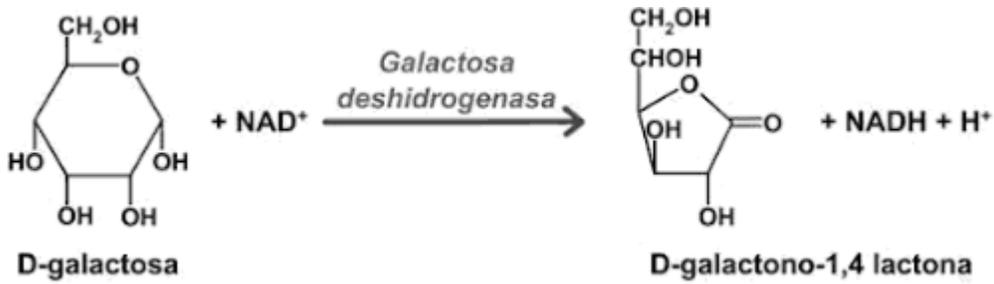
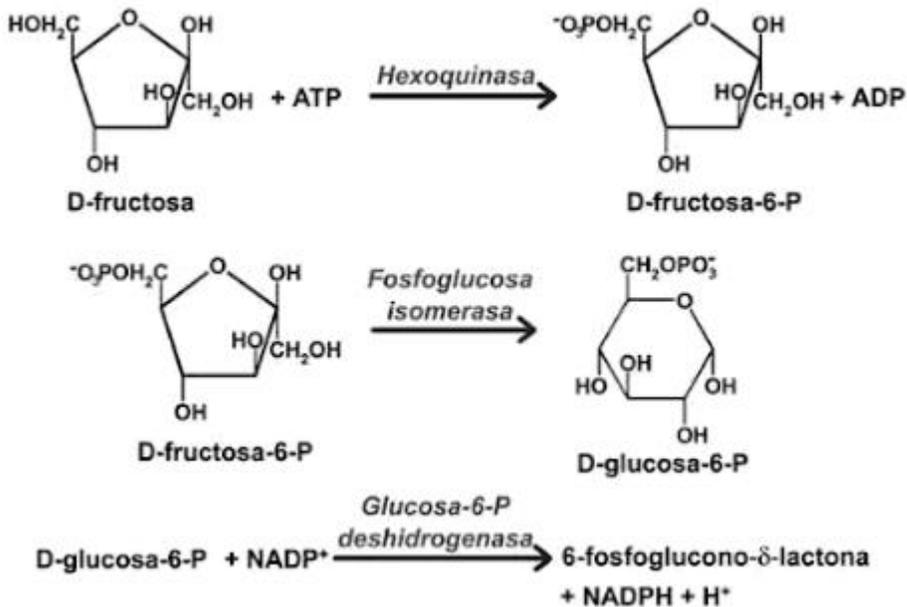


Figura 3. (Material de apoyo ilustrativo). La fructosa puede determinarse acoplado tres reacciones enzimáticas: las catalizadas por la hexoquinasa, la fosfoglucoisomerasa y la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, de forma que al final puede medirse la reducción de $NADP^+$, acoplándose de la siguiente manera, (Roca P. et al., 2003).



Por lo tanto, la glucosa y la fructosa pueden determinarse en una misma muestra realizando un método en tres etapas, (Roca P. et al., 2003).

Figura No. 4.1 (Material de apoyo ilustrativo). Primera etapa: adición de reactivo con hexoquinasa. Lectura de la absorbancia de la muestra a 340nm (Roca P. et al., 2003).

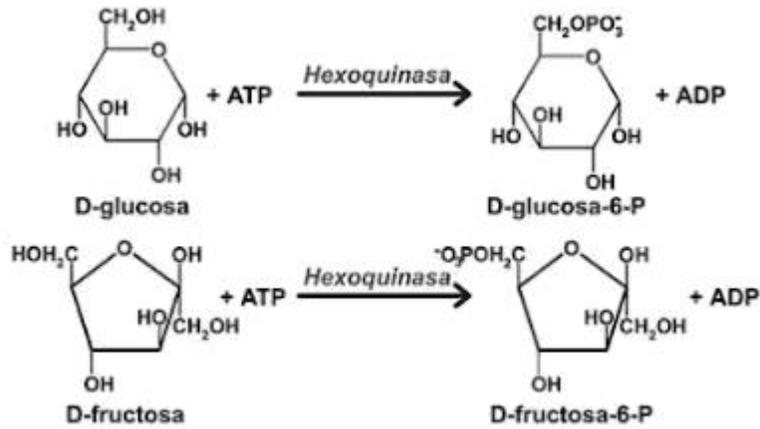


Figura No. 4.2 (Material de apoyo ilustrativo). Segunda etapa: determinación de la glucosa por adición de reactivo con Glucosa 6-P deshidrogenasa, para la identificación de la glucosa. Lectura de la absorbancia a 340 nm una vez transcurrida la reacción (unos 20 minutos); el incremento entre la lectura de la primera y la segunda etapa es atribuible a la cantidad de glucosa presente en la muestra, (Roca P. et al., 2003).

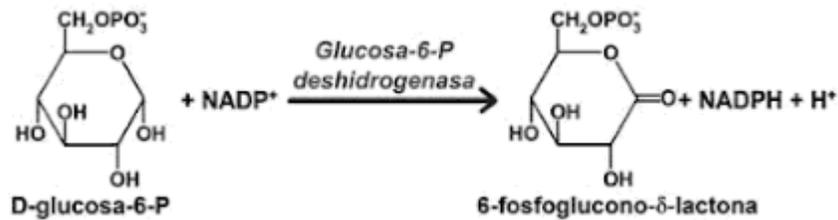


Figura No. 4.3 (Material de apoyo ilustrativo). Tercera etapa: determinación de la fructosa por adición de reactivo con fosfoglucoasa isomerasa, que convertirá la fructosa-6-P deshidrogenasa. De esta manera se puede determinar también la fructosa presente en la muestra, (Roca P. et al., 2003).

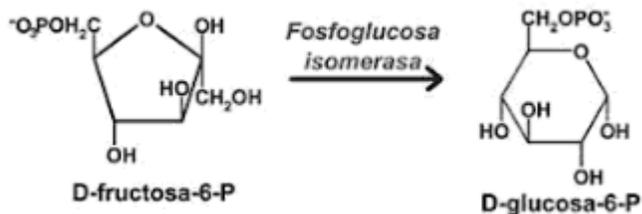
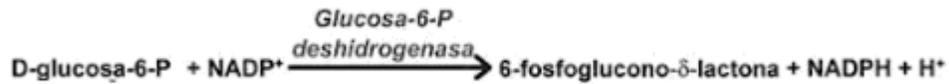


Figura No. 5 (Material de apoyo ilustrativo). Lectura de la absorbancia a 340 nm una vez transcurrida la reacción (unos 20 minutos). El incremento entre la lectura de la segunda y la tercera es atribuible a la cantidad de fructosa presente en la muestra, (Roca P. et al., 2003).



Cabe mencionar que cuando se están caracterizando los diferentes carbohidratos en la técnica de espectrofotometría la distancia recorrida por la glucosa es la que se toma como referencia, (Roca P. et al., 2003).

Materiales y métodos

Se muestrearon individuos de las especies *Diospyros digyna* Jacq y *Diospyros rekoii* Standl., con individuos provenientes de las localidades de Taretan, Michoacán con coordenadas 19°20'11.1" N 101°55'16" W para *D. digyna* Jacq y Teocuitatán, Jalisco con coordenadas 20°10'53"N 103°24'42" W para *D. rekoii* Standl.

Se recolectó material vegetal (hojas) tomando como referencia los puntos cardinales N (cara norte), S (cara Sur), E (cara Este) y W (cara Poniente). Las muestras fueron colectadas en bolsas de plásticos y transportadas en hielo seco (-20°C); fueron liofilizadas y maceradas para su posterior análisis. Posteriormente, se pesó 50mg de hojas pulverizadas de los 4 puntos cardinales. Se hicieron 5 repeticiones para cada estación.

Para la extracción de azúcares no estructurales (glucosa, fructosa y sacarosa) se empleó el método descrito por Wright et al., 1998 con modificaciones, el cual se describe a continuación:

Para la especie *Diospyros digyna* Jacq. se pesaron en una balanza milimétrica 20 muestras de 50mg de tejido liofilizado con 5 repeticiones para cada una, mientras que, para la especie *Diospyros rekoii* Standl. se pesaron 25 muestras de 50mg de tejido liofilizado con 5 repeticiones para cada una. Los pesos totales de 50mg se guardaron en tubos eppendorf de 2 ml. Posteriormente se Re suspendieron en 500µl de buffer de extracción y se mantuvieron en agitación durante 10 minutos. Posteriormente se centrifugaron a 12,000g durante 10 minutos; luego, se colectaron los sobrenadantes en tubos eppendorf nuevos. Luego por cada tubo, con buffer de extracción se extrajo dos veces con 50µl y se centrifugó a 12,000g durante 10 minutos y se colectó el sobrenadante. Posteriormente los 1.5ml de sobrenadante colectados se secaron en el Maxi-dry, una vez finalizado el secado se Re

suspendieron en 500µl de buffer de extracción de Hepes a 100mM, estos contuvieron las debidas concentraciones de los azúcares no estructurales (glucosa, fructosa, sacarosa) mientras que las pastillas contuvieron el almidón, (Wright et al., 1998). Una vez finalizada la parte de extracción de azúcares se prosiguió a la cuantificación de azúcares, la cual contenía 200µl por cada muestra. Para la determinación de los azúcares no estructurales, la glucosa fue estequiométricamente convertida a G6P y después a fosfogluconato. Por cada mol de hexosa, un mol de NADPH fue producido, mientras que por cada mol de sucrosa se produjeron 2 moles de NADPH, Las soluciones se prepararon por separado en cada tubo eppendorf. Posteriormente, se prosiguió a la mezcla de reactivos para azúcares en cajas Elisa de 5 a 10µl de muestra, luego se le agregaron los 200µl de la mezcla de reacción. Posteriormente se leyeron las muestras a 340nm (alrededor de 20 minutos) hasta que aparecieran estables a 30° C. Luego, por cada muestra se agregó 2µl de solución de la enzima hexoquinasa (HK), posteriormente se leyeron las muestras cada 2 minutos hasta que la lectura no cambiara. Luego, por cada muestra se agregaron 4µl de solución buffer de extracción y se leyeron cada 2 minutos hasta que las lecturas no presentaran cambios.

Estequiometría

Sustratos:

Hexocinasa  D-Glucosa

Invertasa  Sacarosa

Formulas. (mg de FW por muestra)

Cálculos para D-Glucosa y D-Fructuosa.

$$Glucosa \left(\frac{nmol}{pozo} \right) = \frac{Abs}{17.7} (1/\mu mol)$$

$$Glucosa \left(\frac{\mu mol}{g} \right) (FW) = (Abs 1 \mu mol) \left(\frac{1}{V_{ext}} \right) \left(\frac{V_{total} (ml)}{g FW} \right)$$

FW= peso en fresco.

Se calculó la diferencia de absorbancia entre A2 y A1 para blancos y muestras A= A2 – A1

Posteriormente, se restó la diferencia de blancos a la diferencia de muestra

A= A(muestra) – A(blanco)

$$C = \frac{Vf * PM_{glucosa} * A}{E * d * Vm * 1000}$$

Vf= volumen final

PM= peso molecular de azúcar (180)

E= coeficiente de extinción de azúcar (6.3)

d= peso de la luz en cm (0.651)

Vm= vol. de la muestra

Obtención de datos climatológicos para la construcción de climogramas

Los datos climatológicos se obtuvieron de la base de datos del satélite de la NASA (precipitación, disponibilidad de agua y temperatura) y se realizaron medidas mensuales para la interpretación de los climogramas que correspondieron a cada localidad (Taretan, Mich para *Diospyros digyna* Jacq. y Teocuitatlán de Corona, Jal para *Diospyros rekoi* Jacq.

Análisis estadísticos para la determinación de concentración de azúcares no estructurales (glucosa, fructosa, sacarosa)

Para los datos de los azúcares no estructurales (glucosa, fructosa, sacarosa) se utilizó una ANOVA de factores múltiples

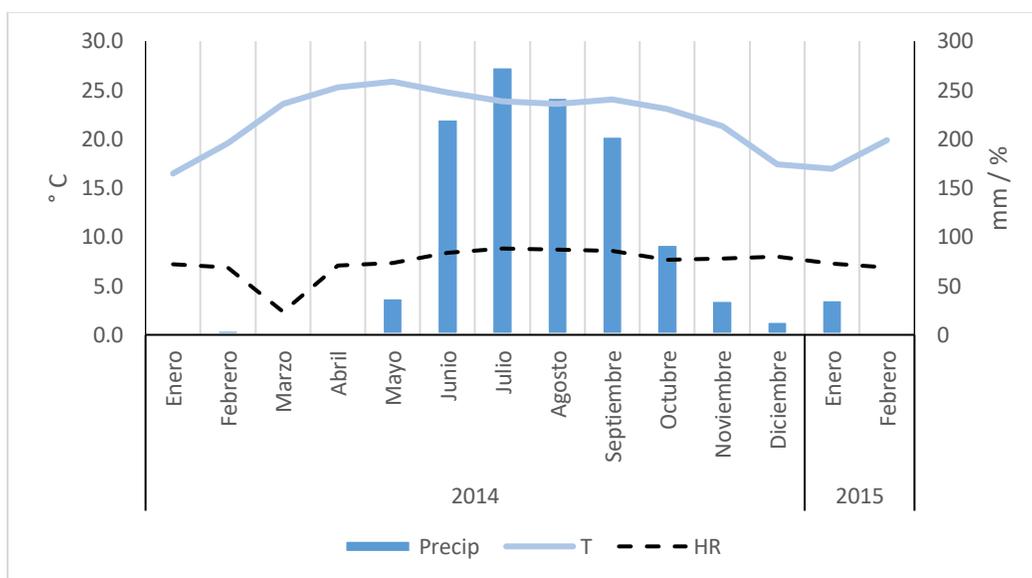
Resultados

Datos climatológicos en sitios de muestreo

Los ejemplares colectados se encontraron en sitios con una condición ambiental y manejo contrastante. Para el caso de *Diospyros digyna* formaban parte de un sistema agroforestal dentro de una vegetación de tipo bosque tropical subcaducifolio a una altitud de 1100 msnm en la provincia “escarpa limítrofe sur” dentro del municipio de Taretan, Michoacán. Mientras que los ejemplares de *D. rekoii* se encontraron en la parte baja de una cañada con orientación N-S en condiciones naturales dentro de vegetación de bosque tropical caducifolio (BTC) con algunos elementos de bosque de galería a una altitud de 1800 msnm dentro de la faja volcánica transmexicana en el municipio de Teocuitatlán de Corona, Jalisco.

Las condiciones ambientales particulares de cada sitio se registraron durante 14 meses, durante los cuales se observaron variaciones de precipitación y temperatura con respecto a las normales climatológicas, así como variaciones en humedad relativa. En el caso de Taretan, Mich. durante enero se presentaron las temperaturas más bajas (16° C) para ambos inviernos, siendo éstas más altas que las normales climatológicas registradas. En el resto de los meses no se registraron variaciones, presentándose temperaturas promedio dentro del rango de las normales climatológicas del sitio.

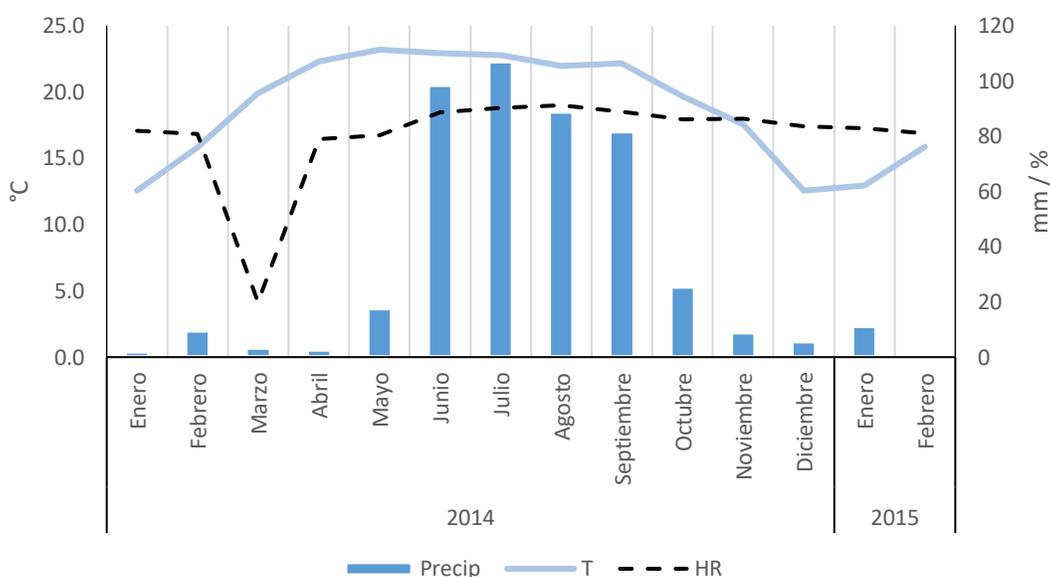
La precipitación acumulada durante el año 2014 no presentó variaciones con respecto a las normales climatológicas, sin embargo, durante invierno de 2015 en especial durante enero se presentaron valores atípicos de precipitación, registrando valores 96 % más altos (61.3 mm) que la normal registrada en un lapso de 40 años. Los valores de humedad relativa no presentaron variaciones estacionales, correspondiéndose con el tipo de vegetación y condición ambiental del sitio.



Gráfica No. 1. Climograma del sitio de colecta en Taretan, Mich.

Para la localidad de Teocuitatlán de Corona Jal. al igual que en Taretan las temperaturas más bajas se presentaron durante enero para ambos inviernos, siendo enero de 2014 el mes más frío (16.47°C), registrándose temperaturas más altas que las normales climatológicas; mientras que en ese mismo año la temperatura más alta se registró en mayo (25.86°C), la cual estuvo por debajo de las normales climatológicas.

En cuanto a la cantidad de precipitación, el acumulado anual (462 mm) no mostró diferencias significativas con respecto a la normal climatológica (502 mm) con un pico máximo de 107.1 mm en julio de 2014. Sin embargo, se encontró que los valores de humedad relativa (HR) fueron mayores al 80% durante todo el periodo de colectas algo poco usual en BTC al igual que la poca oscilación térmica, situación derivada de la orografía del sitio.



Gráfica No. 2 Climograma del sitio de colecta en Teocuitatlán de Corona, Jal.

Determinación de la concentración de azúcares por estacionalidad

a. Azúcares en hoja de *D. digyna*.

Para los azúcares no estructurales (Glucosa, Fructosa y Sacarosa) en hojas de *D. digyna* se observa una mayor concentración de sacarosa con respecto a glucosa de hasta dos veces más y de hasta 48 veces más para fructosa, principalmente durante

primavera en todos los ejemplares estudiados y en menor medida durante el verano como se muestra en la tabla 1.

Con respecto a los valores de glucosa se presentaron diferencias significativas ($p < 0.01$) entre las muestras de diferentes estaciones, con una tendencia clara de valores más altos durante otoño-invierno con respecto a primavera-verano. De manera adicional el análisis *Post-hoc* entre los árboles de una misma estación mostró diferencias significativas ($p < 0.01$) como se muestra en la tabla 1, siendo los valores del árbol 1 y 2 los que presentaron diferencias significativas ($p < 0.01$) con respecto al resto de árboles.

Para los valores de fructosa se encontró la misma tendencia entre otoño-invierno y primavera-verano siendo los valores más bajos en los dos últimos. El análisis de *Tukey* entre árboles de una misma estación mostró de igual forma a la glucosa diferencias significativas ($p < 0.01$) entre el árbol 1 y 2 con respecto al resto durante primavera y verano, mientras que durante el otoño los árboles 2 y 3 mostraron diferencias significativas ($p < 0.01$) con el resto de árboles siendo el valor más bajo el árbol 1. Adicionalmente durante el invierno las diferencias significativas ($p < 0.01$) fueron entre los árboles 4 y 5 con respecto al resto.

En el caso de la sacarosa los valores presentaron un patrón diferenciado con respecto a glucosa y fructosa, siendo los valores más altos durante primavera-verano con diferencias significativas ($p < 0.01$) con respecto a otoño e invierno. Las diferencias entre árboles por estación mostraron diferencias significativas ($p < 0.01$)

entre el árbol 2 con respecto al resto durante primavera – verano y el árbol 1 con respecto al resto durante otoño-invierno.

De acuerdo a los valores y diferencias entre azúcares se observó que los ejemplares pueden agruparse entre los ejemplares con altas tasas de radiación y radiación limitada como el árbol 1 y 2 que forman parte de este primer grupo.

Tabla 4. Concentración de azúcares no estructurales en hoja de *Diospyros digyna*

		Concentración de azúcares no estructurales en hoja de <i>Diospyros digyna</i> ($\mu\text{mol} / \text{g}$ peso fresco)				
		Glucosa				
		A1	A2	A3	A4	A5
2014	Prim	64.3 \pm 1.87	87.9 \pm 1.76	76.36 \pm 8.18	50.61 \pm 1.16	72.31 \pm 2.14
	Ver	74.48 \pm 2.17	84.93 \pm 1.75	53.86 \pm 4.8	48.06 \pm 0.93	66.99 \pm 1.31
	Oto	86.53 \pm 2.23	186.81 \pm 9.08	136.58 \pm 3.84	91.71 \pm 1.81	97.83 \pm 2.71
	Inv	166 \pm 14.6	156.8 \pm 5.22	118.45 \pm 4.14	127.4 \pm 4.04	133.7 \pm 5.75
		Fructosa				
2014	Prim	13.74 \pm 0.80	21.04 \pm 0.84	19.86 \pm 2.11	12.0 \pm 0.57	11.91 \pm 0.65
	Ver	20.90 \pm 0.75	32.58 \pm 1.05	21.23 \pm 1.84	20.43 \pm 0.70	21.32 \pm 0.59
	Oto	34.74 \pm 0.70	67.46 \pm 1.94	62.61 \pm 2.03	53.01 \pm 0.62	58.05 \pm 1.94
	Inv	70.43 \pm 5.33	65.06 \pm 1.33	73.02 \pm 2.58	58.28 \pm 1.50	48.06 \pm 1.94
		Sacarosa				
2014	Prim	172.2 \pm 10.57	233.3 \pm 5.51	165.9 \pm 14.4	199.3 \pm 3.1	196.09 \pm 3.45
	Ver	191.61 \pm 6.58	204.99 \pm 1.76	136.1 \pm 10.9	144.0 \pm 9.51	173.5 \pm 3.47
	Oto	152.3 \pm 10.33	61.0 \pm 3.6	72.3 \pm 2.2	90.67 \pm 2.05	102.73 \pm 1.41
	Inv	87.7 \pm 7.44	58.85 \pm 2.69	62.94 \pm 0.89	99.9 \pm 1.66	105.5 \pm 2.63

b. Azúcares en hoja de *D. rekoi*.

La condición ambiental, así como la fenología de la especie propia de un BTC fueron evidentes de acuerdo con la concentración de azúcares determinadas en los árboles muestreados donde la sacarosa presentó los niveles más bajos con respecto a

glucosa y fructosa con un promedio de 60% y 30% menos respectivamente. Siendo los valores más altos durante ambos inviernos principalmente de glucosa (tabla 2).

Al igual que *D. digyna* Los valores estacionales de glucosa también mostraron diferencias significativas ($p < 0.01$) en *D. rekoï* sin mostrar una tendencia que permita diferenciar la época cálida con respecto a la época fría ya que las diferencias se presentaron en todas las estaciones. Mientras que el análisis *post-hoc* también mostró diferencias significativas ($p < 0.01$) entre todos los individuos durante todas las estaciones excepto durante la primavera. Durante el invierno, el otoño y el verano el árbol 1 tuvo los valores más altos (tabla 2) presentando diferencias significativas ($p < 0.01$) con respecto al resto de árboles.

Para los valores de fructosa se presentaron diferencias significativas ($p < 0.01$) entre las distintas estaciones siendo primavera y verano los valores más bajos. La comparación entre los distintos árboles analizados mostró que durante el otoño y ambos inviernos el árbol 1, 3 y 4 tuvieron los valores más altos con diferencias significativas con respecto al resto (tabla 2), mientras que durante la primavera y el verano el árbol 4 y 2 respectivamente tuvieron diferencias significativas ($p < 0.01$) con respecto a los árboles 1, 3 y 5. Tanto el árbol 2 como el 4 se encontraban en la ladera sur de la cañada donde se realizó el muestreo.

En el caso de la sacarosa se encontraron diferencias significativas ($p < 0.01$) entre las distintas estaciones con los valores más altos durante el verano y los más bajos durante la primavera (tabla 2) lo cual coincide con la época de menor precipitación. Con respecto a los análisis *post-hoc* se encontraron diferentes patrones durante las

distintas estaciones, mientras que durante invierno de 2014 únicamente el árbol 1 tuvo diferencias significativas ($p < 0.01$) con respecto al resto con un mayor valor, en invierno de 2015 no se presentaron diferencias significativas entre los distintos árboles. Asimismo, durante primavera las diferencias significativas ($p < 0.01$) se presentaron entre los árboles 1,2 y 3 con respecto al árbol 4 y 5 siendo estos últimos los que presentaron las concentraciones más altas. Para verano los valores de sacarosa en el árbol 3 y 5 fueron los más bajos presentando diferencias significativas ($p < 0.01$) con respecto al resto. Durante el otoño el árbol 1 tuvo el valor más alto (tabla 2) presentando diferencias significativas ($p < 0.01$) con respecto al resto de árboles.

Tabla 5 Concentración de azúcares no estructurales en hojas de *Diospyros rekoï*

		Concentración de azúcares no estructurales en hoja de <i>Diospyros rekoï</i> ($\mu\text{mol} / \text{g}$ peso fresco)				
		Glucosa				
		A1	A2	A3	A4	A5
2014	Prim	67.1 \pm 1.02	79.3 \pm 2.1	77.8 \pm 4.4	80.6 \pm 1.07	73.0 \pm 0.49
	Ver	56.1 \pm 1.33	37.4 \pm 1.46	61.3 \pm 1.44	41.2 \pm 1.19	59.9 \pm 0.46
	Oto	81.69 \pm 3.29	50.61 \pm 1.75	50.8 \pm 4.46	76.08 \pm 3.94	53.76 \pm 0.80
	Inv	76.3 \pm 2.66	51.08 \pm 1.11	48.63 \pm 2.09	69.91 \pm 2.61	75.89 \pm 2.52
2015	Prim	68.12 \pm 0.50	58.33 \pm 0.66	75.70 \pm 1.92	62.05 \pm 2.57	58.80 \pm 1.00
		Fructosa				
2014	Prim	13.74 \pm 1.28	18.45 \pm 0.64	17.23 \pm 0.54	44.20 \pm 0.53	17.27 \pm 0.34
	Ver	28.34 \pm 0.65	17.56 \pm 1.52	24.76 \pm 0.29	16.0 \pm 0.82	24.05 \pm 0.93
	Oto	46.4 \pm 1.80	31.59 \pm 1.92	42.93 \pm 2.74	40.25 \pm 1.93	29.09 \pm 0.74
	Inv	59.13 \pm 1.3	34.27 \pm 0.47	33.52 \pm 2.56	58.05 \pm 1.74	49.38 \pm 3.17
2015	Prim	52.35 \pm 1.0	40.48 \pm 0.68	52.35 \pm 1.20	53.01 \pm 1.84	43.40 \pm 0.81

		Sacarosa				
2014	Prim	9.6 ± 0.54	9.03 ± 0.53	9.04 ± 0.65	15.48 ± 0.47	11.29 ± 0.83
	Ver	37.99 ± 1.63	35.96 ± 2.57	19.86 ± 0.62	31.87 ± 0.13	22.31 ± 0.38
	Oto	30.97 ± 1.03	16.57 ± 0.94	17.32 ± 0.96	15.63 ± 0.86	16.10 ± 0.27
	Inv	16.71 ± 0.62	12.85 ± 0.59	13.51 ± 0.39	13.41 ± 0.35	12.61 ± 1.08
2015	Prim	11.72 ± 0.69	12.28 ± 0.53	12.61 ± 0.52	14.35 ± 0.85	12.00 ± 1.30

Discusión

Los constantes cambios a los que se enfrentan las plantas en distintas escalas de tiempo, han generado que desarrollen respuestas tanto a factores bióticos como abióticos, esto lo han logrado mediante el ajuste de sus procesos fisiológicos y metabólicos, desde un nivel molecular hasta el de organismo (Krasavina et al., 2014). Una manera clara de identificar tales estrategias adaptativas es mediante el balance del carbono entre fuentes y sumideros, mismo carbono que se encuentra involucrado en los procesos metabólicos de la fotosíntesis y la respiración (Li et al 2016). Este balance de carbono propicia el planteamiento de distintas hipótesis para su estudio, lo cual aún es proceso de discusión y análisis, sin embargo, los estudios al respecto convergen en denominar a estos procesos como la economía del carbono de las plantas, en donde ocurre una producción, almacenamiento, inversión y pérdidas (Würth et al 2005). Esta economía del carbono es particularmente interesante en los bosques tropicales y subtropicales de latitudes entre 30° y 40° así como en lugares elevados en zonas tropicales (Zhang et al., 2015) como el caso de México, en donde se presentan características ecológicas únicas como son las ligeras variaciones en la temperatura ambiente a lo largo de las estaciones, limitaciones moderadas por disponibilidad de agua, alta radiación solar e inviernos suaves que en conjunto tienen poco impacto en la fotosíntesis y en el crecimiento de árboles (Tan et al., 2012), lo que los convierte en ecosistemas con alta asimilación de carbono. Esta economía del carbono es dinámica, por lo que en un momento dado la fracción móvil de estos compuestos pasa por una acumulación pasiva que las plantas realizan para los desfases periódicos entre captación neta y necesidades, así como por solutos en parte transitorios que pueden estar relacionados a la formación de compuestos de defensa o representan las reservas formales, por lo que exceptuando estos compuestos transitorios, el resto de formas reflejan el estado general de carbono principalmente en forma de carbohidratos no estructurales como almidón (azúcar no soluble) y azúcares solubles como la glucosa, sacarosa y fructosa (Würth et al., 2005).

Tales carbohidratos son clave para la obtención de energía y en la formación de metabolitos en plantas. De manera general los metabolitos son definidos como pequeñas moléculas orgánicas que pueden ser divididos en dos clases; los metabolitos primarios que son moléculas involucradas en rutas biosintéticas de componentes esenciales de las células como los aminoácidos, nucleótidos, azúcares y fosfolípidos; y los denominados metabolitos secundarios, que son definidos como compuestos que facilitan la interacción biótica y forman parte de los mecanismos de defensa (Hartmann, 2007).

La dinámica estacional de los carbohidratos no estructurales se ha estudiado preferentemente en árboles y arbustos (Cruz y Moreno, 2001; Larcher y Thomaser-Thin 1998; Mooney y Hays, 1973). Los hidratos de carbono almacenados como reserva permiten a las plantas unir el crecimiento de la asimilación del carbono durante todo el año confiriéndoles supervivencia en condiciones estresantes estacionales y facilita la recuperación de otras alteraciones (Iwasa y Kubo, 1997; Meloche y Diggle, 2003; Wyka, 1999). *Diospyros digyna* Jacq. mantiene muchas de sus hojas siempre verdes (perennifolia) mientras que *Diospyros rekoi* Standl. arroja la mayor parte de sus hojas (caducifolia). En sus formas solubles, los carbohidratos no estructurales sirven como reguladores importantes del ajuste fisiológico de las plantas a la presión y estrés (Larcher y Thomaser-Thin, 1998; Meletiou-Christou et al., 1992; Rhizopoulou et al., 1989). Sin embargo, las plantas que viven en condiciones ambientales similares relativas pueden mostrar diferentes dinámicas de almacenamiento de hidratos de carbono, su uso en la regulación y como las emplean para sus estrategias ecológicas (Barbaroux y Bréda, 2002; Larcher y Thomaser-Thin, 1988; Mooney et al., 1992; Newell et al., 2002). Esas diferentes fenologías foliares con respecto al estrés al que están sometidas nos hablan de la adaptación que cumplen con el ambiente. Muchos autores han reportado diferencias en la dinámica de los carbohidratos en especies deciduas y siempreverdes (Mooney y Hays, 1973; Newell et al., 2002; Pilsanen y Saranpcici, 2001). En la mayoría de los casos las especies de hojas perennes muestran fluctuaciones estacionales menos dramáticas para su reserva de hidratos de carbono en comparación a las especies deciduas (Hoch et al., 2003). Las especies estudiadas *Diospyros digyna* Jacq. y *Diospyros rekoi* Standl. fueron encontrados en comunidades restringidas a micrositios húmedos, *D. rekoi* se encontró en Bosque Tropical Caducifolio (BTC) en la localidad de Teocuitatán de Corona, Jalisco en una cañada conocida como la Barranca del Frijol. En las áreas más secas o con mayor frecuencia perturbadas la vegetación es remplazada por árboles que presentan un dimorfismo estacional (Margaris 1981; Shmida y Burgess, 1988). La población de *Diospyros digyna* encontrada en Bosque tropical sub-caducifolio o selva mediana en la localidad de Taretan, Michoacán está relacionada con la tolerancia al estrés, mientras que *Diospyros rekoi* evita el estrés al eliminar sus hojas. El dimorfismo estacional generalmente está relacionado con una reducción de la biomasa de transporte de las plantas durante los periodos estacionales de sequía (Orshan, 1972; Orshan y Zand, 1962).

Las diferentes estrategias que utilizan *Diospyros digyna* y *D. rekoi* tienen un efecto importante en la dinámica del ciclo del carbono en los ecosistemas. El patrón estacional de acumulación de los carbohidratos fue similar entre las dos especies analizadas, sin embargo, mostraron diferentes grupos de patrones estacionales de concentración de hidratos de carbono no estructurales (D-glucosa, D-fructosa y sacarosa) respectivamente. Ambas especies tuvieron variaciones de la concentración total carbohidratos no estructurales debido, a sus diferencias fenológicas. Tanto la floración de *Diospyros digyna* como de *Diospyros rekoi* suceden en la estación de primavera, de abril a mayo, mientras que la formación del fruto y su maduración comprende los últimos días de la estación de verano, todo el otoño y $\frac{1}{4}$ de invierno en los meses de agosto a enero. La producción de D-glucosa en el año 2014 en *Diospyros digyna* fue de un 8.63% superior en comparación con *Diospyros rekoi*, por otro lado, la D-fructosa producida en el año del 2014 en *Diospyros rekoi* fue de un 1.11% superior en comparación a *Diospyros digyna* y la sacarosa producida para el mismo año en *Diospyros digyna* fue de un 64.50% superior en comparación a *Diospyros rekoi*. De los tres azúcares no estructurales que se compararon entre las dos especies la sacarosa fue el carbohidrato que representó más diferencias en cuanto a su producción anual. La comparación de la concentración total de azúcares no estructurales para cada especie estudiada no representó una diferencia significativa ya que *Diospyros digyna* produjo durante el año 2014 una concentración total de azúcares no estructurales de $142\mu\text{mol/g}^{-1}$ de peso seco, mientras que *Diospyros rekoi* para el mismo año obtuvo una concentración total de $123\mu\text{mol/g}^{-1}$ de peso seco, lo cual representó un 13.38% de diferencia entre ambas especies. La sacarosa es uno de los principales productos finales de la fotosíntesis en las plantas. Se sintetiza a partir de UDP-Glu (Uridina Difosfato Glucosa), precursor de la sacarosa y Fru-6-P bajo la catálisis de Suc-P-sintasa (SPS) y Suc-6-P fosfatasa. La sacarosa se produce principalmente en hojas maduras los órganos fuente, predominantes de las plantas que transportan carbono a través del floema a los órganos receptores fotosintéticamente inactivos para la producción de energía y la formación del esqueleto de carbono (Winter y Huber, 2000; Fernie et al., 2002; Koch, 2004).

El control del metabolismo y transporte de la sacarosa juega un rol crítico en el crecimiento y desarrollo de las plantas durante la transición de la fuente al sumidero (Lalonde et al., 1999; Winter y Huber, 2000; Truernit, 20001; Koch 2004). La sacarosa sintasa proporciona sustratos para la síntesis de carbohidratos y está muy expresada en los órganos de almacenamiento como las semillas, los frutos y las raíces, y a menudo se relaciona con el contenido de almidón y el tamaño de los

frutos (Herbers y Sonnewald, 1998, Fernie et al., 2002) A pesar de las diferencias ecológicas y el estrés ambiental al que están sometidas, tanto *Diospyros digyna* como *Diospyros rekoii* son parecidas en cuanto a su comportamiento de producción de carbohidratos no estructurales, siendo la producción de biomasa parecida entre ambas especies. Las diferencias entre los órganos fotosintéticos de ambas especies mostraron dinámicas similares de carbohidratos no estructurales, sin embargo, las dos especies emprendieron una estrategia ecológica diferente debido a que los azúcares solubles se mantuvieron aproximadamente constantes en *Diospyros digyna* probablemente como un mecanismo para evitar la pérdida de agua por estrés hídrico, contrario a *D. digyna*, *Diospyros rekoii* evitó el estrés de los meses de sequía permaneciendo casi sin hojas así que no necesita mecanismos de compensación osmótica. El proceso del mecanismo de transición sumidero-fuente (sink-source) juega un papel determinante en la fluctuación de los azúcares no estructurales en los procesos de demanda de energía para la producción floral y posterior formación del fruto ya que la capacidad del almacenamiento de los carbohidratos determina en gran medida el potencial de rendimiento haciendo eficiente la distribución de carbohidratos para que las plantas realicen sus tareas metabólicas que requieren para autorregularse. Este proceso está regido por expresión de genes relacionados a nivel transcripcional. La enzima sacarosa sintasa (SUS) desempeña un papel central en la degradación de sacarosa a hexosa, esta enzima cataliza la reacción en la que los enlaces 1-6-glucosídicos se traducen en α -1-4-glucanos y es esencial en la síntesis de amilopectina. Después del rumbo, el almidón acumulado se degrada a glucosa y se vuelve a sintetizar en sacarosa por acción de la α -amilasa.

La acumulación de carbohidratos no estructurales en las hojas reprime la fotosíntesis, sin embargo, el alcance de la represión debe ser diferente entre las hojas que consumen azúcar y las hojas que exportan azúcares. La acumulación de carbohidratos en las hojas a menudo reprime la fotosíntesis (Krapp et al., 1991, Krapp y Stitt, 1995, Jeannette et al., 2000). La acumulación de carbohidratos en las hojas a menudo causa la inhibición por retroalimentación de la síntesis de sacarosa y la acumulación de fosfatos en el citosol.

Finalmente, el estudio preliminar de la dinámica de acumulación de carbohidratos en esta especie, permitirá mejorar su aprovechamiento, pues el género *Diospyros* es fuente de diversos productos de importancia económica, el principal son los frutos que son apreciados por su sabor y dulzura como los de *Diospyros kaki*, *D. virginiana*, *D. lotus* y *D. digyna* (Mallavadhani et al., 1998), este último con relativamente grandes áreas de cultivo, principalmente en la región sur de México y algunos otros con importancia regional o local en el centro y occidente del país, como es el caso de *D. rekoii*, *D. riojiae* y *D. xolocotzii*; no obstante, a su uso

como alimento, se ha reportado como fuente de veneno, medicamentos, hojas para cigarros y para elaborar bebidas alcohólicas conocidas como la cerveza de pèrsimo, y brandy de zapote (Wallnöfer, 2001) o a escala nacional el mole de zapote negro. En el caso de la madera el Ébano destaca como uno de los materiales mejor valuados para *Diospyros* con distintos usos como elaboración de instrumentos, muebles y decoración sin embargo existen numerosas especies de alcance regional que tienen usos más artesanales.

Conclusión

Las diferentes estrategias tanto en *Diospyros digyna* Jacq. como en *Diospyros rekoii* Standl. con respecto a los periodos de sequía tuvo importantes consecuencias en el proceso y almacenamiento de azúcares no estructurales y en la dinámica del ciclo del carbono en los ecosistemas donde habitan. El árbol tolerante al estrés *D. digyna* mantuvo muchas de sus hojas verdes e incrementó sus concentraciones de azúcares solubles durante los periodos de sequía, su capacidad de almacenamiento era pequeña pero su presencia de biomasa fotosintética a lo largo del año garantizó el suministro de carbono. Por otro lado, *D. rekoii* fue menos tolerante al estrés desprendiendo la mayoría de sus hojas en los periodos de sequía. El requerimiento adicional de carbono para reconstruir su biomasa fotosintética en los periodos de sequía llevó a *D. rekoii* a depender de las reservas leñosas de almidón almacenado en el verano. En efecto, independientemente de los patrones de desprendimiento de las hojas y las diferentes dinámicas estacionales que presentó cada región (Taretan, Michoacán y Teocuitatlán de Corona, Jalisco), la variación relativa de las concentraciones de azúcares no estructurales fue muy similar entre ellas.

El proceso del mecanismo de transición fuente-sumidero jugó un papel determinante en la fluctuación de los carbohidratos no estructurales en los procesos de demanda de energía para la producción floral y posterior formación del fruto ya que la capacidad del almacenamiento de los hidratos de carbono determina en gran medida el potencial de rendimiento haciendo eficiente la distribución de carbohidratos para que las plantas realicen sus tareas metabólicas que requieren para autorregularse.

En cuanto a las fluctuaciones del clima podemos decir que hubo diferencias de temperatura para las dos regiones estudiadas. En la región de Taretan, Michoacán, hubo un incremento de temperatura de 0.41°C comparando el mes de enero de 2014 y enero de 2015 representando un incremento de 2.42%. Mientras que, para Teocuitatlán de Corona, Jalisco, hubo un incremento de temperatura de 0.48°C comparando el mes de enero de 2014 y enero de 2015 representando un incremento de 2.83%. Hubo cierta oscilación de ENOS (El Niño-Sourthen-Osilation) para tales años, pero para un clima de influencia continental no se podría aseverar que tal fenómeno contribuyo a las diferencias de temperatura expuestas anteriormente.

El estrés ambiental al que se encuentran sometidas actúa como reloj biológico a través la fotosíntesis, expresa su plasticidad fenotípica y modifica la dinámica del transporte y la demanda de carbohidratos no estructurales (D-glucosa, D-fructosa y sacarosa), y como utilizan las reservas de almidón para su mantenimiento.

Debido a que, en estas especies existe un proceso de domesticación poco marcado, el aprovechamiento del zapote negro *Diospyros digyna* Jacq. y el zapotillo negro *Diospyros rekoii* Standl. proviene casi exclusivamente de genotipos silvestres. El conocimiento de sus recursos bióticos para aprovecharlos es de gran importancia etnobotánica debido a la composición nutricional de sus frutos.

El desarrollo de huertos para estas dos especies podría ser de gran utilidad asociable a la proximidad de centros económicos regionales, reforzando los componentes culturales de la nación sobre la composición florística y los valores de conservación de huertos, demostrando que los agroecosistemas pueden jugar un papel significativo en la conservación de la vegetación silvestre frente la deforestación que padece México contribuyendo a la riqueza de plantas mesoamericanas que representan un alto valor para la ecología, agricultura y silvicultura.

Apéndices

Reactivo		Buffer Hepes 100 mM +MgCl₂
HK (Roche) Yeast 1426362	30µl	300µl
PGI (Roche) Yeast 128139	30µl	300µl
Invertasa	50mg	50µl

Cuadro No. 4 Reactivos del método descrito por Wright et al., 1998 con modificaciones

Reactivos	(mM)	100 muestras
NADPH		1mg
ATP		20mg
G6PDH		20µl
Buffer Hepes + MgCl ₂		19.8

Cuadro No. 5 Reactivos del método descrito por Wright et al., 1998 con modificaciones

Bibliografía

Aguilera CM., Ramírez-Tortosa MC., Mesa M. (2001) Efectos protectores de los ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados sobre el desarrollo de la enfermedad cardiovascular.

Alonso-Castro, A., Villareal M., Salazar-Olivo L., Gómez-Sánchez M., Dominguez, F., García-Carranca A. (2011) Mexican medicinal plants used for cáncer treatment: Pharmacological, phytochemical and ethnobotanical studies. *Journal of Ethnopharmacology*. 133. 945-972.

Amarowicz R., Troszynska A., Barylko-Pikielna N., Shahidi F. (2005) Polifenolics extracts from legume seeds correlations between total antioxidant activity, total phenolics content, atannins content and astringency.

Araya T., Noguchi K., Terashima I. (2006) Effects of carbohydrate accumulation of photosynthetic Differ between sink and source leaves of *Phaseolus vulgaris* L.

Ayaz F A., Kadioglu A. (1997) Changes in Phenolic acid contents of *Diospyros lotus* L. during fruit development. *Journal of agricultural and food chemistry*. 45. 2539 – 2541

B. Wallnöfer. (2009) A revisión of neotropical *Diospyros* (Ebenaceae): part 3

Banguela A., Hernández L. (2006) Fructans: from natural sources to transgenic plants. *Biología aplicada*. Vol. 23 Issue 3, p202-210. 9p.

Barrionuevo M. C., et al. (2015) Memorias del (V Congreso Latinoamericano de Agroecología - SOCLA. Trabajos científicos y relatos de experiencias: la agroecología, un nuevo paradigma de investigación, educación y extensión para una agricultura sustentable / <http://memoriasocla.agro.unlp.edu.ar/>

Bassman J.H. (2004) Ecosystem consequences of enhanced solar ultraviolet radiation: secondary plant metabolites as mediators of multiple trophic interactions in terrestrial plant.

Basurto-Hernández S., Escalante-Semerena R. (2012) Impacto de la crisis en el sector agropecuario en México. *Economía UNAM* vol. 9 no. 25 México ENE/ABR.2012

Bea MS., Lee HJ., Jeon GI., Park E. (2010) Antioxidant and antigenotoxic activities of different parts of persimmon (*Diospyros kaki* cv. Fuyu) fruit.

Benjamín-Ordóñez J.A., Maserá O. (2001) Captura de carbono ante el cambio climático. Madera y bosques.

Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. Atlas de las plantas de la Medicina Tradicional Mexicana // Zapote negro, zapote prieto *Diospyros digyna* Jacq. Ebenaceae

Bocco G., Mendoza M., Masera OR. (2001) La dinámica del cambio de uso de suelo en Michoacán. Una propuesta metodológica para el estudio de los procesos de deforestación.

Carranza-González, E. (2000). Flora del bajío y de regiones adyacentes, Fascículo 83, Instituto de Ecología, A.C. centro regional bajío.

Corral-Aguayo R., Yahia E. M., Carrillo-López A., González-Aguilar G. (2008) Correlation between some nutritional components and the total antioxidant capacity measured with six different assays in eight horticultural crops. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56, 10498-10504.

Devalaraja S., Jain S., Yadav H. (2011) Exotic fruits as therapeutic complements for diabetes, obesity and metabolic syndrome. *Food research international*. 44, 1856 - 1865.

Dicke M., Gols R., Poelman E.H. (2012) Dynamics of plant secondary metabolites and consequences for food chains and community dynamics. Chap 16. in: The ecology of plant secondary metabolites (from genes to global processes) *Ed. Iason G.R., Dicke M. & Hartley S. Cambridge*.

Duangjai S., Samuel R., Munzinger J., Forest F. (2009) A multi-locus plastid phylogenetic analysis of the pantropical genus *Diospyros* (Ebenaceae), with an emphasis on the radiation and biogeographic origins of the New.

Dzoyem J.P., Kechia F.A., Kuete V., Pieme A.C., Akak C.M., Tangmouo J.G., Lohoue P.J. (2011) Phytotoxic, antifungal activities and acute toxicity studies of the crude extract and compounds from *Diospyros canaliculata*. *Natural products research*. 25-7: 741-749.

Figueiredo AC., Barroso JG., Pedro LG., Johannes Scheffer JC.(2008) Factors affecting secondary metabolite production in plants volatile components and essential oils.

Figueiredo, A.C., Barroso J.G., Pedro L. G., Scheffer J. C. (2008) Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour and fragrance Journal*. 23(4): 213-226.

Galvis LA., Roca AM. (2001) El crecimiento económico de las ciudades colombianas y sus determinantes

García Díaz R., Cuevas-Sánchez J. A., Segura-Ledesma S., Basulto- Peña F. (2015) Análisis Panbiológico de *Diospyros* spp, (Ebenaceae) en México.

García-Díaz R. F. (2015) Potencial hortícola de los zapotes negros, *Diospyros* spp. (Ebenaceae). Congreso Latinoamericano de Agroecología, La Plata, Argentina.

García-Verdugo C., Granado-Yela C., Manrique E., Rubio de Casas R., Balaguer L. (2009) Phenotypic plasticity and integration across the canopy of *Olea europea* subsp. *Guianchica* (Oleaceae) in populations with different wind exposures.

Gu, J., Graf, T., Lee, D., Chai, H., Mi, Q., Kardono, L., Setyowati, F., Ismail, R., Riswan, S., Farnsworth, N. (2004) Cytotoxic and antimicrobial constituents of the bark of *Diospyros maritime* collected in two geographical locations in Indonesia. *Journal of natural products*.67, 1156 – 1161.

Guidolin-Milani L. I., Nascimento-Terra N., Martins Fries L. L., Cichoski A. J., De-Souza Rezer A. P., Backes A. M., Gass-Parodia C. (2012) Atividade antioxidante y antimicrobiana in vitro de extractos de caqui (*Diospyros kaki* L.) Cultivar Rama Forte.

Hartmann T. (2007) From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochem health. Phytochemicals: Chemistry, nutritional and stability.* Wiley-Blackwell.

Ishimaru K., Kosone M., Sasaki H., Kashiwagi T. (2004) Leaf contents differ depending on the position in a rice leaf sheath during sink – source transition.

Katsube T., Tabata H., Ohta Y., Yamasaki Y. (2004) Screening for antioxidant activity in edible plant products: comparison of low density lipoprotein oxidation assay, DPPH radical scavenging assay and Folin-Ciocalteu Assay.

Kawase M., Motohashi N., Satoh K. (2003) Biological activity of persimmon (*Diospyros kaki*) peel extracts.

Koricheva J., Barton K. (2012) Temporal changes in plant secondary metabolite production: patterns, causes and consequences in: *The ecology of plant secondary metabolites (from genes to global processes)* Ed. Iason G.R., Dicke M. & Hartley S. Cambridge.

Krasavina M., Burmistrova N., Raldugina G. (2014). The Role of carbohydrates in plant resistance to abiotic stresses. Chap 11 in *Emerging technologies and management of crop stress tolerance*, vol 1. Ed. Ahmad P. Elsevier.

Krasavina MS., Burmistrova NA. (2014) The Role of carbohydrates in plant resistance to abiotic stresses.

Leonti M., Cabras S., Castellano MA., Challenger J. y Casu L. (2013) Bioprospecting: evolutionary implications from a post-olmec pharmacopoeia and the relevance of widespread taxa. *J. Ethopharm.* 147:92-107.

Li, N., He, N., Yu, G., Wang, Q., Sun, J. (2016) Leaf non-structural carbohydrates regulated by plant functional groups and climate: Evidences from a tropical to cold-temperate forest transect. *Ecological Indicators.* 62, 22-31.

Madhava Rao, K.V., Raghavendra A.S., Janardhan Reddy K. (2006) Physiology and Molecular biology of the stress tolerance in plants. Springer. Netherlands. 345pp.

Madrigal-Sánchez X., Rzedowski J. (1998) Una especie nueva de *Diospyros* (Ebenaceae) del municipio de Morelia, estado de Michoacán.

Malhi Y. (2012) The productivity, metabolism and carbon cycle of tropical forest vegetation.

Mallavadhani U., Panada A. y Rao Y. (1998) Pharmacology and chemotaxonomy of *Diospyros*. *Phytochem.* 49(4): 901-951.

Marinidou, E., Finegan, B., Jiménez-Ferrer, G., Delgado, D., y Casanoves F. (2013) Concepts and a methodology for evaluating environmental services from trees of small farms in Chiapas, México. *Journal of Environmental Management*, 114, 115 – 124.

Martínez j., Morales F., 2007 Caracterización cinética de la hidrólisis de sacarosa con invertasa libre e inmovilizada. Instituto Politécnico Nacional, Unidad Interdisciplinaria de Biotecnología.

Merino-Sánchez L. (2011) Evaluación de propiedades Físico-químicas y actividad antioxidante del zapote negro (*Diospyros digyna* Jacq.) Universidad Veracruzana. Instituto de Ciencias Básicas.

Miguel-Gutiérrez A., Castillo J., Márquez J. (2013) Biogeografía de la Zona de Transición Mexicana con base en un análisis de árboles reconciliados.

Milani L., Terra NN., Fries LLM., Cichoski AJ. (2012) In vitro antioxidant and antimicrobial of persimmon (*Diospyros kaki* L. cv. Rama Forte) extracts.

Moo-Huchin V. M., Estrada-Mota I., Estrada-León R., Cuevas-Glory L., Ortiz-Vázquez E., Vargas y Vargas M.L., Betancur-Ancona D., Sauri-Duch E. (2014) Determinations of some physicochemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of tropical fruits from Yucatán, México. *Food Chemistry* 152 508-515.

Nelson D., Cox M., Lehninger A. (1995) Principios de Bioquímica-Lehninger 5a Ed. Editorial Omega.

NU.CEPAL, (2009) El papel de la crisis tributaria frente a la crisis global: consecuencias y perspectivas,

Ordóñez J.A., de Jong B. H. J., Masera O. (2011) Almacenamiento de carbono en un bosque de *Pinus pseudostrabus* en Nuevo San Juan, Michoacán.

Palacio S., Maestro M., Montserrat-Martí G. (2005) Seasonal dynamics of non-structural carbohydrates in two species of Mediterranean sub-shrubs with different leaf phenology.

Pardo de Santayana M. y Gómez-Pellón E. (2003) Etnobotánica: aprovechamiento tradicional de plantas y patrimonio cultural. Ann. Jard. Bot Madrid 60 (1): 171-182

Park Y., Jung S., Kangs S., Degollado E., Martínez A. Tapia M., Martín O., Trakhteberg S., Gorinstein S. (2006) During of persimmon (*Diospyros kaki* L.) and the following changes in the studied bioactive compounds and the total radical scavenging activities. Food Science and Technology. Vol 39 Issue 7.

Pennington T. y Sarukhán J. (2005) Árboles tropicales de México. Manual para la identificación de las principales especies México: FCE, UNAM.

Pereira, C., Steffens, R., Jablonski, A., Hertz, P., Rios A., Vizzotto, M. y Flores, S. (2012) Characterization and antioxidant potential of Brazilian fruits from the Myrtaceae family. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60, 3061 – 3067.

Peyrat L., Eparvier V., Eydoux C., Guillemont J.C., Stien D y Litaudon M. (2016) Chemical diversity and potential in pantropical *Diospyros* genus. *Fitoterapia*. 112:9-15.

Provance M., García-Ruiz I., Thommes C. y Ross-Ibarra J. (2013) Population genetics and ethnobotany of cultivated *Diospyros riojae* Gómez Pompa (Ebenaceae), an endangered fruit crop. *Genet Resour Crop Evol* 60: 2171-2182.

Provance M. and Sanders A. (2006) More American Black Sapotes: New *Diospyros* (Ebenaceae) for Mexico and Central America. *SIDA, Contributions to Botany* vol. 22 N. 1

Pulido R., Bravo L., Saura-Calixto F. (2000) Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay.

Qiu QS., Hardin SC., Mace J., Brutnell TP., Huber SC. (2007) Light and metabolic signals control the selective degradation of sucrose synthase in maize leaves during Deetiolation.

Ramirez-Briones E., Rodríguez-Macías R., Salcedo-Pérez E., Martínez-Gallardo N., Tiessen A., Molina-Torrez J., Délano-Frier J., Zañudo-Hernández J. (2017) Seasonal variation in non-structural carbohydrates, sucrolytic activity and secondary metabolites in deciduous and perennial *Diospyros* species sampled in Western Mexico.

Ramírez Hernández BC., Barrios Eulogio P. (2008) Sistemas de producción de Spondias purpurea (Anacardiaceae) en el centro-occidente de México.

Rauf A., Uddin G., Patel S., Khan A., Halim S.A., Bawazeer S., Ahmad K., Muhammad N., Mubarak M.S. (2017) *Diospyros*, and under-utilized, multi-purpose plant genus: A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 91: 714-730.

Rauf A., Uddin G., Raza M., Patel S. (2017) Urease inhibition potential of Di-naphthodiospyrol from *Diospyros lotus* roots.

Raven PH., Alexander DI. (1974) Angiosperm biogeography and past continental movements.

Robles-Sánchez M., Gorinstein S., Martín-Belloso O. (2007) Frutos tropicales mínimamente procesados: potencial antioxidante y su impacto en la salud.

Roca P., Oliver J., Rodríguez A M. (2003) Bioquímica, técnicas y métodos. Editorial Hélice.

Rodziejewicz P., Swarczewicz B., Chmielewska K., Wojakowska A., Stobiecki M. (2014) Influence of abiotic stresses on plant proteome and metabolome changes. *Acta Physiol Plant.* 36: 1-19.

Sánchez-Santillana N., De la Lanza-Espino G., Garduño R., Sánchez-Trejo R. (2015) La influencia antropogénica en el Cambio Climático bajo la óptica de los Sistemas Complejos.

Sing R. (2016) Chemotaxonomy: a tool for plant classification. *Journal of plant medicinal plants studies.* 4 (2): 90-93.

Sun L., Zhang J., Lu X., Zhang L., (2011) Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon (*Diospyros kaki* L.) Leaves.

Tan, Z.H., Zhang Y.P., Liang N., Hsia Y.J., Zhang Y.J., Zhou G.Y., Li Y.L., Juang J.Y., Chu H.S., Yan J.H., Yu G.R., Sun X.M., Song Q.H., Cao K.F., Shaefer D.A., Liu Y.H. (2012) An observational study of the carbon-sink strength of East Asian subtropical evergreen forests. *Environmental research Letter*. 7: 44-57.

Thuong, P., Lee, Ch., Dao, T., Nguyen, P., Kim, W., Lee, S. y Oh, W. (2008) Triterpenoids from the leaves of *Diospyros kaki* (Persimmon) and their inhibitory effects on protein tyrosine phosphatase 1B. *Journal of natural products*, 71, 1775 – 1787.

Velioglu YS., Mazza G., Gao L. (1998) Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products.

Wallnöfer B. (2004) Flowering Plants Dicotyledons Ebenaceae.

Wallnöfer B. (2009) A revision of neotropical *Diospyros* (Ebenaceae) part 1. *Ann Naturhis Mus Wien* 110, 173-211.

Wallnofer, B. (2001) The biology and systematics of Ebenaceae. A review. *Ann Naturhis Mus Wien* 103B:485-512.

Wallnöfer, B. 2009. A revisión of neotropical *Diospyros* (Ebenaceae) part 1. *Ann Naturhis Mus Wien*. 110: 173-211.

Wang N. S. (2004) Experiment No. 14 Enzyme Kinetics of invertase via initial rate determination. Department of Chemical & Biomolecular Engineering University of Maryland.

Wheeler D., Martín-Vide J. (1992) Rainfall Characteristics of Mainland Europe's Mont southerly stations.

Wright D.P., Red D.J., Scholes J.D. (1998) Mycorrhizal sink strength influence whole plant carbon balance of *Trifolium repens* L. plant, *Cell and Environment* 21, 881 – 891.

Wurth, M., Peláez-Riedl S., Wright S., Köner C. (2005) Non-structural carbohydrate pools in a tropical forest. *Oecologia*. 143:11-24.

Xie J, Caik, Hv Hx, Jiang YL., Yang F, Hu PF, Coa D, LiWF, Chen Y, Zhou CZ. (2016) Structural Analisis of the Catalytic Mechanims and Substate Specificity of Anabaena Alkaline Invertase InvA Reveals a Novel Glucosidase. *J Biol Chem. pii: jbc m116. 759290*.

Yahia E. M., Gutierrez-Orozco F., Arvizu-de León C. (2011) Phytochemical and antioxidant characterization of the fruit of black sapote (*Diospyros digyna* Jacq.)

- Yahia, E M. (2010) The contribution of fruit and vegetable consumption to human.
- Yahia, E., Gutiérrez-Orozco, F., Arvizu-de León, C. (2011) Phytochemical and antioxidant characterization of the fruit black sapote (*Diospyros digyna Jacq.*) *Food Research International*. 44, 2210 – 2216.
- Yamagata T., Swadhin K., Suryachandra A., Guan Z., Ashok K. and Hameed S. (2002) The Indian Ocean Dipole: A Physical Entity.
- Yasui K. (1915) Studies of *Diospyros kaki*. I Contributions from the Hull Botanical Laboratory.
- Zandalinas S., Sales C., Beltran J., Gómez-Cardenas A., Arbona V. (2017) Activation of secondary metabolism in citrus plants is associated to sensitivity to combined drought and high temperatures. *Front. Plant Sci* 7:1954.
- Zhang, S., Zhang, L., Chai, Y., Wang, F., Li, Y., Su, L., Zhao, Z. (2015). Physiology and proteomics research on the leaves of ancient *Platyclusus orientalis* (L.) during winter. *Journal of Proteomics* 126, 263-278.
- Zhao J., Li Y., Yang G., Jiang K., Lin H., Ade H., Ma W. (2016) Efficient organic solar cells processed from hydrocarbon solvent.