



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

COORDINACIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Caracterización molecular y de aceites de variedades
de albahaca (*Ocimum basilicum* L.)

TESIS

Que como requisito parcial para obtener el grado de:
MAESTRA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

Presenta

Yaraseth Arcangela Falcón Franco

Bajo la supervisión del: Dr. Juan Martínez Solís



APROBADA

Chapingo, Estado de México, junio 2023



**Caracterización molecular y de aceites de variedades
de albahaca (*Ocimum basilicum* L.)**

Tesis realizada por la Ing. Yaraseth Arcangela Falcón Franco bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

DIRECTOR:


Dr. Juan Martínez Solís

CODIRECTOR:


Dr. J. Jesús Magdaleno Villar

ASESOR:


Dra. Margarita Gisela Peña Ortega

ASESOR:


Dra. Diana Guerra Ramírez

CONTENIDO

LISTA DE CUADROS.....	VI
LISTA DE FIGURAS	VIII
DEDICATORIA	IX
AGRADECIMIENTOS	X
DATOS BIOGRÁFICOS	XI
RESUMEN	XII
ABSTRACT	XIII
1 INTRODUCCIÓN GENERAL	1
2 REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Origen.....	3
2.2 Taxonomía y Morfología.....	3
2.3 Especies y variedades	4
2.4 Ecofisiología.....	4
2.5 Multiplicación.....	5
2.6 Fenología	5
2.7 Plagas y enfermedades.....	6
2.8 Cosecha.....	7
2.9 Usos y propiedades	7
2.10 Sistemas hidropónicos	7
2.10.1 Ventajas y desventajas de la hidroponía	8
2.11 Aspectos agronómicos de la densidad de siembra	9
2.12 Variabilidad en rendimiento	9
2.13 Análisis de crecimiento.....	10
2.14 Importancia del análisis de crecimiento	11

2.15	Relación fuente demanda.....	11
2.16	Métodos de análisis de crecimiento.....	12
2.17	Medidas directas y derivadas	12
2.18	Aceites esenciales	13
2.19	Usos y aplicaciones de los aceites esenciales	14
2.20	Propiedades físicas.....	15
2.21	Composición química.....	15
2.22	Clasificación	16
2.22.1	Métodos de obtención.....	16
2.22.2	Análisis de los aceites esenciales	17
2.22.3	Extracción y aislamiento: cromatografía de gases.....	17
2.22.4	Índice de Kovatz	18
2.23	Variabilidad genética.....	18
2.24	Marcadores genéticos.....	19
2.24.1	Marcadores morfológicos	20
2.24.2	Marcadores bioquímicos	20
2.24.3	Marcadores Moleculares	20
	LITERATURA CITADA	24
3	EVALUACIÓN DE RENDIMIENTO Y ANÁLISIS DE CRECIMIENTO DE CULTIVARES DE ALBAHACA (<i>Ocimum basilicum</i> L.) CULTIVADA BAJO INVERNADERO	33
	INTRODUCCIÓN.....	34
3.1	Materiales y Métodos	38
3.1.1	Ubicación del experimento	38
3.1.2	Material vegetal.....	38
3.1.3	Diseño de tratamientos	39

3.1.4	Diseño experimental	40
3.1.5	Siembra	40
3.1.6	Trasplante	40
3.1.7	Manejo del cultivo	41
3.1.8	Labores culturales	41
3.1.9	Cosecha	41
3.1.10	Análisis estadístico	41
3.1.11	Metodología del Análisis de Crecimiento	42
3.2	Resultados y Discusión de rendimiento	43
3.3	Resultados y Discusión de Análisis de Crecimiento	57
3.4	Conclusiones	67
3.5	Recomendaciones	67
LITERATURA CITADA		69
4	PERFIL QUÍMICO DE LOS COMPUESTOS VOLÁTILES DE ALGUNAS VARIEDADES DE ALBAHACA (Ocimum basilicum L.)	73
RESUMEN		73
INTRODUCCIÓN		74
4.1	Materiales y Métodos	78
4.1.1	Material vegetal	78
4.1.2	Extracción	78
4.1.3	Análisis e identificación	79
4.2	Resultados y Discusión	80
4.2.1	Rendimiento	80
4.2.2	Perfil químico	81
4.3	Conclusiones	91

4.4	Recomendaciones	91
	LITERATURA CITADA	93
5	CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE GENOTIPOS DE ALBAHACA (<i>Ocimum basilicum</i> L.).....	97
	RESUMEN	97
	INTRODUCCIÓN	98
5.1	Materiales y Métodos	101
5.1.1	Localización del sitio experimental	101
5.1.2	Material vegetal	101
5.1.3	Siembra	102
5.1.4	Toma de muestras.....	102
5.1.5	Extracción y purificación de ADN	103
5.1.6	Cuantificación y calidad de ADN	103
5.1.7	Obtención de los patrones ISSR.....	104
5.1.8	Análisis estadístico	106
5.2	Resultados y Discusión	107
5.2.1	Análisis de agrupamiento	107
5.2.2	Análisis de coordenadas principales	109
5.2.3	Descriptiva de marcadores	111
5.3	Conclusiones.....	112
	LITERATURA CITADA	113

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de la alahaca (<i>Ocimum basilicum</i> L.).....	3
Cuadro 2. Características agronómicas de quince variedades de albahaca (<i>Ocimum basilicum</i> L.).	39
Cuadro 3. Conformación de tratamientos con base a la densidad de plantación y la variedad	39
Cuadro 4 Cuadrados medios del análisis de varianza para variables de rendimiento de 14 variedades de albahaca (<i>Ocimum basilicum</i> L.).	46
Cuadro 5. Comparación de medias Tukey de las variables número de brotes y rendimiento (por corte y total) del cultivo de albahaca bajo invernadero e hidroponía.	49
Cuadro 6. Cuadrados medios del análisis de varianza para variables de análisis de crecimiento (muestreo 1) de 15 variedades de albahaca (<i>Ocimum basilicum</i> L.) .	57
Cuadro 7. Cuadrados medios del análisis de varianza para variables de análisis de crecimiento (muestreo 2) de 15 variedades de albahaca (<i>Ocimum basilicum</i> L.)..	57
Cuadro 8. Cuadrados medios del análisis de varianza para variables de análisis de crecimiento (muestreo 3) de 15 variedades de albahaca (<i>Ocimum basilicum</i> L.)..	57
Cuadro 9. Comparación de medias de la variable de altura de planta en 14 variedades de albahaca a los 37, 57 y 107 dds en Chapingo, México.....	58
Cuadro 10. Comparación de medias de la variable de diámetro de tallo en 14 variedades de albahaca a los 37, 57 y 107 dds en Chapingo, México.....	59
Cuadro 11. Comparación de medias de la variable de número de hojas en 14 variedades de albahaca a los 37, 57 y 107 dds en Chapingo, México.....	60
Cuadro 12. Comparación de medias de la variable área foliar en 14 variedades de albahaca a los 37, 57 y 107 dds en Chapingo, México.....	61
Cuadro 13. Comparación de medias de la variable peso fresco en 14 variedades de albahaca a los 37, 57 y 107 dds en Chapingo, México.....	63
Cuadro 14. Comparación de medias de la variable peso seco en 14 variedades de albahaca a los 37, 57 y 107 dds en Chapingo, México.....	64
Cuadro 15. Estimadores de crecimiento calculados de TAC, TRC y TAN en 15 variedades de albahaca.....	65

Cuadro 16. Principales compuestos aromáticos en cultivares de albahaca	77
Cuadro 17. Promedio de rendimiento (%) de los aceites esenciales obtenidos por hidrodestilación.....	80
Cuadro 18. Componentes químicos superiores al 1 % encontrados en las 16 variedades de albahaca (<i>Ocimum basilicum</i> L.)	81
Cuadro 19. Componentes químicos y cantidad relativa (%) de cada variedad de albahaca (<i>Ocimum Basilicum</i> L.).....	86
Cuadro 20. Compuestos químicos mayoritarios y cantidad relativa (%) por variedad.	89
Cuadro 21. Características agronómicas de quince variedades de albahaca (<i>Ocimum basilicum</i> L.).....	101
Cuadro 22. Secuencia y temperaturas de alineamiento de los iniciadores empleados para la obtención de perfiles ISSR.	104
Cuadro 23. Cuadro. Componentes de la mezcla de la reacción madre para PCR.	104
Cuadro 24. Descriptiva de marcadores ISSR utilizados para la obtención de los perfiles moleculares de 16 variedades de albahaca (<i>Ocimum basilicum</i> L.).....	111

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Variedades de albahaca cultivadas bajo invernadero.	39
Figura 2. Registro de medidas directas en cada muestreo de Análisis de crecimiento.	43
Figura 3. Temperatura media de día y noche durante el proceso de producción de albahaca.	44
Figura 4. Humedad Relativa promedio de día y noche durante el proceso de producción de albahaca.....	44
Figura 5. Comparación de medias de la variable número de brotes, cosechados durante el segundo corte, en tres densidades.	50
Figura 6. Comparación de medias de la variable número de brotes, cosechados durante el tercer corte, en tres densidades.	51
Figura 7. Comparación de medias para la variable de número total de brotes cosechados durante los cortes 1, 2 y 3, en tres densidades.	52
Figura 8. Comparación de medias para el rendimiento obtenido durante el primer corte en 3 densidades.	52
Figura 9. Comparación de medias para el rendimiento obtenido durante el tercer corte en las 3 densidades.	53
Figura 10. Comparación de medias para el rendimiento total obtenido durante la cosecha 1, 2 y 3 en las 3 densidades diferentes.....	54
Figura 11. Variedades de albahaca cultivadas bajo invernadero.....	78
Figura 12. Variedades de albahaca cultivadas bajo invernadero.....	101
Figura 13. Perfiles moleculares obtenidos con los iniciadores ISSR1, ISSR4, LOL8 e ISSR6 en 16 variedades de albahaca. (1, 2, 3...16: accesiones de albahaca; MPM: marcador de peso molecular).....	106
Figura 14 . Dendrograma de 16 variedades de albahaca (<i>Ocimum basilicum</i> L.) creado con la distancia de Jaccard ($\sqrt{1-S}$) y el método de varianza mínima de Ward.	107
Figura 15. Representación bidimensional del análisis de coordenadas principales de 16 accesiones de albahaca (<i>Ocimum basilicum</i> L.) usando la distancia genética de Jaccard.	110

DEDICATORIA

A mi hijo Leonardo Chávez, quien colaboró en el cumplimiento de esta meta profesional, y es mi gran inspiración y motivación cada día. Te ama mamá.

A mi madre, Arcangela Franco Blancas, por su amor incondicional, su fortaleza, apoyo y valores enseñados a lo largo de mi vida.

A mi esposo, Adrián Chávez, por su apoyo, tolerancia, comprensión y motivación a lo largo de estos años.

A mi padre, Jorge Falcon Espinosa, quien me enseñó a trabajar por mis sueños, y ahora es mi ángel guardián, aunque hoy no pueda abrazarlo físicamente, lo abrazo con el alma.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme una nueva oportunidad de vida.

A la Universidad Autónoma Chapingo por permitirme ser parte de la comunidad, por los apoyos y servicios brindados a lo largo de la Maestría.

A CONACyT por el financiamiento brindado durante el desarrollo de esta investigación.

A mi familia: Adrián Chávez, Leonardo Chávez, Arcangela Franco, Jorge Falcón, Graciela Franco, Guillermo Juárez, Ximena Franco, Teresita Pérez, Juan Cardelas, Luis Ángel Cardelas y Jhonathan Cardelas quienes colaboraron con acciones y palabras durante la realización de este proyecto.

A mis asesores: Dr. Juan Martínez Solís, Dra. M. Gisela Peña Ortega, Dr. J. Jesús Magdaleno Villar, Dra. Diana Guerra Ramírez por aceptar este proyecto y aportar su conocimiento para la culminación de la presente tesis.

Al Doctor Natanael Magaña Lira y a la Dra. María Rosa González Tepale por su colaboración, consejos y enseñanzas brindados a lo largo de la Maestría.

Al personal de SENASICA: Ing. Neftalí Reyes por su apoyo durante la importación de semillas de albahaca.

Al Q.F.B. Ricardo Gaspar Hernández, por sus enseñanzas y recomendaciones durante la fase experimental de este proyecto.

Al jefe de campo experimental: Ing. Ignacio Salazar por su apoyo y enseñanzas durante la fase experimental en el invernadero.

Al equipo auxiliar técnico de investigación: Ma. Inés Acosta Martínez, Ángel Romero Rivero por su colaboración en las diversas actividades realizadas en el invernadero.

A mis amigas y amigos: Antero Hernández, Karen Rosales, Sergio Zepeda, Adela Rosas, Cristina Olea, Francisca García, Mariana Rodríguez, Raymundo Reyes, Rodrigo Jiménez, Zoe, Samantha López, Andy Villafuerte por su amistad incondicional y su colaboración en las actividades en invernadero y en el laboratorio durante el ciclo de producción.

DATOS BIOGRÁFICOS

Datos personales

Nombre Yaraseth Arcangela Falcon Franco

Fecha de nacimiento 18 de octubre de 1986.

Lugar de nacimiento Ciudad de México

CURP FAFY861018MDFLRR03

Profesión Ing. Agrónomo Especialista en Fitotecnia

Cédula profesional 9703035

Desarrollo académico

Bachillerato 2001-2004 Escuela Preparatoria Oficial núm. 100 Sra. Luz Sánchez.

Licenciatura 2005-2009 Universidad Autónoma Metropolitana.

Cédula Profesional 7860661

Licenciatura 2009-2015 Universidad Autónoma Chapingo.

Maestría 2021-2022 Universidad Autónoma Chapingo.

RESUMEN

Caracterización molecular y de aceites de variedades de albahaca (*Ocimum basilicum* L.)

La albahaca (*Ocimum basilicum* L) es una hierba aromática originaria de la India, actualmente utilizada a nivel mundial en fresco, en seco o procesada en el ámbito alimenticio, medicinal e industrial; en México, la mayor parte del cultivo es con fines de exportación, sin embargo, aún falta puntualizar la información de las densidades idóneas para la producción intensiva de albahaca, así como la diversificación de información en el perfil químico de aceites esenciales y la variabilidad genética, ya que estudios previos muestran notables diferencias debido a la complejidad taxonómica que presenta el género *Ocimum*; con la presente investigación se pretende aportar información respecto a la tecnología de producción de 14 cultivares, así como determinar la variabilidad genética existente entre 16 variedades y los componentes químicos mayoritarios del aceite esencial, para lo cual se realizaron en tres experimentos en albahaca bajo invernadero con sistema hidropónico. En la primera fase se realizó un análisis de crecimiento con 3 muestreos en diferentes fases fenológicas aunado con una evaluación el rendimiento de 14 variedades de albahaca cultivadas en diferentes densidades de plantación (9, 12 y 15 plantas·m²) en el que se evaluaron el número de brotes cosechados por planta y peso fresco de los brotes; por medio de un análisis de varianza se determinó efecto significativo entre densidad y variedad; los cultivares que mejor se adaptaron a las condiciones de la región fueron Lettuce, Licorice, Lime, Blue Spicy y Spice Globe. Durante la segunda fase se realizó la extracción de aceite esencial de 16 variedades de albahaca por medio del método de hidrodestilación y se determinó el perfil químico a través del cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas; se detectaron 42 componentes en total y los compuestos presentes en mayor cantidad (%) fueron: acetato de alfa-fenquilo (38.5), acetato de fenquilo (35.7-47), antranilato de linalilo (31.5-55.6), 4-(2,3-dimetil-2-ciclopenten-1-il)-4-metilpentanal (29.7), anetol (32-48), formiato de linalilo (36.6-52.1), ocimeno (10.3-30) y estragol (31-35.6). En la tercera fase se analizó la variabilidad genética de 16 variedades por medio de 19 iniciadores de tipo ISSR; se obtuvieron 181 bandas con 96.13 % de polimorfismo; los perfiles moleculares obtenidos fueron codificados binariamente y se calculó la distancia genética de Jaccard (1 – S) entre pares de variedades. Se llevó a cabo un análisis de agrupamiento con el método de varianza mínima de Ward y se construyó un dendrograma en el que se conformaron tres grupos con lo que se demostró que los marcadores ISSR fueron herramientas útiles para estimar la variabilidad genética entre variedades.

Palabras clave: *Ocimum* sp, rendimiento, análisis de crecimiento, aceite esencial, variabilidad genética.

ABSTRACT

Molecular and oil characterization of basil varieties (*Ocimum basilicum* L.).

Basil (*Ocimum basilicum* L.) is an aromatic herb native to India, currently, used worldwide in fresh, dried, or processed forms of food, medicinal and industrial purposes. In Mexico, most of the harvest is exported, however, there is still a lack of information on the ideal densities for intensive basil production, as well as the diversification of information on the chemical profile of essential oils and genetic variability, since previous studies show marked differences due to the taxonomic complexity of the genus *Ocimum*. The present research aims to provide information on the production of 14 cultivars, as well as to determine the genetic variability existing among 16 varieties and the majority of chemical components of the essential oil, which was carried out in three experimental phases based on the cultivation of basil under greenhouse with a hydroponic system. In the first phase, a growth analysis was carried out with 3 samplings in different phenological phases together with an evaluation of the yield of 14 basil varieties cultivated in different planting densities (9, 12 and 15 plants·m²) in which the number of shoots harvested per plant and fresh weight of the shoots were evaluated, by means of an analysis of variance it was determined that there was a significant effect between density and variety. The cultivars that best adapted to the region's conditions were Lettuce, Licorice, Lime, Blue Spicy and Spice Globe. During the second phase, the essential oil of 16 basil varieties was extracted by the hydrodistillation method and the chemical profile was determined by gas chromatograph coupled to mass spectrometry; a total of 42 components were detected and the compounds present in the highest quantity (%) were: alpha-phenyl acetate (38.5), phenyl acetate (35.7-47), linalyl anthranilate (31.5-55.6), 4-(2,3-dimethyl-2-cyclopenten-1-yl)-4-methylpentanal (29.7), anethole (32-48), linalyl formate (36.6-52.1), ocimene (10.3-30) and estragole (31-35.6). During the third experiment, the genetic variability of 16 basil varieties was analyzed by means of 19 ISSR type primers, 181 bands with 96.13 % polymorphism were obtained; the molecular profiles obtained were binary coded and the Jaccard genetic distance (1 - S) between pairs of varieties was calculated. A clustering analysis was carried out with Ward's minimum variance method and a dendrogram was constructed in which three groups were formed, demonstrating that ISSR markers were useful tools for estimating genetic variability between varieties.

Key words: *Ocimum* sp, yield, growth analysis, essential oil, genetic variability.

1 INTRODUCCIÓN GENERAL

La albahaca es una planta aromática utilizada a nivel mundial tanto en la actividad culinaria como en la industria. En los últimos años se ha creado un nicho de mercado importante para este producto. Su demanda ha aumentado porque sus propiedades son muy útiles utilizando la planta en fresco, seco o procesada.

La presente investigación comprende diversos experimentos cada uno con variables específicas, y aunque parecieran pertenecer a campos temáticos diferentes, la realidad es que podrían llegar relacionarse y resultar en una influencia significativa de aporte de información para futuras investigaciones.

Desde el punto de vista económico, la siembra y comercialización de albahaca en México es una actividad agrícola de alta rentabilidad, para productores y transformadores, tanto en sistemas controlados como a cielo abierto. Con base a lo anterior, se llevó a cabo una evaluación de rendimiento de 14 variedades de albahaca con tres densidades de plantación; durante el ciclo de producción se hizo un análisis de crecimiento con la finalidad de generar información acerca del desarrollo fisiológico de cada variedad en la región de Texcoco.

Con la producción de albahaca bajo invernadero, se desarrolló un segundo experimento que consistió en la extracción de aceite esencial por el método de hidrodestilación, con el objetivo de determinar el rendimiento y el perfil químico de 16 variedades. Desde tiempos antiguos el aceite esencial de albahaca ha incursionado en diferentes ámbitos por sus diversas propiedades, lo cual ha desarrollado un campo muy amplio de investigaciones respecto a la composición química y la utilidad de los compuestos, introduciéndose en el ámbito alimenticio, agrícola (pesticida), terapéutico, cosmético, farmacéutico, medicinal, entre otros.

En la tercera fase se llevó a cabo una caracterización molecular de cada accesión con la finalidad de analizar y determinar la variabilidad genética, ya que, con el paso del tiempo, la albahaca, como todas las plantas, en su estado natural tienen una dinámica evolutiva y están continuamente produciendo variabilidad. Tanto la variabilidad visible como la no-visible han sido usadas por el hombre para identificar, estudiar y utilizar las especies vegetales (Franco & Hidalgo, 2003). Esto quiere decir

que hay una variabilidad que se puede detectar a simple vista y otra que, aunque no es visible fácilmente, también existe en la especie pero que requiere de técnicas especiales para ser detectada. Una de las técnicas más usadas consiste en la ampliación de fragmentos de ADN para detectar diferencias en plantas de la misma especie y conocer a detalle la relación (estrecha o distante) entre variedades lo cual podría revelar información valiosa al momento de cultivar tales accesiones y determinar el grado de adaptabilidad, calidad y rendimiento del producto.

En México se cultivan pocas variedades de albahaca con fines comerciales o de exportación. La finalidad de esta investigación es diversificar la información del cultivo de albahaca en el ámbito de producción, variabilidad genética e industrialización para dar a conocer el potencial que tiene este cultivo en la región del Valle de México.

2 REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Origen

La historia y difusión de la albahaca se caracteriza por diferentes usos en diferentes culturas, no solo como alimento sino también como planta curativa (De Innocentis, 2022). Esta hierba versátil con un aroma intenso e innumerables usos en la cocina comenzó a cultivarse hace unos 5000 años en el sudeste asiático, y en particular en la India y Asia tropical, aunque algunas pruebas escritas del 807 D.C. sugieren que la albahaca dulce, en ese momento, ya se usaba en la región china de Hunan (De Innocentis, 2022). Se ha cultivado desde hace siglos por sus cualidades de sabor y propiedades terapéuticas, se usan las hojas frescas o secas, al igual que sus aceites esenciales y semillas (Kopsell et al., 2005).

2.2 Taxonomía y Morfología

Según la clasificación de angiospermas (Cuadro 1) propuesta por el sistema APG II en el 2009 (Cole & Hilger, 2010), la albahaca se clasifica de la siguiente manera:

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de la albahaca (*Ocimum basilicum* L.)

Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Lamiales
Familia	Lamiaceae
Subfamilia	Nepetoideae
Tribu	Ocimeae
Género	Ocimum
Especie	<i>Ocimum basilicum</i>

La albahaca es una planta herbácea, rústica, anual (o arbusto vivaz en climas cálidos), de tallo erecto cuadrangular, ramificado, de 30 a 90 cm de altura, que exhala un suave olor a clavo o a limón; hojas opuestas de 3 a 5 cm, largamente pecioladas, ovales, enteras o ligeramente dentadas, glabras, provistas en su envés de pequeñas glándulas; flores blancas o rosadas, tubulosas en racimos

espigiformes, de 6 flores cada uno; fruto en tetraqueno, con semillas pequeñas oblongas. Es una especie muy aromática y melífera (Fernández, 2001).

2.3 Especies y variedades

Existen más de 160 especies del género *Ocimum* y numerosas razas y variedades de *Ocimum basilicum* L. muy diferentes entre ellas, tanto desde el punto de vista químico como morfológico (Fernandez, 2003); además, su taxonomía se complica por la existencia de numerosas variedades botánicas, nombres de cultivares y quimiotipos dentro de las especies que pueden no diferir significativamente en morfología (Simon et al., 1990).

La mayoría de los cultivares comerciales de albahaca disponibles en el mercado pertenecen a la especie *O. basilicum*. Darrah (1980) los clasificó en siete tipos: (1) tipos altos y delgados, que incluyen el grupo de la albahaca dulce; (2) tipos robustos de hojas grandes, incluida la “Hoja de lechuga”, también llamada albahaca “Italiana”; (3) tipos enanos, que son de hojas cortas y pequeñas, como la albahaca “Bush”; (4) tipos compactos, tales como, *O. basilicum* var. *thyrsiflora*, comúnmente llamada albahaca “Tailandesa”; (5) *purpurascens*, los tipos de albahaca de color púrpura con sabor tradicional a albahaca dulce; (6) tipos púrpuras como ‘Dark Opal’, un posible híbrido entre *O. basilicum* y *O. forskolei*, que tiene hojas lobuladas, con un aroma dulce a albahaca más clavo; y (7) tipos de *citriodorum*, que incluye albahacas con sabor a limón.

2.4 Ecofisiología

Altitud: El cultivo de albahaca se puede establecer en un rango altitudinal entre 0 y 2.600 msnm, sin embargo, esta especie también puede desarrollarse bajo ambientes modificados como los invernaderos (Bonilla y Guerrero, 2010).

Clima: La albahaca es una especie de clima templado y templado-cálido crece bien entre 15 y 25 °C y a media sombra; no resiste temperaturas inferiores a -2 °C (Muñoz, 2002). La temperatura entre 24-30 °C durante el día y 16-20 °C durante la noche, combinadas con una longitud del día de 16 horas, inducen una alta tasa de

desarrollo; temperaturas mayores a 30 °C causan estrés y marchitamiento (Moncayo, 2015).

Humedad relativa (HR): la planta de albahaca requiere una HR de 60 a 70 % (CCI, 2007). Necesita agua abundante pero su exceso es contraproducente por disminuir el aroma y la calidad de esencia (Fernández, 2001).

2.5 Multiplicación

La multiplicación se hace por semilla o esqueje (Cáceres, 1996). El peso medio de 1000 semillas es aproximadamente 1,40 g. Su poder germinativo es de un 85 %, en laboratorio, durante 15 días y a una temperatura de 20 a 25 °C. Se trasplantan a mano o con máquina de trasplantar cuando tienen 6 hojas o 10 cm. Se siembran 1,25 g en 125 m² para tener plantas suficientes para plantar 1 ha (Muñoz, 2002). Otra opción sería hacer siembra directa con sembradora de precisión y posteriormente raleo (Fernández, 2003).

Las densidades de siembra más utilizadas son 50,000, 60,000 y 100,000 plantas por hectárea en camas de 0.80 m a dos hileras por cama (Forero, 2010). Generalmente se siembra a doble hilera con un distanciamiento entre plantas de 30 cm y con un distanciamiento entre hileras de 15 a 20 cm (Davis, 2012), sin embargo, la densidad de siembra es dependiente sobre el uso final, asimismo se recomienda 60 cm entre hileras de separado y 15 cm de espacio entre plantas en cada hilera. Las variaciones grandes en el crecimiento y la producción pueden ocurrir debido a las condiciones del clima, tipo de planta y las prácticas culturales (Simon, 1993).

2.6 Fenología

De acuerdo con Jerez & Barroso (2002), las fases de desarrollo durante el ciclo de cultivo de albahaca son las siguientes:

Germinación: emergencia a la superficie del suelo: días transcurridos hasta que el 70 % de las plántulas emergieron sobre la superficie del suelo.

Emisión del primer par de hojas verdaderas: días transcurridos hasta que el 70 % de las plantas emitieron el primer par de hojas verdaderas.

Emisión del primer par de ramas en las yemas axilares: días transcurridos hasta que el 70 % de las plantas emitieron el primer par de ramas.

Aparición de la inflorescencia en el tallo central: días transcurridos hasta que el 70 % de las plantas emitieron la inflorescencia en el tallo central.

Aparición de la inflorescencia en el primer par de ramas laterales: días transcurridos hasta que el 70 % de las plantas emitieron la inflorescencia en el primer par de ramas laterales.

Senescencia del primer par de hojas: días transcurridos hasta que el 70 % de las plantas mostraron su primer par de hojas verdaderas con clorosis.

2.7 Plagas y enfermedades

El cultivo de albahaca se puede ver afectado por diferentes plagas de insectos, los cuales se presentan dependiendo de la época en que se haya realizado la siembra y del medio ambiente, así como de cambios climáticos y corrientes de aire, ya que los insectos son arrastrados por el viento (Briseño et al., 2013). Los más frecuentes son:

- Minador de la hoja (*Liriomyza* spp)
- Gusano soldado (*Spodoptera exigua*)
- Trips (*Frankliniella occidentalis*)
- Mosquita blanca (*Bemisia tabaci*)
- Pulgones (*Mizus persicae*)

Las enfermedades más comunes reportadas en el cultivo de albahaca son las manchas foliares (*Alternaria alternata*, *Colletotrichum* spp. y *Cercospora* spp.), moho gris (*Botrytis cinerea*), muerte vascular (*Fusarium oxysporum*), pudrición basal (*Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* y *microdochium tabacinum*) y damping off (*Pythium ultimum*), (Garibaldi et al., 2011). Sin embargo, recientemente en diferentes países, ha surgido la presencia del *Omicete P. belbahrii* comúnmente conocido como mildiu veloso, y en la actualidad es considerado uno de los patógenos más destructivos en este cultivo a nivel mundial (Koroch et al., 2013).

Dentro de los patógenos que dañan a las plantas, las enfermedades causadas por hongos, es uno de los problemas más comunes, al causar tizones en las hojas, defoliación, muerte de meristemas, lesiones de tallo y algunas veces la pérdida completa de la planta (Cabrera et al., 2010).

2.8 Cosecha

Generalmente la albahaca es cosechada por sus hojas que son vendidas frescas o secas. Si la albahaca es utilizada para consumo fresco lo que se cosecha son los primeros 4 grupos de hojas verdaderas. Sin embargo, si la cosecha es utilizada para la extracción de aceites la cosecha se realiza justo antes de que aparezcan los primeros botones florales (Kintzios & Makri, 2007). La altura de corte debe oscilar entre de 10 a 15 cm sobre la superficie del suelo, debe dejarse parte del área foliar para garantizar el rebrote de las ramas (Escandón et al., 2012).

2.9 Usos y propiedades

La albahaca tiene propiedades aromáticas y medicinales, de ahí su uso culinario, cosmético y medicinal, propiedades que han sido atribuidas popularmente y confirmadas farmacológicamente (Bonilla & Guerrero, 2010). También se extrae aceite esencial con propiedades estimulantes, antiespasmódicas, digestivas, carminativas y antitusígenas (Ceroni, 2010), así como antifúngicas, antibacterianas y repele insectos (Sinha & Gulati, 1991)

Es una de las hierbas más populares usada fresca o seca para condimentar y aromatizar comidas, especialmente combinada en platos a base de tomates, salsas, pesto, etc. (Fernandez, 2003).

2.10 Sistemas hidropónicos

La hidroponía es una herramienta que permite el cultivo de plantas sin suelo; es un sistema aislado del suelo, utilizado para cultivar plantas cuyo crecimiento es posible gracias al suministro adecuado de los requerimientos hídrico-nutricionales, a través del agua y solución nutritiva (Beltrano & Giménez, 2015). Como solución nutritiva se entiende al agua con oxígeno y diversos nutrientes esenciales para las plantas,

disueltos en una forma inorgánica completamente disociada, y formas orgánicas disueltas procedentes de los microelementos quelatados, lo cual se complementa con los elementos que las plantas toman del ambiente a través del proceso fotosintético (C, H y O, principalmente) que les permite completar su ciclo de vida (Salas, 2008).

La hidroponía es considerada como un sistema de producción agrícola que tiene importancia dentro de los contextos ecológico, económico y social (Sánchez del Castillo & Escalante, 1988); esta importancia se basa en la flexibilidad del sistema. El desarrollo actual de la técnica de los cultivos hidropónicos está basado en la utilización de mínimo espacio, mínimo consumo de agua y máxima producción y calidad (Beltrano y Giménez, 2015). Los sistemas hidropónicos permiten un perfecto control de la fertirrigación con un ahorro importante de agua y fertilizantes, pudiendo disminuir el gasto hasta en un 50 %. A la vez disminuyen las emisiones de elementos contaminantes al medio ambiente (Salas, 2008).

2.10.1 Ventajas y desventajas de la hidroponía

Desde el punto de vista del consumo energético, el cultivo hidropónico utiliza una ruta de mayor eficiencia porque integra los nutrientes de manera directa y rápida; al respecto, el resultado del crecimiento de una planta en un cultivo hidropónico es más rápido que en un cultivo tradicional, cuyo soporte es el suelo, por ello, la planta “hidropónica” utiliza poca energía para absorber los nutrientes (Greentrees, 2009). Por consiguiente, las ventajas de la práctica hidropónica se expresan a continuación (Beltrano & Giménez, 2015):

- Cultivos libres de contaminación.

- Permite producir cosechas en contra estación.

- Ahorro de fertilizantes e insecticidas.

- Se evita la maquinaria agrícola (tractores, rastras, etcétera).

- Mejor y mayor calidad del producto.

- Altos rendimientos por unidad de superficie.

- Aceleramiento en el proceso de cultivo.

- Ahorro en el consumo del agua.

Productos libres de químicos no nutrientes.

En contraparte y como la principal desventaja de los sistemas hidropónicos, el establecimiento de un cultivo sin suelo supone un mayor costo de producción, tanto por los elementos de riego como por la adquisición de contenedores y sustratos (Baixauli & Aguilar, 2002).

2.11 Aspectos agronómicos de la densidad de siembra

La densidad de siembra se define como el número de plantas por unidad de área de terreno y tiene un marcado efecto sobre la producción del cultivo (Arcila et al., 2007).

Entre los factores más importantes que determinan la densidad de siembra óptima para un cultivo se encuentran: la longitud del período de crecimiento, las características de la planta, el nivel de recursos disponible para el crecimiento y el arreglo espacial (Willey, 1994).

La densidad de siembra es una de las decisiones más complejas para los agricultores porque implica además calcular la cantidad de semilla que se va a comprar. Por esta razón, es necesario identificar la densidad óptima, cuando la cantidad de plantas permite su pleno desarrollo y, consecuentemente, un alto rendimiento (Hub, 2021).

2.12 Variabilidad en rendimiento

Quintero y Antonio (2007) definen el rendimiento como la relación de la producción total de un cierto cultivo cosechado por hectárea de terreno utilizada, que se mide usualmente en toneladas métricas por hectárea. El rendimiento que puede aportar un cultivo depende de sus características genéticas de productividad potencial, rusticidad y de las condiciones ambientales (Quintero & Antonio, 2007).

Otros aspectos que se deben considerar son: la densidad de población, el grado de infestación por malas hierbas, el ataque de plagas y enfermedades ya que son aspectos de las relaciones bióticas que influyen en el rendimiento de los cultivos (Quintero & Antonio, 2007).

Una de las estrategias que se tienen para optimizar el uso de los recursos ambientales (luz, humedad, suelo y nutrimentos), contribuir a contrarrestar el problema de la sensibilidad de las plantas al fotoperiodo e incrementar el rendimiento del cultivo, es el empleo de un adecuado distanciamiento entre surcos y densidad de población de plantas (Seiter et al., 2004).

2.13 Análisis de crecimiento

El crecimiento de una planta se ha definido como el incremento irreversible en el tamaño del organismo y no es más que la resultante de la interacción de múltiples procesos fisiológicos y bioquímicos, tales como: la absorción de agua y nutrientes, la asimilación del carbono, la distribución a diferentes órganos de la planta del material sintetizado, definidos en última instancia por el balance de reguladores del crecimiento que presenta el vegetal y la dotación de genes que caracteriza a un organismo (Gómez et al., 1999).

Por otra parte, Hunt (2003) define que el crecimiento es una aproximación holística, explicativa e integral, para comprender la forma y las funciones de los vegetales.

El análisis del crecimiento es una aproximación cuantitativa para entender el crecimiento de una planta o de una población de plantas bajo condiciones ambientales naturales o controladas (Clavijo, 1989). Para determinarlo pueden medirse los cambios en volumen, pero debido a las dificultades prácticas que genera este tipo de mediciones, suelen determinarse variables relacionadas, tales como la acumulación de peso, las variaciones en altura o diámetro, o los cambios en el área foliar (Di Benedetto & Tognetti, 2016).

Estas diferencias en la producción de biomasa fresca son un reflejo de diferentes estrategias fisiológicas de adaptación al ambiente por cada cultivar. La adaptación de las plantas a los cambios ambientales requiere respuestas con ajustes fisiológicos que pueden variar debido a información intrínseca o extrínseca de las plantas; las primeras incluyen aspectos genéticos que pueden ser inducidos o constitutivos (Albrizio & Steduto, 2005) y las segundas incluyen adaptaciones morfológicas que se refieren a la variación en las dimensiones en los órganos de la planta. En este sentido las plantas que pertenecen a la misma especie y género

pueden desarrollar diferentes mecanismos fisiológicos y morfológicos que le permitan una producción exitosa bajo diferentes condiciones ambientales (Phakamas et al., 2010).

2.14 Importancia del análisis de crecimiento

Los estudios detallados del crecimiento de las plantas o partes de ellas son de utilidad pues permiten cuantificar diferentes aspectos de este: la duración del ciclo; la definición de las etapas de desarrollo; y la distribución de los fotoasimilados por órganos (Azofeifa, 2004). Además, los análisis de crecimiento son básicos para comprender mejor los procesos fisiológicos que determinan la producción vegetal, y así fundamentar más racionalmente las prácticas de manejo del cultivo: nutrición, riego, podas, estrategias de protección, entre otras (Azofeifa, 2004). Aunque la respuesta de las plantas a una determinada condición ambiental puede desarrollar mecanismos diferentes aun perteneciendo al mismo género y especie (Challinor et al., 2007).

2.15 Relación fuente demanda

Los conceptos de fuente demanda son aplicados en un sentido morfológico, referido a órganos y tejidos particulares de la planta (Mendoza, 1993) por ello es posible definir a la fuente y a la demanda desde el punto de vista metabólico, ya que en la fuente se producen asimilados por el metabolismo y removilización de materiales almacenados, mientras que la demanda importa dichos asimilados y los utiliza en procesos respiratorios y de crecimiento. La fuente corresponde a los órganos de suministro y la demanda a los órganos de recepción. Las demandas incluyen todas las partes en crecimiento (Charles et al., 1986).

Los asimilados o asimilatos (glúcidos, proteínas, lípidos y carbohidratos) producidos por la fotosíntesis en los órganos “fuente” (principalmente las hojas), pueden ser almacenados o distribuidos vía floema entre los diferentes órganos “sumideros” de una planta. Entonces, para lograr un rápido crecimiento inicial de las plantas jóvenes, es importante incrementar substancialmente la superficie foliar en esta fase, debido a que gran parte de la radiación solar incidente no es interceptada, por

lo tanto, en esta fase, muchos asimilados deben ser destinados a la formación de las hojas (Baker et al., 1995).

La distribución de materia seca entre los diferentes órganos de una planta es el resultado final de un conjunto ordenado de procesos metabólicos y de transporte que gobiernan el flujo de asimilados a través de un sistema fuente/sumidero (Patrick, 1988); las actividades involucradas en este proceso no son estáticas y pueden cambiar diariamente y a lo largo del período de desarrollo de la planta (Patrick, 1988).

2.16 Métodos de análisis de crecimiento

Hay dos metodologías para efectuar el análisis de crecimiento:

1. Análisis tradicional o clásico que involucra la toma de datos en función del tiempo (cada 1-2 semanas) en un amplio número de muestras (Gardner, et al., 1985). Este tipo de análisis es particularmente apropiado para plantas que se encuentran en una fase exponencial de crecimiento, por lo que es muy usado en estudios ecológicos, en los que se evalúa la competencia temprana entre plantas (Tei et al., 1996).
2. Análisis funcional o dinámico comprende medidas a intervalos de tiempo más frecuentes con un pequeño número de plantas y usa el método de regresión (Hunt, 1978).

2.17 Medidas directas y derivadas

El análisis matemático del crecimiento usa medidas directas, tales como Peso Seco (PS), Área Foliar Total (AF) y Tiempo (T), mientras que las medidas derivadas: Tasa Relativa de Crecimiento (TRC), Tasa de Asimilación Neta (TAN), Tasa de Crecimiento del Cultivo (TCC), Índice de Área Foliar (IAF), entre otras, son calculadas a partir de la relación que se establece entre las medidas directas (Tekalign & Hammes, 2005).

Hunt (1990) define la tasa de crecimiento relativo (TCR), como el incremento del material vegetal por unidad de biomasa y por unidad de tiempo, se expresa en $\text{g g}^{-1} \text{ día}^{-1}$ y representa la eficiencia de la planta como productora de nuevo material.

Fórmula :

$$TRC = (\ln M2/M1) / (t2-t1)$$

Tasa Absoluta de Crecimiento (TAC): Hunt (1990) menciona que la tasa absoluta de crecimiento (TAC), que se define como el incremento del material vegetal por unidad de tiempo, y se expresa en g día⁻¹.

Fórmula :

$$TAC = (M2 - M1) / (t2 - t1)$$

Tasa de Asimilación Neta (TAN): Se define como el incremento del material vegetal por unidad del sistema asimilativo y por unidad de tiempo, que se expresa en g m⁻² día⁻¹, este índice es una medida del balance entre la actividad fotosintética y la respiratoria de la planta (Hunt, 1990).

Fórmula:

$$TAN = [(M2 - M1) / (t2 - t1)] / [(\ln AF2 - \ln AF1) / (AF2 - AF1)] \text{ g m}^2 \text{ día}^{-1}$$

Índice de área foliar (IAF): Corresponde al área foliar de la planta sobre el área foliar del suelo que ocupa (Hunt, 1990)

Fórmula:

$$IAF = [(AF2 + AF1)/2] / (1/As)$$

Donde: M1 y M2: Masa seca total al inicio y final del período.

AF1 y AF2: Área foliar al inicio y final del período.

t1 y t2: Tiempo al inicio y final del período

As: Área del suelo

Estos índices permiten analizar el crecimiento de la planta a través de la acumulación de materia seca, la cual depende del tamaño del área foliar, de la tasa a la cual funcionan las hojas y el tiempo que el follaje persiste (Hunt, 1990).

2.18 Aceites esenciales

Los aceites esenciales se definen como una parte del metabolismo de un vegetal, compuestos generalmente por terpenos, que están asociados o no a otros

componentes, la mayoría de ellos volátiles, y generan en conjunto el olor del vegetal (Bandoni, 2000). Los aceites esenciales son las fracciones líquidas volátiles, generalmente destilables por arrastre con vapor de agua, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas y que son importantes en la industria cosmética (perfumes y aromatizantes), de alimentos (condimentos y saborizantes) y farmacéutica (saborizantes) (Martínez, 2003).

Se les llaman aceites por su naturaleza física y porque su consistencia es bastante parecida a la de los aceites grasos (aceites fijos), pero se distinguen de ellos, porque al dejar caer unas gotas de aceite esencial sobre un papel, estas se volatilizan fácilmente sin dejar ninguna huella, ni mancha grasosa (Padrini & Lucheroni, 2000).

2.19 Usos y aplicaciones de los aceites esenciales

En cuanto al valor comercial y el uso de los aceites esenciales, éstos dependen de su composición química, la cual está condicionada por factores de tipo botánico, agrícola y extractivo; la composición final del aceite depende fuertemente del método de extracción (Gil & Saez, 2000).

Industria cosmética: El aceite esencial de albahaca presenta una alta actividad biológica como antioxidante natural debido a su contenido de compuestos polifenólicos (fenilpropanoides) que pueden considerarse como un ingrediente en el campo de la fitocosmética (Rincón et al., 2011). Desde hace ya varios años, la industria cosmética utiliza el aceite esencial de albahaca como fragancia para champús, lociones, perfumes y jabones (Rindels, 1997).

Ámbito agronómico: los aceites esenciales, se han posicionado como una alternativa para sustituir, en parte, a los plaguicidas sintéticos del mercado actual, por poseer propiedades antifúngicas, antibacteriales, antivirales, entre otras. Además, pueden reemplazar a los aditivos sintéticos en los alimentos, favoreciendo la estabilidad de estos y protección contra las alteraciones lipídicas, por su actividad antioxidante. Estos son productos del metabolismo secundario de las plantas, cuya función es servir como barrera de defensa contra herbívoros, insectos y hongos (Bakkalli et al., 2008).

Ámbito alimenticio: Los aceites esenciales son conocidos desde la Edad Media por sus propiedades antisépticas, terapéuticas y por su intenso aroma, generando interés para la conservación de alimentos (Hernández, 2011). Estos pueden utilizarse desde aderezos para ensaladas hasta platillos de pasta. A algunas personas también les gusta añadir una gota al agua caliente para crear una bebida tipo té (Hernández, 2011).

Ámbito farmacológico: Los aceites esenciales, utilizados en una forma farmacéutica definida y con una dosis precisa, son tan medicamentos como lo pueden ser un alcaloide, un antibiótico o una enzima (Bandoni, 2000).

El aceite esencial de albahaca es tonificante estomacal e intestinal, tiene propiedades antiespasmódicas por lo que ayuda a combatir también el asma y las alergias, es muy útil para proteger y tratar los problemas de hígado y hepatobiliares; Como neuroregulador se utiliza en situaciones de estrés, de fatiga o ansiedad; gracias a sus propiedades antibacterianas, es muy potente para la limpieza facial y tratar problemas como el acné (Mannise, 2019).

2.20 Propiedades físicas

Los aceites esenciales son de aspecto oleoso, altamente volátiles, solubles en aceites, alcohol, éter de petróleo, tetracloruro de carbono y demás solventes orgánicos; insolubles en agua, aunque le transmiten su perfume; son inflamables, responsables del aroma de las plantas, colores y sabores, a veces dulces o amargos, con densidad generalmente inferior a la del agua. Se componen en su mayor parte por hidrocarburos de la serie polimetilénica del grupo de los terpenos que se encuentran con otros compuestos, casi siempre oxigenados (Montoya, 2010)

2.21 Composición química

Actualmente se han identificado alrededor de cuatrocientos componentes químicos constituyentes de los aceites esenciales. La mezcla compleja que integra los aceites esenciales pertenece de manera casi exclusiva a grupos característicos distintos: el grupo de los terpenos, el grupo de los compuestos derivados del fenilpropano, los terpenos originarios del ácido acético, los terpenos provenientes del ácido shikímico

(aromáticos) y otros como los compuestos procedentes de la degradación de terpenos (González, 2004).

2.22 Clasificación

Los aceites esenciales se clasifican con base en diferentes criterios: por su consistencia, origen, o naturaleza química de los componentes mayoritarios; con base a su consistencia, los aceites pueden ser esencias fluidas, Bálsamos. u Oleorresinas (Montoya, 2010). De acuerdo con el origen se clasifican en naturales, artificiales y sintéticos (Montoya, 2010). Por la naturaleza química del aceite se pueden dividir en: Monoterpenoides (linalool, nerol, 1-8 cineol, geraniol) Sesquiterpenoides (farnesol, nerolidol) y Compuestos oxigenados (alcoholes, aldehídos, cetonas) (Montoya 2010)

2.22.1 Métodos de obtención

Los aceites esenciales se extraen de los tejidos vegetales que los contienen por diversos métodos de acuerdo con la estabilidad térmica de sus componentes, su localización en la planta y acorde con las necesidades particulares de cada industria (Bandoni, 2000). La mayoría de los métodos para la extracción de aceites esenciales se basan en la ruptura de las glándulas secretoras de aceite. Se observa que los únicos aceites esenciales verdaderos se obtienen de métodos de destilación y expresión. Estos son los aceites esenciales de grado más alto de pureza, y son los más deseables para el uso en aromaterapia (Montoya, 2010).

Los principales métodos utilizados para obtener aceites esenciales a partir de plantas aromáticas son los siguientes (Bandoni, 2000):

Destilación con agua o hidrodestilación

Destilación por arrastre con vapor

Destilación con agua y vapor.

Cohobación.

Destilación previa maceración

Destilación sometida a una degradación térmica

Expresión

2.22.2 Análisis de los aceites esenciales

Entre los diferentes métodos existentes para el análisis de los aceites esenciales, se destacan los fisicoquímicos y los instrumentales. Los métodos fisicoquímicos incluyen la determinación de propiedades macroscópicas, como: solubilidad en varios solventes, densidad, rotación óptica e índice de refracción, entre otras (Bandoni, 2000). Los métodos analíticos instrumentales son ampliamente utilizados para determinar la composición química de diversos materiales fragantes, entre ellos los aceites esenciales, y comprenden técnicas de separación como cromatografía de gases (GC), cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC), electroforesis capilar (EC); espectroscopías de infrarrojo (IR), de resonancia magnética nuclear; espectrometría de masas (MS) y técnicas acopladas como GC-MS, GC-GC, GCxGC, GC-FTIR, HPLC-MS(n) y EC-MS (Bauer et al., 2001).

2.22.3 Extracción y aislamiento: cromatografía de gases

La cromatografía es un método de química analítica instrumental, que involucra una serie de técnicas empleadas para la separación de los compuestos de una muestra, los cuales se distribuyen entre dos fases, una estacionaria y la otra móvil, de acuerdo con sus afinidades relativas (Sadek, 2004).

La técnica usual para analizar los aceites esenciales es la cromatografía de gases, acoplando a un espectrómetro de masas (Grayer et al., 1996), donde los componentes separados por el cromatógrafo de gases son bombardeados con partículas subatómicas para fragmentarlos, fragmentos que se obtienen son característicos de cada estructura y sirven para identificarlos. Los sistemas modernos de cromatografía de gases/espectrometría de masas, contienen bibliotecas con gran número de patrones de fragmentación (incluidos los de algunos aceites esenciales), con los cuales es posible identificar las moléculas presentes en una muestra de aceite esencial (Hay & Waterman, 1993). El cromatógrafo consta de un sistema de inyección, que permite introducir la muestra en la columna y un detector, que muestra las diferentes sustancias a medida que éstas van saliendo de la columna, una vez separadas. La columna se coloca en un horno con temperatura

regulable y programable, lo que permite influir de forma decisiva sobre la separación de los componentes de la mezcla (Bandoni, 2000).

En la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas se escogen los cromatogramas de los picos más altos, o en un caso específico, el pico de interés, y este se hace llegar al espectrómetro de masas para correrlo. Un espectro de estos tiene en las abscisas del cromatograma los picos con sus tiempos de retención en minutos, y en las ordenadas, la intensidad relativa porcentual de los fragmentos de las moléculas (Montoya, 2010).

2.22.4 Índice de Kovatz

La identificación de los componentes del aceite esencial se realiza a través de comparación de los índices de retención de las sustancias patrón, obtenidos en dos fases estacionarias, polar y apolar, con los índices de Kováts experimentales calculados para los componentes del aceite (Bandoni, 2003) y mediante los diferentes patrones de fragmentación que se observan en sus espectros de masas (Masada, 1976).

Para analizar los componentes de un aceite esencial utilizando cromatografía de gases, se emplea la comparación de sus tiempos de retención (tiempo transcurrido entre la inyección de la muestra y la aparición del pico cromatográfico), con los de los patrones analizados bajo las mismas condiciones operacionales. Sin embargo, los tiempos de retención dependen de la técnica de inyección, las variaciones de temperatura, flujo de gases, tipo de columna y el diseño del equipo, entre otros (Bichi y Pat, 1987), por lo que se han introducido parámetros más reproducibles, como son los índices de Kováts, que han sido definidos con respecto a los tiempos de retención de una serie de n-alcanos (Kovats, 1965).

2.23 Variabilidad genética

La diversidad genética se puede definir como la variabilidad dentro una especie o población atribuible a las diferencias en su material hereditario. (Danial & Rojas, 2007) y es un componente básico de la biodiversidad y su trascendencia es bien conocida en el campo de las plantas cultivadas. Desde los comienzos de la

agricultura, jugó un papel relevante en los procesos de mejoramiento genético (Vallejo & Estrada, 2002).

La existencia de variabilidad genética al interior de las poblaciones vegetales tiene su origen en mutaciones del material genético hereditario, y es un requisito primordial para que las poblaciones evolucionen y se adapten a diferentes condiciones, ya que el proceso de selectividad no puede ocurrir si no existen diversas alternativas. De manera que la estimación de la variabilidad genética presente en poblaciones de plantas resulta de interés (Jiménez & Collada, 2000).

La diversidad genética de especies domesticadas ha permitido el desarrollo de nuevas variedades de plantas que pueden adaptarse a cambios climáticos, con tolerancia a plagas y enfermedades e incluso soportan la erosión a través del desarrollo de sistemas radiculares más vigorosos (Estrella et al., 2005).

Los principales factores que pueden afectar la diversidad genética son: mutaciones, la selección natural (sobreviven los más aptos), sobreexplotación (extracción de individuos), desequilibrio ecológico por contaminación, cambio climático, introducción de especies ajenas a ecosistemas en equilibrio, incremento de la población humana (consecuentemente de sus acciones), sequías, inundaciones (tsunamis), incendios, vulcanismo, huracanes, ingeniería genética (manipulación del DNA) (Arzate, et al., 2019).

2.24 Marcadores genéticos

Villegas et al. (s.f.) definen marcador genético como un segmento de ADN que presenta polimorfismo, con una ubicación física identificable, puesto en evidencia por técnicas repetibles y cuya herencia puede rastrearse.

Un marcador genético debe ser: a) altamente polimórfico o variable dentro y entre especies, b) de herencia mendeliana no epistática (sin interacción entre genes), c) insensible a los efectos ambientales, d) codominante, e) de rápida identificación y simple análisis y f) de posible detección de los estadios tempranos del desarrollo de una planta (Picca et al., 2004).

Según Danial y Rojas (2007) la dimensión en la cual los marcadores genéticos son visualizados o medidos, se les puede clasificar en: Morfológicos, bioquímicos y moleculares.

2.24.1 Marcadores morfológicos

Han sido los primeros en ser utilizados en análisis genéticos, es así como, con base en estos marcadores, se han desarrollado descriptores para la mayoría de las especies cultivadas (Danial & Rojas, 2007), mediante observaciones directas del fenotipo y la evaluación de caracteres cuantitativos y cualitativos (Arzate, 2019). Los marcadores morfológicos establecen las bases para identificar y diferenciar variedades, pero presentan las siguientes limitantes: su obtención es tardada, son métodos complejos, limitados, subjetivos, influenciados por el ambiente, caros e involucran estados de desarrollo específicos del cultivo (Yasmin et al., 2006).

2.24.2 Marcadores bioquímicos

Las isoenzimas, o aloenzimas fueron los primeros marcadores moleculares usados en genética de plantas (Tanksley et al., 1981) y su análisis se realiza extrayendo la enzima de los tejidos de la planta, tras lo cual, las variantes son separadas con electroforesis y visualizadas mediante la tinción del gel con colorantes específicos (Powell 1992; Haines, 1994).

2.24.3 Marcadores Moleculares

Los marcadores moleculares son utilizados para identificar o marcar alelos de difícil expresión fenotípica; son herramientas que facilitan la selección del alelo de interés a través del marcador. Los marcadores moleculares también son utilizados en estudios de variabilidad genética, identificación de cultivares, protección de los derechos del fitomejorador u obtentor, evaluación de la pureza genética de las semillas, mapeamiento genético e incremento de conocimientos sobre la organización de los genomas (Vallejo & Estrada, 2002).

Los marcadores moleculares han sido definidos como cualquier diferencia no típica controlada genéticamente y se puede considerar que cualquier molécula, orgánica o inorgánica, que sea característica de un organismo o proceso sea un marcador.

Los marcadores idóneos son los de ADN, siendo válido cualquier fragmento que se encuentre muy cerca del gen o de la secuencia de interés y que lógicamente no afecte al carácter en estudio (SIDTA, 1999).

La principal ventaja de los marcadores moleculares comparado a los morfológicos se debe a que están ligados a genes de interés agronómico y pueden ser utilizados para la selección genotípica en las primeras etapas del crecimiento vegetal, evitando el manejo de miles de plantas para la selección fenotípica bajo condiciones de campo o en invernadero (Masuelli, 1999).

Los marcadores moleculares incluyen tres categorías básicas: Categoría 1: métodos que no se basan en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Por ejemplo, RFLP y número variable de repeticiones en tandem (VNTRs). Categoría 2: técnicas que utilizan iniciadores (“primer”) arbitrarios o semiarbitrarios. Por ejemplo, iniciadores PCR múltiples arbitrarios (MAAP), RAPD, RAMPO. Categoría 3: PCR con sitio “objetivo específico”. Por ejemplo, SSR, Inter secuencias simples repetidas (ISSR). Las categorías 2 y 3 son marcadores basados en la PCR (Karp et al., 1997).

RFLP (Longitud de Fragmentos de Restricción de ADN). La técnica del RFLP se basa en la digestión o corte del DNA genómico por una o más enzimas de restricción, generando millares de fragmentos. Estos fragmentos son separados por medio de electroforesis con base en el tamaño de estos. Algunos son identificados por medio de una sonda que posee una secuencia de bases complementarias al fragmento (Vallejo & Estrada, 2002).

Los RFLP presentan las siguientes ventajas: a) herencia codominante, siendo posible la identificación de genotipos homocigotos y heterocigotos, b) amplio polimorfismo, c) permiten el mapeo comparativo entre especies correlacionadas porque representan loci únicos en cada genoma y posibilitan la utilización de sondas heterólogas (Vallejo & Estrada, 2002).

Una de las grandes limitaciones de la técnica de RFLP .es la necesidad de construir bibliotecas genómicas para la obtención de sondas. Otra limitación es su complejidad técnica, lo que requiere de laboratorios bien equipados y mano de obra especializada (Vallejo & Estrada, 2002).

RAPD (Amplificación Aleatoria de ADN Polimórfico). Es una variación técnica del PCR que utiliza un solo "primer" de diez nucleótidos y con secuencia arbitraria. Por lo tanto, para que un fragmento de DNA sea amplificado, las dos regiones complementarias al "primer" deben estar separadas por hasta 2.000 pb y con orientaciones opuestas. Con esto, son amplificados fragmentos de DNA, distribuidos al azar en el genoma, sin necesidad de un conocimiento previo de la secuencia del DNA (Phillips et al. 1995). La identificación de los productos de amplificación se realiza en gel de agarosa tratado con bromuro de etidio y se observa bajo luz ultravioleta (Phillips et al. 1995).

Los RAPDs generan un número inmenso de marcadores y, al contrario de los RFLPs, no requieren de sondas específicas para cada especie y la cantidad de ADN necesaria para el análisis es mucho menor (Phillips et al. 1995). La eficiencia de los marcadores RAPDs puede estar influenciada por varios factores, entre ellos: El número de ciclos de amplificación, la cantidad de ADN inicial, la longitud del ADN, el iniciador y la temperatura (Phillips et al. 1995).

Este marcador permite identificar apenas un alelo por locus (una banda en el gel identifica individuos dominantes AA y heterocigotos Aa). No permite distinguir el genotipo AA del Aa. El homocigoto recesivo aa es identificado por la ausencia de banda (Vallejo & Estrada, 2002).

AFLP (Amplificación Selectiva de Fragmentos de Restricción). Se basa en la generación de fragmentos de restricción mediante una restrictasa y la amplificación selectiva mediante PCR de un subconjunto de éstos (Pérez, s.f.). La técnica requiere de la unión de unos adaptadores a los fragmentos generados por la restrictasa y la amplificación por PCR mediante cebadores que incluyen la secuencia del adaptador, de la diana de la restrictasa y algunos otros nucleótidos en el extremo 3', lo que determina que cada cebador sólo amplifique un subconjunto de todos los fragmentos (Pérez, s.f.).

Una de las ventajas del AFLP es la gran capacidad para identificar variabilidad genética debido a que esta técnica explora polimorfismos de restricción y de amplificación. Una de las limitaciones del AFLP es el bajo contenido de información genética por locus que, a semejanza de RAPO, también son marcadores

esencialmente dominantes. Es una técnica que implica mucho trabajo, necesita DNA genómicos de alta calidad y un mayor número de reactivos, convirtiéndola en una técnica muy costosa (Vallejo y Estrada, 2002). Adicionalmente; en esta técnica la resolución de los polimorfismos se realiza en geles de, secuenciamiento que utilizan radioactividad o fluorescencia, lo cual incrementa su complejidad (Vallejo y Estrada, 2002).

Microsatélites o SSR (Secuencias Simples Repetidas). Los genomas eucarióticos presentan varias clases de secuencias repetidas y una de ellas consiste en tándem de uno a cuatro nucleótidos, siendo denominadas microsatélites (Vallejo & Estrada, 2002). En plantas, los microsatélites son muy frecuentes y se distribuyen al azar a lo largo del genoma, siendo muy utilizadas en la construcción de mapas genéticos. Los microsatélites son los marcadores más promisorios debido a que son codominantes y multialélicos, suministrando una gran información genética por locus (Vallejo & Estrada, 2002). Las mayores limitaciones del método son la obtención de los "primers" específicos para los microsatélites, la necesidad de construcción de bibliotecas genómicas y se requieren laboratorios especializados (Vallejo & Estrada, 2002).

ISSR. (Inter-Secuencias Simples Repetidas). Permite medir los niveles de variación en las regiones intermicrosatélite dispersas en el genoma. Los ISSR son marcadores semiarbitrarios por lo que se amplifican a partir de un iniciador complementario a la región microsatélite (Cornejo, et al., 2014).

La variación alélica en los ISSR consiste en la presencia o ausencia de bandas de los productos amplificados; estos marcadores tienen la ventaja de poseer un gran número de bandas polimórficas, las bandas son leídas como marcadores dominantes; es decir, no se sabe si el individuo es homocigoto dominante o heterocigoto; la diversidad genética está basada considerando que cada banda representa un locus con dos alelos y que el alelo dominante está en equilibrio de Hardy-Weinberg (Rentarías, 2011). Además, es una técnica relativamente fácil de montar, altamente repetible y actualmente existen cebadores universales para plantas (Rentarías, 2011).

LITERATURA CITADA

- Albrizio, R., y Steduto, P. (2005). Resource use efficiency of field-grown sunflower, sorghum, wheat and chickpea I. Radiation use efficiency. *Agricultural and Forest Meteorology*, 130(3), 254-268.
- Arcila, J., Farfán, F. Moreno, A., Salazar, L. y Hincapié, E.(2007). Densidad de siembra y productividad de los cafetales en *Sistemas de producción de café en Colombia*. (1ª Ed.). Editorial Blanecolor Ltda. pp. 131-144
- <https://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/720/7/6.%20Densidad%20siembra%20y%20productividad%20cafetales.pdf>
- Arzate, A., Piña, J., Norman, T., Arroyo, H. (2019). Apuntes de Genética Vegetal. (1ª Ed.). Editorial de la Universidad Autónoma del Estado de México. 158 p.
- Azofeifa, A. (2004). Análisis de crecimiento del chile jalapeño (*Capsicum annuum* L. cv. Hot), en Alajuela, Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 28(1), 57-67.
- Baixauli, C. y Aguilar J. (2002). *Cultivo sin Suelo de Hortalizas. Aspectos Prácticos y Experiencias*. Editorial Generalitat Valenciana.15-26.
- <https://ivia.gva.es/documents/161862582/161863558/Cultivo+sin+suelo+de+hortalizas>
- Bauer, K., Garbe, D., y Surburg, H. (2001). *Common Fragrance and Flavor Materials: Preparation, Properties and Uses* (4ª Ed.). WILEY-VCH. 392 p.
- Bakkalli, F., Averbeck, S., Averbeck, D., y Idaomar, M. (2008). Biological Effects of Essential Oils-a Review. *Food Chem Toxicol*, 46(2), 446- 475.
- Bakker, J., Bot, A., Challa, H., y Van de Braak, J. (1995). *Greenhouse Climate Control. An integrated approach*. Wageningen Pers. Netherlands, 296 p.
- Bandoni, A. (2000). *Los Recursos Vegetales Aromáticos en Latinoamérica*. (1ª Ed.) Editorial de la Universidad Nacional de la Plata. Argentina. 417 p.
- Barroso, L., y Jerez, E. (2002). Fenología de la albahaca blanca (*Ocimum basilicum* L.) cultivada en diferentes fechas de siembra. *Cultivos Tropicales*. 23(2), 43-46.

- Beltrano, J., y Giménez, D. (2015). *Cultivo en hidroponía*. (1ª Ed.). Universidad Nacional de La Plata. DOI: ISBN 978-950-34-1258-9.
- Bichi, C. y Pat, S. (1987). *Capillary gas chromatography in essential oil analysis*. Ed. Huethig Verlag. 435 p.
- Bonilla, C., Guerrero, R. (2010). *Albahaca (Ocimum basilicum L.) Producción y Manejo Poscosecha*. Colombia. Corredor Tecnológico Agroindustrial. Cundinamarca, Secretaría de Competitividad y Desarrollo Económico. 124 p.
- Briseño, R., Aguilar, G., y Villegas, E. (2013). *El cultivo de albahaca*. Editorial Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. La Paz, Baja California Sur, México. 33 p.
- Cabrera, M., Vobis, R., y Alvarez, R. (2010). Powdery mildew on *Salvia Officinalis* in Corrientes Argentina. *Mycosphere* 1(4), 289-291. https://www.mycosphere.org/pdf/MC1_4_No3.pdf
- Cáceres, A. (1996). *Plantas de Uso Medicinal en Guatemala*. Editorial Universitaria. Universidad de San Carlos de Guatemala. 402 p.
- Ceroni, M. (2010). *El Cultivo moderno y rentable de las plantas aromáticas y medicinales*. Editorial De Vecchi. España. 160 p.
- Challinor, A., Wheeler, T., Craufurd, P., Ferro, C., y Stephenson, D. (2007). Adaptation of crops to climate change through genotypic responses to mean and extreme temperatures. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 119(1-2), 190-204.
- Charles, E., Doley, D., y Rimmington, G. (1986). *Modelling Plant Growth and Development*. (1a Ed.). Academic Press Australia. 235 p.
- Clavijo, J. (1989). Análisis de crecimiento en malezas. *Revista Comafi*, 15, 12-16.
- Corporación Colombia Internacional (CCI). (2007). *Albahaca (Ocimum basilicum)*. Plan Hortícola Nacional-PHN. Bogotá, D.C. pp. 223-232.
- Cole T., Hilger H., Stevens, P., Medan, D. (2019). Póster: Filogenia de las angiospermas – Sistemática de las Plantas con Flores. 1 p. https://www.researchgate.net/publication/328131149_Filogenia_de_las_Angiospermas_-

[_Sistematica_de_las_Plantas_con_Flores_Spanish_version_of_the_Angiosperm_Phylogeny_Poster_APP](#)

- Cornejo, R. A., Serrato, D. A., Rendón, A., & Rocha, M. M. G. (2014). *Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos*. México: INECC/SEMARNAT
- Danial, D., y Rojas, B. (2007). *Uso de Marcadores moleculares en el mejoramiento genético de las plantas*. (1ª Ed.). Ed. Fundación FREDUZA-WU. 199 p.
- Darrah, H. (1980). *The cultivated basil*. Buckeye Print. Company. 40 p.
- Davis, J. (2012, octubre). *Basil production guide*. En: www.ces.ncsu.edu/depts/hort/consumer/agpubs/basil.pdf
- De Innocentis, I. (2022, octubre). *Historia y Origen de la albahaca: Del sudeste asiático para conquistar el resto del mundo*. TUMN. <https://www.tumn.it/es/blog/historia-y-origen-de-la-albahaca>.
- Di Benedetto, A. y Tognetti, J. (2016). Técnicas de análisis de crecimiento de plantas: su aplicación a cultivos intensivos. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 42(3), 258-282.
- Escandón, C., Mendoza, A., Soto, R., y Vega, G. (2012). Instructivo técnico del cultivo de la albahaca en Cuba,. <http://www.fao.org/docs/eims/upload/cuba/5178/albahaca.pdf>.
- Estrella, J., Monosalvas, R., Mariana, J., & Rivadeneira, M. (2005). Biodiversidad y recursos Genéticos: Una guía para su acceso y uso en el Ecuador. (1ª Ed.) Ed. Abya Yala. 116 p.
<https://biblio.flacsoandes.edu.ec/libros/digital/56358.pdf>
- Fernández, J. (2001). *Cultivo de plantas medicinales, aromáticas y condimenticias*. Barcelona, España: Omega S.A. 154 p.
- Fernandez, V. (2003). Estudios en domesticación y cultivo de especies medicinales y aromáticas nativas. Fichas de cultivos de especies aromáticas tradicionales. Albahaca. <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/8778/1/Fpta-11-p.205-225.pdf>

- Franco, T., & Hidalgo, R. (2003). *Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica de recursos fitogenéticos*. International Plant Genetic Resources Institute. Boletín Técnico no. 8. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), 90 p. ISBN: 978-92-9043-543-3.
- Forero, C. (2010). *Implementación de buenas prácticas agrícolas en hierbas*. (Tesis de Ingeniero Agrónomo), Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía.
- Gardner, F. P. (1985). *Physiology of crop plants*. (1ª Ed.). Iowa State University.
- Garibaldi, A., Gullino, G., y Minuto. (2011). First report of leaf spot of sweet basil (*Ocimum basilicum*) caused by *Alternaria alternata* in Italy. *Journal of Plant Pathology*, 93(4), 54-71.
- Gil, E., y Sáez, A. (2000). Obtención de aceite esencial de cardamomo. *Revista Universidad EAFIT*. 33 (118), 15-21. <http://hdl.handle.net/10784/16334>
- Gómez, C., Buitrago, C., Cante, M., y Huertas, B. (1999). Ecofisiología de papa (*Solanum tuberosum* L.) utilizada para cultivo fresco y para la industria. *Revista Comalfi*, 26(1-3), 42-55. <http://hdl.handle.net/20.500.12324/16986>
- González, A. (2004). *Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del Amazonas*. (Tesis de licenciatura). Universidad Nacional de Colombia.
<https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/2800/angelaandreagonzalezvilla.2004.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Grayer, R., Kite, G., Gldstone, F., Bryan, S., Paton, A., & E., P. (1996). Intraspecific taxonomy and essential oil chemotypes in sweet basil, *Ocimum basilicum*. *Phytochemistry*, 43: 1033-1039.
- Haines, R. 1994. *Biotechnology in forest tree improvement: with special reference to developing countries*. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Roma. FAO Forestry Paper 118. 230 p.
- Hay, R. y Waterman, P. (1993). *Volatile oil crops: the biology, chemistry and production*. New York: Logman scientific & technical. 200 p.

- Hernández, P. (2011). *Encapsulación de aceite esencial de clavo para su aplicación en la industria alimentaria*. (Tesis de Doctorado). Universidad Católica San Antonio. Murcia.
- Hub, B. (2021). La importancia de una densidad de siembra óptima. CIMMYT. <https://idp.cimmyt.org/la-importancia-de-una-densidad-de-siembra-optima/>
- Hunt, R. (1978). *Plant Growth Analysis* (Studies in Biology, 1ª Ed. Vol. 96). Editorial Edward Arnold. 67 p.
- Hunt, R. (1990). *Basic Growth Analysis*. Plant growth analysis for begginers. (1ª Ed.). London: UNWIN HYMAN. 112 p.
- Hunt, R. (2003). *Plant growth analysis: individual plants*. Academic press. London. 112 p.
- Jiménez, P., Collada, C. (2000). Técnicas para la evaluación de la diversidad genética y su uso en los programas de conservación. *Investigación Agraria. Forest Systems* 9 (4): 237-248.
- Karp, A., Kresovich, S., Bhat, K., & Hkdkin, T. (1997). *Molecular tools in plant genetic resources conservation: a guide to the technologies*. International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI). 47 p. Revisar referencia. Paginación
- Kintzios, S. y Makri, O. (2007). *Ocimum* sp. (Basil): Botany, Cultivation, Pharmaceutical. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 13(3), 123-150. https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1300/J044v13n03_10
- Kopsell, D., Kopsell, D., Curran, J. (2005). Carotenoid and chlorophyll pigments in Sweet Basil grown in the field and greenhouse. *HortScience*, 40(5). DOI: 10.21273/HORTSCI.40.4.1119D.
- Koroch, A., Villani, T., Pyne, R., y Simon, J. (2013). Rapid staining method to detect and identify downy mildew (*Peronospora belbahrii*) in Basil. *Applications in Plants Sciences*, 1(7), 1-4 In: <https://doi.org/10.3732/apps.1300032>.
- Kovats, E. (1965). Gas chromatographic characterization of organic substances in the retention index system. *Advances in Chromatography*, 1, 229-247.
- Mannise, R. (2019). *Aceite esencial de albahaca, propiedades y usos*. <https://ecocosas.com/plantas-medicinales/aceite-esencial-de-albahaca/>

- Martínez, A. (2003). *Aceites esenciales*. Universidad de Antioquia. Medellín.
https://www.med-informatica.com/OBSERVAMED/Descripciones/AceitesEsencialesUdeA_esencias2001b.pdf
- Matus, P. L., y Venegas, F. Z. (2015). caracterizacion de la agrocadena de la albahaca (*Ocimum basilicum*) en San Antonio del Tequendama – cundinamarca, bajo el enfoque del desarrollo territorial. (Trabajo de Grado). Bogota, Colombia: Universidad Distrital Francisco José de Caldas.
- Masada, Y. (1976). Analysis of Essential Oils by gas chromatography and Mass spectrometry. United States. 334 p.
- Masuelli, R.W. (1999). Uso de marcadores moleculares en el mejoramiento genético de especies hortícolas. *Avances en Horticultura*, 41, 54-66.
- Mendoza, C. (1993). *Algunos factores fisiológicos y anatómicos que afectan la relación fuente-demanda en maíz (Zea mays L.)*. (Tesis de Doctorado). Colegio de Posgraduados, Montecillo, Edo. de México.
- Moncayo, L. M. (2015). *Compuestos fenólicos y antioxidantes en albahaca (Ocimum Basilicum L.) bajo soluciones nutritivas orgánicas en invernadero*. (Tesis de Doctorado). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Unidad Laguna.
- Montoya, C. G. (2010). *Aceites esenciales. Una Alternativa de Diversificación para el Eje Cafetero* (Primera ed.). Universidad Nacional de Colombia. DOI: I.S.B.N 958-8280-26-4
- Muñoz, F. (2002). Plantas medicinales y aromáticas: Estudio, cultivo y procesado. Ed. Mundi-Prensa. 365 p.
- Padrini, F., y Lucheroni, M. (2000). *Aceites esenciales, para recuperar, el bienestar, la estabilidad, la belleza*. Editorial De Vecchi. Bardalona, España. 95 p. Revisar referencia. Paginación
- Phakamas, N., Patanothaia, A., Pannangpetcha, K., y Jogloya, S. (2010). Determination of adaptive responses of peanut cultivars and patterns of cultivar location interaction using the CSM-CROPGRO-Peanut model. *Journal of plant production*, 4, 223-233.

- Phillips, W.; Rodríguez, H.; Fritz, P. (1995). *Marcadores de ADN: Teoría, aplicaciones y protocolos de trabajo con ejemplos de investigaciones en cacao (Theobroma cacao)*. Serie técnica. Informe técnico # 252. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 183 p.
- Picca, A., Helguera, M., Salomón, N. y Carrera, A. (2004). Parte II, Capítulo 4: *Marcadores moleculares, en Biotecnología y mejoramiento vegetal*. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Pp. 61-68.
- Powell, W. (1992). *Plant genomes, gene markers, and linkage maps*. In: Moss, J. P. ed. *Biotechnology and crop improvement in Asia*. Patancheru, India. International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics. pp. 297-322.
- Quintero, E., y Antonio, A. (2007). *Ecología Agrícola*. (1ª ed.). Editorial Poligráfica.
- Rentaría, A. M. (2011). Capítulo 18: *Breve revisión de los marcadores moleculares, en Las Herramientas Moleculares*, 541-566
- Rincón, A., Pérez, M., Bou, L., Romero, A., Bucarito, L., y Padilla, F. (2011). Métodos para la determinación de la actividad antioxidante de vegetales. *Revista Facultad de Farmacia*, 74(1), 24-28.
- Rindels, S. (1997). *Basil*. Iowa. <https://hortnews.extension.iastate.edu/1997/3-21-1997/basil.html>
- Sadek, P. (2004). *Illustrated pocket dictionary of chromatography*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc. 240 p.
- Salas, M. (2008). *Los cultivos sin suelo y su contribución a la producción en los sistemas hortícolas intensivos*. *Phytohemeroteca*. <https://www.phytoma.com/la-revista/phytohemeroteca/199-mayo-2008/los-cultivos-sin-suelo-y-su-contribucion-a-la-produccion-en-los-sistemas-hortícolas-intensivos#>
- Sánchez del C, F., y Escalante, R. (1988). *Un sistema de producción de plantas: hidroponía principios y métodos de cultivo* (3ª Ed.). Universidad Autónoma Chapingo. 194 p.

- Seiter, S., Altemose, C., y Davis, M. (2004). Forage soybean yield and quality responses to plant density and row distance. *Agronomy Journal*, 96(4) DOI:10.2134/agronj2004.0966
- SIDTA. (1999). *Los marcadores moleculares en ingeniería genética y en mejora vegetal*. España.
<http://www.jcyl.es/jcyl/cag/dgiadr/svidta/boletin/dic99/bold.html#los%20marca>.
- Sinha, G., & Gulati. (1991). *Propiedades antibacterianas de algunos aceites esenciales y sus constituyentes. Plantas Medicinales y Floricultura*. Vol 1. pp. 10-11.
- Simon, J., Quinn, J., Murray, R. (1990). *Basil: a source of essential oils: Advances in new crops*. (p. 484–489). Timber Press, Portland, OR.
- Simon, J. (1993). *New aromatic lemon basil germplasm*. New York, Estados Unidos: Universidad Estatal de Nueva Jersey
- Tei, F., Scaife, A., & Aikman, D. (1996). Growth of lettuce, onion, and red beet. 1. Growth analysis, light interception, and radiation use efficiency. *Annals of Botany*, 78(5), 633-643.
https://www.academia.edu/18257458/Growth_of_Lettuce_Onion_and_Red_Beet_1_Growth_Analysis_Light_Interception_and_Radiation_Use_Efficiency
- Tekalign, T., y Hammes, S. (2005). Growth and productivity of potato as influenced by cultivar and reproductive growth: II. Growth analysis, tuber yield and quality. *Scientia Horticulturae*, 105(1), 29-44.
- Tanksley, S.; Medina-Filho, H. y Rick, C. (1981). The effect of isozyme selection on metric characters in an interspecific backcross of tomato basis of an early screening procedure. *Theoretical and Applied Genetics*, 60(5), 291-296.
- Vallejo, F., y Estrada, E. (2002). *Mejoramiento Genético de Plantas*. Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira. 402 p.
- Villegas, E., Posik, D. y Crespi, J. (s.f.). *Elementos de genética. Marcadores genéticos: Introducción al análisis y su aplicación en diversas áreas biológicas*. Facultad de Ciencias Naturales y Museo. UNLP

http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/131500/Documento_completo.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Willey, R. (1994). *Plant population and crop yield*. (1^a Ed.). CRC Press. 283 p.

Yasmin S, M S Islam, M Kondoker, M Nasiruddin, S Alam (2006). Molecular characterization of potato germplasm by Random Amplified Polymorphic DNA markers. *Biotechnol.* 5, 27-31.

3 EVALUACIÓN DE RENDIMIENTO Y ANÁLISIS DE CRECIMIENTO DE CULTIVARES DE ALBAHACA (*Ocimum basilicum* L.) CULTIVADA BAJO INVERNADERO

RESUMEN

La albahaca (*Ocimum basilicum* L.) es una hierba aromática con diversas cualidades y propiedades en el ámbito alimenticio, medicinal e industrial. En México se cultiva con fines culinarios para exportación, sin embargo, la información acerca del adecuado manejo de producción es limitante, por lo que se llevó a cabo este experimento con el objetivo de evaluar el rendimiento de 14 variedades en tres densidades de plantación, con un sistema de manejo hidropónico bajo invernadero. Se evaluaron variables morfológicas y rendimiento por planta durante 3 semanas de cosecha. Con los resultados del análisis de varianza se determinó diferencia significativa entre variedades y en la interacción densidad x variedad, debida a la variabilidad genética de la especie. Se observó que la variedad Lettuce registró el mayor rendimiento. También se realizó un análisis de crecimiento con 3 muestreos a los 37, 57 y 107 días después de la siembra, con lo que se obtuvo la TAN, TAC y TRC; de acuerdo con los resultados obtenidos, se concluyó que la región del Valle de México es apta para el cultivo de albahaca, en particular las variedades Lettuce, Blue Spicy y Lime en altas densidades.

Palabras clave: *Ocimum* sp, hidroponía, cultivares, rendimiento.

ABSTRACT

Basil (*Ocimum basilicum* L.) has been an aromatic herb with diverse qualities and properties in the food, medicinal and industrial fields. In Mexico it is cultivated for culinary purposes for export; however, information about adequate production management is limited, so this experiment was carried out with the objective of evaluating the yield of 14 varieties in three planting densities, under a hydroponic management system in greenhouse conditions. Morphological variables and yield per plant were evaluated during 3 weeks of harvest. The results of the analysis of variances showed significant effect among varieties and in the interaction density x variety, which is due to the genetic variability of the species. It was observed that the Lettuce variety was the one with the highest yield. A growth analysis was also carried out in 3 samplings at 37, 57 and 107 days after sowing. where the TAN, TAC and TRC were calculated; according to the results obtained, it was concluded that the region of the Valley of Mexico is suitable for basil cultivation, particularly the varieties Lettuce, Blue Spicy and Lime at high densities.

Key words: *Ocimum* sp, hydroponics, cultivars, yield.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, la agricultura además de ser a campo abierto, se practica en una amplia variedad de ambientes modificados, entre los que destacan los invernaderos, con o sin control ambiental, con cultivos en sistemas hidropónicos, sustratos inertes o en suelo, mismos que representan un ejemplo de ecosistemas artificiales para desarrollar la agricultura intensiva (Juárez et al., 2011). Los rendimientos son altos debido a una mayor densidad, mayor productividad por planta y eficiencia en el uso de los recursos agua, luz y nutrientes (Beltrano & Giménez, 2015).

La albahaca (*Ocimum basilicum* L.) se cultiva en muchos países por sus cualidades medicinales, aromáticas, ornamentales y melíferas (Cheping, 1993). Existen cultivos comerciales en Italia, Francia, Marruecos, Egipto, Bulgaria y Hungría (Fernandez, 2003) y en México es una de las hierbas que más se exportan (SADER, 2016).

La mayoría de las personas están familiarizadas con la albahaca dulce, *Ocimum basilicum* L., la albahaca culinaria común, pero el mundo de las albahacas ofrece una amplia gama de plantas con una gran diversidad de sabores, aromas y usos, siendo las más populares las dulces y las de aromas especiales (canela, limón y thai/anís), de hojas púrpuras, arbustos y miniatura o enanas (Meyers, 2003).

Generalmente la albahaca es cosechada por sus hojas que son vendidas frescas o secas; normalmente es utilizada para consumo fresco por lo que se cosechan los primeros cuatro grupos de hojas verdaderas (Kintzios & Makri, 2007).

El cultivo de albahaca ha mostrado un incremento en la producción a nivel mundial al ser un cultivo con grandes áreas de oportunidad en el mercado, debido a los diferentes usos que se le puede dar (alimenticio, medicinal y cosmético). Por lo que se considera importante generar información acerca del adecuado sistema de producción del cultivo.

En México, la superficie sembrada con esta hierba aromática registró un aumento, de 238 ha en el 2017 a 389 ha en el 2019, año en que se reportó una producción

Nacional de 3,103 toneladas, las cuales están distribuidas en los Estados de Baja California, Puebla, Morelos, Nayarit, Estado de México, Guerrero y Baja California Sur, este último ha sido el principal productor con sistemas de manejo orgánicos y con fines de exportación, con una producción anual de 2,149.8 ton y un rendimiento de 8.85 t ha^{-1} , sin embargo, Baja California tiene el registro con mayor rendimiento (10.50 t ha^{-1}) en donde la albahaca es cultivada bajo invernadero (SIAP, 2019).

La densidad de siembra es uno de los factores más importantes relacionados con el crecimiento y producción de las plantas cultivadas y que se debe tener en cuenta al momento de establecer una plantación (Soto et al., 2003). En ese sentido, para obtener la densidad óptima se deben considerar la longitud del período de crecimiento, las características de la planta, el nivel de recursos disponible para el crecimiento y el arreglo espacial (Willey, 1994). El material cosechado al término del ciclo de un cultivo es la resultante final de las interacciones, producidas en forma continua a través de dicho ciclo, entre genotipo, condiciones ambientales y manejo cultural (Hall, 1980).

Las densidades de siembra más utilizadas son 50, 60 y 100 mil plantas por hectárea en camas de 0.80 m de ancho a doble hilera (Forero, 2010), pero también se puede plantar en una cama de 3 hileras, con distancia de 30 cm entre plantas y entre filas. La distancia entre las camas, que van de 60 a 90 cm, depende del equipo disponible y pueden ocurrir grandes variaciones en el crecimiento y el rendimiento debido a las condiciones climáticas, el tipo de planta y las prácticas culturales y de manejo (Simon, 2022).

El análisis del crecimiento permite evaluar la distribución de biomasa y calcular índices de eficiencia del crecimiento (Hunt, 1978). Según Beadle (1988), requiere primordialmente de dos variables, el peso seco y el área foliar de la planta; con estas variables se pueden calcular índices del crecimiento como la tasa de crecimiento relativo (TCR), que se define como el incremento que ocurre en un período de tiempo por cada gramo de biomasa. También permite calcular la tasa absoluta de crecimiento (TAC). Otro índice de eficiencia es la tasa de asimilación neta (TAN), que cuantifica la ganancia neta de productos asimilados por unidad de área foliar y

de tiempo, por lo que se le considera como un estimador de la tasa fotosintética (Beadle, 1988).

La Sociedad de Hierbas de América, sostiene que la distancia entre plantas es variable según el tamaño de la especie, aunque generalmente se recomienda un espacio entre plantas de 30 a 60 cm, hay variedades que se plantan con distancia de 120 cm con la finalidad de mantener una circulación de aire adecuada (Meyers, 2003). Con base en la información técnica descrita en los empaques de semillas de albahaca, se recomienda una distancia entre 25 a 50 cm entre plantas en variedades para consumo en fresco.

En un experimento realizado en Cuba por Barroso y Jerez (2002) se estudiaron los mecanismos fisiológicos de respuestas de la albahaca genovesa en función del estado hídrico de las plantas, calcularon los indicadores TRC, TAN, RAF, RMF y AFE en dos fases del crecimiento y desarrollo del cultivo. Las variables TRC y TAN resultaron ser más eficientes para analizar el comportamiento del crecimiento en función de los tratamientos aplicados. La biomasa se redujo cuando el volumen de agua aplicado al cultivo se limitó al 50 % del balance evaporación-precipitación o hasta un 40 % de la evapotranspiración, encontrándose en esta última condición un uso más eficiente del agua por las plantas.

En cuanto al rendimiento, Briseño et al., (2013) señalan que en promedio cada planta de albahaca produce 360 g durante su ciclo de producción; el rendimiento es de 18-20 t ha⁻¹ en fresco, en un periodo de 12 y 16 semanas, sin embargo, no mencionan la variedad y la región donde se reportan estos datos.

Fernández (2003), realizó un experimento en Uruguay con la variedad albahaca limón, la cual fue cultivada en parcelas a un marco de plantación de 30 cm entre filas y 20 cm entre plantas; dispuso dos filas sobre los canteros de 0.75 m de ancho. La distancia entre canteros fue de 0.75 m y la densidad de 66,600 plantas por hectárea; la cosecha se registró en un solo corte de la parte aérea de la planta y obtuvo un rendimiento promedio por planta de 187.5 g y un estimado de 12.5 t ha⁻¹.

1.

En un experimento realizado en el municipio de Los Cabos, México, Murillo et al. (2010) produjeron con abonos verdes y ácidos húmicos 12 t ha^{-1} y 15 t ha^{-1} , respectivamente, rendimientos superiores a la media nacional 8 t ha^{-1} .

Makgose y Phillipus (2013) sometieron a evaluación cinco densidades de plantas de albahaca variedad genovese con 10, 16, 20, 25 y 40 plantas m^{-2} (espaciamientos de plantas de $40 \times 25 \text{ cm}$, $25 \times 25 \text{ cm}$, $20 \times 25 \text{ cm}$, $20 \times 20 \text{ cm}$ y $10 \times 25 \text{ cm}$, respectivamente), en 2 temporadas de producción (primavera y otoño) con el objetivo de determinar el efecto combinado de las densidades de plantas y el método de cosecha de hojas, bajo un manejo hidropónico del cultivo. En el primer experimento (producción en primavera), los tratamientos de densidad vegetal con 20, 25 y 40 plantas m^{-2} dieron como resultado valores significativamente más altos para los parámetros de rendimiento y crecimiento. Mientras que, en el segundo experimento (producción en otoño), la mayor masa fresca de hojas, el área foliar y la masa total de plantas frescas se registraron en plantas cultivadas a una densidad de plantas de 40 plantas m^{-2} , con lo que demostraron que la alta densidad de plantación mejoró significativamente el rendimiento y el crecimiento de la albahaca en una hidroponía cerrada, además la temporada de crecimiento tuvo un papel importante en el desarrollo de los brotes laterales, por lo tanto, las recomendaciones de densidad de plantas se limitan a una temporada de siembra o clima específico (Makgose & Phillipus, 2013).

Debido al gran auge que ha tenido el cultivo de albahaca ha implicado que se tenga que enfrentar a diferentes condiciones climáticas y edáficas, por ello en los últimos años la producción agrícola bajo sistemas protegidos ha ido en aumento debido a los buenos resultados en el incremento del rendimiento de las cosechas, sin embargo, para el cultivo de albahaca, la información con relación a la densidad de plantación idónea para la obtención de un mayor rendimiento es escasa. El rendimiento y la calidad dependerá entonces de las condiciones del medio donde se produzca.

Con base a lo anterior, se realizó este experimento de evaluación de rendimiento y análisis de crecimiento de 14 y 15 variedades de albahaca, respectivamente, bajo

el supuesto de que las variedades cultivadas bajo idénticas condiciones de invernadero y sistema hidropónico mostrarán un crecimiento homogéneo, lo cual permitirá demostrar la capacidad de adaptación o competencia, reflejándose en el incremento del rendimiento.

El objetivo general del experimento es aportar información de cultivares de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) en el ámbito de tecnología de producción, a través de una evaluación del rendimiento de 14 variedades en tres densidades de plantación en hidroponía, con la finalidad de diversificar el cultivo de albahaca en la región centro de México e implementar un manejo eficiente del cultivo en función del consumo en fresco. Asimismo, el objetivo del análisis de crecimiento es comparar la acumulación de materia seca de 15 variedades de albahaca cultivadas bajo condiciones controladas y determinar la Tasa Absoluta de Crecimiento (TAC), Tasa Relativa de Crecimiento (TRC) y Tasa de Asimilación Neta (TAN) con lo que se pretende conocer los cambios fisiológicos de cada variedad durante el ciclo de producción de la albahaca (*Ocimum basilicum* L.).

3.1 Materiales y Métodos

3.1.1 Ubicación del experimento

El cultivo de las variedades de albahaca se realizó en un invernadero tipo capilla sin ventila cenital, cubierta de polietileno blanco lechosa, con 25 % de sombra, térmica y dispersora de luz del Campo Agrícola Experimental de Fitotecnia de la Universidad Autónoma de Chapingo, Texcoco, Estado de México, ubicado a una latitud de 19°29'35.3" N, longitud 98°52'21.1" W y a una altitud de 2250 msnm.

3.1.2 Material vegetal

De las quince variedades cultivadas, diez se importaron, con origen y procedencia de Estados Unidos de América: Red Velvet, Licorice, Lime, Lettuce, Siam Queen, Blue Spicy, Mammoth, Dark Opal, Sweet Basil y Spice Globe; cinco variedades se adquirieron de empresas Nacionales: Limón, Canela, Hojas grandes de Italia, Thai y Morada (Figura 1). En el **¡Error! La autoreferencia al marcador no es válida.** se resumen algunas características morfológicas de cada variedad.

Cuadro 2. Características agronómicas de quince variedades de albahaca (*Ocimum basilicum* L.).

Variedad	Especie	Altura	Tamaño de la hoja	Color de hojas	Días a floración
Red Velvet	<i>O. basilicum</i>		mediana	púrpura	
Licorice	<i>O. basilicum</i>	53	mediana	verde-morado	102
Lime	<i>O. americanum</i>	45	pequeña	verde	
Lettuce	<i>O. basilicum</i>	41	grande	verde	105
Siam Queen	<i>O. basilicum</i>	50	mediana	verde	
Blue Spicy	<i>O. basilicum</i>	34	pequeña	verde	76
Mammoth	<i>O. basilicum</i>	41	grande	verde	103
Dark Opal	<i>O. basilicum</i>	43	mediana	púrpura	97
Sweet Basil	<i>O. basilicum</i>	60	grande	verde	
Spice Globe	<i>O. basilicum minimum</i>	30	pequeña	verde	
Limón	<i>O. basilicum citrodrum</i>	33	mediana	verde	76
Canela	<i>O. basilicum</i>	44	mediana	verde	86
Italia	<i>O. basilicum</i>	46	grande	verde	104
Thai	<i>O. sanctum</i>	41	pequeña	verde	82
Morada	<i>O. sanctum</i> Linn	50	mediana	verde-morada	



A. Red Velvet leaf B. Licorice C. Lime D. Lettuce E. Siam Queen F. Blue Spicy G. Mammoth H. Dark Opal I. Sweet Basil J. Spice Globe K. Limón L. Canela M. Italia N. Thai O. Morada

Figura 1. Variedades de albahaca cultivadas bajo invernadero.

3.1.3 Diseño de tratamientos

Cuarenta y dos tratamientos generados con 3 densidades de plantación y 14 variedades de albahaca se establecieron en cada bloque y la distribución de variedades se realizó de manera aleatoria (Cuadro 3).

Cuadro 3. Conformación de tratamientos con base a la densidad de plantación y la variedad

Tratamiento	Densidad	Marco de plantación (cm)	Plantas/parcela (0.68 m ²)	Variedades
1-14	Densidad 1	25 cm entre hileras x 30 cm entre plantas	9 plantas/parcela	v1, v2, v3... v14
15-28	Densidad 2	25 cm entre hileras x 25 cm entre plantas	12 plantas/parcela	v1, v2, v3... v14
29-42	Densidad 3	25 cm entre hileras x 20 cm entre plantas	15 plantas/parcela	v1, v2, v3... v14

3.1.4 Diseño experimental

El experimento se estableció en un diseño de parcelas divididas en bloques al azar con cuatro repeticiones, considerando a los tratamientos de densidad como factor A (parcela grande), con tres niveles (9, 12 y 15 plantas por parcela) y las 14 variedades de albahaca como factor B (parcela chica), para un total de 42 tratamientos y 168 unidades experimentales.

Se evaluó semanalmente durante tres semanas consecutivas a partir de la cosecha: número de brotes por planta por corte (cosecha) y peso en fresco de los brotes cosechados por planta por corte (cosecha).

3.1.5 Siembra

La siembra se realizó el 12 de mayo de 2021 en almácigos de poliestireno de 200 cavidades; se utilizó sustrato peat moss y perlita a una proporción de 2:1 respectivamente. Por cada variedad se sembraron 224 semillas, se colocó una semilla por cavidad a una profundidad de 0.3 cm. Después de la siembra, los almácigos se colocaron en invernadero y se realizó un riego al día.

3.1.6 Trasplante

Cuando las plántulas alcanzaron una altura de 15 cm con 2 a 4 hojas verdaderas se trasplantó (18 de junio) en camas de arena de tezontle de 0.3 x 1 x 19 m, a cada variedad se le asignó una parcela de 1.0 x 0.68 m de cama útil, que representó 1.18 m² de invernadero.

3.1.7 Manejo del cultivo

El manejo del cultivo fue con sistema hidropónico abierto; se aplicó la solución hidropónica propuesta por Sánchez y Escalante (1989) diluida al 50 %, constituida (en ppm) por: 125 de nitrógeno, 30 de fósforo, 125 de potasio, 30 de magnesio, 125 de calcio, 102.5 de azufre, 1.5 de hierro, 0.5 de manganeso, 0.25 de boro, 0.5 de zinc y 0.5 de cobre. El riego por goteo fue programado con base a la evapotranspiración y ajustado conforme a las necesidades de la planta.

3.1.8 Labores culturales

Se realizó monitoreo del cultivo diariamente de cada una de las camas de cultivo, con la finalidad de eliminar maleza (actividad que se realizó manualmente), detectar plantas secas (en este caso se verificó que el gotero no estaba obstruido, presión de riego, y el correcto trasplante de la plántula) y presencia de insectos para proceder, en caso necesario, a la aplicación del producto adecuado, para evitar la proliferación de plagas. A los 22 días después del trasplante se realizó una poda apical en cada una de las plantas con la finalidad de estimular la emisión de brotes laterales.

3.1.9 Cosecha

La cosecha se realizó en la etapa de prefloración a los 71 días después de la siembra y después cada semana. Con tijeras de podar, se realizaron cortes de los brotes laterales con una longitud igual o mayor a 15 cm, se registró por planta, el número de brotes cosechados y con una balanza analítica de precisión se obtuvo el peso en fresco (g), procedimiento que se hizo durante tres semanas, asegurando al menos una cosecha por variedad.

3.1.10 Análisis estadístico

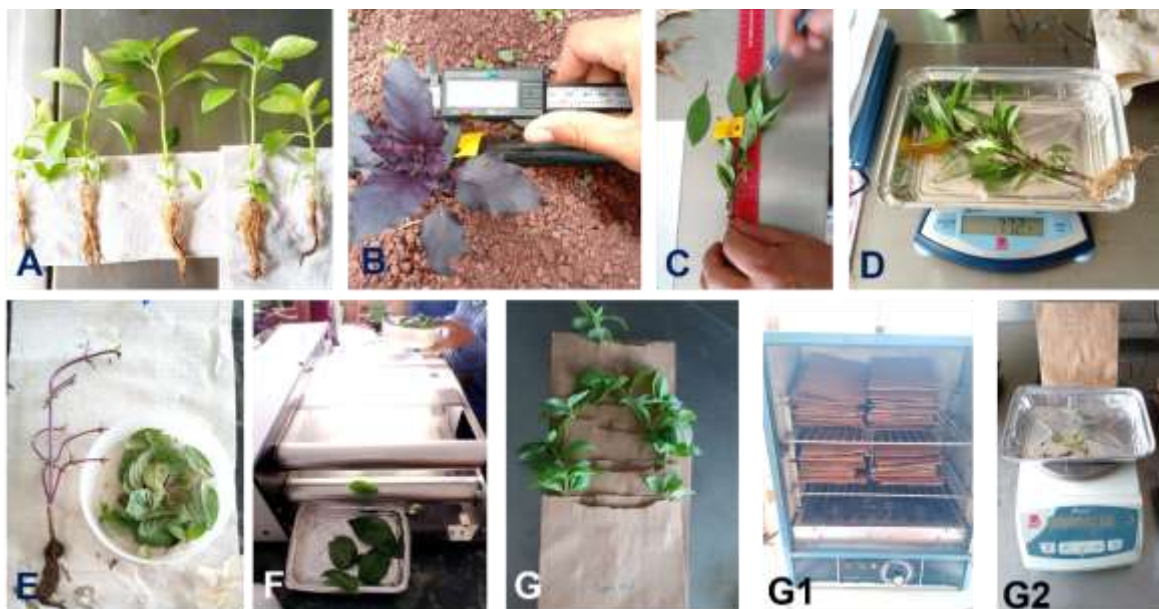
Con el apoyo del software Statistical Analysis System (SAS), se realizó un Análisis de Varianza (ANOVA) con un nivel de significancia del 0.05; para las fuentes de variación que resultaron significativas se procedió a hacer una comparación de medias Tukey y para las variables que resultaron significativas en la interacción

entre densidad y variedad se realizó una comparación de medias entre densidades y variedad.

3.1.11 Metodología del Análisis de Crecimiento

Para el análisis de crecimiento se siguió el método clásico, por lo que se realizaron 3 muestreos destructivos al azar durante el ciclo del cultivo. El primer muestreo se efectuó un día antes del trasplante (37 dds) y el segundo previo a la poda de brotación (57 dds); el tercero se hizo un día antes de la primera cosecha (107 dds). Se utilizó el diseño experimental completamente al azar; se realizaron 3 muestreos por tratamiento y se evaluaron 15 variedades para tener 45 unidades experimentales; en cada muestreo se eligieron al azar 8 plantas por variedad.

En campo se registró diámetro de tallo (mm) con un vernier electrónico y en laboratorio se midió la altura de la planta (cm) con una cinta métrica, desde la base del tallo hasta el ápice (muestreo 1 y 2) o hasta el ápice del brote más largo (muestreo 3), donde además se contabilizó el número de brotes y el número de hojas; el área foliar se determinó con un equipo integrador de área foliar LICOR LI3100; el peso fresco (g) se registró en una balanza analítica y de precisión Pioneer™ de Ohaus; el material vegetal se depositó en bolsas de papel dentro de una estufa de secado durante 48 horas, pasado este tiempo se registró el peso seco (g) en la balanza analítica.



A. Plantas seleccionadas para muestreo. B. registro de diámetro de tallo. C. Medición de altura de la planta. D. Peso fresco. E. Conteo número de hojas F. registro de área foliar. G. Plantas colocadas en bolsas de papel. G1. Plantas colocadas en horno de secado. G2. Registro de peso seco.
 Figura 2. Registro de medidas directas en cada muestreo de Análisis de crecimiento.

Con la información de las variables de área foliar y materia seca se calcularon los siguientes índices de crecimiento: Tasa de Asimilación Neta (TAN), las Tasas Relativas de Crecimiento (TRC) y la Tasa Absoluta de Crecimiento (TAC).

Para el análisis estadístico se utilizó el software Statistical Analysis System (SAS) mediante el cual se realizó un Análisis de Varianza (ANOVA) con un nivel de significancia del 0.05; para las fuentes de variación que resultaron significativas se procedió a hacer una comparación de medias Tukey.

3.2 Resultados y Discusión de rendimiento

En función del conjunto de datos obtenidos por medio de un datalogger se determinó que las condiciones de temperatura fueron adecuadas para el desarrollo de las plantas de albahaca (Figura 3), ya que en la literatura se menciona que se desarrolla bien con temperaturas entre 24-30 °C durante el día y 16-20 °C durante la noche (Matus & Venegas, 2015).

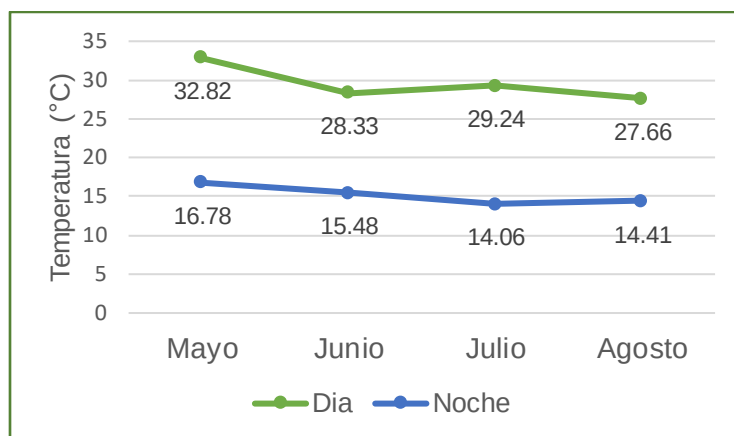


Figura 3. Temperatura media de día y noche durante el proceso de producción de albahaca.

La planta de albahaca requiere una HR de 60 a 70 % (CCI, 2007), lo cual se cumplió durante el día, sin embargo, los porcentajes rebasaron los límites óptimos de HR durante la noche (Figura 4). Cabe mencionar que los meses en los que se llevó a cabo el experimento fueron muy lluviosos debido a la época de huracanes, por lo que la alta HR ocasionó daños de mildiu (*Peronospora sparsa*) en algunas variedades, lo cual retrasó el desarrollo del cultivo.

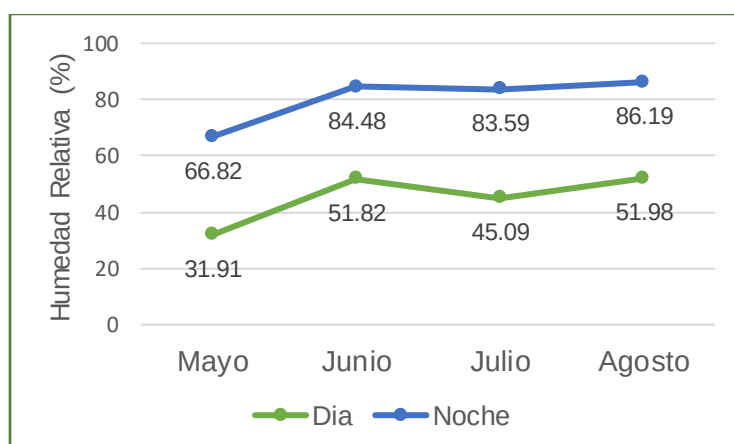


Figura 4. Humedad Relativa promedio de día y noche durante el proceso de producción de albahaca.

Con base en el análisis de varianza (Cuadro 4), no hubo efecto significativo de los bloques sobre las variables respuesta, excepto para el número de brotes en el corte 1, donde el efecto fue significativo ($P \leq 0.05$). Con base a lo anterior se asume que la distribución fue homogénea, no existió efecto del acomodo de las parcelas de las

variedades de albahaca sobre el número de brotes y el rendimiento del cultivo, con lo cual se puede considerar que las condiciones de temperatura y humedad relativa fueron adecuadas, lo que permitió el crecimiento y desarrollo similar de las plantas.

La densidad no tuvo efecto significativo sobre ninguna variable, por lo que se puede determinar que el rendimiento fue estadísticamente el mismo ($P \leq 0.05$) en las tres densidades empleadas (9, 12 o 15 plantas por parcela). Lo anterior indica que las altas densidades, manejadas bajo un sistema hidropónico, podrían generar altos rendimientos en el cultivo de albahaca.

La variedad tuvo efecto significativo en todas las variables respuesta ($P \leq 0.01$), por lo que al menos una variedad registró mayor o menor número de brotes cosechados, al igual que mayor o menor rendimiento a lo largo de los tres cortes realizados (Cuadro 4). Dicho efecto puede deberse a la morfología y variabilidad genética de cada variedad, lo cual se observó primeramente en los fenotipos, es decir, cada variedad tiene características diferentes tales como el tamaño de la hoja, la altura, entre otros. Por otro lado, cada genotipo, mostró diferencias en el desarrollo y crecimiento.

En ese sentido, Huito (2016) evaluó dos variedades de albahaca (Nufar e Italian) bajo tres dosis de biofertilizante foliar, analizó el rendimiento en fresco y obtuvo resultados significativos entre variedades, lo cual atribuyó a diferencias en su carácter genético, lo que hace que sus rendimientos no sean semejantes, al igual que su fisiología y comportamiento en la parcela experimental.

La interacción entre densidad y variedad (Cuadro 4), mostró efecto sobre las variables número de brotes 2 y 3 y en el rendimiento total ($P \leq 0.01$). Mientras que en las variables número de brotes totales (BT), rendimiento de los cortes 1 y 3 hubo efecto significativo ($P \leq 0.05$). Esta interacción significativa entre densidad y variedad fue causa de la variabilidad genética, ya que se observaron variedades más precoces que otras, mientras que algunas ya contaban con brotes aptos para cosecha, otras variedades apenas iniciaban con la emisión de brotes laterales; o bien, cuando algunas variedades generaban crecimiento de brotes laterales cada

semana, otras desarrollaron para un solo corte y la emisión de brotes laterales sería más prolongado.

Cuadro 4 Cuadrados medios del análisis de varianza para variables de rendimiento de 14 variedades de albahaca (*Ocimum basilicum* L.).

FV	GL	B1	B2	B3	BT	R1	R2	R3	RT
Blo	3	52.0*	23.89	6.07	6.2	1139.63	4632	843.8	2409.6
Den	2	2.7	0.02	9.26	9.0	230.76	231	422.8	1314.6
Error A	6	10.4	11.73	4.56	11.6	446.81	1452	477.7	2058.6
Var	13	79.8**	11.27**	9.70**	102.7**	2582.41**	1261**	1208.5**	3441.2**
Var*Den	26	2.2	3.91**	4.65**	3.5*	179.91*	219	227.5*	392.5**
Error B	1149	2.2	1.99	1.74	2.2	106.86	183	131.4	179.3
Total	1199								
CV		111.9	85.83	128.55	36.7	128.73	95.2	130.3	43.1

FV: fuente de variación; Blo: bloque; Den: densidad; Var: variedad; CV: coeficiente de variación; GL: grados de libertad; B1: número de brotes cortados en la primera cosecha; B2: número de brotes cortados en la segunda cosecha; B3: número de brotes cortados en la tercera cosecha BT: número total de brotes; rendimiento del corte 1; R2: rendimiento del corte 2; R1: rendimiento del corte 3; RT: rendimiento total. **: altamente significativo con $P \leq 0.01$ *: significativo con $P \leq 0.05$

En la comparación de medias (Cuadro 5) el número de brotes por planta del primer corte (B1), las variedades Lime y Blue Spicy registraron los valores más altos con una media de 2.7; se observó que fenológicamente ya estaban listas para el corte, además, fueron de las variedades que mostraron un desarrollo óptimo bajo el sistema hidropónico empleado, aunque no fueron diferentes de las variedades Morada y Licorice ($P \leq 0.05$). Por otro lado, la variedad Mammoth registró el menor número de brotes en el primer corte, ya que las plantas aún estaban muy pequeñas y sin brotes para cosechar.

El número de brotes por planta del segundo corte (B2), la variedad Thai mostró los valores más altos (media de 2.3), aunque no fue estadísticamente diferente de las variedades Siam Queen, Limón, Lime, Blue Spicy, Red Velvet y Dark Opal; mientras que la variedad Sweet Basil registró el valor más bajo, al no emitir más de 1.07 brotes por planta, en promedio. Además, la mayoría de las plantas estaban en un estado crítico, pues fueron afectadas por mildiu lo cual retrasó la cosecha.

En el número de brotes por planta del tercer corte (B3), las variedades Siam Queen y Limón, fueron las que mostraron los valores más altos con medias de 1.5 y 1.6,

aunque fueron similares ($P \leq 0.05$) a las variedades Thai, Dark opal, Red Velvet Leaf, Lettuce, Lime, Mammoth, Blue Spicy, Sweet Basil y Licorice, ya que en este corte la mayoría de las plantas ya estaban en la etapa de prefloración, es decir, con brotes laterales adecuados para el corte; además, las variedades que habían sido cosechadas en la primera semana, ya tenían brotes listos para otro corte. Por otro lado, la variedad Italia fue la que registró los valores más bajos en este corte (0.5 brotes por planta).

En el número de brotes totales (BT) por planta, las variedades Lime y Blue Spicy registraron los valores más altos, con una media de 5.6 brotes; en estas variedades se observó un crecimiento acelerado de brotes laterales cada semana, con lo que garantizaron al menos dos cortes. En otro grupo, las variedades Thai y Limón mostraron valores significativos, aunque éstos no fueron estadísticamente diferentes de Licorice, Siam Queen, Dark Opal, Red Velvet Leaf y Morada. Los valores más bajos se registraron en Sweet Basil, Lettuce y Mammoth, plantas con retraso de desarrollo y escasa área foliar debido a la infección de mildiu durante las primeras semanas posteriores al trasplante.

El rendimiento por planta del primer corte (R1), las variedades Blue Spicy y Morada mostraron los valores más altos con 15.48 y 14.66 g, respectivamente, aunque no fueron diferentes ($P \leq 0.05$) de las variedades Lime, Canela y Licorice, aunque son morfológicamente diferentes, las características de los brotes fueron similares (longitud y tamaño de hoja) en dichas variedades. La variedad Mammoth no emitió brotes, por lo que su rendimiento fue cero en esta etapa.

Para el segundo corte (R2), la variedad Lettuce registró el mayor rendimiento, aunque estadísticamente no fue diferente de hojas grandes de Italia, Mammoth y Canela; estas variedades (excepto Canela) tienen las hojas más grandes, por lo que la media del rendimiento fue 19.5 a 22.6 g en los brotes generados (1 a 3 brotes). Briseño et al. (2013), reportaron que cada planta de albahaca produce en promedio 360 g de peso fresco durante su ciclo de producción, el cual va de 12 a 16 semanas, es decir, 22.5 a 30 g por semana, por lo que los datos registrados se encuentran

dentro del rango óptimo de rendimiento. En contraparte, la variedad Limón fue la que registró menor rendimiento y número de brotes en este corte.

En el rendimiento por planta del tercer corte (R3) la variedad Lettuce nuevamente registró el mayor valor, con una media de 17.13 g, aunque estadísticamente no fue diferente de Sweet Basil, Mammoth y Siam Queen. Por otro lado, las variedades que mostraron los valores más bajos en rendimiento fueron Dark Opal, Morada, Limón, Thai, Red Velvet Leaf y Lime, estos a causa de que la mayor parte de brotes de estas variedades fueron cortados durante la semana 1 y 2, por lo que en la semana 3 los brotes seguían en crecimiento.

En el rendimiento total por planta (RT), la variedad Lettuce fue la que registró el mayor rendimiento (41.71 g) a lo largo de las 3 semanas de cosecha, aunque fue estadísticamente igual a las variedades Blue Spicy, Canela, Italia y Sweet Basil. Por otro lado, la variedad Limón tuvo el menor rendimiento total (17.40 g), debido a que fenotípicamente es una variedad con tallos delgados, baja altura y hojas pequeñas. Tal como lo reportó Fernández (2001), las variedades fino verde (por las características, es una variedad similar a Thai, ya que sus hojas son pequeñas) y gran verde (por sus características de hoja ancha, sería una variedad similar a Sweet Basil) presentaron los valores de rendimiento más bajos, y la variedad hoja de lechuga el rendimiento más alto, similar físicamente a la variedad Lettuce.

Cuadro 5. Comparación de medias Tukey de las variables número de brotes y rendimiento (por corte y total) del cultivo de albahaca bajo invernadero e hidroponía.

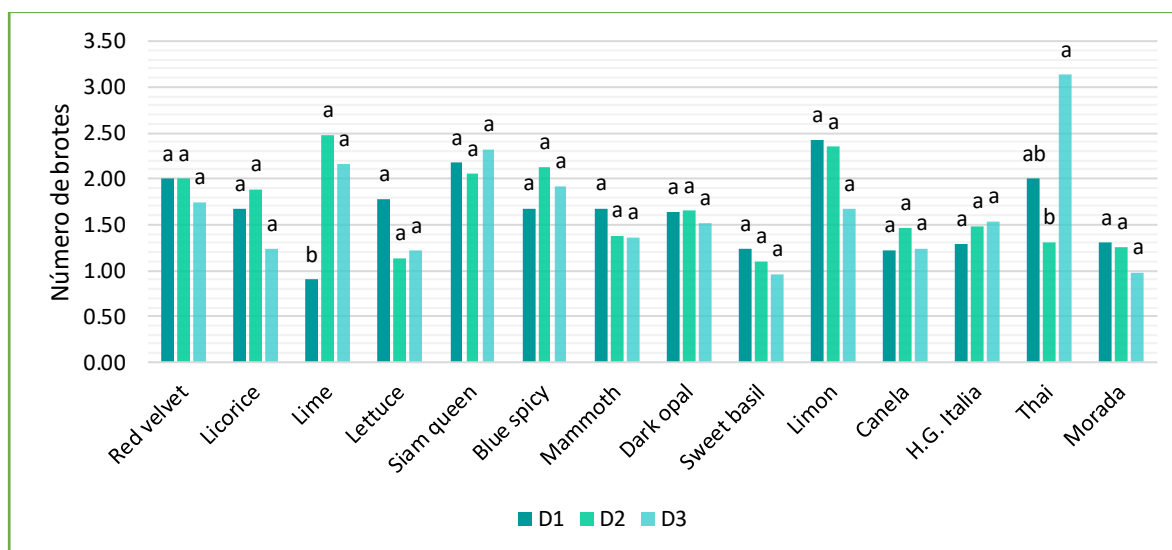
	B1	B2	B3	BT	R1	R2	R3	RT
Red Velvet	0.94 def	1.88 abcd	1.18 abc	4.00 bc	4.86 def	10.82 cd	4.97 c	20.65 ef
Licorice	1.88 abc	1.53 abcd	0.92 abc	4.34 bc	11.12 abc	12.18 bcd	8.71 bc	32.00 bc
Lime	2.73 a	1.95 abc	1.03 abc	5.78 a	13.13 ab	11.27 cd	4.93 c	29.36 bcd
Lettuce	0.13 fg	1.35 cd	1.09 abc	2.57 e	1.97 ef	22.61 a	17.14 a	41.72 a
Siam Queen	0.37 efg	2.19 ab	1.67 a	4.21 bc	1.73 ef	14.37 acd	11.51 abc	27.49 cde
Blue Spicy	2.73 a	1.92 abc	0.99 abc	5.61 a	15.49 a	13.74 bcd	7.15 bc	36.37 ab
Mammoth	0.00 g	1.46 bcd	1.02 abc	2.48 e	0.00 f	16.60 abc	13.26 ab	29.86 bcd
Dark Opal	1.28 cd	1.59 abcd	1.19 abc	4.06 bc	5.73 cdef	10.56 cd	6.13 c	22.41 def
Sweet Basil	0.72 defg	1.07 d	0.94 abc	2.74 e	6.40 cde	14.62 bcd	13.48 ab	34.88 abc
Limón	0.86 defg	2.18 ab	1.59 a	4.55 b	3.37 def	8.40 d	5.57 c	17.40 f
Canela	1.59 bcd	1.31 cd	0.74 bc	3.64 cd	11.70 abc	16.02 abcd	7.77 bc	35.48 ab
H.G. Italia	0.97 def	1.43 bcd	0.50 c	2.90 de	8.35 bcd	19.54 ab	7.01 bc	34.90 abc
Thai	1.08 cde	2.31 a	1.29 ab	4.67 b	5.67 cdef	10.67 cd	5.46 c	20.17 ef
Morada	2.18 ab	1.14 cd	0.56 bc	3.88 bc	14.66 a	11.34 cd	6.03 c	32.59 bc
DMSH	0.88	0.83	0.77	0.86	6.04	7.91	6.70	7.83

B1: número de brotes cosechados en la semana 1; B2: número de brotes cosechados en la semana 2; B3: número de brotes cosechados en la semana 3; BT: número de brotes totales por planta cosechados durante la semana 1, 2 y 3; R1: rendimiento (g) de brotes por planta cosechados en la semana 1; R2: rendimiento (g) de brotes por planta cosechados en la semana 2; R3: rendimiento (g) de brotes por planta cosechados en la semana 3; RT: rendimiento total (g) de brotes por planta cosechados en la semana 1, 2 y 3.

Como resultado del análisis de varianza (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**), la interacción entre densidad y variedad resultó con efecto significativo en algunas de las variables de número de brotes y rendimiento, por lo que se procedió a detallar los resultados por medio de gráficas. Cabe aclarar que la comparación de medias es para las 3 densidades de cada una de las variedades, no entre variedades.

El número de brotes cosechados durante la semana 2 fue similar en todas las variedades, con excepción de las variedades Lime y Thai que registraron los valores más bajos en la D1 y D2 respectivamente. (d1: 9 plantas·m²; d2:12 plantas·m²; d3: 15 plantas·m²; *medias con letras iguales en las variedades no son estadísticamente diferentes (tukey, p≤ 0.05).

figura 5).



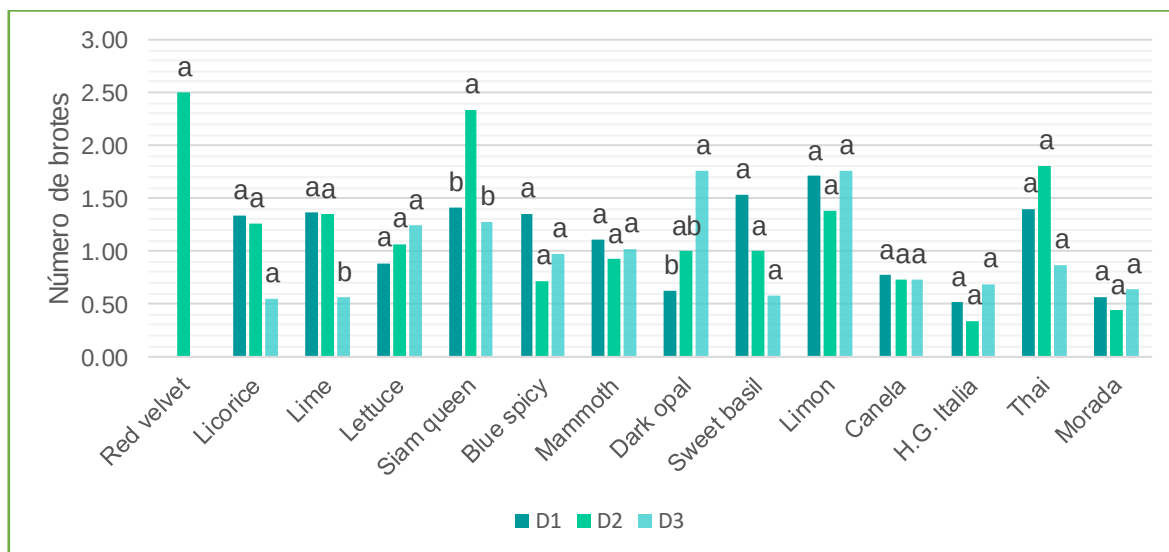
D1: 9 plantas·m²; D2:12 plantas·m²; D3: 15 plantas·m²; *Medias con letras iguales en las variedades no son estadísticamente diferentes (Tukey, P≤ 0.05).

Figura 5. Comparación de medias de la variable número de brotes, cosechados durante el segundo corte, en tres densidades.

El número de brotes en la tercera semana fue significativo, se observó que las variedades Dark Opal y Lime presentaron el valor más bajo en D1 y D3, respectivamente con relación al resto de las variedades evaluadas; la variedad Siam Queen presentó el valor más alto en la D2 (d1: 9 plantas·m²; d2:12 plantas·m²; d3: 15 plantas·m²; *medias con letras iguales en las variedades no son estadísticamente diferentes (tukey, p ≤ 0.05).

figura 6). Cabe mencionar que la variedad Red Velvet fue afectada por mildiu y el crecimiento de nuevos brotes después del primer y segundo corte fue lento por lo

que no se registró número de brotes en las parcelas con 9 y 15 plantas (D1 y D3, respectivamente) durante el tercer corte.

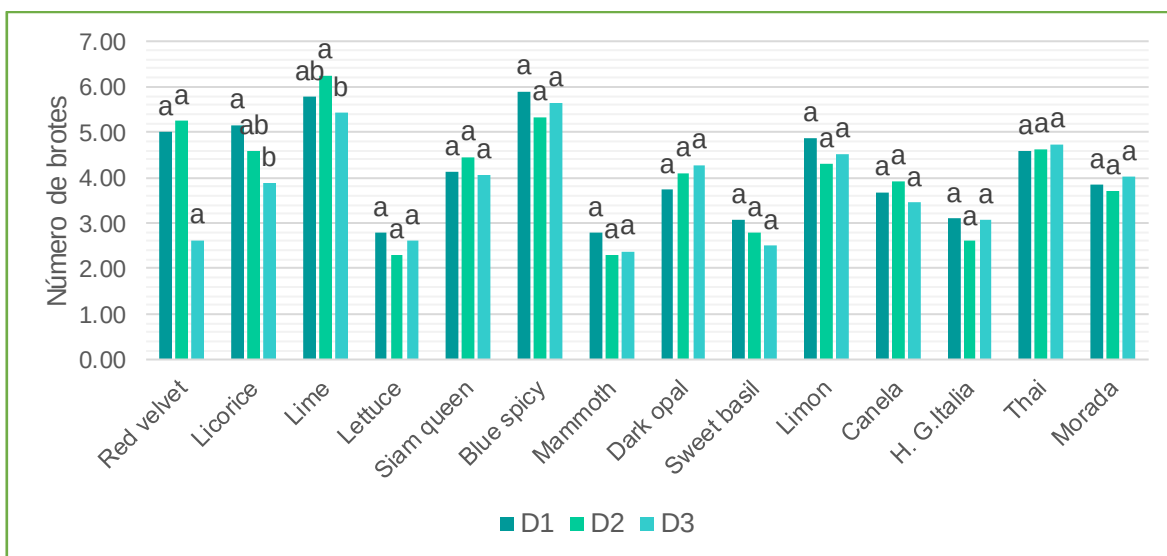


D1: 9 plantas·m²; D2:12 plantas·m²; D3: 15 plantas·m²; *Medias con letras iguales en las variedades no son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$).

Figura 6. Comparación de medias de la variable número de brotes, cosechados durante el tercer corte, en tres densidades.

El número de brotes totales cosechados por planta fue significativo, se observó que Licorice mostró mayor número de brotes en D1 aunque este valor no es diferente de la D2; Lime registró mayor número de brotes en la D2 aunque este valor no es diferente de la D1. En ambas variedades se observó el menor número de brotes en la D3 (d1: 9 plantas·m²; d2:12 plantas·m²; d3: 15 plantas·m²; *medias con letras iguales en las variedades no son estadísticamente diferentes (tukey, $p \leq 0.05$).

figura 7). Aunque las variedades Red Velvet y Blue Spicy no mostraron diferencia es importante resaltar que registraron alto número de brotes cosechados (de 5 a 6) al menos en una de las densidades evaluadas.

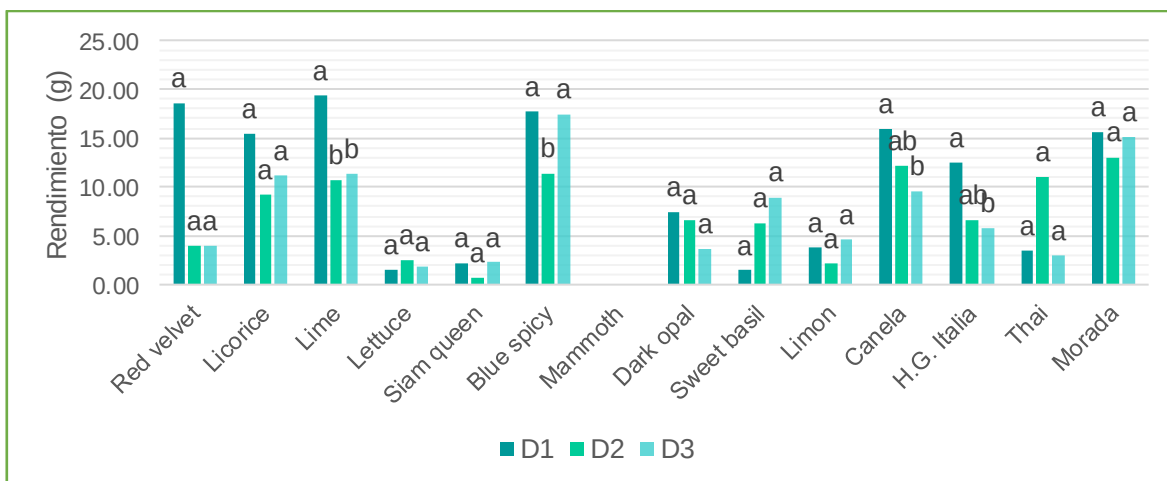


D1: 9 plantas·m²; D2:12 plantas·m²; D3: 15 plantas·m²; *Medias con letras iguales en las variedades no son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$).

Figura 7. Comparación de medias para la variable de número total de brotes cosechados durante los cortes 1, 2 y 3, en tres densidades.

Para el primer corte se observó que las variedades Lime, Blue Spicy, Canela e Italia obtuvieron el mayor rendimiento en la D1. Lime y Blue Spicy mostraron el menor rendimiento en la D2, mientras que Canela e Italia lo registraron en la D3 (D1: 9 plantas·m²; D2:12 plantas·m²; D3: 15 plantas·m²; *Medias con letras iguales en las variedades no son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$).

Figura 8). Cabe mencionar que Mammoth fue de las variedades afectada por mildiu y además es una planta de porte bajo, por lo que fue la única variedad que aun no desarrollaba brotes para cosecha.

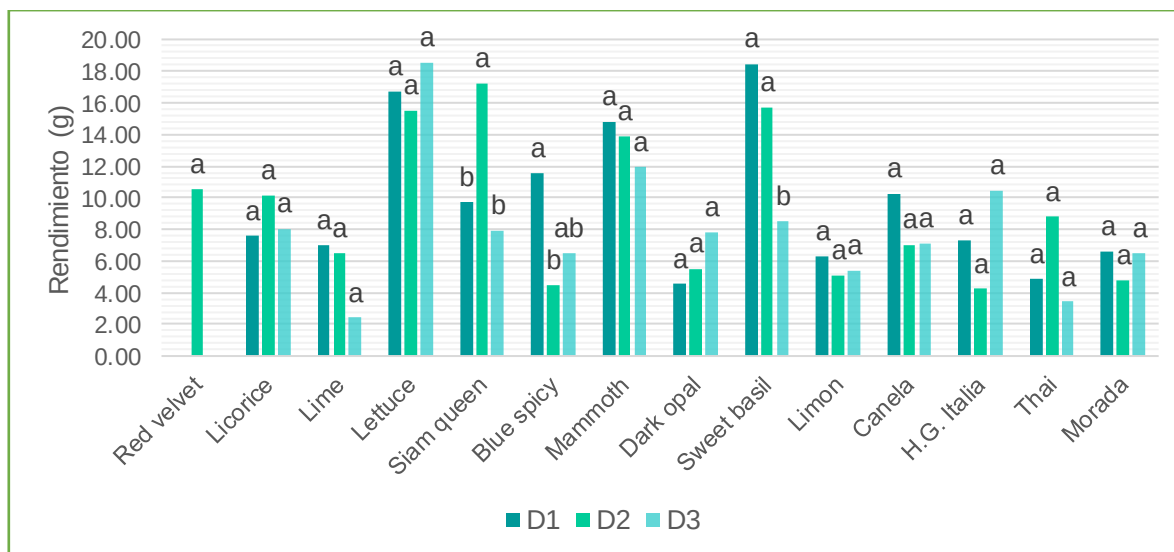


D1: 9 plantas·m²; D2:12 plantas·m²; D3: 15 plantas·m²; *Medias con letras iguales en las variedades no son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$).

Figura 8. Comparación de medias para el rendimiento obtenido durante el primer corte en 3 densidades.

Durante el tercer corte, el rendimiento significativo se registró en la variedad Siam Queen que mostró altos valores en la D2, Blue Spicy registró valores altos con la D1 y valores bajos con la D2, mientras que Sweet Basil tuvo valores bajos en la densidad 3 (D1: 9 plantas·m²; D2:12 plantas·m²; D3: 15 plantas·m²; *Medias con letras iguales en las variedades no son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$).

Figura 9). En la variedad Red Velvet, los brotes de las plantas en D1 y D3 aun no contaban con la longitud para corte, por lo que no se cosecharon.



D1: 9 plantas·m²; D2:12 plantas·m²; D3: 15 plantas·m²; *Medias con letras iguales en las variedades no son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$).

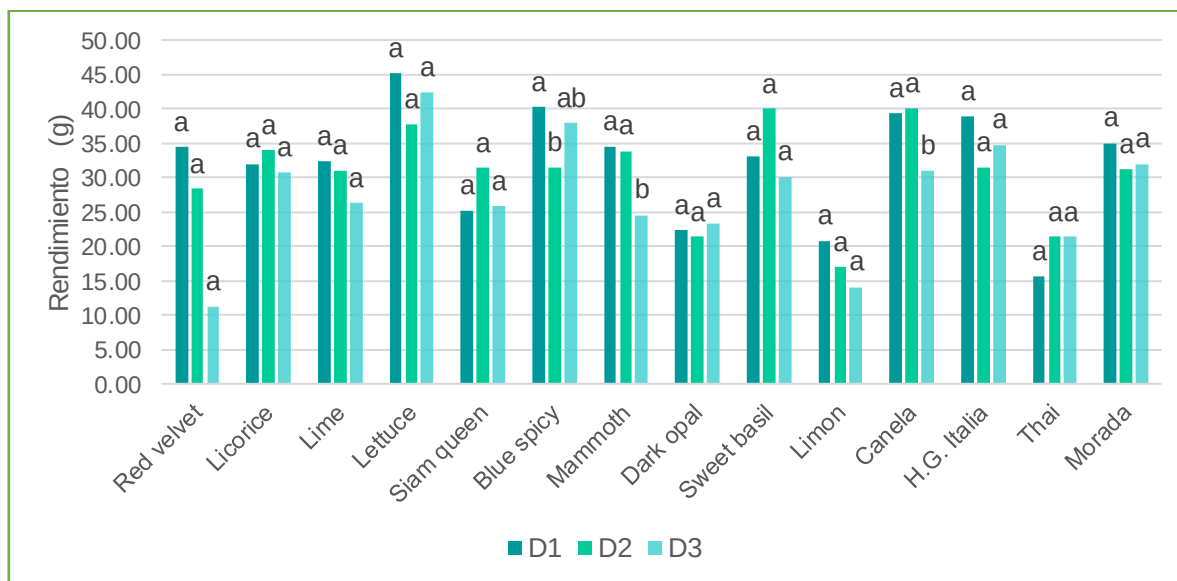
Figura 9. Comparación de medias para el rendimiento obtenido durante el tercer corte en las 3 densidades.

Para el rendimiento total por planta la variedad Blue Spicy tuvo efecto significativo en la D1 en la que registró el valor más alto, mientras que Mammoth y Canela lo registraron en la D1 y D2 respectivamente; en ambas variedades se observó el valor más bajo en la D3 tal como se observa en la D1: 9 plantas·m²; D2:12 plantas·m²; D3: 15 plantas·m²; *Medias con letras iguales en las variedades no son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$).

Figura 10. El resto de las variedades, aunque muestran una variación de valores entre densidades y variedades, estadísticamente no son diferentes.

Cabe mencionar que en la D1: 9 plantas·m²; D2:12 plantas·m²; D3: 15 plantas·m²; *Medias con letras iguales en las variedades no son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$).

Figura 10 se observa la densidad en la que hubo mayor rendimiento por variedad, siendo que en 8 variedades se registró mayor rendimiento en la D1 (Red Velvet, Lime, Lettuce, Blue Spicy, Mammoth, Limón, Italia y Morada). En la D2 se obtuvo mayor rendimiento en 4 variedades (Licorice, Siam Queen, Sweet Basil y Canela) y en la D3 se obtuvo mayor rendimiento en Thai y Dark Opal. Además, es importante resaltar que Lettuce, aunque fue afectada por mildiú, fue la variedad con mayor rendimiento total por planta.



D1: 9 plantas·m²; D2:12 plantas·m²; D3: 15 plantas·m²; *Medias con letras iguales en las variedades no son estadísticamente diferentes (Tukey, P ≤ 0.05).

Figura 10. Comparación de medias para el rendimiento total obtenido durante la cosecha 1, 2 y 3 en las 3 densidades diferentes.

Con base en lo anterior se identificaron siete variedades (Lime, Licorice, Canela, Italia, Siam Queen, Sweet Basil y Mammoth) que registraron valores significativamente bajos al menos en una de las variables medidas en la D3 (15 plantas·parcela⁻¹), lo cual puede deberse a que no hubo suficiente espacio para su desarrollo individual y mayor competencia por luz, aire, agua y nutrientes, por lo que produjeron menos follaje y disminuyeron su productividad. Es importante espaciar las plantas siguiendo patrones establecidos o proveer más nutrientes, más luz y más circulación de aire para cada planta, estas características se pueden obtener en un cultivo hidropónico bajo invernadero (Acosta, 2003).

Los resultados obtenidos en este experimento difieren con Guerrero (2008) quien realizó un experimento en Montecillo, Estado de México, en el que realizó el cultivo intensivo de aromáticas en sistema hidropónico e incluyó la albahaca manejada con 2 soluciones nutritivas y 3 densidades (14, 28 y 71 plantas m^{-2}) variando la distancia entre plantas a 20, 15 y 10 cm, respectivamente. Observó que el mayor peso fresco de la parte aérea de la planta se obtuvo con la densidad de 14 plantas m^{-2} con una media de 350 g por planta y los valores más bajos se registraron en la densidad de 71 plantas m^{-2} , con media de 160 g por planta; en contraste con este experimento, se registró el peso de los brotes cosechados semanalmente y no toda la parte aérea de la planta por lo que las media más alta considerando el rendimiento total corresponde a la variedad Lettuce, con una media de 45.13 g en la D1 (9 plantas parcela⁻¹).

En Italia, Raimondi et al. (2006) evaluaron el rendimiento de dos cultivares de albahaca (Napoletano y Genovese) en dos densidades: 66 y 100 plantas $\cdot \text{m}^{-2}$. El manejo fue hidropónico en balsa flotante, y los resultados de rendimiento de hoja fresca registraron una media de 28.4 g para la Napoletano y de 21.8 g para Genovese. La variedad Lettuce tiene características de forma y tamaño de hoja similar a la var. Napoletano, sin embargo, los datos difieren, ya que en este experimento en el R3 es donde se registró el mayor acercamiento a los resultados obtenidos por Raimondi, con una media de 18.51 g planta. Mientras que el en RT se registró la media más alta en la D1 con 45.13 g en Lettuce. Por otro lado, la variedad Genovese, podría ser morfológicamente similar a las variedades Sweet Basil e Italia; El rendimiento registrado en el tercer corte (R3) en la D1 para la variedad Sweet Basil fue 18.47 g dato cercano a lo reportado por Raimondi et al. (2006); mientras que en el RT Sweet Basil e Italia rebasaron la media de 21.8 reportada por Raimondi et al. (2006) con 39.94 g en Sweet Basil en D2 y 38.87 g en la variedad Italia en D1.

En la Universidad de Colorado, California, Succop y Newman (2004) condujeron un experimento con albahaca Siam Queen bajo invernadero, en el cual evaluaron el rendimiento de tres medios (sustratos) de sistemas de producción hidropónica (lana, de roca, perlita y turba) y dos fórmulas de fertilizantes (mezcla de fertilizantes

orgánicos y fertilizante convencional), cada unidad experimental se conformó por 12 plantas, las cuales estaban distanciadas a 22.9 cm entre hileras y 22.9 cm entre plantas. La cosecha se realizó semanalmente con el corte de los brotes que tenían una longitud de 5 a 10 cm y se registró el peso fresco, la cosecha se realizó desde el 31 de marzo hasta el 28 de julio. Los resultados expuestos por Succop y Newman son similares e incluso menores a los reportados en este experimento, ya que el rendimiento obtenido durante las primeras 3 semanas de cosecha aunque va en aumento cada semana, es menor a 10 g por planta, lo cual es confirmado en este experimento, ya que Siam Queen registró 0.67 a 2.28 g por planta durante el R1, sin embargo, en el tercer corte (R3) en la D2 (12 plantas m²) se registró una media de rendimiento de 17.19 g por planta lo cual es un rendimiento superior al que registraron Succop y Newman (2004), esta diferencia podría estar basada en la longitud del corte y el número de brotes cosechados.

Cansing y Santillan (2002) evaluaron el rendimiento de cuatro densidades (2 y 3 hileras y a 20 cm y 30 cm entre planta) y dos formas de aplicación de fertilizante (a granel y disuelta en agua) de la albahaca Genovese, la cual es una variedad con características similares a las variedades Sweet Basil e Italia, por lo que se podrían contrastar los resultados obtenidos en este experimento; la cosecha la realizaron de manera semanal y los resultados obtenidos con mayor rendimiento se registró en la semana 1 en el tratamiento a dos hileras con una distancia de 20 cm entre plantas con 45.6 g por planta, en la cosecha 2 y 3 el mayor rendimiento fue de 35.3 y 35.6 g por planta respectivamente, ambos en el tratamiento de dos hileras y 30 cm entre plantas; los rendimientos registrados son mayores a los reportados en este experimento, ya que el mayor rendimiento de la variedad Sweet Basil se observó en R3 en la D1 con una media de 18.41 g por planta y el mayor rendimiento de la variedad Italia se registró en el R3 en la D3 con una media de 10.44 g por planta.

Como se ha mencionado, la variabilidad genética es responsable en gran parte de los resultados obtenidos entre las variedades, estas diferencias en la producción de biomasa fresca son un reflejo de diferentes estrategias fisiológicas de adaptación al ambiente de cada cultivar. La adaptación de plantas a los cambios ambientales requiere respuestas con ajustes fisiológicos, tales respuestas pueden variar debido

a información intrínseca o extrínseca de las plantas (Albrizio & Steduto, 2005). Aunque la respuesta de las plantas a una determinada condición ambiental puede desarrollar mecanismos diferentes aun perteneciendo al mismo género y especie (Barbieri et al., 2012).

3.3 Resultados y Discusión de Análisis de Crecimiento

De acuerdo con el análisis de varianza, el análisis de crecimiento de los tres muestreos realizados (Cuadro 6, 7 y 8) hubo efecto significativo de las variedades sobre las variables respuesta ($P \leq 0.05$).

Cuadro 6. Cuadrados medios del análisis de varianza para variables de análisis de crecimiento (muestreo 1) de 15 variedades de albahaca (*Ocimum basilicum* L.)

FV	GL	ALT1	DT1	NH1	PF1	AF1	PS1
VAR	14	20.61 **	0.996 **	37.70 **	1.956 **	494.83 **	0.049 **
ERROR	105	2.46	0.116	5.39	0.244	68.68	0.015
TOTAL	119						
CV		25.43	18.51	29.03	30.41	31.35	74.21

FV: fuente de variación; Var: variedad; CV: coeficiente de variación; GL: grados de libertad; ALT: altura de la planta; DT: diámetro de tallo; NH: número de hojas; PF: peso fresco; AF: área foliar; PS: peso seco; NB: número de brotes. **: significativo con $P \leq 0.01$ *: significativo con $P \leq 0.05$

Cuadro 7. Cuadrados medios del análisis de varianza para variables de análisis de crecimiento (muestreo 2) de 15 variedades de albahaca (*Ocimum basilicum* L.).

FV	GL	ALT2	DT2	NH2	PF2	AF2	PS2
VAR	14	197.568 **	3.57 **	1736.4 **	186.9 **	27736.189 **	1.72 **
ERROR	103	12.2746	0.16	104.3	23.26	4267.3544	0.27
TOTAL	117						
CV		16.80	13.68	29.19	35.23	35.19	37.87

FV: fuente de variación; Var: variedad; CV: coeficiente de variación; GL: grados de libertad; ALT: altura de la planta; DT: diámetro de tallo; NH: número de hojas; PF: peso fresco; AF: área foliar; PS: peso seco; NB: número de brotes. **: significativo con $P \leq 0.01$ *: significativo con $P \leq 0.05$

La interacción entre densidad y variedad no mostró efecto sobre las variables, como se explicó anteriormente, esta interacción significativa entre densidad y variedad fue causa de la variabilidad genética, ya que se observaron variedades más precoces que otras, mientras algunas variedades ya contaban con brotes aptos para corte, otras variedades apenas iniciaban con la emisión de brotes laterales.

Cuadro 8. Cuadrados medios del análisis de varianza para variables de análisis de crecimiento (muestreo 3) de 15 variedades de albahaca (*Ocimum basilicum* L.).

FV	GL	ALT3	DT3	NH3	PF3	AF3	PS3
----	----	------	-----	-----	-----	-----	-----

Var	14	365.688	**	8.13	**	28511	**	1624	**	322731.04	**	27.89	**
Den	2	53.5484		0.17		143.85		113.7		9002.372		0.35	
Var*Den	27	28.3823		0.57		1514.6		144		42216.488		3.66	
Error	67	22.7076											
Total	110												
CV		14.30		13.67		32.32		29.42		31.58		34.72	

FV: fuente de variación; Var: variedad; Den: densidad; CV: coeficiente de variación; GL: grados de libertad; ALT: altura de la planta; DT: diámetro de tallo; NH: número de hojas; PF: peso fresco; AF: área foliar; PS: peso seco; **: significativo con $P \leq 0.01$ *: significativo con $P \leq 0.05$

En la variable de altura de planta, en general, todas las variedades mostraron un crecimiento exponencial en cada muestreo (Cuadro 9) hubo variación de altura en cada variedad debido a las diferencias morfológicas que presenta cada fenotipo.

Cuadro 9. Comparación de medias de la variable de altura de planta en 14 variedades de albahaca a los 37, 57 y 107 dds en Chapingo, México.

Variedad	ALT1 (cm)	ALT2 (cm)	ALT3 (cm)
Red Velvet	5.30 bcde	18.25 def	30.3 cd
Licorice	6.51 abcd	24.28 abcd	40.8 ab
Lime	8.16 a	28.63 a	40.6 ab
Lettuce	8.44 a	23.15 abcde	40.6 ab
Siam Queen	7.16 abc	15.15 fgh	29.5 d
Blue Spicy	7.95 ab	19.65 cdef	39.1 abc
Mammoth	3.93 de	11.85 gh	18.9 e
Dark Opal	7.81 ab	22.91 abcde	32.3 bcd
Sweet Basil	4.89 cde	24.14 abcd	30.9 cd
Spice Globe	3.63 e	11.59 h	18.5 e
Limón	5.36 bcde	17.79 efg	33.1 abcd
Canela	6.89 abc	25.81 ab	37.9 abcd
Hojas Grandes de Italia	4.69 cde	21.66 bcde	34.8 abcd
Thai	4.80 cde	21.75 bcde	29.0 d
Morada	7.08 abc	25.74 abc	41.6 a
DMSH	2.73	6.15	9.0

ALT1: Altura de planta del primer muestreo (37 dds). ALT2: Altura de planta del segundo muestreo (57 dds). ALT3: Altura de planta del tercer muestreo (107 dds); *Medias con letras iguales en las columnas no son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.01$).

Para algunas variedades los resultados obtenidos fueron un poco mayores a los reportados por Yépez et al. (2016) en un estudio realizado en Montecillo, Estado de México, en el que evaluaron 6 concentraciones de nitrógeno en el crecimiento y respuestas fisiológicas de albahaca, los datos que obtuvo de altura de planta a los 150 días después de la siembra (120 días después de la aplicación de tratamientos) oscilaron entre 22.7 y 36 cm, mientras que en este experimento a los 107 días

después de la siembra en las variedades Lettuce e Italia se registraron alturas de 34.8 a 40.6 cm. Cabe resaltar que en el presente experimento para el tercer muestreo (ALT3) la altura de planta fue medida de la base del tallo al ápice del brote más largo, puesto que las plantas ya habían sido podadas previamente del ápice principal (Cuadro 9).

En contraste, Reyes et al. (2014) evaluaron el desarrollo y crecimiento de 20 variedades de albahaca en condiciones de salinidad, en el testigo (sin aplicación de NaCl), la variable de altura de planta (52 días después del trasplante) registró valores superiores a los de este experimento, tal es el caso de la variedad Dark Opal con 46.62 cm, e Italia con 47.50 cm; en el presente experimento estas variedades registraron una altura de 32.3 y 34.8 cm respectivamente.

Para la variable diámetro de tallo (DT), los datos del primer muestreo fueron similares entre variedades debido a que las plántulas estaban iniciando su crecimiento; en el muestreo 2 (DT2) hubo una notable diferencia en los datos, ya que la variedad Lettuce es la que registró mayor valor con una media de 4.25 cm, aunque este valor no es estadísticamente diferente de los datos que se registraron en las variedades Italia y Mammoth. El valor más bajo se registró en la variedad Limón, esta tendencia se mantuvo en el muestreo 3 (DT3) (Cuadro 10).

Cuadro 10. Comparación de medias de la variable de diámetro de tallo en 14 variedades de albahaca a los 37, 57 y 107 dds en Chapingo, México.

Variedad	DT1 (mm)	DT2 (mm)	DT3 (mm)
Red Velvet	1.40 bcd	2.41 e	3.3 ef
Licorice	1.93 ab	2.71 e	4.8 cd
Lime	1.78 abc	2.79 de	4.5 cde
Lettuce	2.35 a	4.25 a	6.3 a
Siam Queen	1.90 ab	2.89 cde	4.4 cdef
Blue Spicy	1.79 abc	2.71 e	4.3 cdef
Mammoth	2.25 a	3.64 ab	6.3 ab
Dark Opal	1.83 abc	2.71 e	4.0 def
Sweet Basil	1.94 ab	3.48 bcd	5.1 bcd
Spice Globe	1.80 abc	2.43 e	3.3 ef
Limón	1.09 d	1.50 f	3.2 f
Canela	2.28 a	3.53 bc	5.0 cd
Hojas grandes de Italia	1.96 ab	3.64 ab	6.4 a
Thai	1.30 cd	2.61 e	4.2 def
Morada	2.01 a	3.10 bcde	5.4 abc

DMSH	0.59	0.70	1.2
------	------	------	-----

DT1: diámetro de tallo del primer muestreo (37 dds). DT2: diámetro de tallo del segundo muestreo (57 dds). DT3: diámetro de tallo del tercer muestreo (107 dds); *Medias con letras iguales en las columnas no son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.01$).

Los DT registrados de algunas variedades son mayores a los reportados por Huito (2016) ya que al evaluar dos variedades de albahaca con diferentes dosis de biofertilizante obtuvo una media de 0.54 y 0.61 cm en las variedades Italian y Nufar, respectivamente. En este experimento la variedad Italia registró una media de 0.64 cm, las diferencias pueden atribuirse al manejo del cultivo y como lo menciona Huito (2016), al genotipo de cada variedad, siendo que el diámetro de los tallos está influenciado principalmente por la heredabilidad de cada variedad.

En la variable de NH, la variedad Spice Globe, fue la que registró mayores valores en cada uno de los 3 muestreos (NH1, NH2 y NH3), ya que es una variedad de tamaño compacto y con múltiples hojas diminutas (Cuadro 11). La variedad Mammoth registró el valor más bajo en cada uno de los muestreos con una media de 5.4, 13.8 y 25.5 respectivamente, aunque estos valores no son estadísticamente diferentes al resto de las variedades en NH1 o con algunas de ellas en NH2 y NH3.

Cuadro 11. Comparación de medias de la variable de número de hojas en 14 variedades de albahaca a los 37, 57 y 107 dds en Chapingo, México.

Variedad	NH1	NH2	NH3
Red Velvet	7.0 bc	37.0 bc	80.0 def
Licorice	7.3 bc	29.0 bcd	131.8 bcd
Lime	8.4 bc	42.3 b	193.8 b
Lettuce	7.1 bc	20.3 cd	69.1 def
Siam Queen	7.8 bc	38.8 b	108.0 bc
Blue Spicy	8.8 bc	30.5 bcd	172.0 bc
Mammoth	5.4 c	13.8 d	25.5 f
Dark Opal	7.8 bc	38.5 b	89.8 def
Sweet Basil	6.3 c	27.6 bcd	58.1 ef
Spice Globe	14.6 a	78.1 a	265.6 a
Limón	6.8 bc	34.9 bc	131.5 bcd
Canela	10.4 bc	43.3 b	110.9 cde
Hojas grandes de Italia	6.8 bc	19.9 cd	62.3 def
Thai	8.3 bc	32.5 bc	95.8 de
Morada	7.6 bc	38.6 b	124.1 cde
DMSH	4.0	17.7	69.6

NH1: número de hojas del primer muestreo (37dds). NH2: número de hojas del segundo muestreo (57 dds). NH3: número de hojas del tercer muestreo (107 dds); *Medias con letras iguales en las columnas no son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.01$).

Moncayo et al. (2015) realizaron una evaluación de los componentes de producción de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) en la Comarca Lagunera, producida con tres tipos de solución nutritiva orgánica en invernadero teniendo como testigo una solución química. En los resultados de la variable de NH reportaron que el tratamiento de solución química obtuvo el mayor número de hojas con una media de 103, la cual es superior a los valores reportados en el presente experimento en las variedades Lettuce (69.1), Sweet Basil (58.1) e Italia (62.3); cabe resaltar que estas variedades fueron de las más afectadas por mildiu veloso (*Peronospora belbahrii*) por lo que tuvieron una importante pérdida foliar durante el desarrollo y crecimiento, sin embargo, estos valores registrados fueron superiores a los que reportó Yepez et al.,(2016) en la misma variable, con medias de 25 ± 5.5 y 49.7 ± 5.0 .

En el caso del área foliar (AF), para los primeros muestreos (AF1 y AF2), la variedad Mammoth registró el valor más alto con una media de 39.58 (diferente de Licorice, Blue Spicy y Siam Queen) y 282.2 cm^2 (diferente de Licorice, Dark Opal, Blue Spicy, Spice Globe, Limón y Thai) respectivamente; sin embargo, como se muestra en el **¡Error! La autoreferencia al marcador no es válida.**, en el AF3 fueron las variedades Lime y Lettuce las que registraron los valores más altos con medias de 1004.1 y 985.8 cm^2 , respectivamente, aunque estos valores no fueron diferentes de Licorice, Blue Spicy, Canela, Italia y Morada. En contraste, en el AF1 la variedad Spice Globe registró el valor más bajo con una media de 12.46 cm^2 , en el AF2, fue la variedad Limón, con una media de 58.8 cm^2 en el AF3 se registró en la variedad Thai, con una media de 340.1 cm^2 estas diferencias son debido al fenotipo de la planta, ya que morfológicamente hubo mucha variación del tamaño, forma, y número de hojas entre cada una de las variedades.

Cuadro 12. Comparación de medias de la variable área foliar en 14 variedades de albahaca a los 37, 57 y 107 dds en Chapingo, México.

Variedad	AF1 (cm^2)	AF2 (cm^2)	AF3 (cm^2)
Red Velvet	25.59 abc	191.0 abcd	372.4 de
Licorice	24.35 bc	163.3 bcde	815.7 abc

Lime	26.08	abc	218.4	abcd	1004.1	a
Lettuce	32.41	ab	251.7	abc	985.8	a
Siam Queen	25.07	bc	166.8	abcde	487.7	cde
Blue Spicy	24.25	bc	140.9	cde	962.7	ab
Mammoth	39.58	a	282.2	a	533.7	cde
Dark Opal	32.84	ab	161.2	bcde	582.4	bcde
Sweet Basil	35.63	ab	193.3	abcd	577.7	bcde
Spice Globe	12.46	c	112.9	de	584.6	bcde
Limón	15.85	c	58.8	e	381.0	de
Canela	30.49	ab	260.3	ab	745.8	abcd
Hojas grandes de Italia	26.53	abc	212.0	abcd	732.8	abcde
Thai	13.52	ab	127.1	de	340.1	e
Morada	31.85	ab	222.0	abcd	730.3	abcde
DMSH	14.39		116.4		399.6	

AF1: área foliar del primer muestreo (37 dds). AF2: área foliar del segundo muestreo (57 dds). AF3: área foliar del tercer muestreo (107 dds); *Medias con letras iguales en las columnas no son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.01$).

Los datos reportados por Yepez et al. (2016) se registraron en un rango de 335.8 ± 83.1 a $606.9 \pm 89.9 \text{ cm}^2$, los cuales, por las características morfológicas de la variedad que evaluó (hoja grande) podrían contrastarse con las variedades Lettuce, Sweet Basil, e Italia que registraron una media de 985.8, 577.7 y 732.8 cm^2 respectivamente, por lo que son datos dentro del rango o superior a este; cabe mencionar que estas variedades fueron afectadas por mildiu veloso desde el trasplante, por lo que hubo pérdidas significativas del área foliar durante su desarrollo.

Reyes et al. (2014) obtuvieron valores superiores a los de este experimento, en su caso, las variedades que fueron sometidas a estrés salino, registradas fueron 857.6, 1514.6, 1394.9, 1619.6, 1210.4, 891 y 857.4 cm^2 correspondientes a las variedades Lemon, Siam Queen, Thai, Dark Opal, Spice Globe y Cinnamon, respectivamente. Con base en lo anterior es importante considerar las labores culturales que se realizan a la planta, tales como la poda de crecimiento lateral, la cual podría ser un indicador de la variabilidad en los resultados, así como la variación de temperatura y HR que requiere cada variedad para tener su óptimo desarrollo.

En la variable de peso fresco (PF) se observó que durante el muestreo 1 y 2 (PF1, PF2), la variedad Mammoth registró el mayor valor con 2.55 y 22.23 g

respectivamente, aunque estos valores no son diferentes de Lettuce, Sweet Basil, Canela, Morada e Italia; en el tercer muestreo (PF3) Lettuce registró el valor más alto (72.1 g) aunque no es diferente de las variedades Licorice, Lime, Blue Spicy, Mammoth, Spice Globe, Canela, Italia y Morada (Cuadro 13).

Cuadro 13. Comparación de medias de la variable peso fresco en 14 variedades de albahaca a los 37, 57 y 107 dds en Chapingo, México.

Variedad	PF1 (g)	PF2 (g)	PF3 (g)
Red Velvet	1.224 cde	10.62 bcd	23.8 d
Licorice	1.496 bcde	12.58 bcd	60.5 abc
Lime	1.628 bcde	15.88 abc	60.7 abc
Lettuce	2.165 ab	21.31 a	72.1 a
Siam Queen	1.583 bcde	10.15 bcd	35.7 cd
Blue Spicy	1.430 bcde	10.35 bcd	64.1 ab
Mammoth	2.553 a	22.23 a	47.5 abcd
Dark Opal	1.604 bcde	10.79 bcd	34.9 cd
Sweet Basil	2.126 ab	15.31 abc	42.4 bcd
Spice Globe	1.038 de	10.99 bcd	47.0 abcd
Limón	0.906 de	4.76 d	24.8 d
Canela	2.013 abc	18.52 ab	53.0 abc
Hojas grandes de Italia	1.729 abcd	15.73 abc	56.3 abc
Thai	0.836 e	9.03 cd	24.5 d
Morada	2.021 abc	17.17 abc	59.1 abc
DMSH	0.857	8.46	26.7

PF1: peso fresco del primer muestreo (37 dds). PF2: peso fresco del segundo muestreo (57 dds). PF3: peso fresco del tercer muestreo (107 dds); *Medias con letras iguales en las columnas no son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.01$).

Burgos, et al. (2016) condujeron un experimento en Argentina, en el que analizaron dos variedades de albahaca (albahaca de hoja ancha y albahaca morada) para evaluar el efecto de la aplicación de bioestimulante previo al trasplante, por lo que dentro de las variables evaluadas estuvo el peso fresco de la planta entera; previo a la primera cosecha (5 meses después del trasplante) los valores promedio para las plantas testigo (sin aplicación de bioestimulante) fueron de 225.33 g en la albahaca de hoja ancha y 129.33 g en albahaca morada; estos resultados se encuentran por encima de los obtenidos en este experimento ya que las variedades como Lettuce, Sweet Basil e Italia son consideradas de hoja ancha y registraron medias de 72.1, 42.4 y 56.3 g, respectivamente; de igual manera la albahaca Morada registró una media de 59.1 en este experimento, valor que es inferior al reportado por Burgos et al. (2016). Estas variaciones de datos podrían ser atribuidas al manejo agronómico

del cultivo, al tipo de semilla y sobre todo al periodo de cosecha, ya que en el experimento de Burgos et al. (2016) el peso se registró a los 150 ddt, en tanto que en este experimento se hizo a los 71 ddt.

En el peso seco del primer muestreo (PS1) la variedad Red Velvet registró el valor más alto con una media de 0.421 g similar a la variedad Sweet Basil (0.211 g) y superior al resto de las variedades. El valor más bajo se registró en la variedad Limón (0.089 g), aunque estadísticamente no fue diferente del resto de las variedades, con excepción de Red Velvet.

Cuadro 14. Comparación de medias de la variable peso seco en 14 variedades de albahaca a los 37, 57 y 107 dds en Chapingo, México.

Variedad	PS1 (g)	PS2 (g)	PS3 (g)
Red Velvet	0.421 a	0.97 cd	2.3 f
Licorice	0.149 b	1.30 abcd	7.3 abcd
Lime	0.153 b	1.52 abc	7.3 abcd
Lettuce	0.164 b	1.99 ab	9.3 a
Siam Queen	0.153 b	1.24 bcd	5.9 abcdef
Blue Spicy	0.133 b	0.99 cd	7.8 ab
Mammoth	0.158 b	2.15 a	4.8 bcdef
Dark Opal	0.140 b	0.97 cd	3.2 ef
Sweet Basil	0.211 ab	1.41 abc	4.4 bcdef
Spice Globe	0.096 b	1.02 cd	6.1 abcdef
Limón	0.089 b	0.46 d	3.9 cdef
Canela	0.186 b	1.95 ab	6.5 abcde
Hojas grandes de Italia	0.164 b	1.61 abc	6.7 abcde
Thai	0.095 b	1.16 bcd	3.5 def
Morada	0.185 b	1.79 abc	7.5 abc
DMSH	0.214	0.92	3.9

PS1: peso seco del primer muestreo (37 dds). PS2: peso seco del segundo muestreo (57 dds). PS3: peso seco del tercer muestreo (107 dds); *Medias con letras iguales en las columnas no son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.01$).

En el segundo muestreo (PS2) Mammoth registró el valor más alto con 2.15 g aunque este valor no es diferente de las demás variedades. En el tercer muestreo (PS3) la variedad que registró el valor más alto fue Lettuce con una media de 9.3 g, este valor es diferente de las variedades Red Velvet, Mammoth, Dark Opal, Sweet Basil, Limón y Thai (Cuadro 14).

Al respecto, datos reportados por Moncayo et al. (2015) en albahaca variedad nufar, irrigada con solución química, fueron de 12.0 y 12.3 g, valores superiores a los reportados en este experimento al contrastarlos con las variedades Lettuce, Sweet Basil e Italia, (variedades morfológicamente similares a la variedad Nufar) ya que registraron una media de 9.3, 4.4 y 6.7, respectivamente. Una de las causas de la diferencia de valores puede ser el método utilizado para secar las plantas, ya que Moncayo, et al., (2015) colocaron las plantas en bolsas de papel y las dejaron secar a temperatura ambiente, por lo que, probablemente, no perdieron la humedad en su totalidad.

En contraste, Yepez (et al., 2016) registraron valores de peso seco entre 1.2 ± 0.3 a 1.7 ± 0.4 g en albahaca de hoja grande, los cuales son menores a los reportados en este experimento.

En general, la TAC mostró una tendencia de aumento exponencial en 5 variedades (Cuadro 15) de las cuales, Lettuce registró el mayor valor de acumulación de materia seca (145.73 mg d^{-1}). Por otra parte, las variedades que mostraron una acumulación exponencial de materia seca fueron Licorice (de 54.65 a 119.79 mg d^{-1}), Lime (de 65.81 a 115.45 mg d^{-1}) Blue Spicy (de 40.95 a 136.13 mg d^{-1}) y Spice Globe (de 43.75 a 101.78 mg d^{-1}). En contraste las variedades Mammoth y Thai registraron un decremento de valores en la TAC2, que se debe al genotipo de la planta y a su morfología, en el caso de Mammoth, es una variedad de porte pequeño, y con hojas muy anchas, y Thai mostró un crecimiento lento desde el trasplante.

Cuadro 15. Estimadores de crecimiento calculados de TAC, TRC y TAN en 15 variedades de albahaca.

Variedad	TAC1 (mg d^{-1})	TAC2 (mg d^{-1})	TRC1	TRC2	TAN1 (mg d^{-1})	TAN2 (mg d^{-1})
Red Velvet	26.13	26.28	37.56	16.15	241.28	93.29
Licorice	54.65	119.79	75.63	27.92	582.44	244.73
Lime	65.18	115.45	77.88	26.19	533.30	188.89
Lettuce	86.79	145.73	80.73	25.89	610.94	235.53
Siam Queen	51.67	94.05	74.34	26.21	538.64	287.41
Blue Spicy	40.95	136.13	72.80	30.97	495.90	246.70
Mammoth	95.06	53.60	82.26	15.34	590.88	131.40
Dark Opal	39.64	44.27	71.27	21.29	408.56	119.07
Sweet Basil	56.85	59.78	70.34	20.62	496.54	155.06

Spice Globe	43.75	101.78	78.74	28.59	697.85	291.83
Limón	17.86	68.00	64.64	31.43	478.63	309.26
Canela	83.93	91.68	78.62	21.62	577.28	182.26
Italia	68.69	101.53	77.62	24.50	576.03	214.94
Thai	50.71	47.72	80.82	20.28	721.14	204.27
Morada	76.22	113.51	77.36	24.55	600.58	238.39

TAC: Tasa Absoluta de Crecimiento TRC: Tasa Relativa de Crecimiento TAN: Tasa de Asimilación Neta; *Medias con letras iguales en las columnas no son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.01$).

Con base en las etapas fenológicas descritas por Barroso & Jerez (2002), los datos de la TAC1 fueron registrados previo a la emisión del primer par de brotes axilares, por lo que no había limitantes de recursos (luz, agua) en el crecimiento y desarrollo de las plantas, y las hojas se encontraban con suficiente capacidad fotosintética, es decir, había suficiente captación de luz para la generación de fotoasimilados. En el segundo registro de datos de la TAC2 ya habían pasado 57 días después de la siembra, algunas variedades se encontraban en fase de prefloración, y la mayoría habían emitido al menos un par de brotes axilares, por lo que se manifestó el crecimiento exponencial y la máxima acumulación de materia seca.

La Tasa Relativa de Crecimiento (TRC) representa la capacidad de la planta para producir material nuevo por unidad de tiempo, en este experimento los datos registrados en la TRC2, fueron menores a la TRC1 en todas las variedades, ya que las hojas pasaron a ser exportadores de fotoasimilados hacia los órganos en demanda, en este caso, las flores y la formación de nuevas hojas (formación de brotes laterales), ya que el tercer muestreo se realizó un día antes de la cosecha, aunque también hay que tener en cuenta que el ambiente y las condiciones de manejo pueden tener un elevado impacto sobre la TRC, en este experimento se realizó poda de brote apical, lo cual pudo haber influido en la distribución de fotoasimilados. También hay que considerar que la fuerza de la demanda de un órgano es una medida de su capacidad para absorber fotoasimilados. Se puede expresar en función del tamaño de su masa y por su actividad o tasa de captación. Situación que cambia con el tiempo, probablemente determinada por la fenología de la especie (Argandoña & Silva, 2007).

Los valores más bajos se presentaron en la TAN2, los cuales estuvieron en correspondencia con los valores más altos en el AF3, esta disminución puede atribuirse al autosombreado, generado por el mayor tamaño del dosel vegetal al incrementar la densidad de población y al aumento de la senescencia de las hojas (Scott & Batchelor, 1979). Esto lleva a una disminución de TAN, que va a depender en buena parte de la estructura del canopeo (por ejemplo, la disposición más o menos erecta de las hojas) (Di Benedetto & Tognetti, 2016).

3.4 Conclusiones

El mayor rendimiento en la D1 (9 plantas parcela⁻¹) se registró en las variedades Red Velvet, Lime, Lettuce, Blue Spicy, Mammoth, Limón, Italia y Morada. En la D2 (12 plantas parcela⁻¹) se obtuvo mayor rendimiento con Licorice, Siam Queen, Sweet Basil y Canela. En la D3 (15 plantas parcela⁻¹) se obtuvo mayor rendimiento en Thai y Dark Opal.

La variedad Lettuce, fue la que registró mayor rendimiento total de hoja fresca por lo que en la región del Valle de México se podría cultivar esta variedad.

El uso de invernadero y el manejo de sistema hidropónico presentan un área de oportunidad para la producción intensiva de albahaca para consumo en fresco o procesado.

El análisis de crecimiento permitió conocer las respuestas y adaptaciones de las variedades estudiadas bajo una producción de ambiente controlado en un sistema hidropónico.

Las variedades Lettuce, Licorice, Lime, Blue Spicy y Spice Globe incrementaron de manera exponencial la Tasa Absoluta de Crecimiento (TAC) ya que fueron los cultivares que mejor se adaptaron a las condiciones ambientales del experimento.

3.5 Recomendaciones

Se recomienda realizar un estudio de rentabilidad en el manejo con sistema hidropónico de albahaca en esta zona.

Se recomienda realizar experimentos específicos con las variedades que mejor desarrollo y rendimiento mostraron.

Cultivar las variedades que se vieron afectadas por mildiu bajo condiciones de invernadero con mayor ventilación (invernaderos con ventilación cenital, ventanas más amplias que permitan mayor circulación del aire al interior).

Se recomienda realizar estudios de densidades más altas (mayores a 15 plantas m⁻²) de las variedades que tuvieron mejor rendimiento para conocer el potencial de las mismas.

Realizar experimentos con las variedades mejor adaptadas a la región y probar diferentes sistemas de manejo (nutrientes, fertilizantes, sustratos, niveles de luz, etc.) con la finalidad de experimentar la máxima productividad.

LITERATURA CITADA

- Albrizio, R., y Steduto, P. (2005). Resource use efficiency of field-grown sunflower, sorghum, wheat and chickpea I. Radiation use efficiency. *Agricultural and Forest Meteorology*, 130(3), 254-268
- Acosta, L. (2003). Principios agroclimáticos básicos para la producción de plantas medicinales. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 8(1).
- Barbieri, G., Vallone, S., Orsini, F., Paradiso, R., De Pascale, S., y Negre-Zakharov, F. a. (2012). Stomatal density and metabolic determinants mediate salt stress adaptation and water use efficiency in basil (*Ocimum basilicum* L.). *J Plant Physiol*, 1737-1746.
- Barroso, L., y Jerez, E. (2002). Fenología de la albahaca blanca (*Ocimum basilicum* L.) cultivada en diferentes fechas de siembra. *Cultivos Tropicales*. 23(2), 43-46.
- Beadle, C.L. (1988). *Análisis del Crecimiento Vegetal. Técnicas en Fotosíntesis y Bioproductividad*. Ed. Futura. Programa Ambiental de las Naciones Unidas (UNEP) y Colegio de Postgraduados. México, pp. 17-21.
- Beltrano, J., y Giménez, D. (2015). *Cultivo en hidroponía*. (1ª Ed.). Universidad Nacional de La Plata. DOI: ISBN 978-950-34-1258-9.
- Briseño, R., Aguilar, G., y Villegas, E. (2013). *El cultivo de albahaca*. Publicaciones CIB. La Paz, Baja California Sur, México. 33 p.
- Burgos, A., Sottile, J., & Domínguez, J. (2016). Evaluación de dos variedades de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) cultivadas en Corrientes y del efecto de la aplicación de un bioestimulante natural sobre su productividad. *Agrotecnia*, 23, 10-14.
- Cansing, J. y Santillan, N. (2012). *Producción de la albahaca dulce (Ocimum basilicum L.) utilizando cuatro densidades y dos tipos de aplicación de harina de carne como fertilizante*. (Tesis de Licenciatura). Escuela Agrícola Panamericana de Zamorano, Honduras, Unidad de Agricultura Orgánica.
- Cheping, N. (1993). *Plantas Medicinales. La Habana*, MINSAP, 165 p.

- Di Benedetto, A. y Tognetti, J. (2016). Técnicas de análisis de crecimiento de plantas: su aplicación a cultivos intensivos. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 42(3), 258-282.
- Fernández, V. (2003). Estudios en domesticación y cultivo de especies medicinales y aromáticas nativas. Fichas de cultivos de especies aromáticas tradicionales. Albahaca.
<http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/8778/1/Fpta-11-p.205-225.pdf>
- Forero, C. (2010). *Implementación de buenas prácticas agrícolas en hierbas*. (Tesis de Licenciatura), Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía.
- Guerrero, L. (2008). *Cultivo intensivo de aromáticas en hidroponía*. (Tesis de Maestría). Colegio de Posgraduados, Campus Montecillo.
- Hall, A. (1980). Los componentes fisiológicos del rendimiento de los cultivos. *Revista Facultad de Agronomía*, 1(1), 73-86.
- Huito, L. (2016). Evaluación de dos variedades de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) con tres dosis de biofertilizante foliar en walipini, en la zona de Ventilla, La Paz. Bolivia. (Tesis de Licenciatura). Universidad Mayor de San Andrés. Facultad de Agronomía.
<http://repositorio.umsa.bo/xmlui/handle/123456789/10535>
- Hunt, R. (1978). *Plant Growth Analysis* (Studies in Biology, 1ª Ed. Vol. 96). Editorial Edward Arnold. 67 p.
- Juárez, P., Bugarín, R., Castro, R., Sánchez, A., Cruz, E., Juárez, C., Balois, R., Alejo, G. y Balois, R. (2011). Estructuras utilizadas en la agricultura protegida. *Revista Fuente* 3(8), 21-27.
- Kintzios, S. y Makri, O. (2007). *Ocimum* sp. (Basil): Botany, Cultivation, Pharmaceutical. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 13(3), 123-150.
https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1300/J044v13n03_10
- Makgose, M., y Phillipus, C. (2013). High-plant density planting of basil (*Ocimum basilicum* L.) during summer/fall growth season improves yield in a closed hydroponic system. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B. Soil & Plant Science*, 63(8), 748–752.

- Matus, P. L., y Venegas, F. Z. (2015). Caracterización de la agrocadena de la albahaca (*Ocimum basilicum*) en San Antonio del Tequendama – Cundinamarca, bajo énfasis del desarrollo territorial. (Trabajo de Grado). Bogotá, Colombia: Universidad Distrital Francisco José de Caldas.
- Meyers, M. (2003). *Basil. An herb society of America guide*. USA. Ed. HAS, 45 p.
- Moncayo, L. M. (2015). *Compuestos fenólicos y antioxidantes en albahaca (Ocimum Basilicum L.) bajo soluciones nutritivas orgánicas en invernadero*. (Tesis de Doctorado). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Unidad Laguna.
- Murillo, B., Rueda, E., Ruiz, F., García, J., & Beltran, F. (2010). *Agricultura Orgánica. Temas de Actualidad*. (1ª Ed.). México. Editorial Plaza y Valdes. 336 p.
- Raimondi, G., Orsini, F., Maggio, A., De Pascale, F., De Pascale, S., & Barbieri, G. (2006). Yield and quality of hidroponically grown sweet basil. *Acta Hort.*, 357-369.
- Reyes, J., Murillo, B., Nieto, A., Troyo, E., Reynaldo, I., Rueda, E., & Cuervo, J. (2014). Crecimiento y desarrollo de variedades de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) en condiciones de salinidad. *Terra Latinoamericana*, 32(1), 35-45.
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2016). México, rico en variedad de hierbas y especias. <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/mexico-rico-en-variedad-de-hierbas-y-especias>
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2019, Agosto 2021). Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta (SIACON).
- Simon, J. (s.f.). Cooperative Extension Service Purdue University. <https://www.extension.purdue.edu/extmedia/ho/ho-189.html#:~:text=The%20soil%20should%20be%20kept,occur%20between%208%2D14%20days>.
- Soto, R., Vega, G., y Tamajón, A. (2003). Efecto de diferentes densidades de plantación en *Cymbopogon citratus* Stapf. *Revista Cubana Plant Med*, 8(2).

- Succop, C. y Newman, S. (2004). Organic Fertilization of Fresh Market Sweet Basil in a Greenhouse. *HortTechnology*, 14(02), 235-239. DOI: <https://doi.org/10.21273/HORTTECH.14.2.0235>
- Willey, R. (1994). *Plant population and crop yield*. (1ª Ed.). CRC Press.
- Yépez, F., Ferrera, R., Alarcón, A., Delgadillo, J., Mendoza, R., & García, O. (2016). Fertilización nitrogenada en el crecimiento, contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de albahaca. *Rev. Fitotecnia Mex.*, 39(1), 33-40.

4 PERFIL QUÍMICO DE LOS COMPUESTOS VOLÁTILES DE ALGUNAS VARIEDADES DE ALBAHACA

(*Ocimum basilicum* L.)

RESUMEN

El aceite esencial de la albahaca se obtiene generalmente de las hojas y flores, mientras que su carácter aromático está determinado por el genotipo, y depende de factores ambientales. El objetivo de esta investigación fue analizar los componentes químicos del aceite esencial de dieciséis variedades de albahaca, cultivada bajo invernadero con sistema hidropónico. El aceite esencial de las hojas de albahaca se obtuvo por la técnica de hidrodestilación. Cada uno de los aceites se sometió a microextracción en fase sólida y posteriormente se analizó en un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas. Aunque la variedad Lime tuvo el mayor rendimiento de aceite esencial (porcentaje), éste fue inferior al reportado en la literatura. Para todas las variedades de albahaca se detectaron en total cuarenta y dos componentes, de los cuales ocimeno, norpineno, limoneno y cineol estuvieron presentes en nueve o más variedades. Los componentes mayoritarios fueron acetato de alfa-fenquilo, acetato de fenquilo, antranilato de linalilo, 4-(2,3-dimetil-2-ciclopenten-1-il)-4-metilpentanal, anetol, formiato de linalilo, ocimeno y estragol.

Palabras clave: aceite esencial, hidrodestilación, *Ocimum basilicum*, compuestos volátiles.

ABSTRACT

The essential oil of basil is generally obtained from the leaves and flowers, while its aromatic character is determined by genotype and depends on environmental factors. The objective of this research was to analyze the chemical components of the essential oil of sixteen basil varieties, grown under greenhouse with hydroponic system. The essential oil of basil leaves was obtained by the hydrodistillation technique. Each of the oils was subjected to solid-phase microextraction and subsequently analyzed in a gas chromatograph coupled to a mass spectrometer. Although the Lime variety had the highest essential oil yield (percentage), it was lower than reported in the literature. For all basil varieties, a total of forty-two components were detected, of which ocimene, norpinene, limonene, and cineol were present in nine or more varieties. The major components were alpha-phenyl acetate, phenyl acetate, linalyl anthranilate, 4-(2,3-dimethyl-2-cyclopenten-1-yl)-4-methylpentanal, anethole, linalyl formate, ocimene and estragole.

Key words: essential oil, hydrodistillation, *Ocimum basilicum*, volatile compounds.

INTRODUCCIÓN

Los aceites esenciales están constituidos por una mezcla muy compleja de compuestos, cuyas características principales son su volatilidad y origen vegetal; son solubles principalmente en etanol, cloroformo, aceites fijos e insolubles en agua (Geisner, 1980; Dudareva et al., 2006). Son los principales responsables de las fragancias florales y su composición y propiedades sensoriales varían aún en la misma planta (Geisner, 1980; Dudareva et al., 2006). Los aceites esenciales o aromas vegetales son principalmente formados mediante la acción de enzimas, que provienen del metabolismo de los ácidos grasos (Gunter, 1991).

También se definen como mezclas de compuestos volátiles, productos del metabolismo secundario de las plantas, constituidos en su mayor parte por terpenoides, incluyendo monoterpenos y sesquiterpenos (los diterpenos también podrían estar presentes) y sus derivados oxigenados (Božović et al., 2017). Además, se pueden encontrar hidrocarburos alifáticos, ácidos y alcoholes, aldehídos ésteres acíclicos o lactonas, y excepcionalmente compuestos que contengan nitrógeno o azufre, coumarinas y homologos de los fenilpropanoides (Božović et al., 2017).

Desde la antigüedad, el aceite esencial de la albahaca, extraído principalmente por la técnica de destilación por arrastre de vapor, se ha utilizado como saborizante en las comidas, en la elaboración de perfumes, cosméticos y en la industria de la aromaterapia y la farmacéutica. La India es uno de los países donde se cultivan más especies de albahaca para exportar sus productos (Patel et al., 2016).

El cultivo de *Ocimum basilicum* L. es de suma importancia económica global, con una producción mundial anual de 100 T de aceites esenciales sintetizados y almacenados en tricomas glandulares especializados, ubicados en diversos órganos de la planta (flores, hojas, brotes, tallos y semillas) con una calidad que depende de factores externos (climáticos y agronómicos) e internos del cultivo como la variedad, edad de la planta y órgano utilizado (Chirinos et al., 2006). La cantidad y composición del aceite esencial varía de una especie a otra y dentro de los mismos

géneros de la planta (Montoya, 2010). Dependiendo de la especie, se calcula que un aceite esencial puede contener entre 50 a 300 compuestos químicos (Stashenko, 2009).

El aceite esencial de la albahaca se obtiene generalmente de las hojas y flores, y se recomienda aislarlo durante la etapa de floración de la planta. Existen aproximadamente 150 especies de *Ocimum*, de las cuales la mayor parte posee aceites esenciales. Aunque solo los aceites de *O. basilicum* y *O. gratissimum* son producidos comercialmente (Zheljazkov et al., 2008).

El carácter aromático de cada tipo de albahaca (*Ocimum basilicum* L.), está determinado por el genotipo, y depende de los compuestos químicos presentes en los aceites esenciales, los cuales consisten básicamente en monoterpenos y fenilpropanoides (Lawrence, 1995). En la explotación comercial de aceites esenciales se debe considerar el uso de variedades adaptadas, el manejo agronómico y tres aspectos relacionados con la ontogenia de las plantas: 1. La formación de materia seca; 2. El contenido de aceite por unidad de biomasa y 3. La composición química. (Hay & Waterman, 1993).

Cuando se hace uso de un aceite esencial se debe tener en cuenta que se trata de un producto extractivo (obtenido por extracción directa de la planta) cuya concentración rara vez supera el 1 % del peso de la planta seca (Montoya, 2010). Ello significa que, si se va a emplear 1 g de aceite esencial, en realidad se está empleando cerca de 100 g de planta seca, lo cual representa una dosis muy considerable (Montoya, 2010).

La mayoría de las plantas contienen de 0,01 a 10 % de contenido de aceite esencial. La cantidad media que se encuentra en la mayoría de las plantas aromáticas es alrededor de 0.1 a 2 % (Gennari, 1996)

La variación de la composición química del aceite esencial de albahaca es grande, esto debido a que esta planta crece en diferentes partes del mundo, lo cual dificulta también la estandarización internacional de su aceite (González et al., 2011).

Los aceites de *Ocimum* presentan marcadas diferencias en la composición, y algunos quimiotipos de diversos orígenes geográficos se han clasificado en: el

quimiotipo Europeo, considerado como el de olor más fino, presentando el linalol y estragol como componentes principales; el quimiotipo Reunión, se caracteriza por altas concentraciones de estragol; el quimiotipo tropical, es rico en cinamato de metilo; y un quimiotipo de África del norte y de la antigua Unión Soviética es rico en eugenol (Marotti et al., 1996).

La Hidrodestilación (HD) es el método más empleado en la extracción de aceites esenciales (Bampouli et al., 2014). En este tipo de destilación la matriz vegetal se encuentra sumergida en el agua que servirá como agente extractor. Una vez cargado el equipo el contenido es llevado a ebullición y el vapor generado arrastra consigo el aceite esencial disponible. Luego el vapor es condensado para posteriormente separar el aceite del hidrosoluble generado mediante decantación (Lawrence, 1995).

A escala de laboratorio el equipo más empleado es el de Clevenger (Günther, 1948), siendo considerado en varios estándares internacionales, como el más adecuado para la determinación del contenido total del aceite esencial de una planta aromática (Cerpa, 2007).

El tiempo total de destilación es función de los componentes presentes en el aceite esencial. Si el aceite contiene compuestos de alto punto de ebullición, el tiempo de destilación deberá ser mayor (Bandoni, 2000).

Reyes et al. (2007), sustentaron que el aceite esencial de albahaca ha sido ampliamente estudiado en el mundo, en donde se reporta que los compuestos mayoritarios del aceite esencial son el estragol, 1,8-cineol, linalol, eugenol y (E) cinamato de metilo.

Ramírez et al. (2013) realizaron un experimento en Colombia con la finalidad de determinar las variaciones en el rendimiento, la composición química y actividad antioxidante del aceite esencial de *Ocimum basilicum* L., cultivada bajo distintos tratamientos de fertilizante, el aceite esencial se obtuvo mediante destilación por arrastre con vapor y su composición química se determinó por CM-EM. Los rendimientos del aceite esencial obtenidos fueron entre 0,07 y 0,1 %, y presentó un total de 35 compuestos, de los cuales se presentó alta proporción de compuestos

aromáticos (estragol y eugenol en abundancia conjunta alrededor de 57 %) y monoterpenos oxigenados (linalool y eucaliptol en 30 %).

En una investigación preliminar sobre la composición química se encontró que el aceite esencial de *O. basilicum* L. var. Canela y var. álbum, reportaron alto contenido en fenilpropanoides y monoterpenos oxigenados. La var. Canela presentó como mayores componentes: eucaliptol (24,06 %) y eugenol (37,60 %), y la var. álbum: (E)-cinamato de metilo (28,20 %) y linalool (18,16 %) (Beltrán et al., 2010).

Rivas et al. (2015) realizaron un experimento en Venezuela, en el que determinaron la composición química del aceite esencial de albahaca, extraído por hidrodestilación, para lo cual, se colocaron 200 gramos de las hojas frescas de la albahaca en 600 mL de agua destilada, durante 6 horas. Mediante el análisis químico en cromatografía de gases acoplado a un espectrofotómetro de masas (CG-EM) se identificaron 14 constituyentes, que constituían el 77,22 % del aceite. El isoestragol (58,33 %), humuleno (5,71 %), eucaliptol (4,09 %), β -linalol (2,71 %), cis- β -ocimeno (2,00 %) y alcanfor (1,63 %) fueron los mayores compuestos volátiles.

Durante 1996, en Lafayette, Indiana, las albahacas disponibles comercialmente fueron evaluadas, entre los datos registrados se encuentran los principales componentes volátiles del aceite (cuadro 6) que se determinaron a partir de cromatógrafo de gases.

Cuadro 16. Principales compuestos aromáticos en cultivares de albahaca

Variedad	Principales compuestos aromáticos
Red Velvet	linalool (70 %) 1,8 cineol (9 %) estragol (10 %) metil eugenol (6 %)
Licorice	linalool (58 %) estragol (13 %)
Lime	sin dato
Lettuce	linalool (60 %) estragol (29 %)
Siam Queen	sin dato
Blue Spicy	sin dato
Dark Opal	linalool (60 %) estragol (32 %)
Dark Opal	linalool (80 %) 1,8 cineol (12 %)
Spice Globe	linalool (55 %) 1,8 cineol (23 %)
Sweet Basil	linalool (69 %) 1,8 cineol (11 %) metylchavicol (13 %)
Limón	linalool (24%) citral (19%)
Canela	linalool (47 %) cinamato de metilo (86 %)

H.G. Italia	linalool (65 %) metylchavicol (18 %)
Thai	citral
Morada	sin dato
Holy	β -cariofileno (75 %)

Fuente: (Simon et al.,1999)

El objetivo de este trabajo fue evaluar el rendimiento de aceite esencial en 16 variedades de albahaca cultivadas bajo invernadero con sistema hidropónico e identificar la composición química del aceite extraído de cada variedad.

4.1 Materiales y Métodos

4.1.1 Material vegetal

Las variedades de albahaca (16) se cultivaron en el invernadero del Campo Agrícola Experimental San Ignacio de la Universidad Autónoma de Chapingo, 56235 Texcoco, Estado de México a una altitud de 2250 msnm. Las semillas, para el cultivo de las variedades Red Velvet, Licorice, Lime, Lettuce, Siam Queen, Blue Spicy, Mammoth, Dark Opal, Sweet Basil, Spice Globe y Holy, fueron importadas de Estados Unidos de América, mientras que las correspondientes a las variedades Limón, Canela, Hojas grandes de Italia, Thai y Morada, fueron adquiridas en empresas nacionales (A. Red Velvet leaf B. Licorice C. Lime D. Lettuce E. Siam Queen F. Blue Spicy G. Mammoth H. Dark opal I. Sweet Basil J. Spice Globe K. Limón L. Canela M. Italia N. Thai O. Morada P. Holy

Figura 11).



A. Red Velvet leaf B. Licorice C. Lime D. Lettuce E. Siam Queen F. Blue Spicy G. Mammoth H. Dark opal I. Sweet Basil J. Spice Globe K. Limón L. Canela M. Italia N. Thai O. Morada P. Holy

Figura 11. Variedades de albahaca cultivadas bajo invernadero.

4.1.2 Extracción

Previo al proceso de extracción, las hojas de cada variedad de albahaca, en estado de floración, fueron cosechadas de manera manual en las primeras horas de la mañana (9:00 a 10:00 h). Se seleccionaron plantas sanas y vigorosas de cada variedad, para obtener una muestra representativa del material vegetal. Una vez recolectado el material vegetal fresco se trasladó al laboratorio donde se cortaron las hojas finamente y se pesaron 100 g de hojas trozadas, las cuales fueron sumergidas en 1000 mL de agua dentro de un matraz de fondo redondo.

La extracción de los aceites esenciales se realizó por la técnica de hidrodestilación con equipo Clevenger; el matraz se calentó a temperatura constante por un lapso de aproximadamente 2 horas y se continuó con el procedimiento para la extracción de aceites esenciales en plantas aromáticas SAGARPA-CONACyT (2012).

Al pasar las dos horas se apagó la parrilla de calentamiento y el aceite se separó por decantación y se almacenó protegido de la luz a -10 °C para su posterior análisis.

4.1.3 Análisis e identificación

El análisis químico de los aceites esenciales de cada una de las 16 variedades se llevó a cabo en un cromatógrafo de gases (7890 A, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, EUA) acoplado a un espectrómetro de masas (Agilent 240) con un detector de trampa de iones. Primero, los compuestos volátiles se extrajeron según el método de microextracción en fase sólida (SPME, por sus siglas en inglés), reportado por Soria et al. (2003) utilizando una microfibra de Divinilbenceno/Carboxeno/Polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS) (SUPELCO, Bellefonte, PA). La desorción de la microfibra se hizo en el puerto de inyección del cromatógrafo a una temperatura de entrada de 250 °C. Se utilizó una columna VF-5 MS (inerte 5 % fenilmetilpolisiloxano 30 m x 250 µm x 0,25 µm) a un caudal de 1 mL/min y una presión de 0.5 atm. La temperatura del horno se ajustó a 60 °C durante 2 min, luego a 120 °C a 3 °C/min, y a 220 °C a 10 °C/min. El tiempo de operación para cada muestra fue de 40 minutos. El helio se utilizó como gas portador a un caudal de 1.0 mL/min. Una mezcla de n-alcanos (C8-C17, Sigma) se analizó bajo

las mismas condiciones que la muestra. Los tiempos de retención de la muestra y los componentes de la mezcla de n-alcanos se utilizaron para calcular el índice de retención lineal.

4.2 Resultados y Discusión

4.2.1 Rendimiento

Los porcentajes de rendimiento de extracción de los aceites esenciales varían según la planta, y en general son valores bajos para el caso de la albahaca varían entre un 0.04 a 0.7 % (Fonnegra & Jiménez, 2007). De las variedades estudiadas el mayor rendimiento que se registró fue en la variedad Lime con una media de 0.13 %; seguido por las variedades Limón, Thai y Spice Globe con valores de 0.12 %, 0.09 % y 0.08 % respectivamente (Cuadro 17).

Cuadro 17. Promedio de rendimiento (%) de los aceites esenciales obtenidos por hidrodestilación.

Variedad	Media	Desviación estándar
Red Velvet	0.02	0.012
Licorice	0.04	0.010
Lime	0.13	0.028
Lettuce	0.02	0.010
Siam Queen	0.06	0.010
Blue Spicy	0.01	0.006
Mammoth	0.01	0.000
Dark Opal	0.04	0.012
Spice Globe	0.08	0.019
Sweet Basil	0.01	0.006
Limón	0.12	0.020
Canela	0.04	0.011
H.G.Italia	0.05	0.036
Thai	0.09	0.023
Morada	0.05	0.010
Holy	0.01	0.000

Nota: Los valores capturados en la media se calcularon a partir del registro de rendimiento de tres extracciones (repeticiones) por variedad.

En trabajos realizados sobre composición química, Saldarriaga (2014) en Colombia obtuvo el aceite esencial de 5 accesiones de albahaca, (*Ocimum micranthum* Willd, *Ocimum mínimum* L, *Ocimum sanctum* Linn, *Ocimum selloi* Benth, *Ocimum basilicum*

L.). La cantidad de aceite extraído fue mayor en la accesión *O. minimum* (1.79%) y menor en la especie *O. micranthum* (0.93%) (Saldarriaga, 2014).

Araujo (2018) extrajo aceite esencial de hojas frescas de albahaca variando el proceso físico de sometido de las muestras: hojas trozadas y hojas enteras; el método de extracción fue por arrastre de vapor de agua a nivel de planta piloto y se utilizaron alrededor de 2 kg de material; los rendimientos más altos fueron alcanzados con el método de hojas cortadas, en el que obtuvo 0.1622 % a 0.1527 %, (2,73 g de aceite esencial de hojas cortadas y 2,69 g de hojas enteras).

Murillo et al. (2004), estudiaron la composición química del aceite esencial de *Ocimum americanum* L. (albahaca querendona morada) obtenido por hidrodestilación de vegetales recolectados en Chapetón-Ibagué, obteniendo rendimientos de 0,3 %.

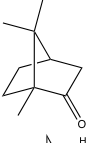
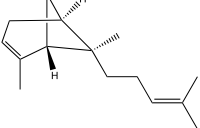
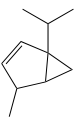
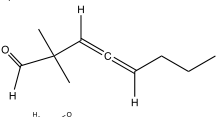
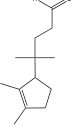
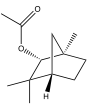
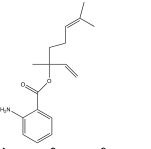
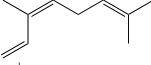
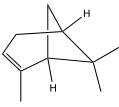
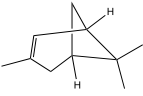
Al comparar los resultados obtenidos en esta investigación, respecto a las anteriores, se encontró que el rendimiento estuvo por debajo de lo reportado, lo cual puede ser causa de factores ambientales y genéticos. Debe recordarse que la síntesis de los aceites esenciales en plantas aromáticas depende de la genética del vegetal, de su estado de desarrollo vegetativo y de los factores agroclimatológicos (Domínguez, 1998).

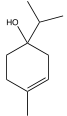
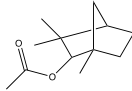
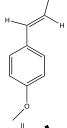
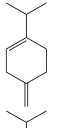
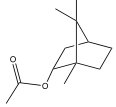
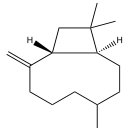
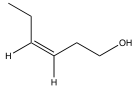
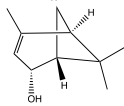
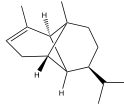
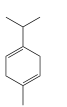
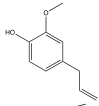
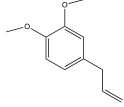
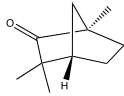
4.2.2 Perfil químico

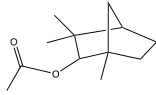
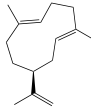
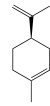
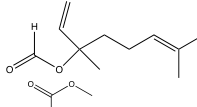
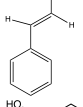
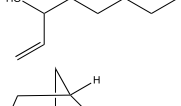
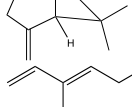
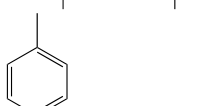
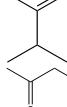
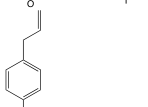
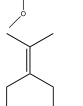
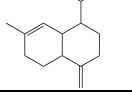
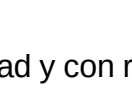
El análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, realizado a cada uno de los aceites esenciales de las 16 variedades de albahaca, permitió conocer la composición química y la cantidad relativa de los principales componentes que conforman los aceites analizados. Se identificaron en total 42 compuestos (de los cuales con base en sus fórmulas y estructuras químicas, 22 son monoterpenos (1, 3, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 16, 17, 18, 20, 22, 24, 27, 28, 30, 34, 35, 36, 39) , dos derivados del monoterpeno linalool (7 y 31), 6 sesquiterpenos (2, 15, 23, 29, 41, 42), 6 fenilpropanoides (14,15, 25, 26, 32, 38), un aldehído (4), tres alcoholes (21, 33 y 40) y una cetona (37).

Cuadro 18), de los cuales con base en sus fórmulas y estructuras químicas, 22 son monoterpenos (1, 3, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 16, 17, 18, 20, 22, 24, 27, 28, 30, 34, 35, 36, 39) , dos derivados del monoterpeno linalool (7 y 31), 6 sesquiterpenos (2, 15, 23, 29, 41, 42), 6 fenilpropanoides (14,15, 25, 26, 32, 38), un aldehído (4), tres alcoholes (21, 33 y 40) y una cetona (37).

Cuadro 18. Componentes químicos superiores el 1 % encontrados en las 16 variedades de albahaca (*Ocimum basilicum* L.)

Num.	Compuesto	Fórmula	Estructura química
1	alcanfor	$C_{10}H_{16}O$	
2	α -trans-bergamoteno	$C_{15}H_{24}$	
3	2-thujeno	$C_{10}H_{16}$	
4	2,2-dimethyl-3,4-octadienal	$C_{10}H_{16}O$	
5	4-(2,3-dimetil-2-ciclopenten-1-il)-4-metilpentanal	$C_{13}H_{22}O$	
6	acetato de alfa-isofenquilo	$C_{12}H_{20}O_2$	
7	antranilato de linalilo	$C_{17}H_{23}NO_2$	
8	β -cis-ocimeno	$C_{10}H_{16}$	
9	β -citral	$C_{10}H_{16}O$	
10	α -Pineno	$C_{10}H_{16}$	
11	3,6,6-trimetil-2-norpineno	$C_{10}H_{16}$	

12	4-terpineol	$C_{10}H_{18}O$	
13	acetato de alfa-fenquilo	$C_{12}H_{20}O_2$	
14	anetol	$C_{10}H_{12}O$	
15	elemeno	$C_{15}H_{24}$	
16	terpineno	$C_{10}H_{16}$	
17	felandreno	$C_{10}H_{16}$	
18	acetato de bornilo	$C_{12}H_{20}O_2$	
19	cariofileno	$C_{15}H_{24}$	
20	cineol	$C_{10}H_{18}O$	
21	cis-hexen-3-ol	$C_6H_{12}O$	
22	cis-verbenol	$C_{10}H_{16}O$	
23	copaeno	$C_{15}H_{24}$	
24	gamma-terpineno	$C_{10}H_{16}$	
25	eugenol	$C_{10}H_{12}O_2$	
26	metil eugenol		
27	fenchona	$C_{10}H_{16}O$	

28	acetato de fenquilo	$C_{12}H_{20}O_2$	
29	gemacreno	$C_{15}H_{24}$	
30	limoneno	$C_{10}H_{16}$	
31	formiato de linalilo	$C_{11}H_{18}O_2$	
32	cinamato de metilo	$C_{10}H_{10}O_2$	
33	morillol	$C_8H_{16}O$	
34	norpineno	$C_{10}H_{18}O$	
35	ocimeno	$C_{10}H_{16}$	
36	<i>p</i> -cimeno	$C_{10}H_{14}$	
37	sulcatona	$C_8H_{14}O$	
38	estragol	$C_{10}H_{12}O$	
39	terpinoleno	$C_{10}H_{16}$	
40	trans-3-hexenol	$C_6H_{12}O$	
41	himachaleno	$C_{15}H_{24}$	
42	γ -muuroleno	$C_{15}H_{24}$	

los componentes observados se agruparon por variedad y con relación a la cantidad relativa. En el Cuadro 19 se observa una alta variabilidad en componentes y porcentajes, sin embargo, hubo componentes en común que se mostraron en la mayoría de las variedades y componentes predominantes en cada variedad.

Asimismo, la cantidad relativa total de los componentes fue diferente en cada variedad, y se observó en un rango de 38.1 % a 93.6 %; el número de componentes también fue variable y se detectaron entre 6 (Blue Spicy, Canela y Morada) y 13 (Lime) componentes por variedad; estos datos (cantidad relativa total y número de componentes por variedad), no mostraron correlación. La variedad Morada registró la mayor cantidad relativa de compuestos con una suma total de 93.6 % con 6 compuestos identificados, en contraste con Lime que fue la variedad en la que se observó el mayor número de compuestos que fueron 13 y con un porcentaje total de 87 %.

El cineol estuvo presente en todas las variedades en una cantidad relativa entre el 2.5 y 19.1 %, excepto en Limón donde no hubo registro del compuesto; aunque no se observó el cineol como componente primario mayoritario en ninguna variedad, si fue un componente secundario en las variedades Mammoth (9.5 %), Dark Opal (16.3 %), Spice Globe (19.1), Canela (10 %), Italia (14.6 %) y Thai (11.2 %); fue el tercer componente mayoritario en las variedades Red Velvet (14.8 %), Blue Spicy (17.6 %), Sweet Basil (7.3 %) y Morada (7.4 %). El norpineno se observó en todas las variedades excepto en Limón y Holy; la cantidad relativa fue de 1.4 a 16.3 %, esta última se registró en Red Velvet como compuesto secundario; en Mammoth, Dark Opal y Spice Globe el norpineno se observó como el tercer compuesto mayoritario con 5.1, 15.8 y 12.4 %, respectivamente. El limoneno fue otro componente común en la mayoría de las variedades en proporciones de 1 a 6.2 %, excepto en Lettuce, Blue Spicy, Sweet Basil y Morada. El ocimeno estuvo presente en la mayoría de las variedades excepto en Red Velvet, Lime, Lettuce, Mammoth, Dark Opal, Italia y Morada, la cantidad relativa en la que se observó fue de 3.1 a 30.1 % y fue compuesto mayoritario en Holy y Limón (10.3 %); en Blue Spice se observó como el segundo compuesto mayoritario con 27.7 % y en Licorice con 10.2 % fue el tercer compuesto mayoritario.

Cuadro 19. Componentes químicos y cantidad relativa (%) de cada variedad de albahaca (*Ocimum Basilicum* L.)

Compuesto / Variedad	Red Velvet	Licorice	Lime	Lettuce	Siam Queen	Blue Spicy	Mammoth	Dark Opal	Sweet Basil	Spice Globe	Limón	Canela	Italia	Thai	Morada	Holy
alcanfor										1.8						
α -trans- bergamoteno				1.1									2.9			
2-thujeno													4.3	2.2		
2,2-dimethyl- 3,4- octadienal											1					
4-(2,3- dimetil-2- ciclopenten- 1-il)-4- metilpentanal					29.8											
acetato de alfa- isofenquilo												7.7				
antranilato de linalilo	1.9			31.5	1.6				55.7	34.7	7.1					
β -cis- ocimeno				1.9									10.1			
β -citral			9.2													

α-pineno			1.3					1.1	1.9		2.5					5.24
3,6,6-trimetil- 2-norpineno	2.5															
4-terpineol								2.9								
acetato de alfa-fenquilo	38.5															
anetol				12.8	22.9	32.1								10.3	48.0	
elemeno																4.7
terpineno	2.9								2.7		3.0					
felandreno								1.3								
acetato de bornilo										2.0	1.6					
cariofileno			1.4									2.5				16.0
cineol	14.9	6.5	4.0	6.7	4.7	17.7	9.5	16.4	7.3	19.2		10	14.7	11.2	7.4	2.6
cis-hexen-3- ol			1.2									1.9	2.5			
cis-Verbenol			10.7									2.5				
copaeno																1.1
γ-terpineno			3.08					4.4								
eugenol						3.9			3.1	3.8			2.6			13.1
metil eugenol	1.2								1.3							
fenchona	1.9								2.8			2.1				

acetato de fenquilo	3.4	35.7	43.4					3.7				47		28.73		
gemacreno							2	1.41							1.39	
limoneno	6.3	1.9	2.5		1.2		2.6	6.3		3.83	1.51	1.1	1.88	1.07	1.46	
formiato de linalilo							52.2	36.7								
cinamato de metilo		6.94														
morillol			1.02													
norpineno	16.4	3.6	2.1	2.5	1.5	4.1	5.1	15.8	2.3	12.5		4.2	5.8	4.0	3.6	
ocimeno		10.3			10.9	27.7			5.2	3.1	10.3	6.7		7.6	30.2	
<i>p</i> -cimeno			2.5				1.1								4.69	
sulcatona			4.73								7.81					
estragol		22.5		22.7	17.5				7.9		1.6	35.6		31.1		
terpinoleno					1.1		1.4	1.8					1.1			
trans-3- hexenol		1.2													1.3	
himachaleno						1.3										
γ-muuroleno									0.8							
Total	89.9	88.7	87.0	79.2	91.1	86.9	83.6	89.4	85.7	85.8	38.1	65.3	92.7	67.4	93.7	75.6

Las cantidades relativas de los compuestos que se observaron en mayor porcentaje (Cuadro 20), fue variable entre accesiones, la cantidad más baja fue de 10.31 % en Limón y la más alta se observó en Sweet Basil con 55.67 %.

Sweet Basil fue la variedad que registró mayor cantidad del componente antranilato de linalilo con una cantidad relativa de 55.6 %; el acetato de fenquilo fue el componente con mayor porcentaje en Licorice, Lime e Italia con 35.7, 43.3 y 47 % respectivamente; El antranilato de linalilo predominó Lettuce, Swet Basil y Spice Globe, con 31.5, 55.6 y 34.6 %, respectivamente.

El componente mayoritario en Blue Spicy y Morada con 32 y 48 % respectivamente fue el anetol el cual es un éter aromático que tiene propiedades como nematocida, antimicrobiano e insecticida (Aggarwal & Shishodia, 2006).

El ocimeno predominó en mayor cantidad en Limón y Holy, con 10.3 y 30.1 % respectivamente; el formiato de linalilo se observó en las variedades Mammoth y Dark Opal, en 52.1 y 36.6 % respectivamente. El estragol predominó en mayor cantidad en Canela y Thai con 35.6 y 31.1 %, respectivamente. El acetato de alfa-fenquilo solo se registró en Red Velvet con 38.5 % y el componente 4-(2,3-dimetil-2-ciclopenten-1-il)-4-metilpentanal fue mayoritario en Siam Queen con 29.7 %.

Cabe mencionar que durante el ciclo de producción, algunas variedades se vieron afectadas por mildiu, tales como Lettuce, Mammoth, Dark Opal, Sweet Basil e Italia, en las cuales, se registró una mayor cantidad de componentes de grupo funcional éster (antranilato de linalilo y formiato de linalilo), por lo que dentro de las propiedades que tienen estos compuestos es que son antifúngicos, por lo que al ser atacadas por este hongo, las variedades desarrollaron o liberaron estos componentes en mayor cantidad.

Cuadro 20. Compuestos químicos mayoritarios y cantidad relativa (%) por variedad.

Variedad	Componente Mayoritario	Cantidad Relativa (%)
Red Velvet	acetato de alfa-fenquilo	38.53
Licorice	acetato de fenquilo	35.74
Lime	acetato de fenquilo	43.39
Lettuce	antranilato de linalilo	31.5
Siam Queen	4-(2,3-dimetil-2-ciclopenten-1-il)-4-metilpentanal	29.763
Blue Spicy	anetol	32.099
Mammoth	formiato de linalilo	52.19

Dark Opal	formiato de linalilo	36.65
Sweet Basil	antranilato de linalilo	55.67
Spice Globe	antranilato de linalilo	34.69
Limón	ocimeno	10.31
Canela	estragol	35.63
Italia	acetato de fenquilo	47
Thai	estragol	31.1
Morada	anetol	48.02
Holy	ocimeno	30.19

Los componentes mencionados difieren con los resultados obtenidos por Saldarriaga (2014) quien realizó la extracción de aceite de 5 accesiones de albahaca en Colombia, mediante destilación por arrastre de vapor y análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas en donde observó componentes mayoritarios tales como Metileugenol (48,6%) en albahaca negra, *trans*-Cinamato de metilo (55,2 %) en albahaca morada, Eugenol (37,4 %) en albahaca clavo, Linalool (36,9 %) en albahaca blanca (en este experimento corresponde a Sweet Basil) y *trans*-Cinnamato de metilo (34,1%) en albahaca fina verde (en este experimento corresponde a Spicy Globe).

El metil eugenol, solo se encontró en las variedades hojas moradas (Dark Opal y Red velvet), aunque no es un compuesto predominante o mayoritario en estas variedades, el porcentaje registrado en este experimento fue de 1.32, el cual concuerda con el reportado por De Masi (2006) que fue de 1.30.

De Masi (2006) realizó la extracción de aceite de 12 accesiones, en las que uno de los componentes en común y con porcentaje mayor a 1 % fue cineol, sin embargo, en la variedad Limón, este componente se encontró en una cantidad menor (0.42 %) lo cual sucedió en esta investigación, ya que el cineol fue el componente común presente en las variedades excepto en Limón.

Los compuestos observados en la variedad Holy concuerdan con los encontrados por Shiwakoti et al. (2017) en el que el eugenol es de los componentes principales con 6.8 a 8.3 % y en este experimento, se encuentra presente como el tercer componente mayoritario con 13.1 %; sin embargo, el componente mayoritario en este experimento fue ocimeno con 30.2 % lo cual difiere con Shiwakoti et al. (2017) quienes detectaron metil eugenol como compuesto mayoritario con 58.6 a 67.7 %;

Dentro de los componentes encontrados en albahaca Dulce, se observó el estragol en una cantidad relativa de 15.2 a 20.6 %, y aunque en este experimento se detectó en 9.3 % se consideró dentro de los componentes mayoritarios en la variedad Sweet Basil.

Las diferencias observadas entre la composición química de cada variedad pueden ser causa de factores genéticos y ambientales, estatus nutricional de las plantas, entre otros factores que pudieron influir en la composición del aceite (Öscan & Chalchat, 2002).

Aunque el cultivo de las variedades de albahaca se estableció bajo condiciones controladas y la colecta de hojas de los diferentes cultivares se llevó a cabo en la misma época (agosto 2021) algunas variedades se encontraban en diferentes etapas de crecimiento o de floración, lo cual pudo ser la causa de variaciones en el perfil químico de los aceites esenciales, por lo que resulta complejo proporcionar una clasificación segura.

4.3 Conclusiones

La composición química de los aceites esenciales de la albahaca evaluados presentó variabilidad en los perfiles químicos, lo cual indica que todas las accesiones evaluadas son variedades diferentes.

Los componentes que se observaron en la mayoría de las variedades ($\geq$ a 9 variedades) fueron ocimeno, norpineno, limoneno y cineol.

Los componentes que se observaron en mayor cantidad relativa fueron acetato de alfa-fenquilo, acetato de fenquilo, antranilato de linalilo, 4-(2,3-dimetil-2-ciclopenten-1-il)-4-metilpentanal, anetol, formiato de linalilo, ocimeno y estragol.

4.4 Recomendaciones

Se recomienda realizar experimentos de extracción de aceite en diferentes etapas de cosecha o conforme avance el periodo de floración.

Se recomienda realizar un estudio económico para determinar si el cultivo y la extracción de aceite de albahaca podría ser una actividad rentable en la zona de Texcoco.

Se recomienda realizar investigaciones sobre las variedades que tuvieron mayor rendimiento de aceite y determinar las condiciones adecuadas para su extracción.

LITERATURA CITADA

- Araujo, C. (2018). *Parámetros de extracción de aceite esencial de albahaca (Ocimum basilicum L.) por arrastre de vapor*. (Tesis de Maestría). Universidad Nacional del Altiplano (Perú).
- Bampouli, A., Kyriakopoulou, K., Papaefstathiou, G., Louli, V., Krokida, M., & Magoulas, K. (2014). Comparison of different extraction methods of Pistacia lentiscus var. chia leaves: Yield, antioxidant activity and essential oil chemical composition. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 1(3), 81-91.
- Bandoni, A. (2000). *Los Recursos Vegetales Aromáticos en Latinoamérica*. (1ª Ed.) Editorial de la Universidad Nacional de la Plata. Argentina. 417 p.
- Beltran, M., Peláez, E., Estrada, J., Escobar, J., Serna, I. y Ríos, D. (2010). Estudio Farmacognóstico para el cuidado de la salud a partir de aceites esenciales obtenidos por destilación de arrastre de vapor. *Investigaciones Andina*, 12(20), 9-18. <https://www.redalyc.org/pdf/2390/239016509002.pdf>
- Božović, M., Navarra, A., Garzoli, S., Pepi, F., & Ragno, R. (2017). Essential oils extraction: A 24-hour steam distillation systematic methodology. *Natural product research*, 31(20), 2387-2396.
- Cerpa, C. (2007). *Hidrodestilación de Aceites Esenciales: Modelado y Caracterización*. (Tesis doctoral). Universidad de Valladolid, España.
- Chirinos, M., Velásquez, R., Ascanio, C., Mata, J., & Carrasqueño, A. (2006). Obtención de aceites esenciales de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) a partir de tejidos cultivados in vivo e in vitro. *Revista de la Facultad de Agronomía UCV*, 35(1), 28-33.
- De Masi, L., Castaldo, D., Siano, F. & Laratta, B. (2006). Assessment of agronomic, chemical and genetic variability in common basil (*Ocimum basilicum* L.). *European Food Research and Technology*, 223(2), 273–281 DOI: 10.1007/s00217-005-0201-0
- Domínguez, X. A. (1998). *Métodos de investigación fitoquímica*. México: Editorial Limusa. 281 p.

- Dudareva, N., Negre, F., Nagegowda, D., y Orlova, I. (2006). Plant volátiles:Recent advances and future perspectives. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 25 417-440.
- Fonnegra, G. & Jiménez. R. (2007). Plantas medicinales aprobadas en Colombia. (2ª Edición). Editorial Universidad de Antioquia, Medellín. 371 p.
- Gennari, V. (1996). Aromatherapy: A Lifetime Guide to Healing With Essential Oils (Primera ed.). United States of America, Prentice Hall Direct. 399 p.
- Gesner, C. (1980). *Introducción a la bioquímica de los alimentos*. (2ª Ed.). Editorial El Manual Moderno S.A. pp. 219-226.
- González, J., González, H., González, P., & Rosales, R. (2011). Microextracción en fase sólida de compuestos volátiles en albahaca (*Ocimum basilicum* L.). *Redalyc*, 21(1), 17-22.
- Gunter, M. (1991). *Biogénesis de los aromas vegetales* (Vol. 2). Editorial Dragocco report.
- Günther, E. (1948). *The Essential Oils. History and Origin in Plants Production Analysis*. (Vol. 1). Krieger Publishing. United States of America. 452 p.
- Hay, R. y Waterman, P. (1993). *Volatile oil crops: the biology, chemistry and production*. Logman scientific & technical. 200 p.
- Lawrence, B. (1995). *A manual of essential oil industry. Capítulo 3: The Isolation of Aromatic Materials from Natural Plant Products*. Austria: Ed. Tuley De Silva. Pp. 57-154.
- Marotti, M., Piccaglia, R., & Giovannelli, E. (1996). Differences in Essential Oil Composition of Basil (*Ocimum basilicum* L.) Italian Cultivar Related to Morphological Characteristics. *J. Agricultural Food Chemistry*, 3926-3929.
- Montoya, C. G. (2010). *Aceites esenciales. Una Alternativa de Diversificación para el Eje Cafetero* (Primera ed.). Universidad Nacional de Colombia. DOI: I.S.B.N 958-8280-26-4
- Murillo, E., Fernandez, K., Sierra, D., & Viña, A. (2004). Caracterización físico-química del aceite esencial de albahaca. *Revista Colombiana de Química*, 3(2), 139-148.

- Özcan, M. & Chalchat, J. (2002). Essential oil composition of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum minimum* L. in Turkey. *Czech Journal of Food Sciences*, 20(6), 223-228.
- Padrini, F., & Lucheroni, M. (2000). *Aceites esenciales, para recuperar, el bienestar, la estabilidad, la belleza*. Editorial De Vecchi. Bardalona, España. 174 p.
- Patel, R., Singh, R., Rao, B., Singh, R., Srivastava, A., & Lal, R. (2016). Differential response of genotype×environment on phenology, essential oil yield and quality of natural aroma chemicals of five *Ocimum* species. *Industrial Crops and Products*, 87, 210-217.
- Ramírez, R., Angulo, R., Olivero, J., & Santafé, G. (2013). Relación entre la composición química y la actividad antioxidante del aceite esencial de *Ocimum basilicum* L. cultivado bajo diferentes tratamientos de fertilizante. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 18(1), DOI: 1028-4796
- Reyes, J., Patiño, J., Martínez, J. & Stashenko, E. (2007). Comparación de los metabolitos secundarios volátiles de dos especies de *Ocimum* sp. (Fam. Labiate), en función del método de su extracción. *Scientia et Technica*, 13(33), 121-123. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=84903328>
- Rivas, K., Rivas, C., & Gamboa, L. (2015). Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de albahaca (*Ocimum basilicum* L.). *Multiciencias*, 15(3), 281-289.
- Rodríguez, M., Alcaraz, L. & Real, S. (2012). Procedimientos para la extracción de aceites esenciales en plantas aromáticas. Proyecto SAGARPA-CONACYT. (1^a Ed.). Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. 47 p. Revisar referencia. INCOMPLETA
- Saldarriaga, L. (2014). *Diversidad Genética y Composición Química de los Aceites Esenciales de Acciones de Albahaca Ocimum sp. Cultivadas en el Valle Del Cauca. Colombia*, (Tesis de Maestría). Universidad Nacional del Altiplano.
- Shiwakoti, S., Saleh, O., Poudyal, S. Barka, A., Qian, Y. & Zheljazkov, V. (2017). Yield, composition and antioxidant capacity of the essential oil of sweet basil

and Holy basil as influenced by distillation methods *Chemistry & Biodiversity*, 14(4), 1-6. DOI: [10.1002/cbdv.201600417](https://doi.org/10.1002/cbdv.201600417)

Simon, J., Morales, M., Phippen, W., Fontes, R., & Hao, Z. (1999). *Basil: A Source of Aroma Compounds and a Popular Culinary and Ornamental Herb*. ASHS Press, 499-505.

Stashenko, E. (2009). *Aceites Esenciales*. (1ª Edición). Universidad Industrial de Santander. Colombia. <https://docplayer.es/17085233-Aceites-esenciales-primer-edicion-octubre-2009-isbn-978-958-44-5944-2-autor-elena-e-stashenko.html>

Zheljazkov, V., Cantrell, C., Tekwani, B., & Khan, S. (2008). Content, Composition, and bioactivity of the Essential Oils of Tree Basil Genotypes as a Function of Harvesting. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 56(2), 380-385.

5 CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE GENOTIPOS DE ALBAHACA (*Ocimum basilicum* L.)

RESUMEN

La albahaca es una hierba aromática cultivada en diversas regiones del mundo, por lo que existe una amplia variabilidad debido a la hibridación, poliploidía y aneuploidía lo que ha ocasionado una extensa diversificación de variedades, las cuales son nombradas conforme a sus características morfológicas o de acuerdo con la región geográfica donde se cultiva, lo cual puede llevar a una serie de confusiones taxonómicas. Debido a la gran importancia que representa este cultivo a nivel comercial, tanto desde el punto de vista medicinal como industrial se llevó a cabo la caracterización molecular de 16 variedades de albahaca mediante 19 iniciadores tipo ISSR. Se obtuvieron 181 bandas totales de las cuales 174 fueron polimórficas, lo que representó un porcentaje de polimorfismo del 96 %. Los perfiles moleculares obtenidos fueron codificados binariamente y se calculó la distancia genética de Jaccard ($1 - S$) entre pares de variedades. Se llevó a cabo un análisis de agrupamiento usando el método de varianza mínima de Ward y se construyó un dendrograma. A una distancia de corte de 0.75 se formaron tres grupos; aunque las variedades evaluadas presentaron una reducida variabilidad, los marcadores ISSR fueron efectivos para estimar la variabilidad genética existente entre variedades de albahaca.

Palabras clave: *Ocimum* sp., ISSR, variabilidad genética, ADN.

ABSTRACT

Basil is an aromatic herb cultivated in various regions of the world, so there is a wide variability due to hybridization, polyploidy and aneuploidy which have created an extensive diversification of varieties. They are named according to their morphological characteristics or due to their geographical region, which in turn could conduce to taxonomic confusion. Because this crop has a commercial, medicinal and industrial importance, a molecular characterization analysis of 16 basil varieties was carried out. By the use of 19 ISSR primers a total of 181 total bands were obtained, 174 of them were polymorphic, representing a 96 % of polymorphism. Fingerprints were used to estimate Jaccard's genetic distances ($1 - S$) between pairs of varieties. Clustering analysis was performed using Ward's minimum variance criterium and a dendrogram was constructed. Using a curt distance of 0.75 three groups were formed; Although the varieties evaluated showed reduced variability, ISSR markers were effective in estimating genetic variability among basil varieties.

Key words: *Ocimum* sp., ISSR, genetic variability, DNA.

INTRODUCCIÓN

La variabilidad genética se refiere a la variación hereditaria dentro y entre poblaciones de organismos. Su estudio es importante para la conservación, evaluación y utilización de los recursos genéticos (Franco et al., 2001). La variabilidad genética proporciona a una especie la habilidad de adaptarse a las modificaciones del medio ambiente (cambios climáticos, enfermedades, plagas, etc.) asegurando de esta manera su supervivencia (Danial & Rojas, 2017).

Las plantas en su estado natural tienen una dinámica evolutiva y están continuamente produciendo variabilidad. Tanto la variabilidad visible como la no-visible han sido usadas por el hombre para identificar, estudiar y utilizar las especies vegetales (Franco e Hidalgo, 2003). Esto quiere decir que hay una variabilidad que se puede detectar a simple vista y otra que, aunque no es visible fácilmente, también existe en la especie pero que requiere de técnicas especiales para ser detectada. Por ello, es primordial identificar cuál es el nivel de variabilidad que se intenta medir o describir con el fin de elegir las herramientas o métodos estadísticos más adecuados para analizar los datos resultantes de un estudio de caracterización (Franco e Hidalgo, 2003).

Una de las técnicas para la evaluación de la variabilidad genética existente en las poblaciones vegetales es el uso de los marcadores moleculares. Éstos se llevan a cabo mediante el análisis de fragmentos, matrices de hibridación o métodos basados en secuenciación del ADN (Loera, 2019).

Los marcadores moleculares permiten describir patrones genéticos en las poblaciones naturales a escalas que van desde individuos a especies. A partir de estos patrones, y aplicando la rica y extensa teoría evolutiva y de genética de poblaciones, se pueden hacer inferencias sobre los procesos demográficos y evolutivos que han actuado sobre la especie a distintas profundidades temporales (Godoy, 2009).

La toma de huellas dactilares de ADN con marcadores moleculares permite la identificación precisa, objetiva y rápida de cultivares y ha demostrado ser una

herramienta eficaz para la caracterización del germoplasma y su manejo (Chakravarthi & Naravaneni, 2006).

Los marcadores moleculares pueden ser dominantes o codominantes, en dependencia de los alelos que puedan identificar. Los marcadores dominantes (AFLP, RAPD, iPBS, SRAP e ISSR) no son capaces de identificar a los individuos heterocigotos, lo que constituye una limitación, pero tienen como ventaja que se pueden producir a bajo costo, sin que sea necesaria información sobre la secuencia de las especies objetivo (Loera, 2019). El carácter dominante o codominante determina el nivel de facilidad con que pueden llevarse a cabo estimaciones de parámetros genéticos y evolutivos tan básicos y de uso generalizado como, por ejemplo, frecuencias de recombinación, distancia de mapa, heterocigosidad, distancia evolutiva, etc. (Pérez, 1997).

Los microsatélites del tipo Inter Secuencias Simples Repetidas (ISSR por sus siglas en inglés Inter-Simple-Sequence-Repeat), son una variante de la técnica RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA-ADN polimórfico amplificado al azar), aunque probablemente son más rigurosos que ésta debido a la alta temperatura de alineamiento de los iniciadores utilizada (Robinson & Harris, 2000).

Las Inter Secuencias Simples Repetidas o ISSR están compuestos de una secuencia microsatélite como (GACA) n anclada al extremo 3' o 5' por dos a cuatro nucleótidos arbitrarios usualmente degenerados (Zietkiewicz et al., 1994). De esta manera se amplifica una región situada entre dos microsatélites cercanos que incluyan los nucleótidos complementarios. Los marcadores ISSR son informativos sobre las especies de las que no se dispone de secuencias del genoma y presentan una alta reproducibilidad (Morillo et al., 2018), además tienen la capacidad de examinar y diferenciar rápidamente entre individuos estrechamente relacionados entre sí (Zietkiewicz et al., 1994). Estos marcadores tienen la ventaja de generar grandes cantidades de bandas, por lo cual pueden distinguir accesiones relacionadas estrechamente de manera más confiable que otras técnicas y son menos caros que los RFLP ó RAPD (García, 2012).

Debido al potencial económico de especies medicinales y aromáticas, los estudios actuales se han centrado cada vez más en la caracterización de su germoplasma y

su conservación (Souza, 2015). El género *Ocimum* es cultivado ampliamente, y la hibridación natural o artificial conduce a la producción de diferentes niveles de ploidía, los cuales pueden dar origen a nuevas especies o subespecies, así como a distintas variedades que pueden o no ser morfológicamente diferentes (Chowdhury et al., 2017). Dentro de este género existen altos niveles de variabilidad química y morfológica debido a la hibridación interespecífica, poliploidía, y la existencia de quimiotipos o razas químicas que no difieren significativamente en morfología (Simón et al., 1990).

Aghaei et al., (2012) realizaron la caracterización molecular de 50 accesiones de albahaca iraní para evaluar la diversidad genética, utilizaron 12 marcadores ISSR lograron encontrar tres grupos usando el método de agrupamiento UPGMA y la distancia genética de Jaccard. El dendrograma obtenido agrupó a las accesiones con relación a características morfológicas como el color de la hoja.

En la Universidad de Agricultura Anand, en la India, Patel (et al., 2014) caracterizaron 17 genotipos de *Ocimum* pertenecientes a 5 especies diferentes (*O. basilicum*, *O. americanum*, *O. sanctum*, *O. gratissimum* y *O. polystachyon*) mediante 100 iniciadores RAPD y 20 iniciadores ISSR. Construyeron un dendrograma con base en la matriz de distancias usando método de grupo de pares no ponderados con promedios aritméticos (UPGMA), en el cual se conformaron seis grupos (con ambos iniciadores). Ambos marcadores mostraron polimorfismo y distinción clara de genotipos, siendo con los ISSR con los que se observó una variabilidad más amplia.

A pesar de los extensos estudios que se han realizado de caracterización molecular de albahaca, se cree que aún faltan cultivares por evaluar ya que existen diversas designaciones para una misma variedad y la confusión taxonómica prevalece debido a la hibridación inter/intraespecífica que existe. Con base en lo anterior el presente estudio tuvo como objetivo evaluar la variabilidad genética presente en 16 accesiones de *O. basilicum* L. mediante el uso de marcadores moleculares tipo ISSR para conocer el grado de similitud molecular existente entre las accesiones de albahaca en estudio y determinar si los marcadores permiten obtener buenas huellas genómicas de las variedades estudiadas.

5.1 Materiales y Métodos

5.1.1 Localización del sitio experimental

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Mejoramiento Genético Asistido del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo.

5.1.2 Material vegetal

Se cultivaron 16 variedades de albahaca de las cuales once se importaron de los Estados Unidos de América: Red Velvet, Licorice, Lime, Lettuce, Siam Queen, Blue Spicy, Mammoth, Dark Opal, Sweet Basil, Spice Globe y Holy; adicionalmente se incluyeron cinco variedades adquiridas de empresas nacionales que fueron: Limón, Canela, Hojas grandes de Italia, Thai y Morada (A. Red Velvet leaf B. Licorice C. Lime D. Lettuce E. Siam Queen F. Blue Spicy G.Mammoth H.Dark Opal I.Sweet Basil J.Spice Globe K.Limón L.Canela M. Italia N. Thai O. Morada P. Holy

Figura 12).



A. Red Velvet leaf B. Licorice C. Lime D. Lettuce E. Siam Queen F. Blue Spicy G.Mammoth H.Dark Opal I.Sweet Basil J.Spice Globe K.Limón L.Canela M. Italia N. Thai O. Morada P. Holy
Figura 12. Variedades de albahaca cultivadas bajo invernadero.

Cuadro 21. Características agronómicas de quince variedades de albahaca (*Ocimum basilicum* L.).

Variedad	Especie	Altura	Tamaño de la hoja	Color de hojas	Días a floración
Red Velvet	<i>O. basilicum</i>		mediana	púrpura	
Licorice	<i>O. basilicum</i>	53	mediana	verde-morado	102

Lime	<i>O. americanum</i>	45	pequeña	verde	
Lettuce	<i>O. basilicum</i>	41	grande	verde	105
Siam Queen	<i>O. basilicum</i>	50	mediana	verde	
Blue Spicy	<i>O. basilicum</i>	34	pequeña	verde	76
Mammoth	<i>O. basilicum</i>	41	grande	verde	103
Dark Opal	<i>O. basilicum</i>	43	mediana	púrpura	97
Sweet Basil	<i>O. basilicum</i>	60	grande	verde	
Spice Globe	<i>O. basilicum minimum</i>	30	pequeña	verde	
Limón	<i>O. basilicum citrodorum</i>	33	mediana	verde	76
Canela	<i>O. basilicum</i>	44	mediana	verde	86
Italia	<i>O. basilicum</i>	46	grande	verde	104
Thai	<i>O. sanctum</i>	41	pequeña	verde	82
Morada	<i>O. sanctum</i> Linn	50	mediana	verde- morada	
Holy	<i>O. tenuiflorum</i>	37	pequeña	verde	98

5.1.3 Siembra

La siembra se realizó el 12 de mayo de 2021 en charolas de poliestireno de 200 cavidades en las cuales se usó como sustrato peat moss y perlita en una proporción de 2:1 respectivamente. Por cada variedad se sembraron 224 semillas de las cuales se colocaron una semilla por cavidad a una profundidad de 0.3 cm. Después de la siembra, las charolas se ubicaron dentro de un invernadero localizado en el Campo Agrícola Experimental de San Ignacio de la Universidad Autónoma Chapingo, la cual se encuentra a una altitud de 2250 msnm. Las charolas fueron regadas una vez al día.

5.1.4 Toma de muestras

A los 30 días después de la siembra se colectaron hojas jóvenes de cada variedad las cuales se colocaron en bolsas plásticas resellables etiquetadas las cuales habían sido previamente desinfectadas con alcohol al 70 %. Las muestras fueron colocadas en refrigeración y transportadas al Laboratorio de Mejoramiento Asistido del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo.

5.1.5 Extracción y purificación de ADN

La extracción de ADN se llevó a cabo con el método CTAB. Se pesaron 0.5 g de material vegetal, se colocaron en un mortero al cual se le añadió nitrógeno líquido hasta cubrir por completo el material vegetal de cada muestra y se trituró hasta obtener un polvo fino, el cual fue transferido con una espátula metálica a tubos Eppendor de 1.5 mL con 600 μL de amortiguador de extracción CTAB y mercaptoetanol. Se agitaron por inversión hasta homogenizar, se calentaron a 65 °C durante 10 minutos; se les adicionaron 200 μL de acetato de potasio y se dejaron enfriar por 60 minutos en refrigeración a -20 °C. Posteriormente se centrifugaron a 21000 xg por 10 minutos, el sobrenadante se transfirió a tubos de 1.5 mL a los cuales se les adicionó 4 μL de ARNasa (10 mg mL⁻¹) por tubo, los cuales se agitaron y se dejaron incubar durante 20 minutos a temperatura ambiente. Transcurrido ese tiempo se agregó cloroformo: alcohol isoamílico (24:1), se agitaron ligeramente y se centrifugaron a 21000 xg durante 5 minutos; luego se transfirió la fase acuosa a tubos con 500 μL de isopropanol frío, se agitaron levemente y se colocaron en refrigeración a -20 °C durante 30 minutos. Posteriormente las muestras se centrifugaron por 5 minutos a 8000 xg, se les decantó el sobrenadante y se dejó secar la pastilla de ADN a temperatura ambiente. Finalmente, la pastilla obtenida se disolvió en 40 μL de TE (pH 8) y se almacenaron las muestras a 4 °C.

5.1.6 Cuantificación y calidad de ADN

La cuantificación del ADN se efectuó utilizando 5 μL por muestra midiendo su densidad óptica (ng μL^{-1}) con un NanoDrop (Thermo Fisher Scientific, DNA Factor: 50) a una longitud de onda de 260 nm. Una vez conocida la concentración por

muestra, se procedió a tomar alícuotas de 200 μL y a realizar las diluciones necesarias para obtener una concentración uniforme de 10 $\text{ng } \mu\text{L}^{-1}$ de ADN.

Para las pruebas de calidad de ADN se utilizaron iniciadores específicos para el gen 16S, se efectuó una electroforesis en gel de agarosa al 1.8 % a 100 voltios por 40 minutos. El gel se sumergió en una solución amortiguadora TAE 0.25X en la cámara de electroforesis y cada pozo se cargó con una mezcla de 8 μL de ADN y 2 μL de amortiguador de carga, para proporcionar una mayor densidad a la muestra y con ello mejorar su posterior visualización. Enseguida el gel fue teñido con bromuro de etidio ($0.5 \mu\text{g mL}^{-1}$) durante 20 minutos y se fotodocumentó mediante un transiluminador de UVP Digidoc-It® Imaging System.

5.1.7 Obtención de los patrones ISSR

Inicialmente se utilizaron 19 iniciadores ISSR previamente probados en estudios anteriores de caracterización de albahaca, de los que se eligieron 14 que produjeron bandas claras y bien definidas (Cuadro 22).

Cuadro 22. Secuencia y temperaturas de alineamiento de los iniciadores empleados para la obtención de perfiles ISSR.

Iniciador	Secuencia 5'- 3'	T (°C)	Iniciador	Secuencia 5'- 3'	T (°C)
ISSR 1	(CA) ₈ AAGG	60	ISSR 9	(AG) ₈ C	52
ISSR 3	(GA) ₈ CTC	58	ISSR 10	(GA) ₈ T	50
ISSR 4	(AG) ₈ CTC	58	LOL 8	(GT) ₆ CC	44
ISSR 5	(AC) ₈ CTA	56	LOL 9	(CAC) ₃ GC	38
ISSR 6	(AC) ₈ CTG	58	PVH 6	CCA(CT) ₈	58
ISSR 7	(AG) ₈ CTG	58	MESL 1	(CA) ₆ GG	44
ISSR 8	(AC) ₈ CTT	56	MESL 2	(GA) ₆ GG	44

Para llevar a cabo las reacciones de PCR se procedió a preparar una mezcla de reacción madre con los componentes detallados en el **¡Error! La autoreferencia al marcador no es válida.** en dos tubos Eppendorf de 1.5 mL, Luego se tomaron 22.5 μL para ser colocados en tubos Eppendorf de 0.2 mL, a los cuales se les adicionaron 3 μL de ADN para completar un volumen total de reacción de 25 μL por muestra.

Durante este proceso las muestras y la mezcla de mantuvieron en rejillas frías para evitar la desnaturalización del ADN.

Cuadro 23. Cuadro. Componentes de la mezcla de la reacción madre para PCR.

Reactivos	Inicial	Final	Reacción (1X)
Agua	-----	-----	3.7 μL
dNTPs	500 μM c/u	200 μM	10 μL
Amortiguador	10x	1X	2.5 μL
Mg Cl_2	50 mM	3 mM	3 μL
Iniciador	10 ng μL^{-1}	30 ng	3 μL
ADN Taq Pol	5 U μL^{-1}	1.5 U/reacción	0.3
ADN	10 ng μL^{-1}	25 ng	2.5 μL
		total	25.0 μL

La mezcla de reacción se homogenizó por inversión y las muestras se colocaron en un termociclador (Veriti Applied Biosystems®) bajo el siguiente programa: un ciclo de pre-desnaturalización inicial a 94 °C durante 3 minutos; 40 ciclos continuos a 94 °C durante 30 segundos para desnaturalizar; un ciclo de alineamiento usando la temperatura recomendada para cada iniciador (Cuadro 22) por 1 minuto; un ciclo de extensión de 1 minuto a 72 °C y un ciclo de extensión final a 72 °C durante 6 minutos.

Los productos obtenidos por amplificación se separaron mediante electroforesis en un gel de agarosa al 1.8 %, el cual se preparó con 2.16 g de agarosa y 120 mL de TAE 1X. Una vez gelificado, se colocó en la cámara de electroforesis y se agregó TAE 0.25 X como amortiguador de la carga eléctrica. Los pozos se cargaron con las 16 muestras de ADN combinadas con el colorante azul de metileno y en los extremos se cargó un marcador de peso molecular.

La electroforesis se realizó por 40 minutos a un voltaje de 100 V. Se retiró el gel y se tiñó con bromuro de etidio ($0.5 \mu\text{g mL}^{-1}$) para poder visualizar los amplicones y luego se procedió a capturar la imagen por medio de un transiluminador de luz UV.

Este procedimiento se repitió para cada uno de los 19 iniciadores seleccionados (Figura 13).

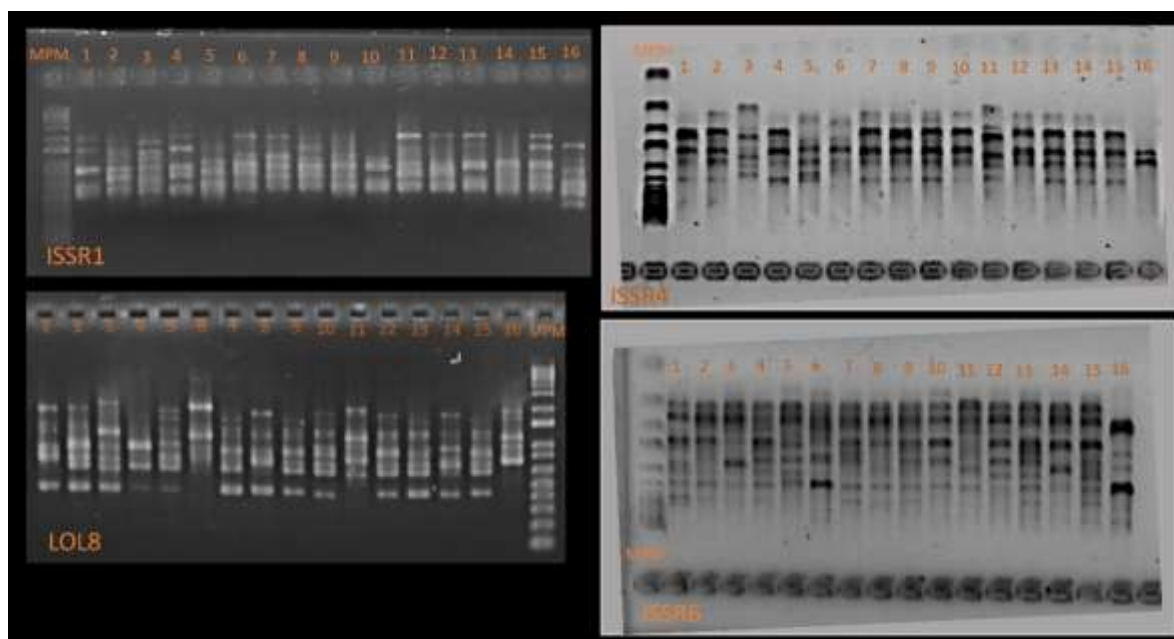


Figura 13. Perfiles moleculares obtenidos con los iniciadores ISSR1, ISSR4, LOL8 e ISSR6 en 16 variedades de albahaca. (1, 2, 3...16: accesiones de albahaca; MPM: marcador de peso molecular).

5.1.8 Análisis estadístico

Los perfiles de bandeo obtenidos fueron codificados en una matriz básica de datos (MBD) en la cual se asignó un valor de 0 a la ausencia y 1 a la presencia de bandas, a partir de la cual se llevaron a cabo los diferentes análisis. En primer lugar, se procedió a calcular las distancias genéticas de Jaccard ($1 - S$) entre pares de accesiones y luego se realizó un análisis jerárquico de agrupamiento usando el método de la varianza mínima de Ward. Los resultados obtenidos se representaron en un dendrograma. La altura de la línea de corte se determinó mediante las pseudoestadísticas T^2 (Hotelling, 1951) y la pseudo F (Johnson, 1998) usando el programa estadístico de SAS, ver 9.4.

Con el objetivo de identificar los iniciadores que brindan mayor información en la comparación entre variedades se efectuó un análisis descriptivo de los marcadores ISSR mediante el programa Infogen® de la Universidad de Córdoba, Argentina. Para ellos se estimaron las siguientes variables: número de bandas polimórficas

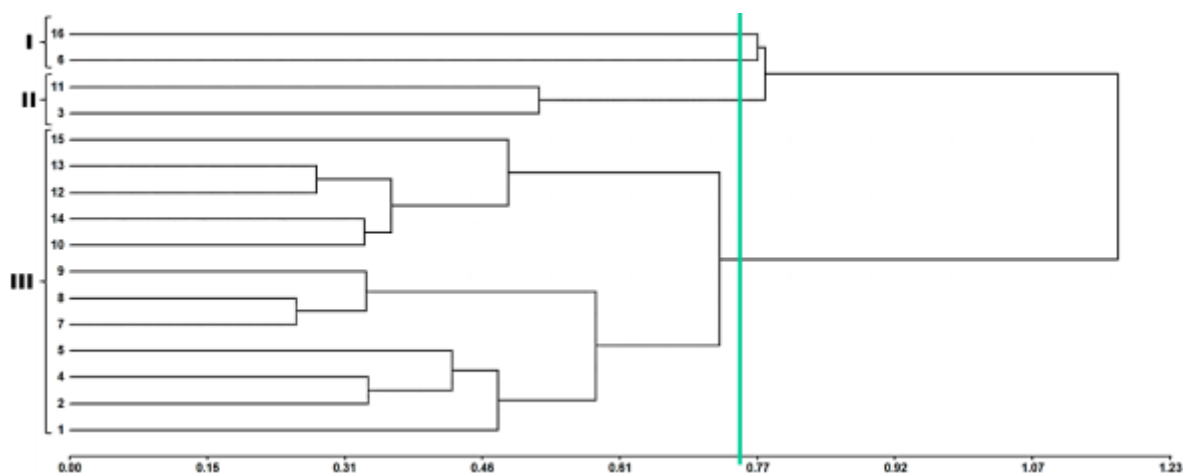
(BM), monomórficas (BM), y totales (BT), la proporción de loci polimórficos (PMF (95)), el contenido de información polimórfica promedio (PIC), error estándar del PIC (EE), el porcentaje de amplificación (AMP) y la probabilidad que dos individuos compartan el mismo alelo por azar (PDICMA).

5.2 Resultados y Discusión

5.2.1 Análisis de agrupamiento

Mediante la MBD se calcularon las distancias genéticas de Jaccard ($1 - S$) entre pares de variedades realizando un análisis de agrupamiento utilizando el método de varianza mínima de Ward con lo cual se generó un dendrograma ((1) Red Velvet, (2) Licorice, (3) Lime, (4) Lettuce, (5) Siam Queen, (6) Blue Spicy, (7) Mammoth, (8) Dark Opal, (9) Sweet Basil, (10) Spice Globe, (11) Limón, (12) Canela, (13) Hojas grandes de Italia, (14) Thai, (15) Morada, (16) Holy.

Figura 14) donde se agruparon las 16 accesiones estudiadas en este experimento.



(1) Red Velvet, (2) Licorice, (3) Lime, (4) Lettuce, (5) Siam Queen, (6) Blue Spicy, (7) Mammoth, (8) Dark Opal, (9) Sweet Basil, (10) Spice Globe, (11) Limón, (12) Canela, (13) Hojas grandes de Italia, (14) Thai, (15) Morada, (16) Holy.

Figura 14. Dendrograma de 16 variedades de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) creado con la distancia de Jaccard ($1-S$) y el método de varianza mínima de Ward.

La línea de corte se estableció a una distancia de 0.75 con lo que se formaron tres grupos. Se puede apreciar que la variedad Holy (16) fue el material más alejado genéticamente del resto de las variedades evaluadas, el cual se asoció a una distancia de 0.77 con la variedad Blue Spicy (6). Estos materiales presentaron similitudes morfológicas en el tamaño de sus hojas, pequeñas y con pubescencia y

ambas provinieron de Estados Unidos. Estos resultados coinciden con los encontrados por Aghaei *et al.*, 2012, quienes encontraron que las accesiones de albahaca se clasificaron dentro de grupos con base en el color de la hoja. El grupo II se conformó con las variedades Lime (3) y Limón (11) a una distancia de 0.52, las cuales comparten características morfológicas muy similares, lo que podría sugerir que se trata de la misma variedad. Durante la fase de cultivo en campo se detectó un aroma cítrico muy similar en ambas variedades. El resto de las 12 variedades evaluadas quedaron dentro del grupo III, lo cual sugiere en principio que existe poca variabilidad genética entre ellas. Las variedades Italia (13) y Canela (12) fueron las que presentaron una mayor cercanía genética entre ellas (0.28). La variedad Thai (14) y Spice Globe (10) (0.33) se unen al clado anterior a una mayor distancia y se les añade la variedad Morada (15) (0.50) dentro del mismo grupo. Cabe mencionar que las variedades agrupadas en el clado III no comparten características morfológicas visibles; sin embargo, se observó que dentro de este grupo, las variedades se ubicaron en cierto sentido de acuerdo a su origen geográfico ya que las accesiones adquiridas en México quedaron todas ellas agrupadas en la parte superior del grupo III, con la única excepción de la variedad Spice Globe (10) de origen estadounidense, por lo que la asociación de esta variedad con Thai (14) podría deberse a algún componente químico en común (quimiotipo) o a otra característica no visible. En el grupo III también se localizaron las variedades de origen estadounidense Dark Opal (8) y Mammoth (7), las cuales presentaron una distancia entre sí de 0.50, lo cual sugiere que, aunque son de diferente color y tamaño, además de compartir el origen geográfico posiblemente compartan similitudes químicas u otras características no visibles. Otra agrupación interesante se presentó entre las variedades Lettuce (4) y Licorice (2) (0.33), variedades que mostraron similitud morfológica en el tipo de hoja elíptica y con margen aserrado. A una mayor distancia genética (0.43) se presentaron las variedades Dark Opal (8) y Red Velvet (1), ambas de color púrpura y con características morfológicas similares. La baja variabilidad genética entre el grupo mayoritario III de variedades podría deberse a la propagación autógama de la albahaca cultivada, la cual consecuentemente reduce la variabilidad de las plantas dentro de una población,

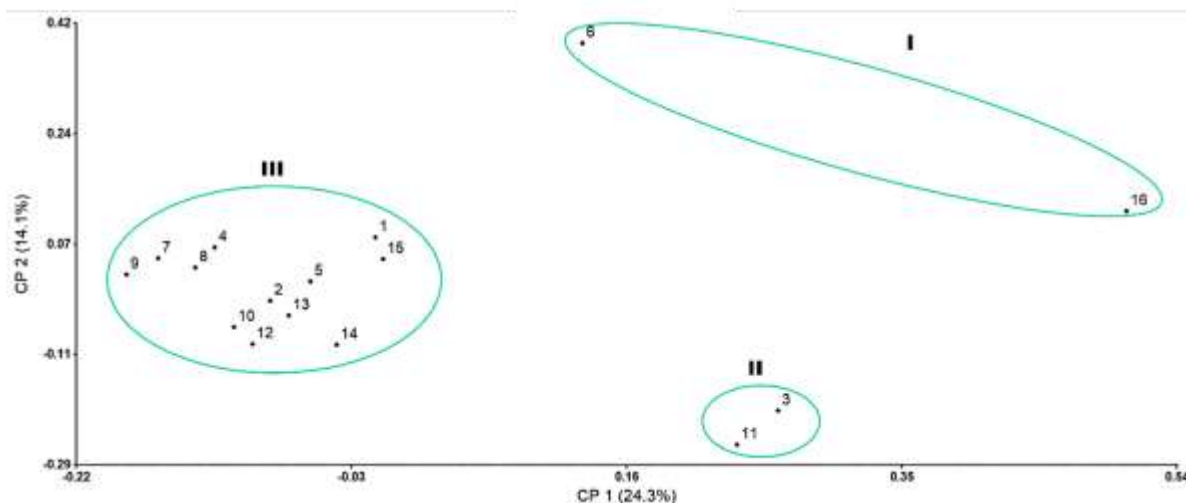
así como a la reducción de la biodiversidad esperada en los cultivares utilizados en agricultura, ya que los productores utilizan menos genotipos para la producción de semillas (Darrah, 1980). Previamente se ha reportado que el comportamiento de los insectos polinizadores, los mecanismos de dispersión de las semillas, la discontinuidad geográfica y la selección humana tienen una influencia drástica en el establecimiento de la estructura genética de las poblaciones de plantas (Zamora et al., 2015).

En el trabajo realizado por Alves et al., (2019) en 27 accesiones de albahaca se calculó la diversidad genética con base a el índice de disimilitud de Jaccard utilizando el método de agrupamiento de Ward resultando en 4 grupos distintos, con un punto de corte aproximado de 0.70. En el primer grupo se ubicaron un alto número de accesiones de origen italiano; sin embargo, se encontró un bajo nivel de variabilidad genética. El resto de los grupos se formaron de acuerdo con el componente químico mayoritario en el aceite esencial de las variedades.

Por su parte Aghaei et al., (2012) analizaron 50 accesiones de albahaca colectadas en diferentes regiones geográficas de Irán. El dendrograma se obtuvo a partir del método UPGMA basado en el índice de similitud de Jaccard y se conformaron 3 grupos, los cuales tuvieron en común el color de la hoja: por lo que en el primer grupo se localizaron variedades de hojas púrpuras y otras con hojas verdes y venas moradas, mientras que en el segundo grupo se agruparon variedades de hojas verdes. Las variedades de color púrpura son demandadas en la industria alimenticia ya que se emplean para aromatizar la comida.

5.2.2 Análisis de coordenadas principales

Con el objetivo de corroborar los agrupamientos obtenidos en el dendrograma se procedió a realizar un análisis multivariado de ordenación por coordenadas principales. Este tipo de análisis, también llamado escalamiento multidimensional métrico es muy utilizado para la ordenación ya que permite trabajar con datos de marcadores de distinta naturaleza continuos o binarios y se usa para mostrar las relaciones definidas por distancias o similitudes en un espacio de baja dimensión (Balzarini et al., 2006)



(1) Red Velvet, (2) Licorice, (3) Lime, (4) Lettuce, (5) Siam Queen, (6) Blue Spicy, (7) Mammoth, (8) Dark Opal, (9) Sweet Basil, (10) Spice Globe, (11) Limón, (12) Canela, (13) Hojas grandes de Italia, (14) Thai, (15) Morada, (16) Holy.

Figura 15. Representación bidimensional del análisis de coordenadas principales de 16 accesiones de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) usando la distancia genética de Jaccard.

En la (1) Red Velvet, (2) Licorice, (3) Lime, (4) Lettuce, (5) Siam Queen, (6) Blue Spicy, (7) Mammoth, (8) Dark Opal, (9) Sweet Basil, (10) Spice Globe, (11) Limón, (12) Canela, (13) Hojas grandes de Italia, (14) Thai, (15) Morada, (16) Holy.

Figura 15 se observa la formación de tres grupos, el grupo I formado por las variedades Blue Spicy (6) y Holy(16) las cuales presentaron la mayor distancia con respecto al resto de las accesiones lo cual sugiere que estos materiales podrían ser genéticamente muy distintos al resto de las líneas probadas y por tanto podría resultar de interés dentro de un programa de mejoramiento genético por hibridación de este cultivo, ya que la heterosis de los híbridos está en función directa a la disimilitud genética de los padres que le dieron origen (Zeid et al., 2004).

El Grupo II se conformó por las variedades de tipo cítrico Limón (11) y Lime (3), las cuales también se separaron claramente del resto, por lo que también podrían ser buenas candidatas como progenitores potenciales de híbridos. Finalmente, el grupo III estuvo integrado por el resto de las 12 variedades estudiadas, sin embargo, se aprecia que las variedades originarias de México (12, 13 y 14) tendieron a agruparse entre sí en la parte inferior del tercer cuadrante, mientras que las variedades procedentes de los Estados Unidos se localizaron en la parte superior.

5.2.3 Descriptiva de marcadores

Con el objetivo de identificar los iniciadores ISSR que proporcionan mayor información genética en albahaca se llevó a cabo un análisis descriptivo de éstos (Cuadro 24). Se observa que ninguna de las muestras analizadas se encuentra duplicada, lo cual indica que todas las variedades fueron diferentes entre sí y por tanto resultaría conveniente conservarlas en un banco de germoplasma para su eventual uso en próximos estudios que se realicen sobre este cultivo.

Los 19 iniciadores utilizados produjeron un total de 181 bandas, de las cuales 174 fueron polimórficas, lo cual representó un total de 96.13 % de polimorfismo, con un promedio de 10 bandas polimórficas por iniciador. Los iniciadores con mayor número de bandas amplificadas fueron ISSR6 (17 bandas) y LOL8 (16 bandas). El mayor contenido de información polimórfica (PIC) se obtuvo con el iniciador LOL10 (0.35), seguido por LOL2 e ISSR2 (0.29). Este primer iniciador también fue el que presentó la mayor amplificación a través de todas las variedades (76.56), mientras que LOL2 presentó la menor probabilidad de que dos individuos compartan el mismo alelo por azar (PDICMA), lo cual lo hace muy confiable para la identificación y diferenciación de cada individuo dentro de la especie. Por lo que estos iniciadores fueron los que proporcionaron la mayor información sobre la variabilidad genética de este cultivo de manera que serían los de mayor interés a considerar en futuros estudios moleculares de albahaca.

Cuadro 24. Descriptiva de marcadores ISSR utilizados para la obtención de los perfiles moleculares de 16 variedades de albahaca (*Ocimum basilicum* L.)

Primer	BP	BM	BT	PMF(95)	PIC	E.E.	AMP	PDICMA
ISSR8	12	0	12	1	0.19	0.03	51.56	5.30E-07
LOL2	4	0	4	1	0.29	0.01	39.06	7.90E-16
LOL9	8	0	8	1	0.23	0.02	34.38	2.60E-08
LOL10	2	2	4	0.5	0.35	0.01	76.56	1.90E-06
LOL12	5	0	5	1	0.23	0.02	28.75	5.40E-12
ISSR5	12	0	12	1	0.29	0.03	42.71	1.90E-12
ISSR4	14	0	14	1	0.22	0.02	36.16	4.10E-08
ISSR6	16	1	17	0.94	0.25	0.03	43.75	4.10E-09
ISSR7	13	0	13	1	0.29	0.02	36.54	4.20E-13
ISSR1	13	0	13	1	0.26	0.02	30.29	7.80E-12
LOL7	5	1	6	0.83	0.27	0.01	50	8.70E-09
LOL8	16	0	16	1	0.29	0.02	32.03	9.80E-14

MESL1	9	0	9	1	0.18	0.01	32.64	2.20E-07
MESL2	5	2	7	0.71	0.21	0.02	63.39	3.20E-05
PVH6	14	1	15	0.93	0.24	0.03	47.92	1.00E-08
ISSR9	6	0	6	1	0.2	0.01	48.96	6.60E-07
ISSR10	7	0	7	1	0.21	0.01	38.39	7.00E-08
ISSR2	1	0	1	1	0.11	0	93.75	3.70E-06
ISSR3	12	0	12	1	0.22	0.02	39.58	2.30E-08
Total	174	7	181				41.61	2.80E-164

BP: bandas polimórficas; BM: bandas monomórficas; BT: bandas totales; PMF(95): proporción de loci polimórficos; PIC: contenido de información polimórfica; E.E.: error estándar; AMP: porcentaje de amplificación; PDICMA: probabilidad de que dos individuos compartan el mismo alelo por azar

Los resultados obtenidos en el presente estudio difieren de los reportados por Alves et al., (2019) quienes analizaron 27 genotipos de Brasil y encontraron un PIC de 0.89, muy superior al encontrado en este estudio (PIC = 0.238). Esta discrepancia probablemente se deba al menor número de accesiones analizadas en este estudio (16). Asimismo, el bajo nivel de variabilidad encontrado en este trabajo nuevamente sugiere que la mayoría de las variedades evaluadas fueron genéticamente muy similares entre sí, de ahí el reducido número de grupos conformados.

5.3 Conclusiones

Los marcadores ISSR fueron efectivos para discriminar entre individuos dentro de la especie y estimar la variabilidad genética existente entre variedades de albahaca. En el presente trabajo las variedades evaluadas presentaron una reducida variabilidad la cual no tuvo relación con la procedencia geográfica ni con su composición química.

LITERATURA CITADA

- Alves, R., Silva, A., Almeida, C., Costa, T., Alvares, S., Arrigoni, M. & Blank, A. (2019). Genetic divergence in basil cultivars and hybrids. *Horticultura Brasileira*, 37, 180-187. DOI - <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-053620190208>
- Aghaei, M., Darvishzadeh, R., & Hassani, A. (2012). Molecular characterization and similarity relationships among Iranian basil (*Ocimum basilicum* L.) accessions using inter simple sequence repeat markers. *Revista Ciencia Agronomica*, 43(2), 312-320.
- Balzarini, M., Arroyo, A., Bruno, C., & Di Rienzo, J. (2006). Análisis de datos moleculares con Info-Gen. Universidad Nacional de Córdoba-Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Argentina. 97 p.
- Chakravarthi, K., Naravaneni, R. (2006). SSR marker-based DNA fingerprinting and diversity study in rice (*Oryza sativa* L.). *African Journal of Biotechnology*, 5, 684-988.
- https://www.researchgate.net/publication/289832053_SSR_marker_based_DNA_fingerprinting_and_diversity_study_in_rice_Oryza_sativa_L
- Chowdhury T, Mandal A, Roy, S. & Sarker D. (2017). Diversity of the genus *Ocimum* (Lamiaceae) through morpho-molecular (RAPD) and chemical (GC-MS) analysis. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 15(1), 275-286.
- Danial, D., & Rojas, B. (2007). *Uso de Marcadores Moleculares en el Mejoramiento Genético de las Plantas*. (1ª Ed.). Ed. Fundación FREDUZA-WU. 199 p.
- Darrah, H. (1980). *The Cultivated Basils*. Buckeye Print Company, Columbus, U.S.A. 40 p.
- Franco, T., & Hidalgo, R. (2003). *Análisis Estadístico de Datos de Caracterización Morfológica de Recursos Fitogenéticos*. International Plant Genetic Resources Institute. Boletín Técnico no. 8. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), 90 p. ISBN: 978-92-9043-543-3.
- Franco, J., Crossa, J., Ribaut, M., Betran, J., Warburton, M. L., & Khairallah, M. (2001). A method for combining molecular markers and phenotypic attributes

- for classifying plant genotypes. *Theoretical and Applied Genetics* 103(6), 944-952. DOI:10.1007/s001220100641
- García, N. L. (2012). *Caracterización morfológica y molecular de 34 colectas nativas de jitomate (Solanum lycopersicum L.)*. (Tesis de Maestría). Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. 56 p.
- Godoy, J. A. (2009). La genética, los marcadores moleculares y la conservación de especies. *Revista Ecosistemas*, 18(1), 23-33.
<https://www.revistaecosistemas.net/index.php/ecosistemas/article/view/73>
- Loera, M., Studer, B. & Kölliker, R. (2019). DNA-Based assessment of genetic diversity in grassland plant species: challenges, approaches, and applications. *Agronomy*, 9(12), DOI:
<https://doi.org/10.3390/agronomy9120881>
- Morillo, A.C., González, J., & Morillo, Y. (2018). Caracterización de la diversidad genética de uchuva (*Physalis peruviana* L.). *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 16, 26-33. Doi: 10.18684/bsaa.v16n1.631
- Patel, R., Singh, R., Rao, B., Singh, R., Srivastava, A., & Lal, R. (2016). Differential response of genotype×environment on phenology, essential oil yield and quality of natural aroma chemicals of five *Ocimum* species. *Industrial Crops and Products*, 87, 210-217.
- Pérez, M. (1997). *Marcadores moleculares, variabilidad genética y evolución* 3° Simposio Científico en Biología Celular y Molecular. Coruña, España. Coord. Josefina Méndez Felpeto. Pp. 247-266. Robinson, J.; Harris, S. A. (2000). A chloroplast DNA phylogeny of the genus *Acacia* Miller (Acacieae, Leguminosae). *Botanical Journal of the Linnean Society*. 132:195-222.
- Simon E., Quinn J., & Murray, R. (1990) *Basil: a source of essential oils*. In: Janick J, Simon JE (eds) *Advances in new crops*. Timber, Portland, pp 484–989.
- Souza, D. 2015. Técnicas moleculares para caracterização e conservação de plantas medicinais e aromáticas: uma revisão. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 17, 495-503.

- Vallejo, F., & Estrada, E. (2002). *Mejoramiento Genético de Plantas*. Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira. 402 p.
- Zamora, M., Sandoval, I., Chávez, A., Pérez, J. & Vargas, O. (2019). Complete chloroplast genome of *Physalis chenopodifolia* Lam. (Solanaceae). *Mitochondrial DNA, Part B*, 5, 162-163.
- Zietkiewicz E, Rafalski A., & Labuda D. (1994). Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20, 176–18. <https://doi.org/10.1006/geno.1994.1151>