

UNIVERSIDAD DE MATANZAS
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS



Tesis en opción al título de Ingeniero Agrónomo

Título: Estado de la colección *ex situ* de *Diospyros Crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. en la Estación Experimental AgroForestal de Itabo.

Autora: Leyanet Marín Pascua

Tutoras: MSc. Lenia Robledo Ortega

MSc. Yamilé Rodríguez Bárzaga.

Matanzas, 2018

Pensamiento:

La felicidad de los hombres y de los pueblos, está en el conocimiento de la naturaleza.

José Martí

Declaración de Autoridad:

Declaro que yo, Leyanet Marín Pascua soy la única autora de este Trabajo de Diploma, en calidad de lo cual autorizo a la Universidad de Matanzas a hacer uso del mismo con la finalidad que estime pertinente.

Firma

Dedicatoria:

A mis padres por incentivar me a seguir estudiando, por su amor, compañía e incondicional apoyo en el transcurso de la carrera.

A mi familia y a mi abuela especialmente por estar a mí lado en todo momento.

A mis profesores por su gran apoyo en especial a mis dos tutoras MSc. Lenia Robledo Ortega y MSc. Yamilé Rodríguez Bárzaga y al profesor Yunel Pérez Hernández por el tiempo dedicado.

Agradecimientos:

- ❖ En general a toda mi familia en especial a mis padres por dedicarme tanto tiempo de sus vidas.
- ❖ A mis compañeras, amigas y primas que estuvieron siempre en las buenas y en las malas.
- ❖ A mis tutoras MSc. Lenia Robledo Ortega y MSc. Yamilé Rodríguez Bárzaga por su ayuda, comprensión y dedicación.
- ❖ Al profesor Yunel Pérez Hernández por el tiempo dedicado.
- ❖ A todos los profesores de la facultad en general que han influido en mi formación como profesional.
- ❖ En fin, gracias a todos por su apoyo.

Opinión del Tutor

La tesis de Diploma presentada en opción al título de Ingeniero Agrónomo se titula: Estado de la colección *ex situ* de *Diospyros crassinervis*(Krug & Urb.) Standl.en la Estación Experimental AgroForestal de Itabo, es resultado de la labor científica de la estudiante Leyanet Marín Pascua.

Los estudios morfoanatómicos, fitoquímicos y detección de enfermedades en la estructura foliar contribuyen a incrementar la información sobre la caracterización de la especie, ya que manifiesta un aporte en su composición estructural. Además, permite evaluar las potencialidades para posibles usos de los compuestos químicos detectados para el desarrollo en diferentes esferas.

La especie *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl.es endémica de las Antillas y categorizada en Preocupación menor, de la cual se tiene muy poca información actualizada.

Con el intercambio de ambas entidades y el trabajo en equipo se logrará el mantenimiento de la colección *ex situ*, así como el incremento de la reproducción, hasta llegar a incorporarla a las áreas naturales, que permitan su conservación para dar cumplimiento a la tarea vida en la cual todos estamos comprometidos.

La aspirante Leyanet Marín Pascua en su labor profesional ha realizado la investigación con profundidad en aspectos interesantes para el conocimiento de la ciencia.

Se inició en el grupo científico del departamento y la sistematicidad en sus tareas la mantuvo activa en la participación en eventos, jornadas científicas y talleres propicios para el trabajo con las líneas de investigación del Jardín Botánico.

En el desempeño se demuestra la preparación de manera independiente para el logro de los objetivos propuestos, la entrega y el interés alcanzado la harán una trabajadora responsable en el lugar donde preste sus servicios. Los resultados obtenidos y todo lo expuesto anteriormente, la hacen merecedora del Título de Ingeniera Agrónoma.

Resumen

La conservación de la biodiversidad es una misión importante para los Jardines Botánicos y así ocurre en el Jardín Botánico de Matanzas donde se desarrollan especies amenazadas y otras que son valiosas por otros usos y necesitan estar en colecciones *ex situ*. Este es el caso de *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. ébano carbonero que es un endemismo de las Antillas y aunque es una especie que se encuentra categorizada de Preocupación Menor, las características morfológicas de su madera preciosa, dura y negra hacen que sea explotada por la acción antropogénica de manera indiscriminada. Los estudios realizados con muestras recolectadas de la colección *ex situ* de la Empresa Estación Experimental Agro Forestal de Itabo del municipio de Martí en la provincia de Matanzas, fueron comparados con los reportes de otras áreas de Cuba y aportan información actualizada para la conservación de la especie y su manejo posterior. Se determinó con los estudios fitoquímicos la presencia de terpenoides, taninos y saponinas, además, de otros metabolitos bien representados como los flavonoides, los flobataninos y los glucósidos cardiotónicos. El resultado de la investigación aporta datos importantes para el tratamiento de la colección *ex situ* de la institución y la conservación de la especie en áreas naturales.

Palabras clave: Conservación, estructura foliar, fitoquímica.

Summary

The biodiversity's conservation is an important mission for the Botanical Gardens and that way happens at Matanzas's Botanical Gardens where threatened sorts and another one that are valuable for other uses and need to be in *former* collections develop *situ*. This is *Diospyros crassinervis* (Krug and Urb.) Standl's case they make coal ebony that an endemismo of the West Indies and although it is a sort that you find categorized of Younger Preocupación, the morphologic characteristics of your precious, hard and black wood is that antropogénica of indiscriminate way be exploited by the action. The studies accomplished with signs gathered of the *former* collection company *situ* Experiment Station Forestal Itabo's Agriculture of Martí's municipality at Matanzas's province, areas of Cuba were compared to the reports of another one and contribute information updated for the conservation of the sort and their later handling. The presence of terpenoides, tannins and saponinas determined with the studies fitoquímicos itself, besides, of other metabolitos well represented like the flavonoides, the flobataninos and glucosides cardiotónicos. The result of investigation contributes important data for the treatment of the *former* collection *situ* of the institution and the conservation of the sort in natural areas.

Key words: Conservation, structure foliating, fitoquímica.

Índice

1. Introducción.....	1
Hipótesis.....	2
Objetivo General.....	3
Objetivos Específicos.....	3
2. Revisión Bibliográfica.....	4
2.1 Familia <i>Ebenaceae</i> . Género <i>Diospyros</i> . Especie <i>Diospyros crassinervis</i> (Krug & Urb.) Standl. Características botánicas.....	4
2.2 Taxonomía.....	4
2.3 Distribución del género y especie.....	5
2.4 Endemismo.....	6
2.5 Usos de la especie.....	7
2.6 Categoría de amenaza.....	7
2.6.1 Criterios para la clasificación de las amenazas en Peligro Crítico.....	8
2.7 Plagas y Enfermedades.....	8
2.7.1 <i>Pestalotiopsis Theae</i> (Sawada) Steyaert, Bull. Descripción de Hongos y Bacterias Patógenas.....	8
2.7.2 <i>Pestalotiopsis Funerea</i> (Sawada) Steyaert). Descripción de Hongos y Bacterias Patógenas.....	10
2.8 Estudios fitoquímicos en el género <i>Diospyros</i>	12
3. Materiales y Métodos.....	14
3.1 Recolección de datos.....	14
3.2 Selección del área de estudio para la recolecta de espécimen y la obtención de los criterios para el desarrollo de las plantas en la población <i>ex situ</i>	14

3.3 Identificación de la especie.....	14
3.3.1 Comparación con herbarios para la verificación de la especie en estudio.....	14
3.3.2 Comparación de las hojas de la especie utilizando herbarios de recolectas de diferentes zonas de la República de Cuba.....	15
3.4 Recolección de hojas de <i>Diospyros crassinervis</i> (Krug & Urb.) Standl.....	15
3.4.1 Estudio morfoanatómico de las hojas de <i>Diospyros crassinervis</i> (Krug & Urb.) Standl.....	15
3.5. Estudios fitoquímicos de las hojas de <i>Diospyros crassinervis</i> (Krug & Urb.) Standl.....	16
3.5.1 Tamizaje fitoquímico.....	16
3.5.2 Determinaciones bioquímicas.....	16
3.5.3 Contenido de proteínas solubles totales.....	17
3.5.4 Metabolitos secundarios.....	17
3.6 Situación de la especie en la colección <i>exsitu</i> en la Estación Experimental Agro Forestal de Itabo.....	19
3.6.1 Características y conteos de la población de <i>Diospyros crassinervis</i> (Krug & Urb.) en la Estación Experimental Agro Forestal de Itabo. Recolecta de material natural.....	19
3.6.2 Detección de enfermedades en las hojas de la especie.....	19
3.7 Conservación.....	19
3.7.1 Papel de los Jardines Botánicos en la conservación de los recursos vegetales.....	19
3.7.2 Conservación <i>ex situ</i>	20
3.7.3 Afectaciones provocadas por la antropización hacia la especie.....	21

3.8 Estado de amenaza y conservación.....	21
3.8.1 Valoración del estado de amenaza.....	21
3.8.2 Propuesta de medidas para la conservación de la especie <i>Diospyros crassinervis</i> (Krug &Urb.)Standl.....	22
3.9 Valoración medioambiental de las acciones propuestas.....	22
4. Resultados y Discusión.....	23
4.1 Resultados de la recolección de datos sobre la especie <i>Diospyros crassinervis</i> (Krug &Urb.) Standl.....	23
4.1.1 Mediciones de la especie <i>Diospyros crassinervis</i> (Krug &Urb.) Standl. en la estructura caulinar.....	23
4.2 Selección del área de estudio para la recolecta del espécimen y la obtención de los criterios para el desarrollo de las plantas en la colección <i>ex situ</i>	24
4.3. Identificación de la especie.....	25
4.4, Comparación con herbarios para la verificación del taxón en estudio.....	25
4.4.1. Revisión de muestras de Herbarios en el Jardín Botánico de Matanzas (JBM).....	25
4.5. Recolección de hojas de <i>Diospyros crassinervis</i> (Krug &Urb.) Standl.....	32
4.6. Caracterización morfoanatómico de las hojas de <i>Diospyros crassinervis</i> (Krug &Urb.) Standl.....	32
4.7. Estudios fitoquímicos de las hojas de <i>Diospyros crassinervis</i> (Krug &Urb.) Standl.....	34
4.7.1 Tamizaje fitoquímico.....	34
4.7.2 Determinación de metabolitos primarios.....	35

4.8 Situación de las especies en la colección <i>ex situ</i>	37
4.8.1 Características y conteos de la población de <i>Diospyros crassinervis</i> (Krug & Urb.) Standl. en la Estación Experimental Agro Forestal de Itabo. Recolección de material natural.....	37
4.9 Detección de enfermedades en las hojas.....	38
4.10 Conservación.....	39
4.10.1 Papel del Jardín Botánico de Matanzas en la conservación de los recursos vegetales.....	39
4.10.2 Conservación <i>ex situ</i>	40
4.11 Afectaciones provocadas por la antropización hacia la especie.....	40
4.12 Estado de amenaza y conservación.....	40
4.12.1 Valoración del estado de amenaza.....	40
4.13 Propuesta de medidas para la conservación de la especie <i>Diospyros crassinervis</i> (Krug & Urb.) Standl.....	41
4.14 Valoración medioambiental de las acciones propuestas.....	42
5. Conclusiones.....	44
6. Recomendaciones.....	45
7. Referencias Bibliográficas.....	46
8. Anexos	

1. Introducción

La Red Nacional de Jardines Botánicos de Cuba como institución es la que posibilita la transferencia de experiencias sobre los diversos aspectos que se trabajan en los jardines botánicos: Conservación de especies amenazadas, educación ambiental e investigaciones botánicas. La Red está compuesta por todos los Jardines Botánicos del país (14), independiente de su filiación institucional.

Se divulgó el Plan de Acción de la Red Nacional en relación al cambio climático el cual tiene su vigencia desde el 2008. Participan en colaboración con el Ministerio de Ciencia Tecnología y Medio Ambiente (CITMA), empresas Forestales, de la Flora y la Fauna, Sociedad Cubana de Botánica (SOCUBOT), Ministerio del Turismo (MINTUR), Centro Nacional de Áreas Protegidas (CNAP) Revista Jardín Botánico Nacional (2013-2014).

El Jardín Botánico de Matanzas participa de un proyecto sobre el Manejo y conservación de especies forestales nativas de manigua costera en Matanzas y pluvisilva en Granma y realiza un trabajo conjunto con la estación Experimental Agro Forestal de Itabo del municipio Martí en la provincia de Matanzas donde se solicitó el estudio de la colección *exsitu* en la especie *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. por la situación que presenta con su categoría de amenaza International Union for the Conservation of Nature [IUCN] (2001).

El 50 por ciento de la flora de Cuba está en peligro de extinción, el 18 % en Peligro Crítico de extinción y 25 especies ya han sido declaradas Extintas (Lista Roja, 2016 y Álvarez, 2017).

Se debe implementar una ardua labor de conservación por parte de todas las instituciones y la población para preservar y mantener la flora cubana, considerándose una medida de gran importancia y aplicación los proyectos y líneas de investigación que los jardines botánicos se trazan para preservar el germoplasma de especies amenazadas o en peligro de extinción de cualquier categoría (IUCN, 2003; Lista Roja, 2016 y Álvarez, 2017).

La especie *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. es una planta naturalizada en Cuba y un endemismo de las Antillas se encuentra en peligro de desaparecer por la acción antropogénica de la tala indiscriminada con fines artesanales.

La Estación Experimental Agro Forestal de Itabo y la Agricultura en la provincia de Matanzas solicitaron información sobre la especie *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. como perspectivas de estudios preliminares para la profundización de sus características, reproducción de la misma y un posterior manejo según comunicación personal de Y. Sánchez, 28 de noviembre, (2017).

El Jardín Botánico de Matanzas (JBM) cuya misión es la conservación de la flora con énfasis en las especies amenazadas, aporta a las entidades del Ministerio de la Agricultura (MINAG) los resultados de las investigaciones de la especie seleccionada con la finalidad de contribuir a la calidad de las poblaciones tanto de interés conservacionista como utilitario.

En las revisiones sobre la especie, su caracterización morfo anatómica y estudios bioquímicos, existe poca información que contribuya al conocimiento sobre la misma, por lo que se propone el siguiente **problema científico**:

Existe la necesidad de incrementar la información sobre la colección *ex situ* de *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. en la Estación Experimental Agro Forestal de Itabo por la pobre propagación de unidades reproductivas en las poblaciones de la especie.

Se plantea la **hipótesis científica**: Si se incrementa la información sobre la colección *ex situ* de la especie *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. en la Estación Experimental Agro Forestal de Itabo se contribuirá al conocimiento de la misma para su mantenimiento y reproducción e incorporación de la misma en la colección del JBM.

Objetivo general:

Caracterizar la especie *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. teniendo en cuenta la morfoanatomía, composición química y detección de enfermedades en la estructura foliar a partir de estudios teóricos y prácticos.

Objetivos específicos:

1. Describir las características morfoanatómicas de la hoja de la especie *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. y detección de enfermedades a partir de la consulta bibliográfica y observaciones microscópicas.
2. Comparar la especie en estudio recolectada en la Estación Experimental de Itabo con representantes de herbarios de otras provincias existentes en el JBM.
3. Determinar la composición fitoquímica foliar de la especie *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl.

2. Revisión Bibliográfica

2.1 Familia *Ebenaceae*. Género *Diospyros*. Especie *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. Características botánicas.

Los representantes de la familia *Ebenaceae* son árboles o arbustos dioicos, de hojas alternas, simples, enteras, coriáceas, con estípulas; flores comúnmente unisexuales, actinomorfas, 3-7 meras, axilares, solitarias, o inflorescencias cimosas, pequeñas, flores masculinas más abundantes que las femeninas, fruto en baya, semilla con embrión recto y muy duro (León y Alain, 1957).

El género *Diospyros* presenta hojas alternas pecioladas, flores dioicas, laterales, cimosas, recemosas, solitarias; fruto en baya globosa, oblongo o cónico a menudo pulposo y comestible, semillas oblongas testa brillante y negra. Su distribución es de zonas templadas y tropicales.

La especie *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. de la familia *Ebenaceae* se usa tradicionalmente por su madera preciosa, negra, dura, compacta y pesada, admite pulimento (León y Alain, 1957). No aparecen estudios de la especie *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. según Berazaín (2005). Se refiere en la Lista Roja de las especies amenazadas, IUCN (1989, 2001, 2003), se reporta con categoría de Menor Riesgo (LR) ya que en las evaluaciones realizadas no satisfizo las categorías de Peligro Crítico, En Peligro, o Vulnerable.

2.2 Taxonomía.

Según Álvarez *et al.* (1957) estudios moleculares ubican la especie *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. en el reino Plantae, división Magnoliophyta, clase Magnoliopsida, orden Ericales, familia *Ebenaceae*.

Diospyros crassinervis (Krug & Urb.) Standl. es un arbusto de 1,00 a 3,00m, o árbol de hasta 15,00m. Hojas obovadas a elípticas, coriáceas de 3,00 a 7,00cm, redondeadas, subtruncadas a obtusas en el ápice, obtusas a redondeadas en la base, lampiñas y brillantes en el haz, reticuladas y pelosas

en el envés. Flores masculinas en grupos de a tres, pedicelos cortos, cáliz 3-4 partido, densamente pubescente de 4,00mm, corola pubescente por fuera, nueve estambres, flores femeninas solitarias. Planta dioica. Fruto en baya, globoso, amarillento de 1,50 a 2,30cm, cáliz de 1 a 2cm de ancho.

2.3 Distribución del género y especie.

Esta especie forma parte de la vegetación xerofítica de mogotes y se reporta, por algunos autores, en costas rocosas altas en toda Cuba, Isla de la Juventud, Haití y Santo Domingo referido por Charters,(2010).

Su distribución en Cuba es en diferentes provincias entre ellas, Camagüey, Las Villas, Matanzas, La Habana, Pinar del Río e Isla de la Juventud.

Del género existen más de 700 especies que se diferencian entre otros por ser o no astringentes antes de la maduración fisiológica de los frutos. Hay variedades que antes de la maduración normal en la cual la pulpa toma una consistencia muy blanda, tiene un alto contenido de taninos solubles lo cual les hace ser astringentes y desagradables al gusto. Otras variedades antes de la maduración fisiológica tienen un alto contenido de taninos solubles o éstos son insolubles con lo cual no se diluye en la saliva humana y no dan la sensación de astringencia según Charters (2010). La astringencia desaparece en la madurez fisiológica y el inconveniente que supone para la manipulación y transporte de tener una pulpa blanda hace que hoy en día aumenten las variedades no astringentes o que se eliminen artificialmente éstas en la variedad astringente para poder comercializar los frutos con la pulpa dura Charters (2010).

Hay muchas variedades de tamaño y sabor, pueden ser frutos de color rojo, anaranjado o amarillo.

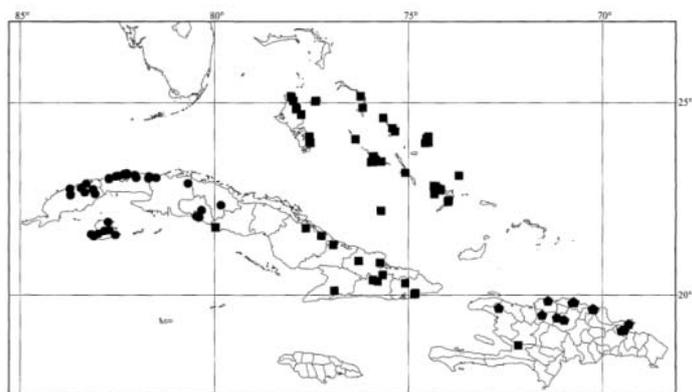


Fig. 6: Distribution of *Diospyros crassinervis* (KRUG & URB.) STANDL. ssp. *crassinervis* ■, - *D. crassinervis* (KRUG & URB.) STANDL. ssp. *urhontiana* (LEONARD) ALAIN ●.

Figura 1. Distribución Geográfica de *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl Charters (2010).

2.4 Endemismo.

Las especies endémicas son las que se localizan en algunas áreas geográficas, donde están creadas las condiciones específicas para la supervivencia. También se conoce como endemismo o especies micro areales. El endemismo surge como consecuencia de la especiación que se provoca ante la aparición de barreras naturales que impiden el intercambio genético, de este modo, aparecen especies diferentes restringidas a esas zonas geográficas, las cuales son más vulnerables a la extinción, las poblaciones suelen ser reducidas en número de individuos y la respuesta genética ante el cambio de las condiciones naturales es menor Valera, (2017).

Según lo planteado por Beruvides y Gerhartz (2007), la biodiversidad de Cuba se caracteriza por dos aspectos básicos: es una biodiversidad insular y presenta, un alto endemismo entre muchos grupos sistemáticos.

Leiva (2006) plantea que el archipiélago cubano posee una rica flora compuesta por 7 020 especies de plantas vasculares, de las que unas 6 000 son plantas con flores, con 50% de endemismo y más de 30 tipos diferentes de formaciones vegetales. Según Betancourt (2000) 4 500 especies crecen exclusivamente en Cuba y el resto (3000) tienen una amplia distribución a nivel del Caribe, América o mundial, donde hay predominio de árboles y arbustos, 60% y el 40% herbáceas.

Según León *et al.* (1957) de la familia *Ebenaceae* hay tres especies de *Diospyros* que son endémicos de Cuba: *Diospyros halesioides* Griseb., *Diospyros grisebachii* (Hiern) Standl. y *Diospyros leonis* (Britton & P. Wilson) Standley. La especie *Diospyros halesioides* "Ébano blanco", o "Ébano negro" es endémico de las Costas: de Oriente, Camagüey, Las Villas, y La Habana, *Diospyros Grisebachii* "Ébano real" es endémico de las costas y maniguas secas de Oriente, Las Villas, La Habana e Isla de la Juventud y *Diospyros leonises* endémico de las costas de La Habana.

2.5 Usos de la especie.

Álvarez, *et al.* (1957) plantea que tiene uso la fabricación de objetos torneados, fichas de dominó, objetos de tocador, tiradores, enchapes, incrustaciones, bastones, teclas de piano, cabos de cuchillos, cepillos grabados, artesanía, mangos de cubiertos, instrumentos musicales torneados y tallados. También se emplea para la fabricación de muebles de lujos, armarios, y obras decorativas, tiene importancia local como fuente de miel y, bajo la acción de los ácidos, da una materia colorante roja y morada que sirve para teñir.

2.6 Categoría de amenaza.

La biodiversidad mundial está disminuyendo a una velocidad sin precedentes. En función de los datos disponibles, un taxón puede ser incluido en alguna de las siguientes categorías (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza [IUCN] 1994, 2001):

Extinto (EX).

Extinto en estado silvestre (EW).

En peligro crítico (CR).

En peligro (EN).

Vulnerable (VU).

Casi amenazado (NT).

Preocupación menor (LC).

Datos insuficientes (DD).

No evaluado (NE).

Los criterios para la inclusión de los taxones en las diferentes categorías están establecidos a nivel nacional y regional, se siguen los estándares internacionales de la IUCN (IUCN 2003a, 2003b). En muchos casos los investigadores la utilizan en áreas reducidas para el manejo de las mismas. En otros se aplican a zonas geográficas más amplias para la elaboración de categorías de amenaza, como la “checklist” (lista de control) de las 50 especies de las Islas del Mediterráneo en mayor peligro (TOP 50 Mediterranean Island Plants) (Montmollin&Strahm, 2005).

2.6.1 Criterios para la clasificación del estado de conservación.

La categoría de preocupación menor (LC) en diferentes formaciones vegetales y áreas protegidas de la mayor de las Antillas según Lista Roja de la Flora de Cuba, (2016) y según González *et al.*(2009) la especie *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl.fue ubicada en la categoría Preocupación menor (LC).

2.7 Plagas y Enfermedades.

2.7.1 *Pestalotiopsis theae* (Sawada) Steyaert, Bull. Descripción de Hongos y Bacterias Patógenas.

Según Bertus (1961) los acérvulos se encuentran asociados a lesiones o un tejido muerto descolorido, irregularmente distribuidos en ambas superficies de las hojas pero más frecuentemente globoso o reticular, quebrando la epidermis a través de un poro que se torna amplio e irregular. Las conidias aparecen en masas negras que están difusas y aparecen en su madurez.

Las Conidiosporas formadas desde la superficie superior del estoma, cilíndrico, ovoide hasta espiciforme de 10- 15µm de largo, de 1-5µm de ancho, con 1-5µm y proliferaciones sucesivas.

Las colonias en Papa Destroza Agar (PDA), micelios hialinos, con micelios aéreos, tonos blancos escasos hacia el avance un tono irregular en el borde, más denso en partes de la colonia más antiguas, usualmente desarrolladas muestran una clara ubicación diurna en el crecimiento micelial y en la

formación de acérvulos, el reverso muestra poca pigmentación o decoloración en el medio (Bertus, 1961).

La enfermedad son añublos grises del té que comienza como pequeñas masas marrones en las hojas que posteriormente se amplían a 1,00 cm de diámetro o más y que muestra (en la superficie superior) un centro grisáceo con márgenes de marrón claro a marrón oscuro. Las lesiones son usualmente circulares u ovaladas con zonas concéntricas que se marcan en la superficie superior por los acérvulos oscuros. En las hojas jóvenes estas zonas están frecuentemente ausentes. La fusión de las manchas puede ocurrir.

La enfermedad se distribuye por todo el mundo específicamente en Austria, Azores, Brasil, China, Islas Canarias, Etiopias, Guinea, Hawái, India, Indonesia, Irán, Japón, Malasia, Mozambique, Nepal, Perú, Sierra Leona, Sudáfrica, Tailandia, Vietnam, no se encuentran estudios detallados sobre la transmisión, pero las esporas podrían ser portadas por el suelo.

Pestalotiopsis theae tiene conidias un poco más pequeñas con apéndices más cortos y no espatulados que *Monochaetia karstenii* (Sacc. & Syd.) B. Sutton and *Monochaetia karsteniivar. Gallica* (Steyaert) B. Sutton. Tiene apéndices apicales llamativamente ramificados. Los apéndices apicales largos de *Pestalotiopsis theae* con sus extremos globosos quedistinguen la especie de otras de dimensiones de conidios similares que se pueden encontrar asociados en el té. Se considera una enfermedad seria, el añublo gris se conoce ahora que es completamente secundaria en las hojas. El patógeno se desarrolla en hojas viejas a punto de caer. También se encuentran en hojas de todas las edades ya debilitadas o dañadas por factores como insectos, exceso de fertilizantes inorgánicos, deficiencia de Potasio (K), Nitrógeno (N) ((Bertus,1961, 20:83), un arrancado duro, sequía o granizo, quemadura, por el sol o inundación. La utilización de celulosa ((Bertus,1961.15:521) y reacción a hormonas, alcaloides, fuentes de Carbono (C) y Nitrógeno (N) y elementos de rastros "*in vitro*". Se requiere de luz para esporulación ((Bertus, 1961. 42, 630, 50,3139).

Se encontró que *Pestalotiopsis theae* estaba implicada en la putrefacción del tallo de gajos del té durante la propagación vegetativa. En Japón ocurre con el persimmon (fruta suave de color naranja que crece en países cálidos) (*Diospyros kaki*). Las condiciones que predisponen a la planta para atacar deben ser determinadas y tratadas.

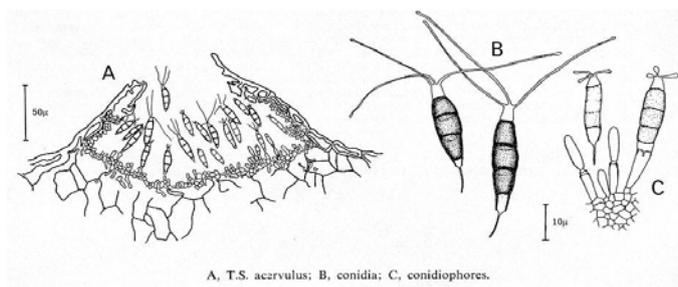


Figura 2. *Pestalotiopsis theae* (Sawada) Steyaert, *Bull.* A (acérvulos), B (Conidias), C (Conidiosporas) (Bertus, 1960)

2.7.2 *Pestalotiopsis funerea* (Sawada) Steyaert). Descripción de Hongos y Bacterias Patógenas.

Según Steyaert, (1949) los acérvulos se desarrollan en asociación de tejidos vivos o en áreas decoloradas o muertas, globosas o reticulares, se rompe la epidermis por un poro que se vuelve ancho e irregular, la conidia emerge inicialmente en columnas negras, posteriormente se vuelve efusiva en la superficie del huésped. Las células conidiógenas forman desde la superficie superior del estoma, cilíndricas, ovaladas u espiciforme de 5 a 15µm de largo, 1.5-3.5µm de diámetro, con una o dos proliferaciones sucesivas. La conidia fusiforme, recta, raramente curva, un tanto constreñida en septos de 22 a 32 (promedio 27.2µm) de largo de 7 a 13 µm de ancho (promedio de 8.8 µm) 3 células medias de 15 a 23 (promedio 18.8) de largo, marrón oliváceo, el hospedero de células apicales y basales, apéndices apicales, cilíndrico hacia los extremos obtusos distales, de 5 a 28 µm (promedio 14 µm) de largo, apéndices endógeno basal, recto de 2 a 11 µm (promedio 4.7 µm) de largo.

Las colonias en PDA casi blancas, con difusión aérea de micelios hacia los extremos que avanzan y densos en otras partes de las colonias. Los acérvulos que se desarrollan a partir de pequeños grupos amarillos y aumentan y conforman brillantes masas de esporas de color verdoso y negro, colonias que usualmente muestran una zona diurna en el crecimiento micelial y en la formación del acérvulo, el reverso muestra poca pigmentación de la colonia o decoloración del medio, en el crecimiento PCA escaso con pequeños micelios aéreos y pequeños acérvulos dispersos, número de apéndices y pigmentación de las conidias muestran una variación más amplia en cultivo que el huésped, especialmente después de un número de subcultivos sucesivos que se hacen.

La enfermedad se distribuye por diferentes países como: Europa, Reino Unido, Italia y Rumanía. Se presenta como añublos de hojas y tallos asociados a la base y produce, desecación o putrefacción de las raíces.

Se transmite a través de muestras de semillas (35 643) y aislado del suelo, pero no se reportan estudios detallados.

La enfermedad *Pestalotiopsis funerea* se distingue fácilmente de la mayoría de las especies de *Pestalotiopsis* por la posesión de más de 3 apéndices apicales des ramificados. Se distingue de otras especies con 4 o más por las dimensiones del conidio y la amplitud del apéndice.

Pestalotiopsis funerea se describe con conidios más grandes a partir de un número similar de apéndices apicales de hasta 30 μm (promedio 23 μm) de largo. Esta especie se considera como patógena de las coníferas. No es un parásito obligado y su ocurrencia ocasional en los sustratos y en plantas huéspedes susceptibles es de esperarse y existen muchos registros en huéspedes no coníferas, sin embargo un número de estos registros se basan en un concepto taxonómico más amplio de lo que se acepta en este caso.

El daño de las plantas de semillero o las reservas de vivero pueden ser reservas, pero en general al patógeno se considera de poca importancia si las condiciones de cultivo son buenas. Se encuentran otros hongos donde se destaca el género *Didymascella* (51,735) con suelos inundados (7,426). Una severa epidemia de *Juniperus* puede seguir al daño por escarcha (Guba, 1961).

Las medidas de control sugeridas incluyen el mejoramiento de las condiciones de cultivo a través del entresacado y la poda. En intentos tempranos de control químico se utilizaron fórmulas de mercurio (11,377) y más recientemente un spray de oxiclورو de cobre se recomienda.

Según Borrachina, (1972) un considerable grado de variabilidad de cultivos, que incluye la producción de una variante similar a *Monochaetia* ocurre coincidiendo con Bertus, (1961). El hongo es capaz de degradar la celulosa. Se describe un método de manchado del micelio en tejido desintegrado resinoso del huésped. Una cuenta detallada de la estructura fina de la conidia es dada por Griffiths & Swart, 1974.

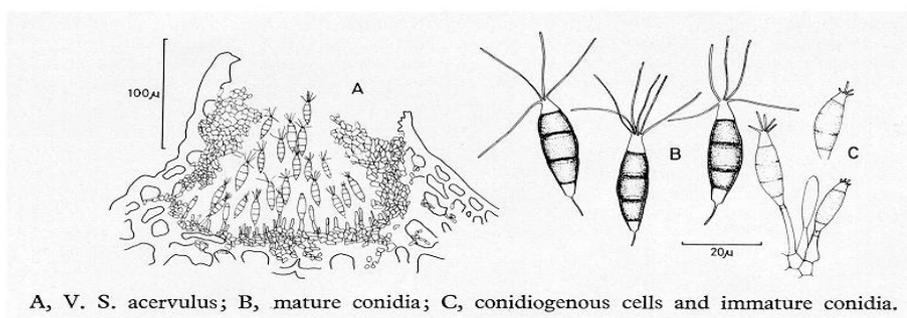


Figura 3. *Pestalotiopsis funerea* (Desm.) Steyaert (Bruxelles, 1949)

2.8 Estudios fitoquímicos en el género *Diospyros*.

Aproximadamente 100 especies del género *Diospyros* fueron estudiadas desde el punto de vista fitoquímico. Los constituyentes fitoquímicos varían desde hidrocarbonados, ácidos grasos de cadena larga hasta esteroides, terpenoides, naftoquinonas y compuestos aromáticos. A continuación se muestran los principales metabolitos referidos para las diferentes partes de la planta (Sinha y Bansal, 2008).

Frutos: carotenoides, taninos, azúcares, lípidos, hidrocarbonos, compuestos aromáticos, flavonoides y terpenos.

Semillas: azúcares, compuestos hidrocarbonados, lípidos y terpenoides.

Hojas: taninos, flavonoides, terpenoides, esteroides.

Corteza: lípidos, compuestos aromáticos, terpenos, esteroides, naftoquinonas.

Raíces: azúcares, compuestos aromáticos, flavonoides, naftoquinonas.

Madera: terpenoides, esteroides, naftoquinonas.

Los trabajos fitoquímicos con técnicas más avanzadas de fraccionamiento como cromatografía líquida de alta presión, cromatografía gaseosa y electroforesis capilar, así como técnicas de metabolómica como resonancia magnética nuclear y espectrometría de masa, permitieron identificar numerosos compuestos bioactivos dentro del género (Sasidharan *et al.*, 2011; Katiyare *et al.*, 2012). Entre estas sustancias están las naftoquinonas (diospirina, 8-hidroxi-diospirina, plumbagina y evenona) (Sattar *et al.*, 2015, Rauf *et al.*, 2015), antraquinonas, terpenoides (lupano, ursano, oleanano, taraxerol, lupeol), lignanos, esteroides, flavonoides (miricetin), ácidos fenólicos (ácido elágico, ácido gálico, ácido ursólico, etc.) (Gao, 2014).

3. Materiales y Métodos

3.1 Recolección de datos.

Fue utilizada la técnica de recolección de datos en la revisión de las características generales en el área natural de estudio en la Estación Experimental Agro Forestal de Itabo de la especie *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. y la revisión de caracteres de la familia *Ebenaceae* y género *Diospyros* (Alain 1964, 1974, Brummitt y Powell, 1992 y Acevedo-Rodríguez & Strong, 2012).

3.2 Selección del área de estudio para la recolecta del espécimen y la obtención de los criterios para el desarrollo de las plantas en la colección *ex situ*.

Se realiza la selección del área para la recolecta a partir de la recogida de datos en la bibliografía según Claro y Rodríguez (1989), Borhidi, (1996) y (Y. Sánchez, comunicación personal, 28 de noviembre, 2017)

3.3 Identificación de la especie.

Para la identificación de la especie se utilizaron los tomos de la Flora de la República de Cuba y otros textos de Alain, (1964, 1974). Los autores del taxón fueron citados según Acevedo-Rodríguez y Strong, (2012).

3.3.1 Comparación con herbarios para la verificación de la especie en estudio.

Se realiza la comparación con herbarios del Jardín Botánico de Matanzas, para lograr un reconocimiento exacto de la especie. Se utilizó el herbario Hermanos León (HJBM).

3.3.2 Comparación de las hojas de la especie utilizando herbarios de recolectas de diferentes zonas de la República de Cuba.

La comparación entre la especie en estudio se realiza a partir de observaciones de la investigadora con material natural de la colección *ex situ* de la Experimental Agro Forestal de Itabo y otras herborizadas del HJBM.

3.4 Recolección de hojas de *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl.

Las hojas de *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. provienen de la Estación Experimental Agro Forestal de Itabo. La recolecta se hizo en noviembre del 2017. Los árboles se seleccionaron a partir de sus características fenotípicas, se observó en las hojas afectaciones en la coloración verde brillante en el haz. Se consideró la estructura foliar y el tamaño de las mismas para el procesamiento de los indicadores favorables en el aporte de información.

Los árboles tenían una altura de 8,00 a 9,00 m lo que facilitó la recolección de las ramas con ayuda de una tijera de podar para no dañar la planta, las cuales se depositaron en bolsas plásticas de material sintético. Se etiquetó con la información de procedencia: fecha, lugar y municipio de recolecta.

Se tomaron muestras de cinco árboles con igual parentesco, a partir de una distancia mínima de 1 m entre los árboles seleccionados, como recomienda William (2007).

3.4.1 Estudio morfoanatómico de las hojas de *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl.

Se realizó la recolecta de las hojas para el análisis de las características morfológicas a partir de las diferentes clasificaciones como son sus bordes, forma, ancho, y largo del limbo, peciolo y nerviaciones, se utilizaron los tomos de la Flora de la República de Cuba y otros textos Alain, (1964, 1974).

Se utilizó para la observación general el estereoscopio marca Novel de inventario 818863.

Se realizaron cortes microscópicos para la observación de aspectos de la anatomía foliar con la utilización del instrumental especializado y el enfoque se realizó con microscopio óptico marca Novel e inventario 18836.

3.5 Estudios fitoquímicos de las hojas de *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl.

3.5.1 Tamizaje fitoquímico.

Preparación de los extractos.

Se seleccionaron hojas sanas de plantas adultas de *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. presente en la Estación Experimental Agroforestal de Itabo, municipio de Martí, provincia de Matanzas. El horario de colecta fue entre 9:00 y 10:00 am. Las hojas se lavaron con agua destilada para eliminar el polvo y posteriormente se procedió al secado en una estufa (Boxun) a 45 °C. Las hojas secas se trituraron en un molino eléctrico hasta pulverizar (Niranjan *et al.*, 2013).

Se mezclaron 5 g de polvo de las hojas secas con 100 ml de etanol 90 % y agua, en Erlenmeyer de 250 ml con tapones de algodón, y se colocaron en agitación sobre una zaranda orbital (HDL® Apparattus) a 160 rpm por 24 h. Transcurrido este tiempo las muestras se filtraron con cinco capas de papel de filtro. Posteriormente el filtrado se colectó y evaporó en estufa a 40 °C hasta obtener un volumen final de un cuarto del inicial (Parekh y Chanda, 2006). Los extractos fueron conservados a 4 °C para los ensayos fitoquímicos y microbiológicos.

3.5.2 Determinaciones bioquímicas.

Contenido de azúcares reductores.

El contenido de azúcares reductores se determinó por el método del ácido dinitrosalísílico con D-glucosa (Sigma) como azúcar patrón (Miller, 1959). Los valores de absorbancia se midieron a una longitud de onda de 456 nm en un espectrofotómetro Ultrospect 2000. Se realizaron tres mediciones de la absorbancia de cada vial.

3.5.3 Contenido de proteínas solubles totales.

El contenido proteico se determinó colorimétricamente con el uso de albúmina de suero bovino (BSA) como patrón. Los valores de absorbancia se obtuvieron a 750 nm y las concentraciones (mg/mL) se determinaron mediante la curva patrón (Lowry *et al.*, 1951).

3.5.4 Metabolitos secundarios.

Para la determinación de los metabolitos secundarios se utilizó la metodología descrita por Chigodi *et al.* (2013).

Antocianinas: se mezcló un mililitro de cada extracto con 3 ml de agua destilada y posteriormente se adicionó 1 ml de HCl 2 mol l⁻¹ y de solución amoniacal 0.5 mol l⁻¹ a 1 ml de la mezcla anterior. La presencia de un color rosado-rojo que se torna azul-violeta indicó la presencia de antocianinas.

Terpenoides: se mezcló un mililitro de cada extracto con 1 ml de cloroformo (CHCl₃) y a continuación se adicionaron 2 ml de ácido sulfúrico (H₂SO₄) concentrado. La coloración rojo-parda en la interfase indicó la presencia de terpenoides.

Flavonoides: se adicionó un mililitro de hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 mol l⁻¹ a 1 ml de cada extracto y posteriormente se agregó igual volumen de ácido clorhídrico (HCl) 0.1 mol l⁻¹. La formación de un color amarillo en la solución indicó la presencia de flavonoides.

Taninos: se mezcló un mililitro de cada extracto con 2 ml de agua destilada y la mezcla se calentó en un baño termostático. Posteriormente se filtró con papel de filtro y al sobrenadante se adicionaron dos gotas de solución de cloruro férrico al 1% en metanol. La presencia de taninos se identificó mediante la formación de un color verde oscuro en la solución.

Saponinas: se mezcló un mililitro de cada extracto con 3 ml de agua destilada, se agitó con vigor y posteriormente la mezcla se calentó a 100°C. La formación de espuma con pequeñas burbujas mostró la presencia de saponinas.

Antraquinonas: se mezclaron dos mililitros de cada extracto con 3 ml de HCl al 10 % y la mezcla se calentó a 100 °C durante 3 minutos en baño termostático. Posteriormente se dejó enfriar a temperatura ambiente. Seguidamente se adicionó igual volumen de CHCl_3 y a continuación unas gotas de solución amoniacal al 10 % y se volvió a calentar la mezcla. La formación de una coloración rosada indicó la presencia de antraquinonas.

Glucósido cardiotónico: se mezclaron dos mililitros de cada extracto con 2 ml de ácido glacial acético que contenía una gota de solución de cloruro férrico al 1 %. A la mezcla se adicionó cuidadosamente 1 ml de H_2SO_4 concentrado por las paredes del tubo de ensayo. La presencia de desoxiazúcares característicos de los compuestos cardiotónicos, se observó por la formación de un anillo pardo en la interfase junto a un anillo púrpura por debajo.

Flobataninos: se mezcló un mililitro de cada extracto con una solución de HCl al 2% y se calentó a 100°C. La presencia de flobataninos se determinó por la formación de un precipitado rojo.

Esteroides: se mezcló un mililitro de cada extracto con 3 ml de CHCl_3 y luego se agitó la mezcla. Posteriormente se adicionaron cuidadosamente 2 ml de H_2SO_4 concentrado por los lados del tubo de ensayo. La formación de un color rojo en la capa superior y una coloración verde en la capa de H_2SO_4 indicó la presencia de esteroides en el extracto.

Emodinas: se mezcló un mililitro de cada extracto con 1 ml de hidróxido de amonio (NH_4OH) y 2 ml de benceno. La formación de una coloración roja indicó la presencia de emodinas.

Cumarinas: se mezcló un mililitro de cada extracto con 1 ml de NaOH al 10%. La formación de una coloración amarilla indicó la presencia de cumarinas en el extracto.

La presencia de los metabolitos se determinó de manera cualitativa a través del sistema no paramétrico de cruces (MINSAP, 1997). Presencia: (+++ =alto, ++ = moderado, + =bajo, - = ausencia).

3.6 Situación de las especies en la colección *ex situ*.

Las plantas se encuentran en colección *ex situ* en áreas cercanas a la institución con la cual se realiza el Proyecto de conservación. Son arbustos en edad juvenil. Se tomó una secuencia de fotografías con dispositivo celular marca SAMSUNG para incrementar los estudios de la especie *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl.

3.6.1 Características y conteos de la población de *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. en la Estación Experimental Agro Forestal de Itabo. Recolecta de material natural.

Se caracteriza la población del Instituto de Investigaciones Agro Forestales para seleccionar un área de 15m de ancho y 40m de largo para el conteo de los individuos existentes, con apoyo de especialistas de la Estación Experimental Agro Forestal de Itabo (Y. Sánchez, comunicación personal, 28 de noviembre, 2017)

3.6.2 Detección de enfermedades en las hojas.

Las hojas recolectadas manifestaron afectaciones en su haz con manchas de color oscuro, fueron trasladadas al Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal con solicitud de análisis a la especialista (M. Trujillo, comunicación personal, 1 de febrero, 2018).

3.7 Conservación.

3.7.1 Papel de los Jardines Botánicos en la conservación de los recursos vegetales.

Los jardines botánicos son lugares donde se muestran colecciones vivas de plantas, clasificadas y ordenadas científicamente. Los jardines desarrollan distintas funciones: colección de medicinales, ornamentales, colecciones de especies amenazadas y áreas para aclimatar especies. En la actualidad, además de sus valores tradicionales, asumen responsabilidades relacionadas con la conservación de la biodiversidad, la educación ambiental y la investigación (Leiva, 2003 y Álvarez, 2017).

Existen alrededor de 1 800 Jardines Botánicos y Arboretos en 148 países del mundo. Ellos mantienen más de 4 millones de accesiones de plantas vivas y en sus colecciones están representadas más de 80 000 especies, que constituyen la cuarta parte de las plantas vasculares conocidas del mundo (Wyse, 2010).

Refiere Álvarez, 2017 que el Convenio de Diversidad Biológica y la Agenda 21, resultantes de la Cumbre de la Tierra (Río de Janeiro, 1992), resaltaron el papel que juegan los jardines Botánicos en la educación, la concientización y el incremento de las capacidades de los individuos en la participación del cuidado del entorno y el desarrollo sostenible.

3.7.2 Conservación *ex situ*.

La conservación *ex situ* es el mantenimiento de los organismos fuera o lejos de su hábitat natural, por ejemplo estaciones experimentales agroforestales, los jardines botánicos entre otras instituciones, en colecciones de campo o mediante el almacenamiento en forma de semillas, polen, propágulos vegetales, cultivo de tejidos o celulares (Leiva, 2006).

En el Convenio de Diversidad Biológica (artículo 9), se plantea lo siguiente:

Cada Parte Contratante, en la medida de lo posible y según proceda, y principalmente a fin de complementar las medidas:

- a) Adoptará medidas para la conservación *ex situ* de componentes de la diversidad biológica, preferiblemente en el país de origen de esos componentes.
- b) Establecerá y mantendrá instalaciones para la conservación *ex situ* y la investigación de plantas, animales y microorganismos, preferiblemente en el país de origen de recursos genéticos.
- c) Adoptará medidas destinadas a la recuperación y rehabilitación de las especies amenazadas y a la reintroducción de éstas en sus hábitats naturales en condiciones apropiadas.

El Jardín Botánico de Matanzas trabaja en la conservación *ex situ* de las especies amenazadas de la provincia como parte del compromiso con la Red

Nacional de Jardines. Entre esas especies está, *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. para su reintroducción en áreas naturales y mantener sus poblaciones que tienen la tendencia a la disminución en las formaciones vegetales en las zonas próximas al área donde se localiza (Robledo y Enríquez, 2010, Robledo, *et al.* 2010).

3.7.3 Afectaciones provocadas por la antropización hacia la especie.

Fueron realizadas durante las visitas de observación al área natural afectaciones hacia la especie y la población de *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. es muy pobre, se reproduce a través de la colección *ex situ* de la Estación Experimental Agro Forestal de Itabo.

Entre las afectaciones se clasifican las mismas en directas sobre la flora del área (las que inciden de inmediato en la disminución de ejemplares) e indirectas (las que en un tiempo inmediato afectan la supervivencia de la especie de la zona y la calidad del hábitat) (IUCN, 2003).

3.8 Estado de amenaza y conservación.

Para establecer el estado de amenaza y conservación de la flora se consultó la literatura especializada y los criterios sobre conservación según la IUCN versión 3.0 (2001); Berzaín *et al.*, (2005) y Lista Roja de la Flora Vascular Cubana [L. R.] (2016).

3.8.1 Valoración del estado de conservación.

A partir de los criterios emitidos por la IUCN Versión 3.1 se propone mantener la Categoría de Especie de preocupación menor para *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl.

3.8.2 Propuesta de medidas para la conservación de la especie *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl.

A partir de los criterios de Enríquez, (2000, 2010), Robledo, (2010) y experiencias plasmadas en documentos de trabajo de los investigadores del JBM se realiza la propuesta de medidas conservacionistas.

3.9 Valoración medioambiental de las acciones propuestas.

Se realiza la valoración medioambiental a través de la experiencia de la autora, de la importancia de las medidas para la conservación de la especie y la indiscriminada utilización por sus valores forestales. Fueron tomados como referencias los vínculos a partir de proyectos nacionales con los representantes de la Estación Experimental Agro Forestal de Itabo. (Y. Sánchez, comunicación personal, 28 de noviembre, 2017)

4. Resultados y Discusión

4.1 Resultados de la recolección de datos sobre la especie *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl.

A partir de criterios de (Y. Sánchez, comunicación personal, 28 de noviembre, 2017) se recopilaron datos en la Estación Experimental Agro Forestal de Itabo de la especie *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl.

Existen 20 plantas de *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. siete de ellas con afectaciones en la estructura foliar y presentan una edad promedio de 9 a 10 años.

Existe una formación vegetal secundaria con especies establecidas entre frutales, forestales y herbáceas; el suelo es pedregoso y con presencia de turba (Berazaín, 2005).

4.1.1 Mediciones de la especie *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. en la estructura caular.



En relación con las mediciones realizadas, se obtuvo la mayor altura total es la planta 5 con 4,00 m y su diámetro con 16,00 cm. La planta con mayor fuste hasta la primera ramificación es la número 6 con 1,50 cm, y la de menor altura total con 2,00 m, la que presenta menor diámetro es la planta 1 con 2,00 cm y

la de menor fuste es la 13 con 0,30 cm según se muestran en la Tabla1. Las mediciones fueron realizadas en noviembre del 2017, los datos representan diversidad con relación al tamaño y la edad de las mismas Álvarez, (2009).

Tabla 1 Mediciones de plantas seleccionadas de la especie *Diospyros crassinervis* (Krug &Urb.) Standl.de la colección *ex situ* de la institución.

Planta	Altura total	Diámetro	Fuste
1	2,50m	2,00cm	1,22cm
2	2,50m	4,00cm	1,30cm
3	3,50m	7,00cm	0,50cm
4	3,50m	10,00cm	1,10cm
5	4,00m	16,00cm	1,20cm
6	2,00m	6,00cm	1,50cm
7	3,00m	5,00cm	1,13cm
8	3,30m	10,00cm	0,50cm
9	3,20m	10,00cm	1,00cm
10	3,20m	7,50cm	0,40cm
11	2,20m	10,00cm	0,50cm
12	3,60m	10,00cm	1,20cm
13	2,70m	7,00cm	0,30cm

4.2 Selección del área de estudio para la recolecta del espécimen y la obtención de los criterios para el desarrollo de las plantas en la colección *ex situ*.

Se realizaron recolectas del material natural en visitas a la estación Experimental Agro Forestal de Itabo, para incrementar la información sobre la colección *ex situ* de *Diospyros crassinervis* (Krug &Urb) Standl. con elementos generales por la pobre propagación de unidades reproductivas en las poblaciones de la especie que fue observada por la autora en las visitas de reconocimiento. La selección del área de estudio fue precisada a partir de la participación en el Proyecto Nacional agroforestal del jardín Botánico de Matanzas y necesidades de la entidad.

Se analiza a partir de la selección que aunque la categoría que presenta según la Lista Roja de las especies amenazadas, IUCN (1989, 2001, 2003), reporta la especie con Preocupación menor (LR), la misma evidencia su posible inclusión en una categoría superior de amenaza. Las recolectas de *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb) Standl. fueron realizadas por los investigadores de la estación según Claro y Rodríguez (1989), para la actualización de estudios sobre la especie.

4.3 Identificación de la especie.

Para la identificación se precisaron los datos referenciados de las características de las especies según (Alain, 1964, 1974); (Enríquez 2000, 2010), coincidiendo los caracteres con lo observado.

Los autores del taxón se verificaron según Acevedo-Rodríguez y Strong, (2012).

4.4 Comparación con herbarios para la verificación del taxón en estudio.

4.4.1 Revisión de muestras de Herbarios en el Jardín Botánico de Matanzas (JBM):

Muestra 1: Fig. 5

Número del Herbario: 3994

Colecta del Año: 2007

Lugar: Lomas de Galindo (Cuabal)
Mayabeque

Colectores: González, A.

Determinador: González, A.

Especie: *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl.



Fig. 5. Muestra 1- 3994. Leyanet Marín.

Las diferentes muestras de herbarios fueron caracterizadas, evidenciando lugar de colecta y número de entrada y mediciones foliares que aparecen en las tablas desde la 1 hasta la 7 en el anexo 1 de este trabajo.

Las muestras foliares de la especie *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. de Lomas de Galindo presentan 6,00cm de largo en el área foliar, mide entre 2,60 cm y 2,50cm de ancho, presenta entre 7 y 8 nervios prominentes, el borde es crenado, el peciolo mide de 0,40 a 0,50cm y su nerviación es reticulada.

Muestra 2:Fig. 6

Número del Herbario: 2690

Colecta del Año: 1990

Lugar: Cerro Galano Loma Conchita Holguín

Colectores: Segunda Expedición Botánica

Nacional. Johames Bisse

Determinador: Oviedo, R.

Especie: *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl.



Fig. 6. Muestra 2- 2690. Leyanet Marín

En Cerro Galano Loma Conchita en Holguín se realizó una recolecta de la especie *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. donde el largo foliar se encuentra entre 5,00 y 5,80cm, el ancho entre 3,20 y 3,50cm, los nervios se muestran desde 7 hasta 9, el borde o margen es crenado, su peciolo mide desde 0,30 a 0,50cm y la nerviación es reticulada.

Muestra 3:Fig. 7

Número del Herbario: 3511

Colecta del Año: 11-05-06

Lugar: Mogotes Sierra Caliente Viñales

Colectores: Primera Expedición Botánica Nacional. (Enriquecimiento de herbarios)

Determinador: Urquiola, A.

Especie: *Diospyros crassinervis* (Krug &Urb.) Standl.



Fig. 7. Muestra 3- 3511. Leyanet Marín

En la recolecta realizada en Mogotes Sierra Caliente en Viñalesse reconoce que las mediciones del área foliar de la especie *Diospyros crassinervis*, (Krug &Urb.)Standl.en el largo de la hoja está entre 4,00cm a 5,60cm, el ancho es de 2,50cm a 3,00cm, la cantidad de nervios prominentes se encuentra entre 5 a 7, el margen es crenado, el peciolo mide entre 0,20cm a 0,50 cm y la nerviación es reticulada.

Muestra 4:Fig. 8

Número del Herbario: 4369

Colecta del Año: 20-04-2017

Lugar: Cuabal Carretera Camarioca, La Julia, Limonar.

Colectores: Ravirosa, A., González, A.

Determinador: Robledo, L.

Especie: *Diospyros crassinervis* (Krug &Urb.)Standl.



Fig. 8. Muestra 4 - 4369. Leyanet Marín

En el Cuabal de la Carretera entre el municipio Limonar y Camarioca se realizó la recolecta de la especie *Diospyros crassinervis* (Krug &Urb.) Standl.Las mediciones obtenidas en la muestra de herbario en la estructura foliar son: largo de la hoja mide a partir de 6,50 hasta 7,00cm, el ancho del limbo entre 3,20cm y 3,50cm, los nervios prominentes se encuentran entre 6 y 9, el borde es crenado, el peciolo mide entre 0,60cm a 0,80cm y la nervadura es reticulada.

Muestra 5: Fig.9

Número del Herbario: 7

Colecta del Año: 12-03-1998

Lugar: Cuabal "Tres Ceibas"

Colectores: Robledo, L. y López, E.

Determinador: Ovido, R.

Especie: *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl.



Fig. 9. Muestra 5 – 7. Leyanet Marín

La especie recolectada en Tres Ceibas perteneciente a la colección de herbario “Hermanos León” del JBM en sus órganos foliares aparece que el largo de la hoja mide entre 5,00cm y 6,00cm el ancho del limbo se encuentra entre 2,50 cm a 3,00cm, los nervios prominentes se observan entre 5 a 7, el borde es crenado, el peciolo mide de 0,30cm a 0,50cm y la nervadura es reticulada.

Muestra 6:

Número del Herbario: 2652

Colecta del Año: 1993

Lugar: Jardín Botánico Nacional

Descriptores: Enríquez, A.

Determinador: Sánchez, C.

Especie: *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl.



Fig. 10. Muestra 6 – 2652. Leyanet Marín

La especie *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. del Jardín Botánico Nacional se encuentra en la colección de Herbario "Hermanos León" del Jardín Botánico de Matanzas, la estructura foliar del largo de la hojameda de 6,00cm a 7,00cm. El ancho entre 2,50cm y 3,00cm, los nervios prominentes que se observan están entre 6 a 8, su borde crenado, el peciolo mide de 0,50cm a 6,00cm y la nerviación es reticulada.

Muestra 7:

Número del Herbario: 1040

Colecta del Año: 13-10-1989

Lugar: Sierra de Guamuhaya. Pinar del Río

Descriptores: Urquiola, A.

Determinador: Urquiola, A.

Especie: *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl.



Fig. 11. Muestra 7 – 1040. Leyanet Marín

La especie recolectada en Sierra de Guamuhaya, Pinar del Río perteneciente a la colección de herbario “Hermanos León” del JBM en sus órganos foliares aparece que el largo de la hoja mide 5,00cm, el ancho del limbo se encuentra entre 2,30cm a 2,50cm, los nervios prominentes se observan entre 6 a 7, el borde es crenado, el peciolo mide de 0,30cm a 0,50cm y la nervadura es reticulada.

Se realiza la comparación de las muestras presentadas con herbarios del Jardín Botánico de Matanzas (JBM), para lograr veracidad en la correcta

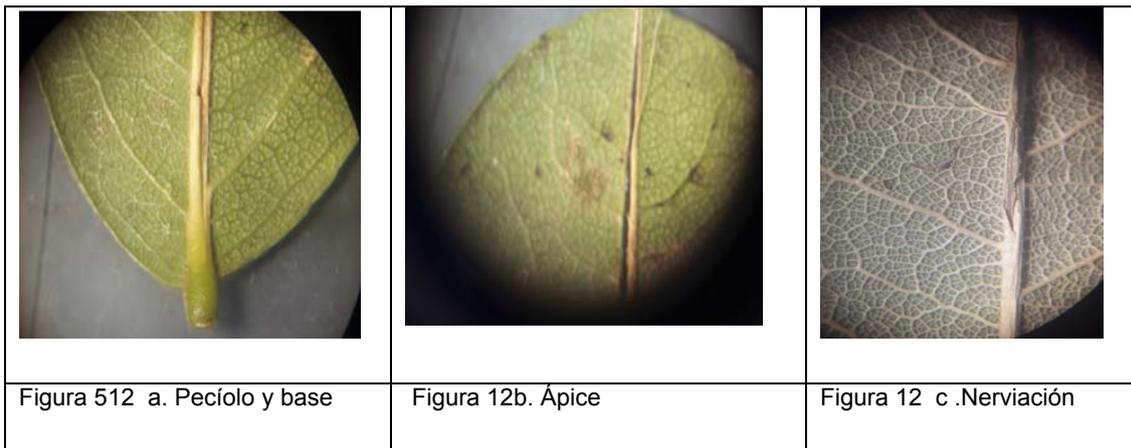
identificación de la especie *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. de la colección *ex situ* en la estación Experimental Agro Forestal de Itabo, donde el estudio de la estructura foliar con las mediciones de las siete muestras respecto al largo de la hoja se encuentra entre los 4,00cm hasta 7,00cm, el ancho que presentan los limbos es de 2,30cm a 3,00cm, los nervios se presentan abundantes y compactos, los prominentes son de 5 a 9, el peciolo varía entre 0,20 cm hasta 0,80cm, los bordes son crenados y la nerviación es reticulada para todas las muestras revisadas. Son coincidentes estos datos con lo planteado por Alain y León (1957) y Enríquez, (2010) lo que corrobora la identificación.

4.5 Recolección de hojas de *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl.

Para la recolección de hojas se tuvo en cuenta que las mismas fueran de diversos niveles dentro de la copa, para la realización de los estudios morfoanatómicos y que mostraran daños producidos por agentes externos para su preparación en el laboratorio de Sanidad Vegetal.

4.6 Caracterización morfoanatómico de las hojas de *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl.

Se comprobó que las hojas colectadas en la Estación Experimental son simples, desplazadas hacia los extremos y alternas. Su longitud varía entre 6cm y hasta 9,00cm y de 3,00 cm hasta 2,50 cm de ancho, deobovadas a elípticas, coriáceas, redondeadas, subtruncadas a obtusas en el ápice, obtusas a redondeadas en la base, lampiñas y brillantes en el haz, reticuladas y pelosas en el envés. Los nervios son muy prominentes con un peciolo corto según se aprecia en la figura 12.



Figuras 12 a, b y c, Ejemplos de características morfológicas de la hoja de *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl.

En los caracteres anatómicos de las hojas seleccionadas se observó que las células epidérmicas son pequeñas, presencia de cutícula, paredes celulares gruesas y de formas hexagonales Figura 13 a y b.



En las hojas de las muestras recolectada en Itabo e introducida en la colección de herbario JBM y las obtenidas de las áreas naturales, no se observan diferencias anatómicas ni morfológicas que sean significativas. La nerviación

abundante en sus hojas coriáceas, para ambos casos, coincide con lo reportado para la Obra Flora de Cuba.

4.7. Estudios fitoquímicos de las hojas de *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl.

4.7.1 Tamizaje fitoquímico.

Como resultado del tamizaje fitoquímico se determinó la presencia notable de terpenoides, taninos y saponinas. Se coincide con Charters (2010) que plantea que variedades de la especie tienen alto contenido de taninos solubles. Otros metabolitos bien representados fueron los flavonoides, los flobataninos y los glucósidos cardiotónicos. No se observó la presencia de antocianinas, antraquinonas, esteroides, cumarinas ni emodinas (Tabla 2). El etanol fue el mejor solvente para la extracción de los metabolitos analizados.

Tabla 2. Metabolitos secundarios presentes en extractos etanólicos y acuosos de hojas de *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.)

Metabolitos secundario	Extractos	
	Etanólico	Acuoso
Flavonoides	++	+
Terpenos	+++	++
Esteroides	+	-
Taninos	+++	+++
Antocianinas	-	-
Saponinas	+++	++
Antraquinonas	-	-
Cumarinas	-	-
Flobataninos	++	+
Emodina	-	-
Glucósidos cardiotónicos	-	-

Contenido: +++ = alto, ++ = medio, + = bajo, - = ausencia.

Los resultados obtenidos en la presente investigación coinciden con los observados por Dangoggoet *al.* (2012) y Mohammed *et al.* (2016) en hojas de

Diospyros mespiliformis, quienes refirieron la presencia de terpenos, flavonoides, taninos y saponinas. Sin embargo y a diferencia de los resultados obtenidos en la presente investigación, Mohammed *et al.* (2016) detectaron contenidos de antraquinonas y cumarinas en los extractos. Esto puede estar relacionado con diferentes factores como el genotipo, ya que aunque ambas plantas pertenecen al mismo género, el perfil fitoquímico es diferente. Otros factores que pueden afectar son el ambiente, la edad fisiológica de la planta y los métodos químicos de detección de los metabolitos.

De manera similar, Gulet *al.* (2014) refirieron la presencia de taninos, flavonoides y saponinas en extractos de *Diospyros lotus* L. Estos autores observaron una correlación entre el poder reductor (antioxidante) del extracto y la concentración de compuestos polifenólicos. Los metabolitos secundarios detectados fueron relacionados con la actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae*.

Los contenidos cualitativos elevados de compuestos flavonoides en los extractos de *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl., puede indicar el uso de esta especie en el tratamiento de diferentes patologías relacionadas con el estrés oxidativo como el cáncer, las enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson y Alzheimer, los procesos inflamatorios y patologías cardiovasculares (Espinosa *et al.*, 2015). Esto se debe a las propiedades antioxidantes probadas de los compuestos fenólicos como los flavonoides.

Por otra parte, la presencia de taninos y saponinas puede sugerir una actividad antimicrobiana, ya que estos compuestos afectan procesos metabólicos en los microorganismos patógenos por cambios en las propiedades de la membrana celular e inhibición de la actividad enzimática (Zungu y Downs, 2015).

4.7.2 Determinación de metabolitos primarios.

La tabla 2 y la figura 14 muestran los contenidos de azúcares reductores y proteínas solubles totales de hojas de *Diospyrus crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. Como se puede observar el extracto etanólico resultó ser un mejor solvente que el medio acuoso para la extractos de estos metabolitos primarios.

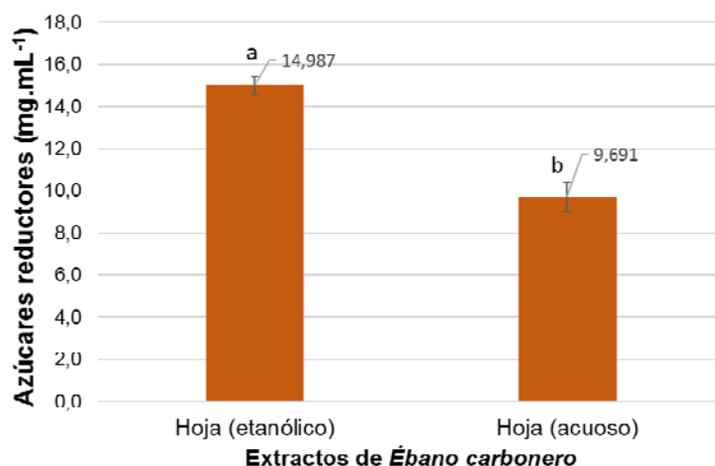


Figura 14. Contenidos de azúcares reductores en extractos etanólicos y acuosos de hojas de *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA clasificación simple, $P \leq 0,05$).

La cuantificación de azúcares reductores en los extractos estudiados, es importante ya que estos compuestos interfieren en la extracción de saponinas, las cuales son de gran interés comercial para la industria farmacéutica (Guerra *et al.*, 2001).

Los azúcares son compuestos imprescindibles en el metabolismo energético de las plantas y además, son esenciales en la síntesis de diversos compuestos antioxidantes, los cuales protegen a las plantas de las especies reactivas del oxígeno. Los compuestos antioxidantes como los polifenoles constituyen un foco de atención de numerosos investigadores por la diversidad de funciones que tienen los mismos en industrias como la farmacéutica, la alimenticia y con fines agropecuarios (Tesfayet *et al.*, 2010). Figura 15.

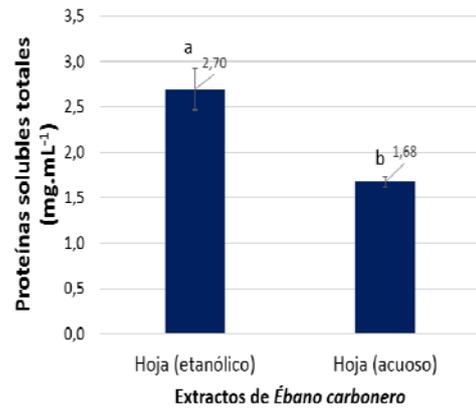


Figura 15. Metodología aplicada por la autora y contenidos de proteínas solubles totales en extractos etanólico y acuosos de hojas de *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA clasificación simple, $P \leq 0,05$).

Los resultados obtenidos también están en correspondencia con los observados por Gulet *al.* (2014), quienes determinaron la presencia de azúcares y proteínas solubles en extractos de *Diospyros lotus* L.

4.8 Situación de las especies en la colección *ex situ*.

4.8.1 Características y conteos de la población de *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. en la Estación Experimental Agro Forestal de Itabo. Recolecta de material natural.

Al caracterizarse la población de manera aleatoria en la Estación Experimental Agro Forestal de Itabo, recolecta de material natural, en el área de 15,00 m de ancho y 40,00 m de largo para el conteo de los individuos presentes con un total de 20 plantas, se observó que siete de ellas tuvieron afectaciones en la estructura foliar y el resto en buen estado. Con apoyo de (Y. Sánchez, comunicación personal, 28 de noviembre, 2017) se obtuvo el siguiente resultado que aparece en la figura 16 a y b.



La Estación Experimental Agro Forestal de Itabo mantiene la población de la especie con acciones silviculturales que posibiliten el mantenimiento e incremento de las mismas y su reproducción en áreas naturales y eliminación de patógenos.

4.9 Detección de enfermedades en las hojas.

Se observó en las muestras que las hojas estaban afectadas por *Pestalotiopsis theae* por *Pestalotiopsis funerea*. Se coincide con Bertus (1961) en que los acérvulos se encuentran asociados a lesiones o a un tejido muerto decolorado irregularmente distribuidos en ambas superficies de las hojas quebrando la epidermis a través de un poro presente en las hojas enfermas. Ya se encontraba en fase de madurez la enfermedad porque aparecieron conidios como masas negras difusas.

Para el reconocimiento de *Pestalotiopsis theae*, se observó en el laboratorio que los conidios eran más pequeños, con apéndices más cortos y no espatulados y *Pestalotiopsis funerea* describe con conidios más grandes a partir de un número similar de apéndices apicales de hasta 30 μm (promedio 23 μm) de largo.

Se reconoce por los especialistas de Sanidad Provincial que se hace necesario combatir esas manifestaciones ya que podrían afectar en las áreas forestales de la Estación el resto de la población de *Diospyrus* y otras especies forestales.

En la figura 16 aparece la autora observando las afectaciones a las hojas recolectadas.



Figura 16 Detección de las enfermedades de la especie *Diospyros crassinervis* Krug & Urb.) Standl. en la estructura foliar.

4.10 Conservación.

Las acciones de conservación se realizaron encaminadas hacia la actualización de los diferentes efectos negativos y la aplicación de las medidas propuestas por Ley no. 85 Ley Forestal, 1998. Gaceta Oficial de la República de Cuba.

4.10.1 Papel del Jardín Botánico de Matanzas en la conservación de los recursos vegetales.

El Jardín Botánico de Matanzas tiene compromisos con la Red Nacional de Jardines en implementar acciones encaminadas hacia la investigación sobre especies con categoría de amenaza. Se realiza un trabajo interdisciplinario con todas las entidades implicadas en los temas de la Flora de Cuba de la provincia González *et al.*, (2013).

La Estación Experimental Agro Forestal de Itabo es una de las instituciones que trabaja en conjunto con el JBM con un proyecto nacional que implica las

especies forestales para su manejo y control, donde se proyecta establecer una colección de la especie en estudio en el área de conservación del JBM.

En la actualidad el JBM, además de sus valores tradicionales, asume responsabilidades relacionadas con la conservación de la biodiversidad, la educación ambiental y la investigación González/Torres,(2013).

4.10.2 Conservación *ex situ*.

La implementación de las medidas que se proponen para la especie *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. en colección *ex situ* se tuvo en cuenta lo planteado por Beruvides, (2005), en relación con las acciones hacia el conteo de las plantas, los estudios para el incremento del conocimiento dirigidos hacia el mantenimiento y reproducción, la superación de implicados, avales y convenios con las entidades y creación de la colección *ex situ* en el JBM. Anexo 2.

4.11 Afectaciones provocadas por la antropización hacia la especie.

Se comprobó la pobre información que existe sobre la especie *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. naturalizada en Cuba. Las afectaciones que presenta están relacionadas con la explotación de su madera por su constitución, color y durabilidad para la confección de objetos de un valor incalculable en el mercado artesanal.

Por sus características botánicas en una planta dioica según Álvarez, *et al.* (1957) por lo que depende de otra planta para reproducirse de manera natural a partir de los tipos de polinización que se presenten, lo que afecta de manera directa e indirecta su reproducción.

4.12 Estado de amenaza y conservación.

4.12.1 Valoración del estado de amenaza.

Para corroborar el estado de amenaza y conservación de la flora se definió según la UICN versión 3.1 (2001) y Berazaín *et al.*, (2005); que la especie

mantiene peligros relacionados con una reducción del tamaño de la población, (Criterio A) inferida para tres años por observación directa y por efectos en la acción antropogénica y reducción de la calidad del hábitat, (A1 a. c. e). Es endémica de las Antillas, pero aparece en ciénagas, cuabales y caliza de otras provincias de Cuba (B1 y B2). Se observa además una disminución continua de la extensión de presencia (i). Estos elementos hacen plantear para esta especie en las áreas muestreadas no cumple los requisitos para estar en Peligro Crítico ni En Peligro. No obstante, Preocupación Menor no expresa las dificultades que enfrenta la especie por lo que se propone que sea considerada como Vulnerable (IUCN, 2001).

4.13 Propuesta de medidas para la conservación de la especie *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl.

La especie *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. mantiene los problemas que se plantean González/Torres, (2013) y que han sido observadas por la autora por lo que se proponen las siguientes medidas:

Medidas propuestas para la conservación de la especie:

Mantener la colección *ex situ* de *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. en la Estación Experimental Agro Forestal de Itabo.

Establecer una colección *ex situ* de *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. en el JBM.

Mantener conteos poblacionales en el área de Estación Experimental Agro Forestal de Itabo como acción de conservación hacia la especie *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl.

Realizar conteos poblacionales en la Estación Experimental Agro Forestal de Itabo de especies acompañantes de *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. y reproducción de las mismas para incorporar en plantaciones aledañas a las áreas naturales otras especies endémicas del territorio.

Continuar con el proyecto de reproducción de las especies en vivero, en el vivero del JBM.

Realizar levantamientos de especies exóticas invasoras en las áreas naturales y trabajar en el control y manejo de las mismas, con la incorporación de nuevos estudiantes de la Carrera Agronomía de la Universidad de Matanzas.

Efectuar acciones sobre los manglares en la Ciénaga de Majagüillar del municipio Martí, con medidas para el movimiento del agua, que tribute al mejoramiento de la dinámica del manglar.

Continuar incidiendo en los decisores y pobladores del municipio Martí en la provincia de Matanzas desde la protección de la vegetación costera, a partir de conversaciones personales y boletines elaborados para su sensibilización en las acciones conservacionistas.

Proponer la categoría de especies Vulnerable para *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl., y cambiar la propuesta de Preocupación Menor de los especialistas de la Lista Roja de La Flora de Cuba (2016) y (Palmarola, 2016).

4.14 Valoración medioambiental de las acciones propuestas.

El estudio de la especie *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. facilita el conocimiento la conservación. La información que se aporta a la colección *ex situ* de la Estación Experimental Agro Forestal de Itabo coincide con los datos de las investigaciones realizadas para la Lista Roja de La Flora de Cuba (2016) e intenciona la reproducción y conservación de la especie por el valor de su madera. Elevar la categoría de amenaza a especie Vulnerable aportaría desde el punto medioambiental medidas para disminuir la explotación indiscriminada.

La acción antropogénica provoca la pobre dispersión de la especie *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl., con los estudios realizados, el convenio con la Estación Experimental Agro Forestal de Itabo se facilitará el trabajo de campo y de colecciones *ex situ* para la reproducción y mantenimiento de la especie.

Apoiado en los criterios de (Y. Sánchez, comunicación personal, 28 de noviembre, 2017) se valora de positiva la actividad investigativa en el aporte e incremento de información para la reproducción y conservación ya que se enmarca el trabajo en un área de colección *ex situ* establecida en la Estación

Experimental Agro Forestal de Itabo. Los problemas detectados vinculados a la reducción de las poblaciones y a la necesidad de divulgar la importancia de la conservación de *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. contribuirá a mantener la misma para la ciencia. Por el carácter de endemismo de las Antillas y naturalizada de Cuba y estar sometida esa especie a los impactos de la antropización y catástrofes naturales, conservarla para la ciencia es de inigualable valor por el germoplasma que encierra. Las actividades divulgativas hacia la integración para minimizar los impactos negativos son acciones también de la Red Nacional Cubana de Jardines y Matanzas cumple con su compromiso con las respuestas investigativas que se ofrecen.

5. Conclusiones

La estación Experimental Agro Forestal de Itabo es una institución de la provincia de Matanzas que realiza un trabajo conjunto con el JBM para incrementar aportes de información a estudios morfoanatómicos, detección de enfermedades y composición fitoquímica de la estructura foliar de la especie *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. por afectaciones antropológicas a causa de la explotación de la madera.

En la estructura foliar se observó preparaciones de muestras para la confirmación de la morfoanatomía con presencia de abundante nerviación reticulada y pocos espacios intercelulares así como la textura coriácea del limbo; se detectaron en las mismas dos enfermedades *Pestalotiopsis funerea* y *Pestalotiopsis theae*.

Los extractos acuosos y etanólicos de hojas de *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl., mostraron contenidos abundantes de flavonoides, terpenos, taninos y saponinas; lo que indica que esta especie es fuente de metabolitos secundarios con propiedades biológicas importantes, de aplicación en industrias farmacéutica, médica y agropecuaria.

Las medidas propuestas para el mejoramiento de la conservación *ex situ*, que incluye el conteo de las plantas y la reproducción, contribuyen a la conservación de la especie con apoyo de la propuesta de pasar de Preocupación menor, a especie Vulnerable.

6. Recomendaciones

Continuar con los trabajos de aportes de información para la conservación de la especie en estudio, en áreas naturales de la provincia, a partir de diagnósticos detectados según necesidad del territorio.

Mantener la colección *ex situ* en la estación Experimental Agro Forestal de Itabo y establecer una en el JBM de *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. para la divulgación e importancia de su conservación hacia los decisores ambientales de la provincia.

Continuar con estudios fitoquímicos en otros órganos de la especie *Diospyros crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. para ampliar información y su utilización posible a partir de los valores relacionados con los metabolitos secundarios.

7. Referencias Bibliográficas

Acevedo - Rodríguez, P. and Strong, T. 2012. Catalogue of Seed Plants of the West Indies. Series Publications of the Smithsonian Institution. Washington D.C.

Alain y León, H. 1957. Flora de Cuba IV. Dicotiledóneas. *Melastomaceae* a *Plantaginaceae*. Contribuciones ocasionales del museo de historia natural de Salle No 16. La Habana.

Alain y León, H. 1964. Flora de Cuba Tomo V. Rubiales, Valerianales, Cucurbitales, Campanulales, Asterales. Asociación de Estudiantes de Ciencias biológicas. La Habana. 362p.

Alain y León, H. 1974. Flora de Cuba. Suplemento. Instituto Cubano del Libro. La Habana, 150pp.

Álvarez, N. 2017. Acciones que tributan a la conservación *in situ* y *ex situ* de la especie *Coccolrhinax borhidiana* O. Muniz. Trabajo de Diploma en opción al título de Ingeniero Agrónomo. Universidad de Matanzas "Camilo Cienfuegos.

Álvarez, P. A. y Varona, J. C. 2009. Silvicultura. Ciudad de La Habana. Editorial Pueblo y Educación. 354 p.

Berazaín, R.; Areces, F.; Lazcano, J. C. et González-Torres, L. R. 2005. Lista Roja de la Flora Vasculare Cubana. Documentos 4. Jardín Botánico Atlántico. Gijón. 4: 1-86.

Bertus, Ann. R. 1961. Bot. Gdms, Peradeniya 10: 197–241, 1927.

Beruides, V. Gerhartz, J. L. 2007. Diversidad de la vida y su conservación. Ed. Científico-Técnica. La Habana. Cuba.

Betancourt, S.A. 2000. Árboles maderables exóticos en Cuba. Editorial. Científico-Técnica. La Habana, Cuba. 352p.

Borhidi, A. 1996. Phytogeography and vegetation ecology of Cuba. 2ed. Akademiai Kiadó, Budapest.

Borrachina, T. 1972. Anales del Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias, Proteccion Vegetal (2): 11–25

Brummitt, R. K. et Powell, C. E. 1992. Authors of Plant Names. Royal Botanic Gardens. Kew.

Charters, A 2010. A revision of neotropical *Diospyrus* (Ebenaceae): part 1 Disponible en: Naturhistorisches Museum Wien, download unter www.biologiezentrum.at

Chigodi, M.O.; Samoei, D.K. y Muthangya, M. 2013. “Phytochemical screening of *Agave sisalana* perrine leaves (waste)”, *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*. 4 (4), 200-204.

Claro, A. y Rodríguez, L. 1989: Estudio Florístico de la Vegetación Xerofítica del Norte de Matanzas. *Rev. Jard. Bot. Nac.* 10(2): 129-145.

Dangoggo, S.M.; Hassan, L.G.; Sadiq, I.S. y Manga, S.B. 2012. Phytochemical Analysis and Antibacterial Screening of Leaves of *Diospyros mespiliformis* and *Ziziphus Spina Christi*. *Journal of Chemical Engineering*. 1 (1): 31-37.

Enríquez, A. 2000. Flora y Vegetación de la reserva ecológica Varahicacos. Península de Hicacos. Varadero. Matanzas. 70h. Tesis (en opción al grado académico de maestro en ciencias en Botánica). Universidad de la Habana.

Enríquez, A. 2010. Hoja de categorización de *Guettarda undulata* Griseb.

Espinosa, R. R.; Inchingolo, R.; Alencar, S.M.; Rodríguez, M.T. y Castro, I.A. 2015. Antioxidant activity of phenolic compounds added to a functional

emulsion containing omega-3 fatty acids and plant sterol esters. *Food Chem.* 182:95-104.

Gao, H. 2014. Antioxidant activities and phenolic compounds of date plum persimmon (*Diospyros lotus* L.) fruits. *J. FoodSci. Technol.* 51: 950–956.

González, A.; Robledo, L.; Enríquez, A. 2013. O Papel do Jardim Botânico em desenvolvimento científico como um tributo à Conservação da Biodiversidade Vegetal. Experiências do Jardim Botânico de Matanças, Cuba. *Revista Aretes. Brasil.*

González/Torres. 2013. Top 50. Las 50 plantas más amenazadas de Cuba. Ed. Jardín Botánico Nacional. La Habana.

González, A.; Robledo, L. y Enríquez, A. 2010. Flora y vegetación de “Lomas de Galindo”, Canasí, La Habana. *Revista Jardín. Botánico. Nacional. Univ. Habana.* 30-31: 39-50.

Griffiths & Swart, J y Guba, L. 1961-1974. *Transactions British Mycological Society* 62(2): 295–304. Monograph of *Monochaetia* and *Pestalotia*.

Guerra L.J.O.; Nogueira, C.; Delgado, R. y Hernández, O. 2001. Determinación cuantitativa de saponinas y azúcares reductores de *Agave briottoniana* T. *Revista Cubana de Química.* 13(3): 37-42.

Gul, H.; Ahmad, M.; Sarwar, N.; Abbasi, S.K.; Minhas, N.M.; Jabeen, N.; Ahmad, M.Z. y Gulfranz, M. 2014. Phytochemical analysis and biological activities of *Diospyros lotus* L. fruit extracts. *International Journal of Pharmaceutical Chemistry.* 04 (04): 155-159. DOI:10.7439/ijpc

IUCN. 1989. Rare and Treathened plants of Cuba. Conservation in Botanic Garden. IUCN Botanic Conservation. London Secretary. Kew. 37p.

IUCN 2001. (International Union or the Conservation of Nature). Categorías y criterios de la Lista Roja. Versión 3.1. Comisión de supervivencia de las especies de la IUCN, Gland, Suiza y Cambridge, U.K.

IUCN. 2001. Red List Categories and Criteria: Version 3.1. IUCN Species Survival Commission. IUCN, Gland and Cambridge.

IUCN (International Union or the Conservation of Nature). 2003. Categorías y criterios de la Lista Roja.

IUCN. 2003 (a). Guidelines for Application of IUCN Red List Criteria at Regional.

IUCN. 2003 (b). Guidelines for Application of IUCN Red List Criteria at Regional.

Katiyar, C., Gupta, A., Kanjilal, S. y Katiyar, S. 2012. Drug discovery from plant sources: an integrated approach. *Ayu.* 33; 10–19.

Katiyar, C., Gupta, A., Kanjilal, S. y Katiyar, S. 2012. Drug discovery from plant sources: an integrated approach. *Ayu.* 33; 10–19.

Leiva, A. 2003. Los jardines botánicos de Cuba apuestan por la conservación de las especies endémicas amenazadas. *Bohemia (CU)*, 53 (8): 28-30.

Leiva, A. 2006. Los jardines botánicos de Cuba apuestan por la conservación de las especies endémicas amenazadas. *Bohemia. (CU)*, 53 (8): 28-30, mayo.

Ley no. 85 Ley Forestal, 1998. Gaceta Oficial de la República de Cuba.

Lista Roja de la flora Vasculare de Cuba. 2016. Consultado en junio 2017, [en línea] https://www.researchgate.net/publication/309313148_ (consulta: mayo del 2017).

Lowry, O.H.; Rosebrounch, N.J.; Farr, A.L. and Rondall, R. 1951. Protein measurement the Folinphenol reagent. *JBiol Chen.* 193: 265-275.

Miller, G. 1959. "Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar". *Anal.Chem.* 31: 426-428.

Mohammed, A.A.; Ahmed, K.S.; Suliman, I.; Ali, A.; Salah, O. y Mohammed, G.I. 2016. *In vitro* Antioxidant Activity Phytochemical analysis and Cytotoxicity of *Diospyros mespiliformis* (leaves). *International Journal of Botany Studies.* 1 (1): 23-28.

Niranjan, K. Sathiyaseelan, V. Jeyaseelan, E.C. 2013. Screening for anti-microbial and phytochemical properties of different solvents extracts of leafs of *Pongamiapinnata*. *International Journal of Scientific and Research Publications* 3(1): 1-3.

Palmarola, A. 2016. Especies amenazadas de la Lista Roja de la Flora cubana. [en línea] http://planta.ngo/cuban_plant_red_list/ (Consulta: mayo, 2017).

Parekh, J. Chanda, S. 2006. Antibacterial and phytochemical studies on twelve species of Indian medicinal plants. *African Journal of Biomedical Research* 10: 175- 181.

Parekh, J. Chanda, S. 2006. Antibacterial and phytochemical studies on twelve species of Indian medicinal plants. *African Journal of Biomedical Research* 10: 175- 181.

Rauf, A., Uddin, G. y Siddiqui, B.S. 2015. A rare class of new dimericnaphthoquinones from *Diospyros lotus* have multidrug reversal and antiproliferative effects. *Front. Pharmacol.* 6: 293-297.

Robledo, L. & A. Enríquez 2010. Colección de especies amenazadas del Jardín Botánico de Matanzas, Cuba. *Boletín Bissea.*

Sasidharan S.; Chen, Y.; Saravanan, D.; Sundram, K.M. y Latha, L.Y. 2011.

Sattar, F., Ullah, Z., Rahma, A., Rauf, A., Tariq, M., Tahir, A.A., Ayub, K. y Ulla,

Ahmed, H. 2015. Phytochemical, spectroscopic and density functional theory study of Diospyrin, and non-bonding interactions of Diospyrin with atmospheric gases, *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 141: 71–79.

Sinha, B.N. y Bansal, S.K. 2008. A review of phytochemical and biological studies of *Diospyros* species used in folklore medicine of Jharkhand. *Journal of Natural Remedies.* 8 (1): 11-17.

Steyaert, A. 1949. Bulletin du Jardin Botanique de l'Etat Brux.19(3): 285–35.

Tesfay, S.Z., Bertling, I. and Bower, J.P. 2010. Anti-oxidant levels in various tissues during the maturation of 'Hass' avocado (*Persea americana* Mill.). *Journal of Horticultural Science & Biotechnology.* 85 (2): 106-112.

Valera, C. 2017. Morfometría, evaluación fitoquímica de frutos y desenvolvimiento post-seminal de *Fraxinus caroliniana* Mill. subsp. *cubensis* (Griseb.) Borhidi. Trabajo de Diploma en opción al título de Ingeniero Agrónomo. Universidad de Matanzas “Camilo Cienfuegos”.

William, J.B.; Iqbala, M.J.; Bollaerta, M.; Chickrisa, N.; Jamesa, B.; Higginbothama, D. and Murphy, A.L. 2007. Ginseng modifies the diabetic phenotype and genes associated with diabetes in the male. *Phytomedicine* 14: 681-689.

Wyse, P. 2010. Developing networking amongst the Botanic gardens of Caribbean Island for plants conservation. Botanic garden conservation Internacional. Holiday Inn, Grand Cayman. 92 p.

Zungu, M.M. y Downs, C.T. 2015. Effects of tannins on fruit selection in three southern African frugivorous birds. *Behav. Process.* 111:84-89.

8. ANEXOS

Anexo 1

Tabla 1

Mediciones	Hoja 1	Hoja 2	Hoja 3
Largo de la hoja	6,00 cm	6,00cm	6,00cm
Ancho de la hoja	2,60 cm	2,50cm	2,50cm
Cantidad de nervios	8	8	7
Borde o margen	Crenado	Crenado	Crenado
Pecíolo	0,50cm	0,50cm	0,40cm
Nerviación	Reticulada	Reticulada	Reticulada

Tabla 2

Mediciones	Hoja 1	Hoja 2	Hoja 3
Largo de la hoja	5,80 cm	5,30 cm	5,00cm
Ancho de la hoja	3,50 cm	3,50cm	3,20cm
Cantidad de nervios	9	7	8
Borde o margen	Crenado	Crenado	Crenado
Pecíolo	0,50cm	0,30cm	0,30cm
Nerviación	Reticulada	Reticulada	Reticulada

Tabla 3

Mediciones	Hoja 1	Hoja 2	Hoja 3
Largo de la hoja	5,00 cm	4,00 cm	5,6 cm
Ancho de la hoja	2,70 cm	2,50 cm	3,00 cm
Cantidad de nervios	5	6	7
Borde o margen	Crenado	Crenado	Crenado
Peciolo	0,50 cm	0,20 cm	0,30 cm
Nerviación	Reticulada	Reticulada	Reticulada

Tabla 4

Mediciones	Hoja 1	Hoja 2	Hoja 3
Largo de la hoja	6,50 cm	7,0 cm	6,50 cm
Ancho de la hoja	3,50 cm	3,20 cm	3,20cm
Cantidad de nervios	9	6	6
Borde o margen	Crenado	Crenado	Crenado
Peciolo	0,60 cm	0,80 cm	0,60 cm
Nerviación	Reticulada	Reticulada	Reticulada

Tabla 5

Mediciones	Hoja 1	Hoja 2	Hoja 3
Largo de la hoja	5,00 cm	6,00 cm	6,00cm
Ancho de la hoja	3,00 cm	3,00cm	2,50cm
Cantidad de nervios	6	7	5
Borde o margen	Crenado	Crenado	Crenado
Pecíolo	0,30 cm	0,50cm	0,50cm
Nerviación	Reticulada	Reticulada	Reticulada

Tabla 6

Mediciones	Hoja 1	Hoja 2	Hoja 3
Largo de la hoja	7,00 cm	7,00 cm	6,00 cm
Ancho de la hoja	3,00 cm	3,00 cm	2,50 cm
Cantidad de nervios	8	7	6
Borde o margen	Crenado	Crenado	Crenado
Pecíolo	0,60 cm	0,60 cm	0,50 cm
Nerviación	Reticulada	Reticulada	Reticulada

Tabla 7

Mediciones	Hoja 1	Hoja 2	Hoja 3
Largo de la hoja	5,00 cm	5,00 cm	5,00 cm
Ancho de la hoja	2,50 cm	2,50 cm	2,30 cm
Cantidad de nervios	6	6	7
Borde o margen	Crenado	Crenado	Crenado
Pecíolo	0,50 cm	0,30 cm	0,50 cm
Nerviación	Reticulada	Reticulada	Reticulada

Anexo 2

Estación experimental Agro Forestal de Itabo

Municipio Martí

Aval para el departamento Jardín Botánico de Matanzas.

Se hace constar que el trabajo que lleva como título Estado de la colección *in situ* de *Diospyros Crassinervis* (Krug & Urb.) Standl. en la Estación Experimental Agro Forestal de Itabo, su autora Leyanet Marín Pasoua responde al convenio de trabajo entre las dos entidades, donde se solicita información actualizada sobre Ébano carbonero para reproducir y conservar la especie por el uso indebido de la acción antropogénica.

Además contribuye al desarrollo de habilidades investigativas y profesionales para la impartición de docencia y su posterior aplicación en las empresas de proyecto.

Responsable:

Leyanet Marín Pasoua

Fecha:

13-6-2018

