VARIACIÓN DE AROMA EN *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews SILVESTRE Y CULTIVADA

AROMA VARIATION IN WILD AND CULTIVATED *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews

Herrera-Cabrera, B.E.[1*]; Hernández-Ruíz, J.[1]; Delgado-Alvarado, A.[1]

[1]Postgrado en Estrategias para el Desarrollo Agrícola Regional. Colegio de Postgraduados - *Campus* Puebla. Boulevard Forjadores de Puebla No. 25, Santiago Momoxpan, San Pedro Cholula, Puebla. CP 72760, México.
Autor de correspondencia: behc@colpos.mx

RESUMEN

En México se localiza el acervo genético primario de *Vanilla planifolia*, lo que sugiere la existencia de variación aromática. Se evaluaron diferentes cultivares y parientes silvestres de *V. planifolia*, para determinar la variación de los cuatro fitoquímicos que definen la calidad del aroma en frutos beneficiados procedentes de la región del Totonacapan Puebla-Veracruz y de Oaxaca, México. Se cuantificaron compuestos fenólicos: vainillina, ácido vaníllico, *p*-hidroxibenzaldehído, *p*-hidroxibenzoico, mediante cromatografía líquida de alta presión (HPLC). Se compararon 25 recolectas de cultivares de Puebla-Veracruz, en contraste con seis sitios de poblaciones silvestres de Oaxaca. La variación aromática en cultivares esta determinada por seis grupos que corresponden a cinco grupos genotípicos, los cuales han disminuido la concentración de los tres compuestos menores (CM): ácido *p*-hidroxibenzóico, ácido vaníllico e *p*-hidroxibenzaldehído, en relación al contenido de vainillina. La variación aromática en poblaciones silvestres está definida por cuatro grupos, donde el aroma responde a la existencia de mayor concentración de compuestos menores en relación a vainillina.

Palabras clave: ambiente, compuestos aromáticos, Oaxaca, Puebla, Veracruz.

ABSTRACT

The primary gene pool of *Vanilla planifolia* is located in Mexico, suggesting the existence of aromatic variation. Different varieties and wild relatives of *V. planifolia* were evaluated, to determine the variation of the four phytochemicals that define the quality of the aroma in cured fruits from the region of Totonacapan Puebla-Veracruz and Oaxaca, Mexico. Phenolic compounds were quantified: vanillin, vanillic acid, *p*-hydroxybenzaldehyde, *p*-hydroxybenzoic, through high pressure liquid chromatography (HPLC). Twenty-five harvests from varieties in Puebla-Veracruz were compared, in contrast with six sites of wild populations in Oaxaca. The aromatic variation in varieties is determined by six groups that correspond to five genotypic groups, which have decreased the concentration of the three minor compounds (MC): *p*-hydroxybenzoic acid, vanillic acid and *p*-hydroxybenzaldehyde, in relation to the vanillin content. The aromatic variation in wild populations is defined by four groups, where the aroma responds to the existence of a higher concentration of minor compounds compared to vanillin.

Keywords: environment, aromatic compounds, Oaxaca, Puebla, Veracruz.

Agroproductividad: *Vol. 9, Núm. 1, enero. 2016. pp: 10-17.*

INTRODUCCIÓN

Dada la importancia del aroma en la industria de alimentos y perfumes de la vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) (Reineccius 1995; Walton *et al*. 2003), existe un esfuerzo a nivel global para caracterizar su diversidad (Bory *et al*. 2007) específicamente la variación entre y dentro de poblaciones. Debido a la alta concentración y participación en el aroma de la vainilla, los compuestos fenólicos vainillina (4-hidroxi-3-metoxibenzaldehido), *p*-hidroxibenzaldehido, ácido vaníllico (ácido 4-hidroxi-3-metoxibenzoico) y ácido *p*-hidroxibenzoico (Bettazzi *et al*. 2006; Sinha *et al*. 2008), determinan la calidad aromática de los frutos (silicuas), no obstante, con el objetivo de confirmar si la variación quimiotípica registrada por Salazar-Rojas *et al*. (2011) está controlada genéticamente, Herrera-Cabrera *et al*. (2012) evaluaron 14 loci microsatélites en los quimiotipos. De los cuales, 13 resultaron polimórficos y uno monomórfico. También tuvieron un amplio rango de variación del índice de contenido polimórfico (PIC) entre 0.2 y 0.7 para los loci más informativos, con promedio de 0.46, además, registraron 44 alelos observados y 11 de alelos exclusivos. La dispersión de las recolectas a partir de datos moleculares, coincidió con el patrón de agrupamiento derivado de caracteres aromáticos, lo cual indicó que la variación quimiotípica registrada está controlada genéticamente (Herrera-Cabrera *et al*. 2012) (Figura 3). México al ser considerado centro de origen de vainilla (Verpoorte, 2011) conserva el acervo genético primario de la especie (Soto-Arenas 1999), el cual se conforma de cultivares y parientes silvestres, ligados con la cultura y sociedad Totonaca, quienes han mantenido el germoplasma en sistemas tradicionales de cultivo, por al menos los últimos 250 años (Hágsater *et al*., 2005; Bory *et al*., 2007). El proceso de selección de plantas basado principalmente en el aroma origino variación quimiotípica en el germoplasma de vainilla en la región del Totonacapan (Herrera-Cabrera *et al*., 2012). Sin embargo, en esta región no se han reportado especímenes en estado silvestre (Cibrián-Jaramillo 1999; Schlüter, 2007). En contraste, la mayoría de las recolectas de vainilla identificadas como silvestres provienen del estado de Oaxaca (Soto-Arenas, 1999; Schlütter, 2007) donde lo frutos se recolectan para uso local en comunidades de la Sierra Mazateca y Chinanteca en la región noreste del estado (Soto-Arenas, 1999). Este tipo de aprovechamiento es característico para los parientes silvestres, que son recolectadas cuando es necesario y se mantienen en los campos donde fueron encontradas (Vodouhè *et al*., 2011). En plantas de reproducción clonal como vainilla, mango, orégano y kava, la generación de variantes químicas (quimiotipos), puede darse por la selección dirigida enfocada a seleccionar características utilitarias de la planta (Fitzgerald *et al*., 2009; Sagar *et al*., 2009; Herrera-Cabrera *et al*., 2012), y en poblaciones silvestres relacionando la variación aromática con aspectos ambientales (Pluhár *et al*., 2007; Llorens *et al*., 2014 Tuttolomondo *et al*., 2014). Con base en lo anterior, se evaluó la variación aromática en frutos beneficiados de cultivares y parientes silvestres de *Vanilla planifolia* en la región del Totonacapan Puebla-Veracruz y en Oaxaca, México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las características de los frutos beneficiados de vainilla, que permitieron comparar los resultados, fueron la edad de los frutos a la cosecha, método de beneficiado, semejanza de condiciones y tiempo de almacenamiento y método de extracción. Lo anterior con el fin de garantizar que la evaluación de los compuestos que determinan el aroma no fuese afectado por factores más influyentes en la concentración de los compuestos aromáticos en los fruto de vainilla (Ranadive 1992), y atribuir la variación fitoquímica a dos fuentes de variación: la recolecta y origen geográfico. Se consideraron los resultados obtenidos del análisis de cromatografía líquida de alta presión (HPLC) de Salazar-Rojas *et al*. (2011), en silicuas beneficiadas de 25 accesiones de cultivares de vainilla provenientes de la región Totonacapan (Puebla-Veracruz). Los cuales se contrastaron con el análisis de HPLC realizado a frutos provenientes de seis sitios de *V. planifolia* silvestre del estado de Oaxaca (Cuadro 1).

Cuantificación de los componentes del aroma

Flores de *V. planifolia* se polinizaron manualmente para obtener frutos, las cuales se recolectaron 28 semanas después y se sometieron a beneficiado tradicional. Con las silicuas beneficiadas de cultivares y parientes silvestres se elaboraron extractos, a los cuales se les evaluó el aroma de vainilla mediante los cuatro compuestos aromáticos que definen su calidad: ácido *p*-hidroxibenzóico (C1), ácido vaníllico (C2), *p*-hidroxibenzaldehído (C3) denominados compuestos menores y vainillina (C4) compuesto mayoritario por HPLC (Bettazzi *et al*. 2006; Sharma *et al*. 2006). Además de seis índices: la sumatoria de compuestos menores $\left(\sum CM = C1 + C2 + C3\right)$, la proporción total de compuestos menores entre contenido de vainillina $\left(\sum CM / C4\right)$ y la interacción de los compuestos menores en proporción al contenido de

Cuadro 1. Características agroclimáticas de los sitios de recolecta de *V. planifolia* en Oaxaca, México.

Sitio	Clima	Precipitación media anual (mm)	Altitud (m)	Régimen de humedad del suelo†	Zona ecológica
Cerro caída	Am	>4000	109	Údico Tipo I	Templada húmeda
Cerro hoja	Am	>4000	200	Údico Tipo I	Templada húmeda
Usila	Am	2500-4000	148	Údico Tipo I	Templada húmeda
Lalopa	A(f)	1500-2000	885	Údico Tipo II	Templada húmeda
Cerro azul	Am	1500-2000	329	Ústico	Tropical húmeda
Pluma Hidalgo	Aw1	1500-2000	920	Ústico	Templada húmeda del pacifico

†Údico tipo I: 330 a 365 días de humedad, Údico tipo II: 270 a 330 días de humedad, Ústico 270 a 180 días de humedad.

vainillina a través de índices (C1/C4, C2/C4, C3/C4, C1+C2/C4).

Se realizaron dos diseños estadísticos: 1) Análisis del efecto del ambiente sobre la concentración de compuestos aromáticos de *V. planifolia*. Para lo cual se consideró a la zona ecológica como fuente de variación, y 2) Análisis de la concentración de compuestos aromáticos en las recolectas de los cultivares *V. planifolia*; en el caso de las poblaciones silvestres se consideró el sitio como fuente de variación. En ambos casos, los datos se analizaron mediante un modelo equivalente al diseño completamente al azar, desbalanceado (SAS, 2002). La estadística multivariada de los caracteres de los cultivares y poblaciones silvestres, se realizó mediante un análisis de conglomerados (Sneath y Sokal, 1973) con distancia euclidiana y ligamento promedio como medida de distancia y método de agrupamiento mediante SAS v 9.1 (SAS, 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En *V. planifolia* la utilización de loci microsatélites permitió relacionar la variación quimiotípica identificada con variación genética a nivel infraespecífico expresada en cinco genotipos cultivados en la región Totonacapan (Herrera-Cabrera *et al.*, 2012). Donde el genotipo GVI correspondió al quimiotipo Q1, el genotipo GV al Q2 y Q3, el genotipo GIV al Q4, el genotipo GIII al Q6, y el genotipo GII al Q5 (Herrera-Cabrera *et al.*, 2012). El efecto de la zona ecológica sobre el contenido de compuestos fenólicos en los cultivares de *V. planifolia*, comprobó que únicamente existe diferencia significativa ($p<0.001$) sobre la concentración de ácido vaníllico (Salazar-Rojas *et al.*, 2011). El efecto de la zona ecológica para las poblaciones silvestre mostro que existe diferencia significativa ($p<0.001$) sobre la concentración de ácido *p*-hidroxibenzóico, ácido vaníllico, *p*-hidroxibenzaldehído, vainillina, sumatoria de compuestos menores y la interacción *p*-hidroxibenzaldehído/vainillina (Cuadro 2).

La mayoría de estudios de calidad aromática se basan en evaluaciones de ejemplares cultivados (Sinha *et al.*, 2008; Salazar-Rojas *et al.*, 2011), en los cuales el único compuesto que reporta variación influenciada por el lugar del cultivo había sido ácido vaníllico (Ranadive, 1992), por lo cual se infiere que la variación aromática en los cultivares de México podría estar determinada por un proceso de selección y domesticación realizado por grupos Totonacos (Herrera-Cabrera *et al.*, 2012), los cuales han mantenido el

Cuadro 2. Medias y coeficientes de variación por zona ecológica de las 10 variables evaluadas en cultivares y poblaciones silvestres de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews.

Variable	Cultivares Media / C.V.	Poblaciones silvestres Media / C.V.
Ac. *p*-hidroxibenzóico (C1) (ppm)	79.70^{NS} / 25.7	258.6** / 14.4
Ac. vaníllico (C2) (ppm)	586.90** / 20.5	829.5** / 17.0
p-hidroxibenzaldehído (C3) (ppm)	459.90^{NS} / 33.4	638.2** / 21.8
Vainillina (C4) (ppm)	13701.00^{NS} / 17.8	16208.4** / 14.2
$\sum CM = C1 + C2 + C3$ (ppm)	1126.40^{NS} / 24.3	1726.4** / 9.0
Ac. *p*-hidroxibenzóico/vainillina	0.01^{NS} / 31.4	0.01^{NS} / 19.8
Ac. vaníllico/vainillina	0.04^{NS} / 11.8	0.05^{NS} / 19.8
p-hidroxibenzaldehído/vainillina	0.03^{NS} / 35.7	0.03** / 25.6
(C1+C2)/C4	0.05^{NS} / 12.5	0.07^{NS} / 13.0
$\sum CM$ /Vainillina	0.08^{NS} / 18.3	0.10^{NS} / 19.1

**=P<0.01, NS=estadísticamente no significativo, C.V.=coeficiente de variación, CM=compuestos menores.

germoplasma en sistemas tradicionales de cultivo y producción durante los últimos 250 años (Hágsater *et al*., 2005; Bory *et al*., 2007). En las poblaciones silvestres de *V. planifolia* que se distribuyen principalmente en Oaxaca (Schlüter, 2007), la variación aromática podría estar determinada principalmente por el ambiente, dado que en éstas, el aroma es resultado del proceso de adaptación ambiental para garantizar su supervivencia y reproducción (Chartier *et al*., 2013; Tuttolomondo *et al*., 2014). El análisis del efecto de las recolectas en los cultivares sobre el contenido de compuestos aromáticos evidenció que todas las variables evaluadas presentaron diferencias altamente significativas ($p<0.001$). De igual manera para las poblaciones silvestres, el efecto del sitio de procedencia sobre el contenido de compuestos aromáticos demostró diferencias altamente significativas ($p<0.01$) en cada variable analizada (Cuadro 3).

En los cultivares de *V. planifolia* a una distancia euclidiana de 0.8, Salazar-Rojas *et al*. (2011) reportan variación aromática constituida por seis grupos (Figura 1) atribuido al proceso de selección de los productores Totonacos basado en el aroma, y apoyado en la reproducción asexual, con lo que han generado variación quimiotípica determinada genéticamente en el germoplasma de *V. planifolia* (Herrera Cabrera *et al*., 2012). La descripción de la variación aromática que define a los cultivares de *V. planifolia* en México realizada por Salazar-Rojas *et al*. (2011) y Herrera Cabrera *et al*. (2012) fue:

Genotipo GVI o Quimiotipo 1 (Q1), representado por el germoplasma Vp-3, el cual se caracteriza por presentar la concentración más alta de ácido *p*-hidroxibenzóico (127 mg kg^{-1}), alta concentración de *p*-hidroxibenzaldehído (794 mg kg^{-1}) y ácido vaníllico (703 mg kg^{-1}), así como, bajo contenido de vainillina (12684 mg kg^{-1}). Presenta la participación más alta de compuestos menores en el aroma del extracto en relación al contenido de vainillina (12%) lo cual le asigna "notas dulces y florales" al aroma global (Figura 1). Se distribuye en zonas con una precipitación media anual cercana a 1751 mm y clima tipo cálido húmedo.

Cuadro 3. Medias y coeficientes de variación por sitio de las diez variables evaluadas en cultivares y poblaciones silvestres de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews.

Variable	Cultivares media / C.V.	Poblaciones silvestres media / C.V.
Ac. *p*-hidroxibenzóico (C1) (ppm)	79.70** / 13.2	258.62** / 12.4
Ac. vaníllico (C2) (ppm)	586.90** / 7.5	829.56** / 11.2
p-hidroxibenzaldehído (C3) (ppm)	459.90** / 16.9	638.28** / 11.6
Vainillina (C4) (ppm)	13701.00** / 6.8	16208.47** / 6.5
$\sum CM = C1 + C2 + C3$ (ppm)	1126.40** / 10.2	1726.46** / 8.4
Ac. *p*-hidroxibenzóico/vainillina	0.01** / 12.7	0.02** / 13.8
Ac. *p*-vaníllico/vainillina	0.04** / 3.6	0.05** / 15.3
p-hidroxibenzaldehído/vainillina	0.03** / 15.1	0.03** / 14.8
(C1+C2)/C4	0.05** / 4.2	0.07** / 13.2
$\sum CM$ /Vainillina	0.08** / 7.8	0.10** / 12.2

**=P<0.01, NS=estadísticamente no significativo, C.V.=coeficiente de variación, CM=compuestos menores.

Genotipo GV o Quimiotipo 2 (Q2). Corresponde a la recolecta Vp-19, la cual se distingue por presentar contenido medio de ácido *p*-hidroxibenzóico (86 mg kg^{-1}), alta concentración de ácido vaníllico (716 mg kg^{-1}) y *p*-hidroxibenzaldehído (733 mg kg^{-1}) y mayor contenido de vainillina (18657 mg kg^{-1}). En su aroma predomina la presencia de vainillina y hay participación media de compuestos menores (8%) (Figura 1). Se distribuye en zona con clima cálido húmedo, temperatura media anual mayor a 22 °C y precipitación media anual de 1351 mm.

Genotipo GV o Quimiotipo 3 (Q3). Integrado por las recolectas Vp-15, Vp-7. Se identifican por presentar contenido de ácido hidroxibenzóico en un rango de 85 a 100 mg kg^{-1}, altas concentraciones de ácido vaníllico (782-861 mg kg^{-1}), medio-bajas de *p*-hidroxibenzaldehído (344-498 mg kg^{-1}) y alto contenido de vainillina (16727-17004 mg kg^{-1}). En su aroma hay participación media de compuestos menores (8%) predominan ligeramente las notas de vainillina (Figura 1). Se distribuye en zona con clima cálido húmedo a semicálido húmedo y precipitación media anual de entre 1351-2751 mm.

Genotipo GIV o Quimiotipo 4 (Q4). Integrado por las recolectas Vp-8, Vp-12, Vp-10, Vp-24, Vp-11, Vp-25, reconocidas por presentar contenido medio-bajo de ácido *p*-hidroxibenzóico (66-90 mg kg^{-1}), bajas concentraciones de ácido vaníllico (391-580 mg kg^{-1}), concentraciones medio-altas de *p*-hidroxibenzaldehído (497-600 mg kg^{-1}) y contenido medio-bajo de vainillina (10407-14344 mg kg^{-1}). En su aroma hay una participación media-alta de

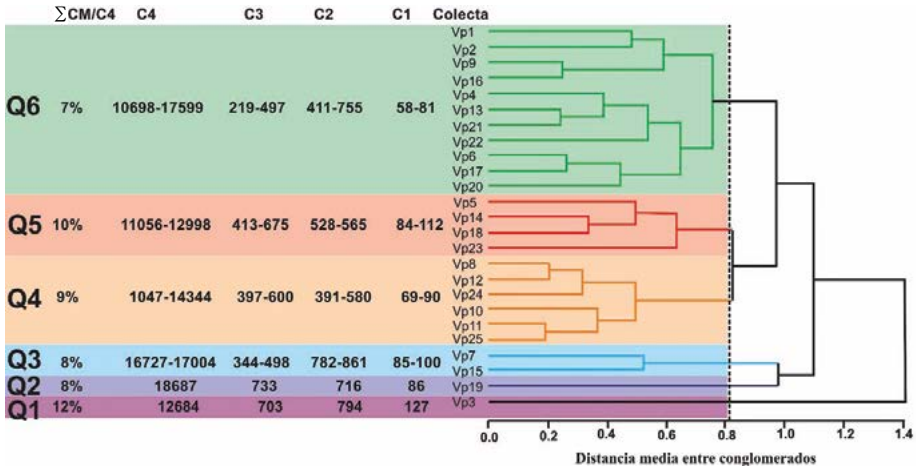

Figura 1. Dendograma y agrupación de 25 cultivares de *Vanilla planifolia* en el Totonacapan Puebla-Veracruz, México, con base en el promedio de 10 variables y agrupamiento por distancias de similitud. (C1: ácido *p*-hidroxibenzóico, C2: ácido vaníllico, C3: *p*-hidroxibenzaldehído, C4: vainillina, $\sum CM / C4$: proporción de compuestos menores por contenido de vainillina).

compuestos menores (≈9%) que asigna notas suaves, semejantes a canela (Figura 1). Se distribuye en zona con clima cálido húmedo y precipitación media anual de entre 1000-2751 mm.

Genotipo GII o Quimiotipo 5 (Q5). Integrado por las recolectas Vp-5, Vp-18, Vp-14, Vp-23, que se caracteriza por contenido medio-alto de ácido *p*-hidroxibenzóico (84-112 mg kg^{-1}), proporciones similares de ácido vaníllico (528-565 mg kg^{-1}) y *p*-hidroxibenzaldehído (413-675 mg kg^{-1}) y contenido medio-bajo de vainillina (11056-12998 mg kg^{-1}). En su aroma hay participación alta de compuestos menores (≈10%) que le confiere notas dulces achocolatadas (Figura 1). Se distribuye en zona con clima cálido húmedo a semicálido húmedo y precipitación media anual de entre 1351-35021 mm.

Genotipo GIII o Quimiotipo 6 (Q6). Integrado por las recolectas: Vp-4, Vp-6, Vp-17, Vp-20, Vp-13, Vp-21, Vp-22, Vp-1, Vp-2, Vp-9 y Vp-16 distinguidas por presentar los contenidos más bajos de ácido *p*-hidroxibenzóico (58-81 mg kg^{-1}), y *p*-hidroxibenzaldehído (219-497 mg kg^{-1}), amplio rango de concentraciones de ácido vaníllico (411-755 mg kg^{-1}), y contenido variable de vainillina, de bajo a alto (10698-17599 mg kg^{-1}). En su aroma hay participación media-baja de compuestos menores (7-8%) (Figura 1), y se distribuye en zonas con clima cálido húmedo con rango de precipitación media anual de 1000 a 4000 mm.

Figura 2. Dendograma y agrupación por sitios de recolecta de plantas silvestres de *Vanilla planifolia* en Oaxaca, México, con base en el promedio de 10 variables y agrupamiento por distancias de similitud. (C1: ácido *p*-hidroxibenzóico, C2: ácido vaníllico, C3: *p*-hidroxibenzaldehído, C4: vainillina, $\sum CM / C4$: proporción de compuestos menores por contenido de vainillina).

Para los sitios de plantas silvestres de *V. planifolia* se observó que a través del análisis de conglomerados a una distancia media del conglomerados de 0.7 se definieron cuatro grupos (Figura 2).

Grupo I (CA). Representado por el sitio Cerró azul, caracterizado por presentar la concentración más alta de ácido *p*-hidroxibenzóico (357 mg kg^{-1}) y de *p*-hidroxibenzaldehído (1141 mg kg^{-1}), así como bajo contenido de ácido vaníllico (651 mg kg^{-1}). Posee un contenido de vainillina de 17574 mg kg^{-1}. La interacción de la sumatoria de compuestos menores sobre el contenido de vainillina $\left(\sum CM / \text{vainillina}\right)$ es de 12% (Figura 2). Se localiza donde las características del ambiente son trópico húmedo con precipitación media anual de 1500 a 2000 mm.

Grupo II (CLC). Integrado por los sitios Cerro caída, Cerro hoja y Lalopa, que se caracteriza por presentar una concentración de ácido *p*-hidroxibenzóico de 204 a 287, *p*-hidroxibenzaldehído en un rango de 405 a 590 mg kg^{-1}, la concentración de ácido vaníllico oscila de 810 a 875 mg kg^{-1}. Posee un contenido de vainillina de 14742 a 18630 mg kg^{-1}. La interacción de la sumatoria de compuestos menores sobre el contenido de vainillina $\left(\sum CM / \text{vainillina}\right)$ es de 8% a 11%. (Figura 2). Estos sitios se ubican en ambientes templados húmedos y precipitación media anual de 1500 a 4000 mm.

Grupo III (PH). Lo conforma el sitio de Pluma Hidalgo. Se caracteriza por presentar una concentración

intermedia de ácido *p*-hidroxibenzóico (245 mg kg^{-1}) y ácido vaníllico (715 mg kg^{-1}) y la segunda mayor concentración de *p*-hidroxibenzaldehído (912 mg kg^{-1}) Posee el contenido de vainillina más elevado (19395 mg kg^{-1}). La interacción de la sumatoria de compuestos menores sobre el contenido de vainillina $\left(\sum CM / \text{vainillina}\right)$ de 9%. (Figura 2). El sitio se localiza en ambiente templado húmedo del pacifico con precipitación media anual de 1500 a 2000 mm.

Grupo IV (U). Lo representa el sitio de Usila, y se caracteriza por presentar una concentración de ácido hidroxibenzóico de 220 mg kg $\left(\sum CM / \text{vainillina}\right)$, la concentración más baja de *p*-hidroxibenzaldehído (222 mg kg^{-1}), la más elevada de ácido vaníllico (1117 mg kg^{-1}), posee un contenido de vainillina (12023 mg kg^{-1}), y la interacción de la sumatoria de compuestos menores sobre el contenido de vainillina $\left(\sum CM / \text{vainillina}\right)$ de 13%. (Figura 2). Este sitio se ubica en ambientes templado húmedo con precipitación media anual de 2500 a 4000 mm.

Basado en las características aromáticas de los cultivares y poblaciones silvestres de *V. planifolia*, se observa que el material cultivado en la región Totonacapan, posee una menor concentración de compuestos menores en relación a vainillina, mientras que el material silvestre posee valores más altos en la proporción de compuestos menores en relación a la vainillina (Cuadro 3). Dentro de los cultivares de la región del Totonacapan se observó que la participación de compuestos menores en el aroma ha disminuido desde materiales con características "silvestres" como el genotipo GVI o Q1 con una interacción de la sumatoria de compuestos menores sobre el contenido de vainillina $\left(\sum CM / C4\right)$ de 12%, hasta ejemplares altamente modificados como el genotipo III o Q6 que posee la $\sum CM / C4$ de 7% (Cuadro 4). Lo anterior sugiere que en los cultivares a través de un proceso de selección basado en el aroma y apoyado en la reproducción clonal (asexual) de las variantes biológicas, los productores totonacos han construido y preservado variación quimiotípica/genotípica en el germoplasma de *V. planifolia*. En poblaciones silvestres de *V. planifolia*, se observó que existe participación elevada de compuestos menores en el aroma del extracto en relación al contenido de vainillina, principalmente en los grupos aromáticos U (13%) y CA (12%) (Cuadro 4), lo cual le asigna notas dulces y florales al aroma global.

Debido a que en condiciones silvestres las poblaciones de vainilla no han sido sometidas a un proceso de selección, se infiere que la variación aromática es determinada por el ambiente y posiblemente sirva para garantizar la supervivencia y reproducción de la especie (Chartier *et al*., 2013; Tuttolomondo *et al*., 2014). El contraste de la variación aromática en cultivares y poblaciones silvestres de vainilla podría explicarse, debido a que en cultivos de especies con reproducción vegetativa o clonal, la selección humana ha influido en la elección de las características utilitarias de la planta madre que origina el material vegetativo (Lebot y Levesque, 1996).

Cuadro 4. Principales características aromáticas de cultivares y poblaciones silvestres de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews. C1: ácido *p*-hidroxibenzóico, C2: ácido vaníllico, C3: *p*-hidroxibenzaldehído, C4: vainillina, $\sum CM / C4$: proporción de compuestos menores por contenido de vainillina.

Grupo aromático/cultivar	C1	C2	C3	C4	$\sum CM / C4$
	(ppm)				(%)
GIII[1] / Q6[2]	58-81	411-755	219-497	10698-17599	7
GV[1] / Q3[2]	85-100	782-861	344-498	16727-17004	8
GV[1] / Q2[2]	86	716	733	18657	8
GIV[1] / Q4[2]	66-90	391-580	497-600	10407-14344	9
GII[1] / Q5[2]	84-112	528-565	413-675	11056-12998	10
GVI[1] / Q1[2]	127	794	703	12684	12
Silvestres					
U	220	1117	222	12023	13
CA	357	641	1141	17554	12
CLC	204-287	810-815	405-590	14903-18630	8-11
PH	245	715	912	19395	9

[1] Herrera Cabrera *et al*., 2012; [2] Salazar-Rojas *et al*., 2011.

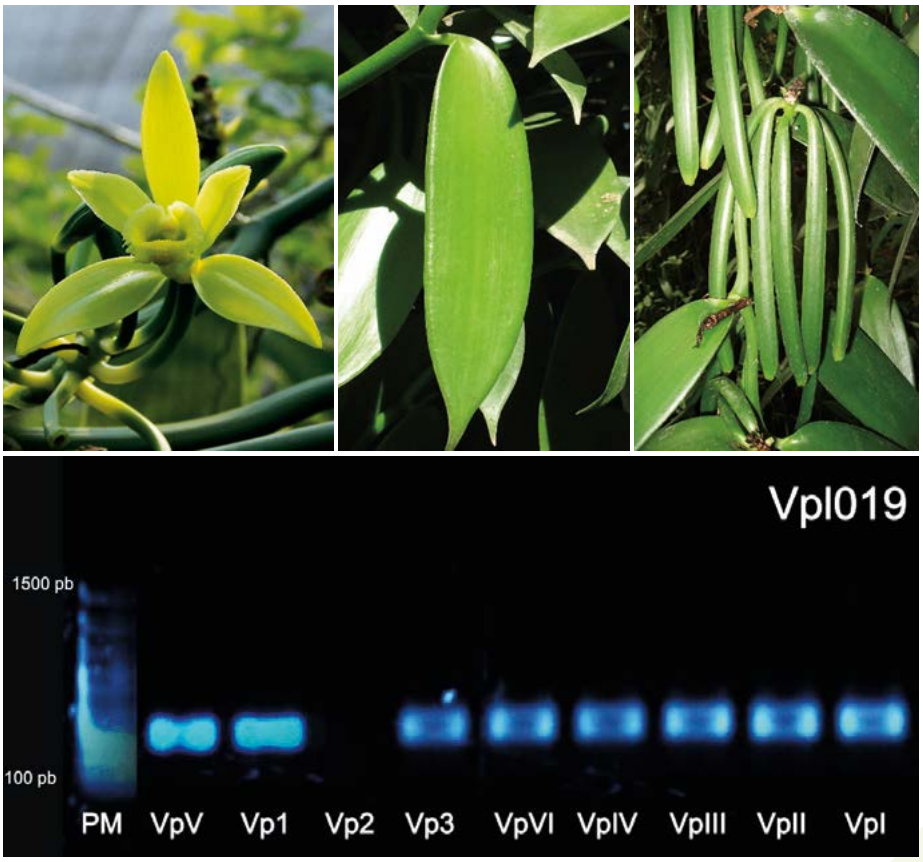

Figura 3. Flor, hoja,y fruto representativo de los quimiotipos de *Vanilla planifolia*, y gel representativo que muestra la amplificación de los perfiles de marcadores de tipo microsatélite (agarosa (1.2%). Las muestras corresponden a productos amplificados del primer VpI019. Quimiotipos de *V. planifolia*. PM=Peso molecular. Vp1=*V. planifolia* rayada, Vp2=*V. pompona grandiflora*, Vp3=*V. insignis*, VpI=de *V. planifolia* Quimiotipo 1, VpII=de *V. planifolia* Quimiotipo 2, VpIII=de *V. planifolia* Quimiotipo 3, VpIV=de *V. planifolia* Quimiotipo 4, VpV=de *V. planifolia* Quimiotipo 5, VpVI= de *V. planifolia* Quimiotipo 6.

Así, el aroma ha sido un aspecto altamente valorado por los agricultores desde tiempos remotos, que ha funcionado como criterio de selección contribuyendo a la generación de variantes químicas (quimiotipos) en cultivares como arroz (*Oryza sativa*), kava (*Piper methysticum*) y algunas especias (Lebot y Levesque, 1996; Fitzgerald *et al*., 2009; Sagar *et al*., 2009). Así mismo, en especies silvestres la variación aromática se relaciona con aspectos ambientales (Boira y Blanquer, 1998; Pluhár *et al*., 2007; Llorens *et al*., 2014 Tuttolomondo *et al*., 2014), especialmente en poblaciones con reproducción clonal, los cuales pueden presentar plasticidad fenotípica por variadas condiciones abióticas (Majetic *et al*., 2009; Kulkarni *et al*., 2012), ya que los precursores de los compuestos volátiles pueden ser influenciados por el ambiente (Figueiredo *et al*., 2008).

CONCLUSIONES

En México la variación aromática en cultivares de *V. planifolia* está determinada por seis grupos que corresponden a cinco genotípicos, los cuales provienen de un proceso de selección-domesticación realizado por grupos de la cultura Totonaca, durante el cual se sugiere que se ha modificado la concentración de los tres compuestos menores (ácido *p*-hidroxibenzóico, ácido vaníllico y *p*-hidroxibenzaldehído) sobre el contenido de vainillina.

La variación aromática de poblaciones silvestres en Oaxaca, lo conforman cuatro grupos, donde la fluctuación del ácido *p*-hidroxibenzóico, ácido vaníllico, *p*-hidroxibenzaldehído y vainillina se encuentran determinados por el ambiente, sin embargo, el aroma responde a la existencia de mayor concentración de compuestos menores en relación a vainillina.

En México centro de origen de vainilla, existe variación genética y fitoquímica, fundamental para el diseño de un programa de mejoramiento genético que permita optimizar los beneficios del cultivo a sus usuarios y contribuir con la conservación de la diversidad del pool genético primario de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews.

AGRADECIMIENTOS

Al Fondo Sectorial SAGARPA-CONACYT: 2012-04-190442. "Estrategia de investigación aplicada para el fortalecimiento, innovación y competitividad de la producción de vainilla en México (SP-04)"

LITERATURA CITADA

Bettazzi F., Palchetti I., Sisalli S., Mascini M. 2006. A disposable electrochemical sensor for vanillin detection. Analytica Chimica Acta 555:134-138.

Boira H., Blanquer A. 1998. Environmental factors affecting chemical variability of essential oils in *Thymus piperella* L. Biochemical systematics and ecology 26:811-822.

Bory S., Grisoni M., Duval M.F., Besse P. 2007. Biodiversity and preservation of vanilla: present state of knowledge. Genetic Resources and Crop Evolution 55:551-571.

Chartier M., Pélozuelo L., Buatois B., Bessière, J.M., Gibernau M. 2013. Geographical variations of odour and pollinators, and test for local adaptation by reciprocal transplant of two European Arum species. Functional Ecology 27:1367-1381.

Cibrián-Jaramillo A. 1999. Variación Genética de *Vanilla planifolia* en México. Tesis,

Facultad de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), México, D.F. 56 p.

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

Fitzgerald M.A., McCouch S.R., Hall R.D. 2009. Not just a grain of rice: the quest for quality. Trends in plant science 14:133-139.

Hágsater E., Soto-Arenas M.A., Salazar-Chávez G.A., Jiménez-Machorro R., López-Rosas M.A., Dressler R.L. 2005. Las orquídeas de México. Instituto Chinoín México, D.F. 304 p.

Herrera-Cabrera B.E., Salazar-Rojas V.M., Delgado-Alvarado A., Campos-Contreras J., Cervantes-Vargas J. 2012. Use and conservation of *Vanilla planifolia* J. in the Totonacapan Region, México. European Journal of Environmental Sciences 2:37-44.

Kulkarni R.S., Chidley H.G., Pujari K.H., Giri A.P., Gupta V.S. 2012. Geographic variation in the flavour volatiles of Alphonso mango. Food Chemistry 130:58-66.

Lebot V., Levesque J. 1996. Genetic control of Kavalactones chemotypes in *Piper methysticum* cultivars. Phytochemistry 43:397-403.

Llorens L., Llorens-Molina J.A., Agnello S., Boira H. 2014. Geographical and environment-related variations of essential oils in isolated populations of *Thymus richardii* Pers. in the Mediterranean basin. Biochemical Systematics and Ecology 56:246-254.

Majetic C.J., Raguso R.A., Ashman T.L. 2009. Sources of floral scent variation. Plant Signaling & Behavior 4:129-131.

Pluhár Z., Héthelyi É., Kutta G., Kamondy L. 2007. Evaluation of environmental factors influencing essential oil quality of *Thymus pannonicus* All. and *Thymus praecox* Opiz. Journal of Herbs, spices & medicinal Plants 13:23-43.

Ranadive, A. S. (1992). Vanillin and related flavor compounds in vanilla extracts made from beans of various global origins. Journal of Agricultural and Food Chemistry 40(10):1922-1924.

Reineccius D.G. 1995. Flavor Chemistry. En: Source Book of Flavors. Springer Science & Business Media. New York. Pp 351-361.

Sagar S.P., Chidley H.G., Kulkarni R.S., Pujari K.H., Giri A.P., Gupta V.S. 2009. Cultivar relationships in mango based on fruit volatile profiles. Food Chemistry 114:363-372.

Salazar-Rojas V.M., Herrera-Cabrera B.E., Delgado-Alvarado A., Soto-Hernández M., Castillo-González F., Cobos-Peralta M. 2011. Chemotypical variation in *Vanilla planifolia* Jack. (Orchidaceae) from the Puebla-Veracruz Totonacapan region. Genetic Resources and Crop Evolution 59:875-887.

SAS Institute. 2002. The SAS® System for Windows® (Ver. 9.0). SASInstitute Inc. Cary. NC.

Schlüter P.M., Arenas M.A.S., Harris S.A. 2007. Genetic variation in *Vanilla planifolia* (Orchidaceae). Economic Botany 61:328-336.

Sinha A.K., Sharma U.K., Sharma N. 2008. A comprehensive review on vanilla flavor: Extraction, isolation and quantification of vanillin and others constituents. International Journal of Food Sciences and Nutrition 59:299-326.

Sneath P.H., Sokal R.R. 1973. Numerical taxonomy. The principles and practice of numerical classification. San Francisco, USA: WH Freeman and Co. 573 p.

Soto-Arenas M.A. 1999. Filogeografia y recursos genéticos de las vainillas de México. Instituto Chinoin AC. Informe Final SNIB-CONABIO. 106 p.

Tuttolomondo T., Leto C., Leone R., Licata M., Virga G., Ruberto G., Bella S. L. 2014. Essential oil characteristics of wild Sicilian oregano populations in relation to environmental conditions. Journal of Essential Oil Research 26:210-220.

Verpoorte R. 2011. Prólogo *En*: Vanilla (Medicinal and aromatic plants-industrial profiles). CRC Press. 420 p.

Vodouhè R., Dansi A., Avohou H.T., Kpèki B., Azihou F. 2011. Plant domestication and its contributions to in situ conservation of genetic resources in Benin. International Journal of Biodiversity and Conservation 3:40-56.

Walton N.J., Mayer M.J., Narbad A. 2003. Vanillin. Phytochemistry 63:505-515.