

1- Biotecnología y Ciencias Agropecuarias

CUANTIFICACIÓN DE CLOROFILA EN EL CULTIVO DE AJO (*ALLIUM SATIVUM* L.) EN SEIS NIVELES DE MATERIA ORGÁNICA

Miguel Ángel Miranda C., G. S. Hernández Aquino, E. Alvarado-Bárceñas, J.G. Ramirez-Pimentel, G.García-Rodríguez. migue_16_90@hotmail.com
Instituto Tecnológico de Roque ext. Apaseo el Alto.

RESUMEN

En las últimas décadas, se han presentado cambios importantes en la producción y el consumo de alimentos en todo el mundo. Esta tendencia se vincula principalmente con una fuerte preocupación por salud. Existen nuevas exigencias en los gustos de los consumidores y una mayor conciencia de la importancia de la protección al medio ambiente. El crecimiento de la población humana implica cada vez mayor degradación de los ecosistemas por el mal uso de los fertilizantes inorgánicos y contaminación de manera irracional. Hoy en día el aprovechamiento de los desechos orgánicos representa una alternativa tecnológica, ecológica y económica para la obtención de composteo, el cual puede ser utilizado como fertilizante orgánico y mejorador de suelos. El objetivo del presente trabajo fue comparar las características fisiológicas y agronómicas en cuatro etapas y dos tamaños de bulbo mediante la incorporación de materia orgánica. Como resultado para el índice de clorofila la lectura mayor fue cuando el cultivo tenía 120 días, fisiológicamente la planta se encuentra en proceso de reservas de nutrientes, se obtuvo 61.8 unidades Spad con la incorporación de 20% de materia orgánica en el cual muestra mayor eficacia en la reserva de nutrientes para la diferenciación celular y formación de dientes, etapa en la que se requiere mayor proceso fotosintético y mayores reservas de nutrientes para la formación del bulbo. En las demás lecturas no mostró actividad fotosintética debido a que en estas etapas la planta solo concentra actividad en la acumulación de las reservas nutritivas del bulbo y no en la parte vegetativa.

INTRODUCCIÓN

En el estado de Guanajuato el ajo se considera uno de los cultivos hortícolas más importante ya que genera una gran fuente de empleos (120 mil jornales al año) por las 387 hectáreas y por lo que esto genera una gran fuente de empleos en las diversas actividades inherentes de la producción como son desgrane, selección, siembra, deshierbes, cosecha y manejo pos cosecha como deshidratación. Así como por sus divisas superiores generadas por sus exportaciones de 12,661 toneladas a Estados Unidos y a Europa y algunas regiones del caribe y Sudamérica. El crecimiento de la población humana implica cada vez mayor degradación de los ecosistemas por el mal uso de los fertilizantes inorgánicos y contaminación de manera irracional. En este sentido, la agricultura orgánica se basa en los sistemas de producción integrales que utilizan insumos naturales, composta, abonos verdes, cultivos trampa, los extractos vegetales y el control biológico, genera un producto libre de residuos tóxicos. Los residuos orgánicos se consideran como complejos heterogéneos con base de carbón simples, compuestos nitrogenados, lípidos, ácidos orgánicos (cítrico, fumárico, málico, malónico y succínico), polímeros y compuestos fenólicos (ligninas y taninos) y elementos minerales. Los fertilizantes orgánicos ejercen un efecto multilateral sobre las propiedades agronómicas de los suelos e incrementan los rendimientos de las cosechas (Romera y Guerrero, 2000). La región del Bajío de Guanajuato reúne condiciones climáticas que propician un buen rendimiento y calidad del cultivo de ajo; mediante la creación de una cultura orgánica.

El ajo (*Allium sativum* L.) es una planta monocotiledónea de la familia de las *Amaralidaceae*, que se cultiva en México y otros países por sus propiedades medicinales así como por sus acciones bactericida, antiviral, anti fúngica y propiedades alimenticias. Se le considera una de las 20 principales hortalizas a nivel mundial.

REVISION DE LITERATURA

Según Hannet (1990), la posición de la taxonomía aún está en controversia. En clasificaciones iniciales fue ubicado en la familia de las Liliaceae, y hace aproximadamente 50 años fue incluido en la familia de las Amaryllidaceae, en base a la estructura de su inflorescencia. En la clasificación taxonómica más reciente de las monocotiledóneas hecha por Hannelt (1990), el género *Allium* y sus parientes cercanos fueron incluidos en la

familia Alliaceae (cerca a la Amaryllidaceae); sin embargo, gracias a datos moleculares se ha optado por la siguiente clasificación taxonómica para el ajo (Takhtajan, 1997; citado por Rabinowitch y Currah, 2002):

Clase: Liliopsida

Superorden: Liliidae

Orden: Amaryllidales

Familia: Alliaceae

Tribu: Allieae

Género: Allium

Especie: A. sativum

Según Mustin (1987), la materia orgánica representa del 95 al 99% del total del peso seco de los seres vivos, pero su presencia en los suelos suele ser escasa y son contadas las excepciones en las que supera el 2%. Para Gros y Domínguez (1992), el nivel deseable de materia orgánica en los suelos arcillosos medios es del 2%, puede descender a 1.65% en suelos pesados y llegar a un 2.5% en los arenosos. La materia orgánica del suelo contiene cerca del 5% de N total, pero también contiene otros elementos esenciales para las plantas, tales como fósforo, magnesio, calcio, azufre y micronutrientes. Durante la evolución de la materia orgánica en el suelo se distinguen dos fases: la humidificación y la mineralización (Gros y Domínguez, 1992). La humidificación es una fase bastante rápida, durante la cual los microorganismos del suelo actúan sobre la materia orgánica desde el momento en que se la entierra.

El aprovechamiento de los residuos orgánicos cobra cada día mayor importancia como medio para mejorar la producción, reducir la dependencia de insumos externos de alto costo económico y ambiental, mejorar y hacer más sostenible la productividad del suelo, utilizar los recursos locales disponibles para el productor, responder a la creciente demanda internacional de productos libres de agroquímicos y de hacer más eficiente el reciclaje de nutrientes en la biosfera.

En las zonas agrícolas donde la escasez de agua para los cultivos es un problema que afecta la producción es necesaria la generación y aplicación de técnicas que permitan mantener el agua disponible en suelos por tiempos prolongados; esto puede lograrse aplicando unas técnicas milenarias que actualmente ha cobrado auge, debido a los beneficios que genera al momento de ser utilizada y esta es la incorporación de residuos orgánicos (Pulido, 2009).

La clorofila es el pigmento fotosintético primario en las plantas superiores y su contenido depende de la concentración de Nitrógeno (N) foliar y la dosis de fertilización con N (Lohry y Schepers, 1988), es el responsable de absorber la energía luminosa necesaria para iniciar el proceso de fotosíntesis.

La clorofila presente en la hoja está estrechamente relacionada con la concentración de N, refleja el estado nutricional con respecto a este importante nutriente. El N es necesario para la síntesis de la clorofila y como parte de esta molécula, está involucrado en el proceso de la fotosíntesis (Salisbury y Ross, 1992).

Recientemente se ha reportado que la cantidad de clorofila y de nitrógeno total determinados por los métodos tradicionales en leguminosas, gramíneas, frutales y hortalizas presenta una alta correlación con las unidades SPAD (Soil Plant Analysis Development) medidas con el detector de clorofila Minolta SPAD-502 (Reeves *et al.*, 1993).

PARTE EXPERIMENTAL

El material utilizado fue obtenido del campo experimental INIFAP bajo. De la variedad "Taiwan". Para la elaboración de la composta se construyeron camas de aproximadamente 1.20 m de ancho por 5 m de largo en diferentes capas; primero materia seca, la segunda consta de estiércol y una capa superior de material verde o basura orgánica de áreas verdes (jardines) del Instituto. La combinación de las fuentes animales y desechos orgánicos de jardinería, se hizo bajo la proporción 3:1. Estas se sometieron a una fase de precomposteo por 90 días (Diciembre, 2009 y Enero y febrero, 2010). Durante este tiempo se monitoreo el pH hasta llevarlo a 8.0; la humedad se mantuvo en 80%. Las unidades experimentales consistieron en bolsas de (30x30, calibre 500) 11.5 Kg cada unidad con porcentajes de materia orgánica 5, 10, 15, 20 y 25% de su peso. Para la de 5% en peso fue de 10.925 Kg de suelo y 0.575 de materia orgánica, para la de 10% 10.350 de suelo y 1.150 de materia orgánica, para 15% 9.775 de suelo y 1.725 de materia orgánica; 20% 9.200 de suelo y 2.300 de materia orgánica; 25% 8.625 de suelo y 2.875 de materia orgánica. Para la determinación del índice de clorofila se registraron cinco lecturas a partir del cuarto mes de establecido el cultivo, con un medidor de clorofila en intervalos de 15 días (SPAD-502) tomando 20 macetas dando un total de 60 plantas por cada toma de lecturas.

La toma de datos se realizó en la hoja, tomando la parte basal, media y apical, tomado tres lecturas y promediándolas cada una para obtener un resultado promedio de la variable clorofila.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Análisis de varianza para el índice de clorofila

En el cuadro 1, se presenta los resultados del Análisis de varianza para los índices de clorofila, registrados a partir de 120 días de establecido el cultivo; donde se diferencia la formación de bulbillos y posteriormente los muestreos se realizaron en intervalos de 30 días. Donde se puede apreciar que el tamaño de bulbo afecto estadísticamente ($p < 0.01$) únicamente la primera medición realizada a los 120 días después de la siembra. De igual forma, la aplicación de materia orgánica modificaron estadísticamente ($p < 0.01$) en el primer muestreo. Sin embargo no hubo efecto estadístico en el resto de las mediciones realizadas al cultivo. No presentado efecto estadístico significativo para la interacción de los factores (Tamaño de bulbo y Niveles de materia orgánica), en ninguna de las mediciones de clorofila realizados.

Finalmente, el coeficiente de variación se presentó en un rango de 5.4-7.8%; este valor se considera bueno y aceptable, indicando que se tuvo un buen manejo del experimento y como consecuencia el error experimental fue bueno.

Cuadro 1. Cuadrados medios del análisis de varianza índice de clorofila en cultivo de ajo, Roque, Celaya, Gto.

F.V.	G.L.	Clo1	Clo2	Clo3	Clo4	Clo5
Tamaño de bulbo(A)	1	77.77**	77.20 ^{ns}	66.97 ^{ns}	11.70 ^{ns}	8.67 ^{ns}
Niveles de M.O. (B)	6	52.72**	27.81 ^{ns}	20.28 ^{ns}	23.52 ^{ns}	13.09 ^{ns}
Interacción AxB	5	5.71 ^{ns}	41.78 ^{ns}	13.21 ^{ns}	13.03 ^{ns}	33.13 ^{ns}
Error	36	9.69	19.29	19.29	23.77	15.70
C.V. %		5.47	6.82	6.94	7.83	6.11

**= diferencias altamente significativas $\alpha=0.01$

*= diferencia significativa, $\alpha=0.05$

NS= no significativo

CV= coeficiente de variación (%)

Clo1, Clo2, Clo3, Clo4, Clo5= mediciones de clorofila

En el cuadro 2, se presentan los resultados de comparación de medias de acuerdo con Tukey ($\alpha=0.05$) para el índice de clorofila. Donde se aprecia que el tamaño de bulbo grande favoreció el mayor índice de clorofila a los 120 días después de la siembra, con unidades de 58.15 Spad. Por otro lado, la incorporación de materia orgánica correspondiente al 20 % de materia orgánica mostró el mayor efecto en el índice de clorofila con 61.8 unidades Spad en la primera medición; sin embargo, el resto de los tratamientos no tuvieron efecto. Y como se señaló anteriormente el resto de las mediciones no fueron modificadas por los factores de estudio.

Cuadro 2. Comparación de medias para índice de clorofila registrado en cinco estados de desarrollo del cultivo.

Factores de estudio	Clo1	Clo2	Clo3	Clo4	Clo5
Factor A					
Semilla Mediana	55.60 b	65.12 a	62.03 a	61.73 a	64.37 a
Semilla Grande	58.15 a	65.90 a	64.39 a	62.72 a	65.322 a
Factor B					
Nivel al 5%	54.62 b	63.58 a	65.27 a	61.95 a	64.02 a
Nivel al 10%	56.67 b	66.27 a	60.72 a	59.93 a	65.06 a
Nivel al 15%	56.18 b	67.81 a	62.05 a	60.63 a	67.00 a
Nivel al 20%	61.83 a	63.13 a	63.63 a	62.96 a	63.97 a
Nivel al 25%	56.71 b	66.91 a	63.71 a	63.51 a	63.47 a
Testigo	55.22 b	65.40 a	63.88 a	64.38 a	65.28 a

Valores con la misma letra son estadísticamente iguales.

Clo1, Clo2, Clo3, Clo4 y Clo5, corresponden a las mediciones de clorofila realizados

BIBLIOGRAFIA

1. Currah, L. 2002. Onions in the tropics: cultivars and country reports. In: Rabinowitch. H.D. and Currah. L. (eds) *Allium crop Science: Recent Advances* Cab International. Wallingford, U.K. pp. 379-407.
2. Gros, A. y Domínguez, A. 1992. *Abonos guía practica de la fertilización*. 8va. Edición. Ediciones mundiprensa. Madrid. 450 p.
3. Hanelt, P. 1990. Taxonomy, evolution and history. En: Rabinowitch, H. D. and J.L. Brewster (eds.). *Onions and allied crops I*. Florida, CRC Press. P 1-26.
4. Mustin, M. 1987. *Le compost*. Ed. Francois Dubusc. Paris. 954 p.
5. Pulido, M., Lozano P. 2009. Asociación entre indicadores de estabilidad estructural y la materia orgánica en suelos agrícolas de Venezuela. *Agrociencia* 43: 221-223.
6. Reeves, W.D., P.L. Mask, C.W. Wood y D.P. Delay. 1993. Determination of wheat nitrogen status with a handheld chlorophyll meter. Influence of management practices. *J. Plant Nutr.* 16: 7781-7796.
7. Romera, P.M. del P.; Guerrero, L. 2000. *Agricultura ecológica* (en línea). Disponible en: www.nortecasilla.es/canalagro/datos/agricultura_ecologica/agricultura_ecologica05.htm.
8. Salisbury, F.B., Ross, C.W. 1992. *Fisiología vegetal*. Editorial Iberoamericana. México D.F. pp. 319-338.

TUBERCULOSIS HUMANA CAUSADA POR *M. BOVIS* EN MEXICO

Elba Rodríguez-Hernández, Susana Flores Villalva^a, Feliciano Milián Suazob, Germinal J. Cantó Alarcón^b, Luis Gonzalo Higareda de Sales^b. rohe577@hotmail.com

^a Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal CENIDF y MA-INIFAP,
^b Universidad Autónoma de Querétaro.

RESUMEN

Las especies del complejo *Mycobacterium tuberculosis* son causantes de enfermedad en humanos y animales. Dentro de este complejo, las especies de mayor importancia en la salud tanto humana como animal son *M. tuberculosis* y *M. bovis*; esta última causa la tuberculosis en el ganado bovino. La tuberculosis humana causada por *M. bovis* es una zoonosis que se ha documentado en diferentes países entre los que se encuentra México. Las rutas de transmisión de *M. bovis* al humano, son a través del consumo de productos no pasteurizados y contacto estrecho con animales infectados. En nuestro país, existen varios reportes de la identificación de *M. bovis* en pacientes enfermos con tuberculosis activa, tanto en trabajadores expuestos al patógeno mediante un contacto estrecho con bovinos, y pacientes que pudieron contraer el patógeno a través del consumo de productos lácteos no pasteurizados. La exposición ocupacional de los trabajadores de establos a *M. bovis* es indudable, y es un riesgo constante de infección que solo con prevención y medidas de control estrictas de la enfermedad podrá combatirse. En esta revisión, reunimos los reportes de investigación relacionados a la incidencia de tuberculosis humana causada por *M. bovis* en diversos países, lo que nos expone un panorama de la situación de esta zoonosis en México y el mundo.

INTRODUCCIÓN

La tuberculosis es una de las enfermedades más antiguas que afecta a los humanos y animales. La antigüedad de esta enfermedad se estima hasta de 20,000 años; *Mycobacterium bovis* es la especie más antigua de las micobacterias que integran el complejo *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* y *M. microti*) (Bates et al., 1993; Kapur et al., 1994; Brosch et al., 2002). La tuberculosis es una enfermedad altamente contagiosa y crónica, que afecta principalmente los pulmones y puede afectar diversos órganos; es causada por la especie *Mycobacterium tuberculosis* la cual es la micobacteria en primer grado de importancia en la salud, y se transmite principalmente por contacto directo con aerosoles (Garfein et al., 2011; Dabernat et al., 2014). La infección puede permanecer en el organismo de una forma latente durante largos períodos de tiempo; los principales síntomas de la tuberculosis pulmonar activa son: tos persistente, algunas veces con expectoraciones, dolor torácico, debilidad, pérdida de peso, fiebre y sudoración nocturna. (Mack et al., 2009; de Kantor et al., 2012; WHO, 2014). El segundo agente de importancia en salud pública causante de tuberculosis es *Mycobacterium bovis*; micobacteria infecciosa que causa la Tuberculosis Bovina (TBb) (Bates et al., 1993; Brosch et al., 2002). En países industrializados la incidencia de la tuberculosis atribuida a *M. bovis* no se considera un problema de salud pública, debido a la pasteurización de la leche y a las estrategias para el control de la enfermedad en el ganado (Laniado et al., 2014).

En la actualidad, la búsqueda de *M. bovis* en pacientes enfermos o sospechosos a tuberculosis, no se encuentra entre las estrategias de los sectores de salud de los países latinoamericanos (Pérez-Lago et al., 2014). Actualmente se tienen documentados muchos casos de tuberculosis causada por la especie *M. bovis* en humanos; los primeros reportes de tuberculosis ocasionada por *M. bovis* coinciden con la domesticación de los animales por el hombre, lo que sugiere que a partir de esta cercanía pudo surgir como patógeno para el humano (Bates et al., 1993; Grange., 2001; LoBue et al., 2010; Gagneux., 2012). En esta revisión conoceremos los casos de tuberculosis causada por *M. bovis* en humanos, reportados principalmente en México.

CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA TUBERCULOSIS CAUSADA POR *M. BOVIS*

La tuberculosis causada por *M. bovis* se encuentra altamente correlacionada con la presentación extra pulmonar de la enfermedad, pero puede presentarse en su forma pulmonar así como extra pulmonar, siendo más común las adenopatías cervicales o “scrofulas” y otras formas no pulmonares; diferentes autores se refieren a esta enfermedad como Tuberculosis Zoonótica (Tbz). (Portillo and Sosa, 2011, Majoor et al., 2011).

En países desarrollados la incidencia de tuberculosis zoonótica se encuentra en el rango de 0.5% a 2.5% confirmados por cultivo, y son considerados como casos raros de este tipo de infecciones, la población más propensa como los adultos mayores que pudieran haberse infectado en su juventud o bien inmigrantes que provienen de países con poco control de la tuberculosis bovina; tienden a una reactivación (Majoor *et al.*, 2011). Las micobacterias *M. tuberculosis* y *M. bovis* forman parte del complejo *M. tuberculosis*; los signos clínicos y patología que provocan son indistinguibles entre ambas especies (Michel *et al.*, 2010, Majoor *et al.*, 2011). Los países en vías de desarrollo reportan que la frecuencia de la Tbz está entre el 12% y el 26%; se considera que la Tbz podría estar relacionada con hatos lecheros con alta prevalencia de tuberculosis bovina, el bajo control de la enfermedad y deficiencias en la industrialización de la leche (Milián *et al.*, 2010, Torres *et al.*, 2013).

EPIDEMIOLOGIA DE LA TUBERCULOSIS CAUSADA POR *M. BOVIS*

La prevalencia real de la tuberculosis zoonótica es incierta en la mayoría de los países de América, debido a que el diagnóstico en humanos no se encuentra enfocado a la identificación y diferenciación de *M. bovis*. Los métodos utilizados de diagnóstico de la tuberculosis en humanos se basan principalmente en la observación de la bacteria al microscopio a través de una tinción Ziehl-Neelsen, y la obtención de la bacteria por cultivo, lo que complica la identificación de *M. bovis* ya que esta crece en medios que contienen piruvato (debido a que tiene una mutación en el gen glicerol kinasa) mientras que *M. tuberculosis* no (Majoor *et al.*, 2011; Michel *et al.*, 2010). Los casos de *M. bovis* zoonótica también se han relacionado con el consumo de productos sin pasteurizar, por infecciones debido al contacto con aerosoles en granjeros y trabajadores de zoológicos así como de la industria cárnica. (Michel *et al.*, 2010, Rivas *et al.*, 2012). En una revisión bibliográfica realizada en diez países de Latinoamérica, donde la frecuencia de los casos fue de 0% al 2.5% se ha identificado *M. bovis* en humanos en Argentina, Brasil y Venezuela, en los otros países no existen reportes del aislamiento de esta micobacteria, este dato puede subestimar la prevalencia real de la enfermedad (de Kantor *et al.*, 2008). Otro estudio más extenso refleja una frecuencia media en África de 2.8% con un rango del 0% al 37%, en Europa el análisis refleja una media del 0.4% con un rango del 0% al 21.1% e incluye infecciones por *M. bovis* y *M. caprae*; en la región del mediterráneo se identificó una frecuencia media del 2.2% con un rango del 0.1% al 11.1% donde fueron diagnosticados casos de tuberculosis extra pulmonar, en la región de las Américas, la frecuencia media fue de 0.3% con un rango de 0% al 33.9%, destacando que en los Estados Unidos de América el mayor número de casos se observó en personas de origen hispano preferentemente nacidos en México (Müller *et al.*, 2013).

FRECUENCIA DE TUBERCULOSIS HUMANA CAUSADA POR *M. BOVIS* EN MÉXICO

En México no existe un dato oficial de la frecuencia de *M. bovis* en pacientes enfermos de tuberculosis. Sin embargo; existen estudios donde se le ha identificado como agente etiológico de la enfermedad, en el año 2008 en el estado de Querétaro, México, se realizó el diagnóstico a 255 pacientes asintomáticos a partir de muestras de esputo, orina, jugo gástrico y otros tejidos, mediante cultivo bacteriano y PCR. Los resultados revelaron que 94 muestras fueron positivas a aislamiento o PCR, y solo 13 (13.8%) de esas muestra positivas correspondieron a *M. bovis*. Adicionalmente, se realizó la genotipificación de las bacterias mediante espigotipificación, y los perfiles obtenidos fueron comparados con aislados proveniente de ganado infectado con *M. bovis*; dando como resultado 4 perfiles idénticos, lo que indica una posible relación entre los aislados causantes de la enfermedad en humanos y bovinos (Milián *et al.*, 2010). En el estado de Jalisco fueron analizadas 124 muestras de pacientes diagnosticados con tuberculosis, mediante la técnica de PCR utilizando el gen *oxyR*, resultando 35(28.2%) muestras positivas a *M. bovis* y de estas 26(74%) con presentación de tuberculosis extra pulmonar (Portillo y Sosa., 2010). Recientemente, en un estudio realizado entre 2009-2011 en el estado de Hidalgo se logró diagnosticar a dos trabajadores de establos lecheros con tuberculosis pulmonar activa causada por *M. bovis*, presumiblemente contagiados debido a la cercanía con bovinos infectados, en este reporte se clasificaron por categorías de la exposición al ganado a la que se enfrentan diferentes trabajadores relacionados a la actividad ganadera (Cuadro 1).

Cuadro 1. Categorías de la exposición al ganado entre trabajadores con actividad ganadera de acuerdo con la	Duración y condiciones de exposición al ganado	Tipo de actividad/grupo expuesto
---	---	---

duración y las condiciones de exposición. **Categoría de exposición**

Alta	Contacto directo con ganado en espacios cerrados	Trabajadores de rastro Veterinarios Capataces Ordeñadores
Media	Contacto directo con ganado en espacios abiertos	Tractoristas Criadores Comederos Asistentes de veterinario Técnicos de mantenimiento Familiares que viven en el establo

Adaptado de Torres et al., 2013

Cuadro 2. Ganado infectado con <i>M. bovis</i> en producciones lecheras y establos en México	Porcentaje
Animales muertos durante el estudio	5.3
Necropsias de rutina	45.9
Lesiones sugestivas de TB en necropsias de rutina	4.4
Cultivos de micobacterias	65.9
Aislamiento de <i>M. bovis</i> por cultivo	94.4

Adaptado de torres et al., 2013

Los animales utilizados en el estudio fueron analizados para verificar la infección con *M. bovis*, en el cuadro 2 se muestra el porcentaje de animales encontrados infectados bajo diferentes condiciones en producciones lecheras y establos. Estos resultados demuestran el riesgo de infección ocupacional mediante el contacto directo de animales con tuberculosis bovina (Torres et al., 2013). En Baja California, se realizó un análisis molecular de 600 aislados de *Mycobacterium spp.*, en pacientes sospechosos a Tuberculosis pulmonar, de los cuales 27 aislados fueron identificados como *M. bovis* por la técnica de PCR multiplex (Laniado et al., 2014, Córdoba et al., 2012). En otro estudio, en el estado de Querétaro realizado en pacientes del IMSS sospechosos a tuberculosis pulmonar; se identificaron dos positivos a la infección por *M. bovis* (Perea et al., 2014).

CONCLUSIÓN

En las zonas donde la tuberculosis bovina está presente, se ha correlacionado la presencia de tuberculosis humana con la de hatos lecheros, debido a que se ha encontrado *M. bovis* en humanos. A pesar de estos reportes; aún se requieren más estudios para conocer la situación real de tuberculosis zoonótica causada por *M. bovis*. (Milián et al., 2010, Torres et al., 2013). La prevalencia de la tuberculosis bovina en hatos lecheros en México es considera mediana-alta, según datos oficiales del Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria, una gran proporción (60%) de producción de leche tiene como destino la industrialización, sin embargo, aún persiste la comercialización de leche cruda para la realización de quesos frescos, por lo que este producto también puede considerarse un factor potencial de riesgo para la infección (Rivas et al., 2012). Este trabajo fue apoyado parcialmente con recursos del CONACyT con el acuerdo FORCECYT/5SEXT/2012/11/06-03 (clave 193512).

BIBLIOGRAFÍA

1. Bates Joseph H., Stead William W. (1993). "The history of Tuberculosis as a global epidemic", Medical Clinics of North America 77(6):1206-1212.
2. Brosch R., Gordon S.V., Marmiesse M., Brodin P., Buchrieser C., Eiglmeier K., et al. (2002). A new evolutionary scenario for the *Mycobacterium tuberculosis* complex Proc Natl Acad Sci 99:3684–3689.
3. Dabernat H, Theves C, Bouakaze C, Nikolaeva D, Keyser C, et al. (2014). Tuberculosis Epidemiology and Selection in an Autochthonous Siberian Population from the 16th-19th Century. PLoS ONE 9(2):e89877.

4. de Kantor, I.N., Ambroggi, M., Poggi, S., Morcillo, N., Da Silva M., Osório R.M., Garzón T.M., Llerena P.C., Ribón, W., García, V., Kuffo, D., Asencios, L., Vásquez C.L., Rivas, C., de Waardk, J. (2008). Human *Mycobacterium bovis* infection in ten Latin American countries. *Tuberculosis* 88:358–365.
5. Gagneux S. (2012). Host-pathogen coevolution in human tuberculosis. *Phil Trans R Soc B* 367:850–859.
6. Grange, J. M. (2001). *Mycobacterium bovis* infection in human beings. *Tuberculosis*. *Edinb* 81:71–77.
7. Kapur V., Whittam T.S., Musser J.M. (1994). Is *Mycobacterium tuberculosis* 15,000 years old? *J Infect Dis* 170:1348–1349.
8. Laniado-Laborín R., Muñiz-Salazar, R., García-Ortiz, R., Vargas-Ojeda A., Villa-Rosas, C., Ocegüera-Palao, L. (2014). Molecular characterization of *Mycobacterium bovis* isolates from patients with tuberculosis in Baja California, México. *Infect, Gen and Evol* 27:1–5.
9. LoBue PA, Enarson DA, Thoen TC. (2010). Tuberculosis in humans and its epidemiology, diagnosis and treatment in the United States. *Int J Tuberc Lung Dis* 14:1226–32.
10. Mack U, Migliori GB, Sester M, Rieder HL, Ehlers S, Goletti D, et al. (2009). LTBI: latent tuberculosis infection or lasting immune responses to *M. tuberculosis*? A TBNET consensus statement. *Eur Respir J* 33:956–73.
11. Majoor, C.J., Magis-Escurra, C., Van Ingen, J., Boeree, M.J., Van Soolingen, D. (2011). Epidemiology of *Mycobacterium bovis* Disease in Human, the Netherlands, 1993–2007, *Emerg Inf Diseases* 17:13.
12. Michel, A.L., Muller, B., van Helden, P. (2010). *Mycobacterium bovis* at the animal–human interface: A problem, or not?. *Veterinary Microbiology* 140:371–381.
13. Milián, S.F., Pérez, G.L., Arriaga, D.C., Escartín Ch.M. (2010). Molecular epidemiology of human cases of tuberculosis by *Mycobacterium bovis* in México. *Prev Vet Med* 97:37–44.
14. Müller, B., Dürr, S., Alonso, S., Hattendorf, J., Laisse, C.J.M., Parsons, S.D.C. (2013). Zoonotic *Mycobacterium bovis*–induced tuberculosis in humans. *Emerg Infect Dis* [Internet]. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1906.120543>.
15. Perea R.C., Raya R.I., Milián, S.F., Robbe-Austerman, S., Cantó A.G. (2014). Diagnóstico molecular de aislados de *Mycobacterium spp.* provenientes de personas sospechosas a tuberculosis. 2º. Encuentro de jóvenes investigadores, U.A.Q., 5 y 6 de Noviembre.
16. Pérez-Lago, L., Navarro, Y., García, V.D. (2014). Current knowledge and pending challenges in zoonosis caused by *Mycobacterium bovis*: A review. *Research in Veterinary Science* 97:S94–S100.
17. Portillo, G.L., Sosa, I.E. (2010). Molecular identification of *Mycobacterium bovis* and the importance of zoonotic tuberculosis in Mexican patients. *Int J Tuberc Lung Dis* 15(10):1409–1414.
18. Rivas, C., Greif, G., Coitinho, C., Araújo, L., Laserra, L., Robello, C. (2012). Primeros casos de tuberculosis pulmonar por *Mycobacterium bovis*. Una zoonosis reemergente en Uruguay- *Rev Méd Urug* 28(3):209–214.
19. Torres-González P, Soberanis-Ramos O, Martínez-Gamboa A, Chavez-Mazari B, Barrios-Herrera MT, et al. (2013). Prevalence of Latent and Active Tuberculosis among Dairy Farm Workers Exposed to Cattle Infected by *Mycobacterium bovis*. *PLoS Negl Trop Dis* 7(4):e2177. doi:10.1371/journal.pntd.0002177.
20. WHO, (World Health Organization), Nota descriptiva No. 104, http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/es/consultado_enero-2015.

PRODUCTIVIDAD DE ELOTE Y RENDIMIENTO DE FORRAJE EN CUATRO CRIOLLOS DE MAIZ ROJO.

Luis Alberto Noriega González^a, Estefana Alvarado Vázquez^a, Saúl Armando Cerca Vázquez^a.
Benjamín Ramírez Ramírez^b, Miguel Ángel González Granados^b.

^aInstituto Tecnológico de Roque, Carr. Apaseo el Alto – Jerécuaro, Km 11.

noriega_gonza@hotmail.com, estefana3@hotmail.com, webmaster@itroque.edu.mx.

^bInstituto Tecnológico de Roque. Carr. Celaya – J. Rosas Km 8. Ben_111_415@hotmail.com

RESUMEN

El cultivo de maíz para la producción de elote es de alto valor económico, además del buen precio que alcanza se obtienen beneficios adicionales al comercializar y utilizar el forraje verde generado para la alimentación animal. El objetivo de la presente investigación fue identificar el mejor genotipo con excelentes características para la producción de elote y forraje, con énfasis en la precocidad del material. El trabajo experimental se estableció en el Instituto Tecnológico de Roque, bajo condiciones de riego en el ciclo Primavera - Verano 2014. Los materiales genéticos utilizados en esta evaluación fueron cuatro criollos de maíz rojo con propiedades eloterías; se utilizó un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones. Las variables analizadas fueron: floración masculina y femenina, producción de elote y rendimiento de forraje. Con el análisis de varianza se logró detectar diferencias altamente significativas para las variables floración masculina y femenina, donde el genotipo cuatro presentó la mayor precocidad con valores de 73 y 75 días, respectivamente. Se presentaron diferencias significativas para la variable rendimiento de forraje, donde el tratamiento cuatro presentó inferioridad estadística para esta variable con un valor cercano a 30 toneladas por hectárea. No se detectaron diferencias estadísticas entre tratamientos en la variable producción de elote, con valor medio del experimento de 45 mil elotes por hectárea. Los rendimientos de elote fueron iguales estadísticamente, por lo cual se concluye que el mejor genotipo de acuerdo a la precocidad fue el tratamiento cuatro.

1.- INTRODUCCION.

En México existe la necesidad de ser competitivos en el mercado nacional e internacional y obtener mayores dividendos en la producción de maíz, se han generado diversas estrategias entre las cuales destaca, el aprovechamiento de la diversidad genética en los cultivares autóctonos, con la finalidad de mejorar los tipos de maíz con amplia demanda para diversas formas de consumo (Bommer, 2001). Estos tipos de maíces son comercializados en un amplio mercado nacional, obteniendo ganancias superiores al cultivo de maíz normal; son producidos en nichos ecológicos muy específicos, donde las variedades mejoradas no expresan su potencial de rendimiento o no cumplen con los niveles de calidad requeridos por los productores en la preparación de alimentos (Muñoz, 2003). El cultivo de maíz para la producción de elote es de alto valor económico, ya que además del buen precio que alcanza se obtienen beneficios adicionales al comercializar y utilizar el forraje verde generado para la alimentación animal (Hernández *et al.* 2001).

2.- MATERIALES Y METODOS.

El trabajo experimental se estableció en el Instituto Tecnológico de Roque, bajo condiciones de riego en el ciclo primavera – verano 2014. Los materiales genéticos utilizados en esta evaluación fueron cuatro criollos de maíz rojos con propiedades eloterías, colectados en el municipio de Apaseo el Alto, Guanajuato; se utilizó un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones. Las parcelas experimentales estuvieron conformadas por seis surcos de 20 metros de largo, y se utilizaron los cuatro surcos centrales como parcela útil. Las variables evaluadas fueron: floración masculina, floración femenina, producción de elote y rendimiento de forraje. El análisis de datos fue con el paquete estadístico SAS versión 9.1.

3.- RESULTADOS Y DISCUSION.

El análisis de varianza (Cuadro 1) logró detectar diferencias altamente significativas para las variables floración masculina y femenina a $p(0.01)$; sin embargo, se detectaron diferencias significativas a $p(0.05)$ para la variable rendimiento de forraje y no se detectaron diferencias en la variable producción de elote.

Cuadro 1. Cuadrados medios y grados de libertad del análisis de varianza. Resultados del experimento con 4 genotipos de maíz elotero rojo. Instituto Tecnológico de Roque. Ciclo P/V 2014.

FV	G.L	FF	FM	PROD. ELOTE	REND. FORR
Rep	2	3.68	2.18	193463428.2	498889975.3
Trat	3	280.68**	263.18**	93333592.2 ^{ns}	597482946.3*
Error	9	11.56	6.06	302408456.6	520041278.0
Total	15	295.93	274.43	589205476.9	1616414200.0
C.V (%)		1.42	1.01	12.83	20.33

*, ** y ns: indican diferencia significativa a $p= 0.05$, $p= 0.01$ y diferencia no significativa.

En la Figura 1, se puede observar que el genotipo 4, fue diferente estadísticamente al resto de los tratamientos evaluados y presentó la mayor precocidad para las variables floración femenina y masculina con valores de 73 y 75 días, respectivamente. Sin embargo, el tratamiento 4 presentó inferioridad estadística para la variable rendimiento de forraje con un valor cercano a 30 toneladas por hectárea y con respecto a la producción de elote no se detectaron diferencias estadísticas entre genotipos, con una media de producción de 45 mil elotes por hectárea (Figura 2).

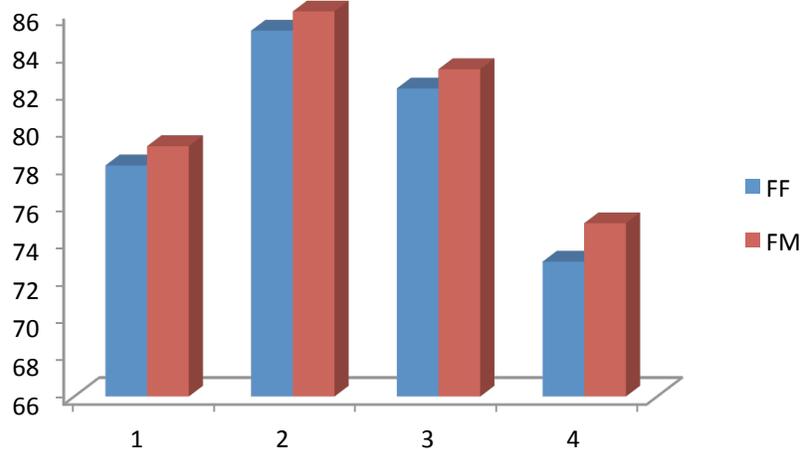


Figura 1. Días a floración femenina y masculina en cuatro criollos eloteros. Instituto Tecnológico de Roque. Ciclo P/V 2014.

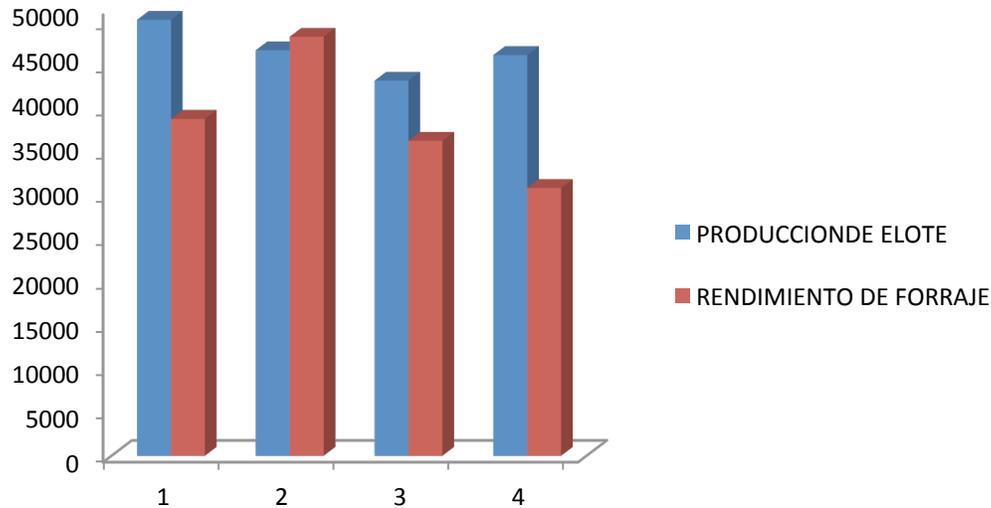


Figura 2. Producción de elote y rendimiento de forraje en cuatro criollos eloter. Instituto Tecnológico de Roque. Ciclo P/V 2014.

4.- CONCLUSION.

Los rendimientos fueron iguales estadísticamente, por lo cual se concluye que el mejor genotipo de acuerdo a la precocidad fue el tratamiento 4. El tratamiento 2 fue el genotipo que experimento mayor rendimiento de forraje, pero muy tardío.

5.- BIBLIOGRAFIA

1. Hernández A.J.A., Ramiro, C.A., Maya H.V., Chaverria, C.J y Martínez, G.M. 2001. El cultivo del maíz para elote en la zona media de San Luis Potosí. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) CIR- Centro de Investigación Regional del Noreste, Campo Experimental Las Palma. Folleto num.26 pp 5-13.
2. Muñoz, O. A. 2003. Centli-Maíz. Prehistoria e Historia, Diversidad, Potencial, Origen Genético y Geográfico. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco. México. 210 p.
3. Bommer D. F., R. 1991. The historical development of international collaboration in plant genetics resources. *In: Crop Networks: Searching for New Concepts for Collaborative Genetic Resources.* Th J L Van Hintun, L Frese, P M Perrer (eds). Papers of the EUCARPIA/IBPGR Symposium Held in Wageningen. The Netherlands. 3-6 December 1990. International Crop Network Series No. 4 International Board for Plant Genetic Resources. Rome. pp:3-12.

HIDROXIAPATITA DOPADA CON MAGNESIO MEDIANTE SINTESIS HIDROTÉRMICA

Epsilon Erydani Mejía-Martínez^a, Zully Matamoros-Veloza^a, Juan Carlos Rendon-Angeles^b, Kazumichi Yanagisawa^c

^a Instituto Nacional de México, Instituto Tecnológico de Saltillo, Saltillo, Coahuila, emejia@itsaltillo.edu.mx

^b CINVESTAV-IPN, Unidad Saltillo, Carr. Saltillo-Monterrey Km. 13.5, Ramos Arizpe, Coahuila, C.P. 5900, México

^c Research Laboratory of Hydrothermal Chemistry, Faculty of Science, Kochi University, Kochi 780-520, Japan

RESUMEN

La hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, HAp) es uno de los compuestos de fosfato más utilizados en la industria de los biomateriales de reemplazo para el sistema óseo. La incorporación del ion magnesio en la HAp, mejora las condiciones de biocompatibilidad y crecimiento óseo, debido a que el magnesio cumple funciones osteoinductoras en el hueso de manera natural. Existen diversos métodos químicos para producir HAp, sin embargo la mayoría de las rutas de procesamiento involucran la sinterización posterior, buscando obtener materiales de alta pureza y buenas características cristalinas. En este sentido, la síntesis en condiciones hidrotérmicas, promueve la formación de polvos de tamaño nanométrico con alto índice de cristalinidad, ventajas que se puede aprovechar en la producción de HAp sustituida con magnesio. El presente trabajo de investigación se enfocó en la síntesis de polvos de HAp dopada con magnesio en condiciones hidrotérmicas convencionales a baja temperatura. Los tratamientos se llevaron a cabo en un rango de temperatura entre 150-200°C, con diferentes concentraciones molares del ion magnesio, durante un periodo de reacción de 3 horas. El resultado de los análisis FT-IR y análisis químicos (ICP), confirmaron la formación de la solución sólida de Mg-HAp, del tipo $\text{Ca}_{10-x}\text{Mg}_x(\text{PO}_4)_6-x(\text{OH})_{2-x}$, debido a que el magnesio fue incorporado en la red hexagonal de la hidroxiapatita, reemplazando parcialmente los iones calcio (Ca^{+2}). Los análisis de DRX, y las observaciones MEB, comprobaron que el incremento de la temperatura de reacción favoreció el crecimiento del tamaño del cristal de los polvos producidos, obteniéndose tamaños de hasta 80.81 nm para los polvos de las soluciones sólidas sintetizadas a 200°C. Asimismo se promovió un ligero incremento de las reflexiones en los planos (002) y (211) con respecto a la estructura de la HAp pura, comportamiento que se atribuye al mecanismo de disolución-recristalización propio de la síntesis hidrotérmica. Se comprobó que mediante la síntesis hidrotérmica se producen polvos de MgHAp de alta pureza, con alto grado de cristalinidad y buen control del tamaño de partícula, aun a temperatura de 150°C y tiempo de reacción relativamente corto (3h).

INTRODUCCIÓN

La hidroxiapatita ha sido estudiada desde los últimos 30 años debido a que posee excelentes propiedades de biocompatibilidad y osteoconductividad. Es un material que resulta ideal para la reparación ósea ya que es el mineral del que está compuesta la fase inorgánica del tejido óseo. Muchos investigadores han coincidido en que a la HAp sintética se le puede mejorar la resistencia mecánica y funcionalidad, cuando se sustituyen algunos de los iones dentro de la estructura [1-2].

La HAp biológica no es estequiométrica, por ello el dopaje de la HAp estequiométrica, resulta atractivo para la investigación con el propósito de lograr propiedades similares a las de la HAp no estequiométrica la cual está presente en la parte mineral del hueso. Pequeñas cantidades de elementos como Mg, Na, Zn, F, Si y CO_3 , entre otros, suelen ser los iones que se intercambian en la estructura original, ya que de manera natural estas pequeñas trazas juegan un papel metabólico y de rendimiento general. Aunque la sustitución no afecta drásticamente las propiedades cristalográficas sí inducen a modificaciones de los parámetros cristalográficos y la modificación del grado de cristalinidad, los cuales tienen influencia en la solubilidad de la HAp en condiciones fisiológicas, y esto trae consigo la modificación de las propiedades biológicas y mecánicas [3-5].

La incorporación del magnesio en la HAp, ha sido estudiada debido a la importancia de este ion en el organismo, ya que cumple funciones osteoinductoras en el hueso, lo que lo hace ideal para productos que serán implantados y donde se necesite la generación de hueso nuevo [6]. Existen diversos métodos químicos para producir HAp sintética [7-8]. En este sentido, técnicas como la síntesis en condiciones hidrotérmicas,

proporciona una gran alternativa sobre otras técnicas ampliamente conocidas para la producción de HAp, ya que reduce el tiempo y energía necesarios para la su fabricación, lo que podríamos traducir en una gran ventaja de síntesis desde el punto de vista económico.

El presente trabajo de investigación pretende estudiar la temperatura de síntesis en la fabricación de polvos de hidroxiapatita dopada con magnesio, y su efecto sobre los parámetros morfológicos y reticulares, tales como el tamaño y estructura de los polvos obtenidos.

PARTE EXPERIMENTAL

Para la síntesis de la HAp sustituida con magnesio se utilizaron soluciones precursoras, dentro de las cuales como precursor del ion PO_4^{3-} se utilizó el fosfato de amonio dibásico $[(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4]$, mientras que como promotores del ion Ca^{2+} y Mg^{2+} se emplearon soluciones de nitrato de calcio ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) y nitrato de magnesio ($\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), respectivamente; todos los reactivos empleados fueron obtenidos con grado de pureza 99.95%, SIGMA-ALDRICH. Todas las soluciones fueron preparadas en agua destilada y desionizada en agitación constante, para el caso del $[(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4]$ se preparó una solución 0.4 molar, mientras que para el caso del $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ se preparó una solución 0.668 molar, con el fin de conservar la relación estequiométrica 1.67 respecto del calcio y el fósforo. Cabe hacer mención que para el caso de la solución precursora para preparar MgHAp, se disolvieron conjuntamente el $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ y el $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, variando la concentración de magnesio 2-6% molar respecto al calcio.

Los polvos de HAp y polvos de solución sólida de MgHAp fueron obtenidos mezclando las soluciones precursoras en constante agitación vertiendo simultáneamente en un vaso de precipitado volúmenes iguales de cada una de las soluciones preparadas, para formar una suspensión homogénea de color blanco, conservando su estequiometría, la mezcla resultante fue alcalinizada hasta un pH 10 ± 0.2 empleando solución de hidróxido de amonio (NH_4OH) concentrado.

Las suspensiones fueron transferidas a una cámara de teflón que a su vez se colocó en una autoclave de acero inoxidable. Posteriormente la autoclave fue herméticamente sellada y colocada en un horno de convección a la temperatura deseada para ser sometida a tratamiento hidrotérmico.

La síntesis se llevó a cabo haciendo variaciones de temperatura ($150\text{-}200^\circ\text{C}$) y empleando un periodo de tiempo de 3 horas, además de las diferentes concentraciones de magnesio en la solución precursora. Una vez transcurrido el tiempo de la síntesis, la autoclave se dejó enfriar fuera del horno, hasta alcanzar temperatura ambiente. Posteriormente fue separado el líquido remanente del polvo del compuesto de la solución sólida formada. Se realizaron varios lavados al polvo formado, con agua desionizada, hasta obtener un pH neutro. Finalmente el polvo obtenido fue secado en una estufa a una temperatura de 60°C por 2 días.

Los polvos de las soluciones sólidas, se caracterizaron mediante difracción de rayos-X (DRX) empleando un difractómetro marca X'Pert Philips (radiación $\text{Cu K}\alpha$ ($\lambda = 1.542 \text{ \AA}$); escaneo: continuo; paso: 0.02°). Se realizaron análisis Rietveld para la obtención de los parámetros estructurales usando la carta JCPDS #09-0432, adicionalmente se hicieron cálculos para determinar el grado de cristalinidad, para ello de acuerdo con Landi y colaboradores [9], fue utilizada la siguiente ecuación: ecuación:

$$X_c \approx 1 - \frac{V_{112/300}}{I_{300}} \quad \text{Ec. 2.1}$$

Para el análisis químico se empleó la espectroscopia de plasma inducido (equipo ICPE-900, Shimadzu) conjuntamente con análisis de espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (equipo FT-IR-4000 JUSCO). Adicionalmente se realizaron observaciones de la microestructura y morfología de la HAp y la MgHAp mediante microscopia electrónica de barrido (MEB, equipo JEOL JSM-6610LV).

RESULTADOS

El resultado de los análisis de DRX (Fig. 1), permite evidenciar que incrementos en la temperatura de reacción en la síntesis hidrotérmica favorecen un mayor grado de cristalinidad, lográndose obtener valores superiores al 80% cuando se llevó a cabo a temperatura de 200°C . Por otra parte, resultado de los cálculos Rietveld, se demuestra que existe una pequeña disminución en los parámetros a_0 y c_0 de la celda unitaria, siendo $a_0 = 9.4228 \text{ \AA}$ y $c_0 = 6.8791 \text{ \AA}$ los valores obtenidos a 150°C y $a_0 = 9.4132 \text{ \AA}$ y $c_0 = 6.8751 \text{ \AA}$ los obtenidos a 200°C , por lo que no ve afectada drásticamente la estructura de la HAp cuando ha sido dopada con magnesio bajo esta técnica

de síntesis. Asimismo, el análisis de las imágenes de los polvos de solución sólida producidos, revelan que acorde con el incremento de la temperatura se promueve el alargamiento del diámetro de la partícula de 63.92 nm (para soluciones sólidas preparadas a partir de 150°C) hasta 80.81 nm, cuando estos fueron sintetizados a 200°C en las mismas condiciones hidrotérmicas (Fig.2).

Por otra parte los análisis de FT-IR (Fig. 3), confirmaron la formación de la solución sólida de MgHAp, del tipo $\text{Ca}_{10-x}\text{Mg}_x(\text{PO}_4)_6-x(\text{OH})_2-x$, debido a que los iones Mg^{+2} fueron incorporados en la red hexagonal de la hidroxiapatita, reemplazando parcialmente los iones Ca^{+2} , dando como resultado los cambios asociados a las posiciones de los grupos OH-, que exhiben distorsión en las bandas ubicadas a 634cm^{-1} y 3565cm^{-1} . Esto se justifica, de acuerdo a lo reportado por D. Laurencin y colaboradores [10], que afirman que es debido a la menor distancia interatómica que existe entre el Mg^{+2} y el OH^- con respecto a la original distancia entre el Ca^{+2} y el OH^- , lo que conduce a dichas variaciones.

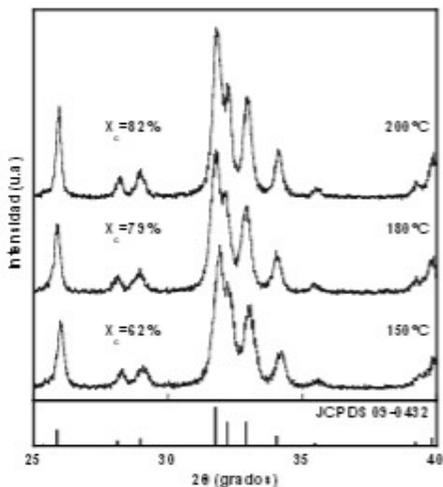


Figura 1. DRX de las muestras sintetizadas a diferentes temperaturas en condiciones hidrotérmicas de 3 h y 2% mol de magnesio en la solución precursora. Aumento del X_c con la temperatura.

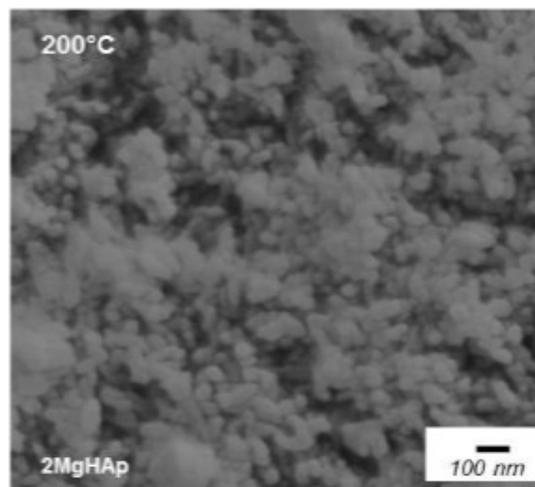


Figura 2. Imagen de SEM de la morfología de los polvos de MgHAp con longitud promedio de 80.81 nm, preparados en condiciones de síntesis hidrotérmica por 3 horas a 200°C.

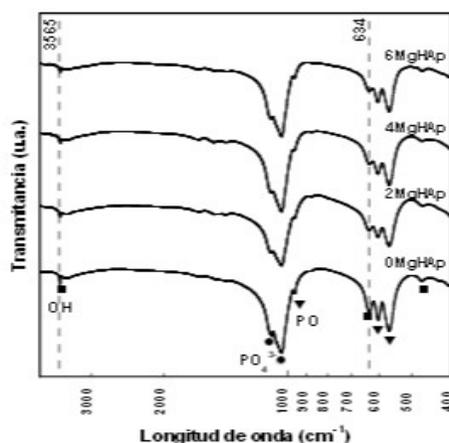


Figura 3. Espectro FT-IR del efecto del contenido de magnesio en los polvos de MgHAp producidos en condiciones hidrotérmicas de 3 horas y 180°C.

CONCLUSIONES

Mediante la técnica de síntesis hidrotérmica, fue posible sintetizar con éxito polvos de solución sólida del tipo $\text{Ca}_{10-x}\text{Mg}_x(\text{PO}_4)_6\text{-(OH)}_{2-x}$. Se encontró que la temperatura de reacción hidrotérmica tiene gran influencia sobre el tamaño y la forma de la partícula, lográndose así obtener tamaños de 80.81 nm y forma semi-esférica cuando la síntesis se realizó a 200°C, y por otra parte sobre el grado de cristalinidad se logró incrementar de 62% a 82%, lo que demuestra que la temperatura es una variable que promueve el control sobre la morfología de los polvos. Se evidencia también que es posible la obtención de polvos de alta pureza y mínima distorsión de los parámetros de red, sin la necesidad de realizar tratamientos térmicos posteriores a la síntesis. Del mismo modo se hace evidente que el contenido de magnesio en las soluciones precursoras es un factor decisivo para la cantidad final y grado de dopaje que se logre en estos polvos. Finalmente, se pueden tomar como condiciones óptimas de síntesis hidrotérmica para la preparación de soluciones sólidas de hidroxiapatita dopada con magnesio, 180°C y 3 horas, pudiendo ser el contenido de magnesio 4% molar con el fin de que la composición de los polvos producidos sea $\text{Ca}_{9.67}\text{Mg}_{0.33}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$.

BIBLIOGRAFÍA

1. M. Okada, and T. Furuzono, "Hydroxylapatite nanoparticles: fabrication methods and medical applications", *Science and Technology of Advanced Materials. Topical review*. Vol. 12, 2012, pp. 1-14.
2. G. Qi, S. Zhang, K. Aik, S. Who, and X. Zeng, "Osteoblastic cell response on magnesium incorporated apatite coatings", *Applied Surface Science.*, Vol. 255, 2, 2008, pp. 304-307.
3. J. Kolmas, A. Jaklewicz, A. Zima, M. Bućko, Z. Paszkiewicz, J. Lis, A. Ślósarczyk, W. Kolodziejcki, "Incorporation of carbonate and magnesium ions into synthetic hydroxyapatite: the effect on physicochemical properties", *J. Mol. Struct.* Vol. 987, 2011, pp. 40-50.
4. X. Lijuan, J. Liyun, J. Lixin and X. Chengdong, "Synthesis of Mg-substituted hydroxyapatite nanopowders: Effect of two different magnesium sources", *Mater. Lett.* Vol. 106, 2013, pp. 246-249.
5. A. Farzadi, F. Bakhshi, M. Solati-Hashjin, M. Asadi-Eydivand and N. Azuan, "Magnesium incorporate hydroxyapatite: Synthesis and structural properties characterization", *Ceram. Int.*, Vol. 40, 2014, pp. 6021-6029.
6. M. Kheradmandfard, M. H. Farhi, M. Ahangarian, E. Mohammadi-Zahrani, "In vitro bioactivity evaluation of magnesium-substituted fluorapatite nanopowders", *Ceram. Int.* Vol. 38, 1, 2012, pp. 169-175.
7. A. K. Nayak, "Hydroxyapatite synthesis methodologies: an overview". *Int. J. ChemTech Res.* Vol. 2, 2, 2010, pp. 903-907.
8. M. Sadat-Shojai, M. T. Khorasani, E. Dinpanah-Khoshdargi, A. Jamshidi, "Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures", *J. Act. Bio.*, 9, 2013, pp. 7591-7621.
9. E. Landi, A. Tampieri, G. Celotti, and S. Spiro, "Densification behaviour and mechanisms of synthetic hydroxyapatites", *J. Eur. Ceram. Soc.*, Vol. 20, 2000, pp. 2377-2387.
10. D. Laurencin, N. Almora-Barrios, N. H. de Leew, C. Gervais, C. Bonhomme, F. Mauri, W. Chrzanowski, J. C. Knowles, R. J. Newport, A. Wong, Z. Gan, M. E. Smith, "Magnesium incorporation into hydroxyapatite", *J. Biomaterials*, 32, 2011, pp. 1826-1837.

LA PITAYA SILVESTRE (*STENOCEREUS QUERETAROENSIS*) UNA ALTERNATIVA ALIMENTICIA, NUTRICIONAL, Y SOCIOECONOMICA

Ma. Cruz Arriaga Ruiz ^a; Enrique Pimienta Barrios ^a; Cecilia Neri Luna ^a; Adriana Avendaño López ^a; José Sánchez Martínez ^a; Luis Javier Arellano Rodríguez ^a; José Miguel Padilla García ^a; Juanita Acero Ortega ^a; Cecilia Jiménez Plascencia ^a; David López Ruiz ^b; Eduardo Rodríguez Guzmán ^a. marriaga@cucba.udg.mx

^a Departamento de Producción Agrícola, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara.

^b Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingeniería, Universidad de Guadalajara.



Foto: La pitaya

RESUMEN

Desde tiempos prehispánicos los habitantes de las regiones semiáridas de México utilizan los frutos de cactáceas con fines alimenticios, medicinales, forrajeros y agroindustriales. Entre estos frutos se encuentra la pitaya (*Stenocereus spp*). Las variedades de las pitayas silvestres de las 4 localidades estudiadas tienen forma ovoide o redonda, con un diámetro de 5 a 7 cm y un peso que va de los 49 a los 100 g. En la composición química del fruto, encontramos que el porcentaje de los sólidos solubles totales (grados Brix) en la cáscara varió entre 10% a 14% y en la pulpa fue de 11% a 13%; en la cáscara se registró un valor de pH entre 4.2 a 4.7 y en la pulpa de 3.9 a 4.6, por otro lado el ácido málico en la cáscara fue de 0.20% a 0.58% y en la pulpa de 0.25% a 0.58%; en el contenido de azúcares solubles en la pulpa: en los azúcares totales varió entre 2.6% a 6.2% y en azúcares reductores 2.4% a 5.8%; el contenido en proteína en cáscara osciló de 0.2 a 0.8 mg g⁻¹ y en pulpa de 1.5 a 3.7 mg g⁻¹; el contenido de vitamina C(ácido ascórbico) en cáscara es 8.4 a 1.4 mg100 g⁻¹ y en pulpa de 9.6 a 13.8 mg100 g⁻¹.

INTRODUCCIÓN

A los frutos de diversas cactáceas pertenecientes a las tribus *Hylocereeae*, *Pachycereeae* y *Echinocereeeae* se les designa con el nombre genérico de “pitaya” voz de origen quechua (antillano), introducida al país por los conquistadores españoles. De esta voz se han derivado distintas formas ortográficas y fonéticas, tales como “pitahaya”, “pitalla”, “pithalla”, “pithajaya”, “pitajaya” aplicados indistintamente a todos ellos, aunque algunos autores piensan que no son sinónimos. Los géneros productores de pitayas, figuran, *Hylocereus*, *Pachycereus*, *Stenocereus*, *Carnegiea*, *Machaerocereus* y *Echinocereus*. Entre los géneros más importantes se puede mencionar a las del género *Stenocereus* debido a que al madurar pierden sus aréolas con todo y espinas, su pulpa es dulce y jugosa, existiendo una amplia variación en el color de sus frutos que pueden ser de color

verde, anaranjado, morado y rojizo. Entre los géneros productores de pitayas de mayor importancia se encuentran *Hylocereus* y *Stenocereus*. (Santamaría, 1942-1943; citado por Bravo y Sánchez, 1991).

Dentro de la subfamilia *Cereoideae* se encuentra el género *Stenocereus*, el cual agrupa especies cuyos frutos denominados pitayas han adquirido valor comercial, principalmente como exóticos (Bravo, 1978), El género comprende a las cactáceas productoras de las pitayas más deliciosas, podría decirse de las pitayas verdaderas. Comprende unas 24 especies distribuidas desde el límite sur de los EUA hasta Perú y Venezuela, así como en las Antillas. (Ángel Rebollar Alviter 1997).

En México el género *Stenocereus* está representado por alrededor de 19 especies distribuidas casi en todo el territorio, aunque son mucho más abundantes al sur y sureste del Eje Neovolcánico. Dichas especies son: *S. marginatus*, *S. dumortieri*, *S. stellatus*, *S. treleasei*, *S. griseus*, *S. Laevigatus*, *S. pruinusus*, *S. eichlamii*, *S. fricii*, *S. martinezii*, *S. queretaroensis*, *S. quevedonis*, *S. montanus*, *S. thurberi*, *S. chacalopensis*, *S. chrysocarpus*, *S. wever*, *S. beneckeii* y *S. standleyi* (Sánchez – Mejorada, 1984, citado por Ángel Rebollar Alviter 1997).

Las especies cultivables del género *Stenocereus* son: *S. thurberi*, *S. Griseus*, *S. stellatus*, *S. fricci* y *S. queretaroensis*, en Jalisco éste último es el que más se aprovecha y en el cual se pueden distinguir las siguientes variedades: amarilla, blanca, mamey, morada y roja. Siendo las variedades mamey y blanca las que mayor extensión de cultivo presentan y la primera de ésta ocupa el 80% de la producción del fruto, con una producción anual de 45 a 98 frutos por planta con un peso de 89 a 165 g por fruto.

Las pitayas son frutos ovoides, globosos elipsoidales, a veces largos y piriformes, cubiertos por una cáscara o pericarpio delgado y generalmente suave, llevan areolas con cerdas, espinas o pelos. Las areolas en la mayoría de los casos caducan al madurar el fruto, a veces están sostenidas por una escama de forma, consistencia y tamaño variable según la especie; la pulpa es jugosa y dulce, generalmente de color rojo púrpura, pero puede ser blanca con tintes más o menos intensos rosados o amarillentos, rara vez verdosos. Contiene numerosas semillas generalmente muy pequeñas, de forma piriforme, de color negro o castaño oscuro. Se han identificado (por el color de la pulpa) diferentes variedades de pitayas: blanca, amarilla, morada, solferina, roja, guinda y mamey, cabe resaltar que el color del fruto, se debe a la presencia de pigmentos (betacianinas y betalanas) y que constituyen indudablemente un indicador importante, ya que determinan el atractivo tanto del fruto como de sus productos (Saenz, 1995. Citado por Neri y colaboradores 1999). Por su forma unas son aperadas, oblongas, globosas, redondas y ovoides; y por su tamaño, las hay grandes, medianas y chicas. (Ángel Rebollar Alviter 1997).

Existen 2 tipos de cosechas de las pitayas: la pitaya de mayo y la pitaya de aguas, la primera se concentra en los meses de abril y mayo y la segunda en agosto y septiembre. El fruto debe cosecharse cuando cambian de color verde pálido a un rosado o empieza a aparecer un color rojizo o pintado de rojo; así mismo, el fruto debe de presentar un aspecto hinchado y empezar a tirar la primera espina. (Díaz, 1995, citado por: Ángel Rebollar Alviter 1997).

Alternativa alimenticia.- Durante los dos periodos de cosecha de las pitayas: la pitaya de mayo y la pitaya de aguas, la primera se concentra en los meses de abril y mayo y la segunda en agosto y septiembre, significa una alternativa alimenticia para las comunidades que habitan estas zonas, y para los lugares donde las comercializan, las cuales sustituyen otros frutos que pertenecen a otras épocas del año. La fauna silvestre que habita en estas zonas donde se desarrollan poblaciones de *Stenocereus*, es una alternativa alimenticia muy importante para aves, roedores, insectos y murciélagos, representando en algunos casos como la única fuente de alimento, que les proporcionará además de agua (ya que este fruto tiene un alto contenido de ella), varios nutrientes que se encuentran en este fruto.

Alternativa nutricional.- El conocimiento de la composición química (proteínas, lípidos, carbohidratos, vitaminas y minerales) de la pitaya y sus componentes (cáscara, pulpa, y semillas), nos permite saber el aporte nutricional que tienen estos frutos para el consumidor, sobre todo tomando en cuenta a la fauna silvestre y personas que habitan en estas zonas, es una alternativa nutricional muy importante para aves, roedores, insectos y murciélagos, en época de estiaje, en donde representa su única opción. Así como también para el nutriólogo el tener el conocimiento del aporte nutricional de estos frutos que les permitirá introducirla en la dieta diaria como alternativa de otros alimentos, durante los meses de abril, mayo y junio que es el periodo cuando se produce.

Alternativa económica.- En las principales regiones semiáridas subtropicales de nuestro país existen poblaciones silvestres de pitayo (*Stenocereus* spp.) sujetas a recolección de frutos (pitayas), las cuales se consumen o comercializan en los mercados locales o en ciudades cercanas, convirtiéndose de esta manera en un complemento alimenticio y socioeconómico de las comunidades asentadas en estas zonas. El volumen de frutos frescos aportado por las poblaciones silvestres de *S. queretaroensis* es superior al obtenido en las superficies cultivadas, lo que viene a confirmar la importancia económica de estas poblaciones.

(Pimienta-Barrios y Nobel, 1994. Citado por Neri y colaboradores 1999).

En este trabajo se presenta información sobre la variación en la composición química del fruto y sus componentes (cáscara, pulpa y semillas) en poblaciones silvestres de *S. queretaroensis* que se desarrollan en la parte suroeste del estado de Jalisco (Zacoalco de Torres, Autlán y Tecolotlán) y la parte sur del estado de Zacatecas, en la localidad de Santa Rosa, en el Cañón de Juchipila, que tienen en común el presentar clima subtropical semiárido. También se resalta la importancia económica y ecológica de estas poblaciones silvestres de *S. queretaroensis*.

ANTECEDENTES

Las cactáceas son originarias del Continente Americano, figuran entre las plantas más abundantes de las regiones áridas y semiáridas, se distribuyen desde Canadá hasta Argentina. La familia comprende las subfamilias Pereskioideae, Opuntioideae y Cereoideae, mismas que agrupan a 125 géneros, de los cuales 92 se encuentran en América del Norte y 61 de éstos también en México. El número total de especies de esta familia es de 1500 a 2000; por tal razón se considera a nuestro país (México) como un centro de origen (Bravo, 1978).

Cuando los conquistadores españoles llegaron a tierras americanas, les causo mucho asombro el ver unas extrañas plantas armadas de espinas y de mal aspecto. Estas plantas eran las cactáceas, familia vegetal endémica en el nuevo mundo. Pero su asombro fue mayor al percatarse de que producían frutos deliciosos, dulces y frescos de delicado sabor y aroma que gustaba mucho a los nativos. Dichos frutos eran comercializados en los tianguis o mercados regionales en diversos puntos del país. Quizá por pereza, los españoles aplicaron a estos frutos nombres antillanos en lugar de los autóctonos, llamándoles “tuna” al fruto de los nopales y “pitaya” al fruto de otras cactáceas diferentes, en su mayoría con tallos cilíndricos, erguidos, columnares o muy ramificados y candelabrifformes a los que llamaron “cirios”, “órganos” o “candelabros”, y posteriormente “pitayos” por producir dicha fruta (Sánchez – Mejorada, 1984).

En nuestro país (México) el término pitaya se aplica en sentido amplio a la mayor parte de las frutas de las cactáceas comprendidas en las tribus *Hylocereae*, *Pachycereae* y *Echinocereae* de la subfamilia Cactoideae, y en sentido restringido a la mayor parte de los frutos de las especies incluidas en los géneros agrupados dentro de la subtribu *Stenocereinae*, principalmente a las especies del género *Stenocereus*. Los frutos de algunas especies aún conservan su nombre autóctono o local como “chende”, “chichipe”, “quiotilla”, “teteche” y “xoconoxtle”, mientras que otras tienen un nombre específico en español, como el “garambullo”, “tunillo” y “pitire”, que son verdaderas pitayas (Sánchez – Mejorada, 1984). En la actualidad el término pitaya se usa para designar los frutos que pertenecen al género *Stenocereus* y el término pitahaya para los frutos del género *Hyleocereus*. (Ángel Rebollar Alviter 1997).

En Oaxaca y Puebla la pitaya es conocida y aprovechada desde la época prehispánica (tapia, 1984), mientras que en la región de la Mixteca Oaxaqueña se tienen testimonios de que su cultivo se extendió en el siglo XVIII (1770). Las primeras familias que la cultivaron dieron el ejemplo a otras, y así sucesivamente. Hoy día gran número de poblaciones cultivan pitaya en sustitución o complemento de los cultivos tradicionales (Flores et al., 1995). Por su parte, en el municipio de Techaluta de la subcuenca de Sayula, Jalisco, el cultivo de la pitaya es una actividad al parecer muy joven, data de aproximadamente 35 años, aunque existen evidencias de un pequeño huerto de más de 50 años. Los nombres náhuatl de *Coanochtli* (“nopal-serpiente” en alusión a la forma biológica de crecimiento trepadora de estos cactus sobre los árboles) atribuido a algunas especies de pitahayas de los géneros *Selenicereus* y *Nyctocereus*, es todo un conjunto de conocimientos agroecológicos y etnobotánicos que sigue siendo presente en las tradiciones y en las costumbres de diferentes poblaciones indígenas y rurales de las zonas semidesérticas y desérticas del país (Gioanetto, F. 2000).

OBJETIVO

Determinar si la pitaya (*Stenocereus queretaroensis*), representa una alternativa alimenticia, nutricional, y socioeconómica para los pobladores y la fauna silvestre que habitan en estas zonas donde se desarrollan poblaciones de *Stenocereus queretaroensis*.

MATERIALES Y MÉTODOS

1).- Colecta del fruto.- Se hizo la colecta de pitayas en poblaciones silvestres de *S. queretaroensis* que se desarrollan en la parte suroeste del estado de Jalisco (Zacoalco de Torres, Autlán y Tecolotlán) y la parte sur del

estado de Zacatecas, en la localidad de Santa Rosa, en el Cañón de Juchipila. Se eligieron al azar a 10 plantas por localidad y se tomaron 10 frutos maduros de cada una.

II).- Análisis.- Los frutos colectados fueron llevados al laboratorio donde se les realizaron las siguientes determinaciones:

A).- Selección del fruto. Se seleccionaron de cada localidad, tomando 10 pitayas de cada una de ellas.

B).- Peso del fruto (total en gramos).- El peso se determinó con una balanza que tiene decimos de gramos.

C).- Medición del diámetro.- Con un vernier se midió el fruto.

D).- Determinación Química de la cáscara, pulpa y semillas.- Se partieron los frutos a la mitad y se les quitó la cáscara, frotándola suavemente en una coladera y la pulpa se colectó en un recipiente, y las semillas se lavaron y se secaron a temperatura de medio ambiente

a).- A la pulpa y cáscara se le determinó:

La medición de grados Brix, pH, ácido málico, azúcares totales, azúcares reductores, proteína y vitamina C.

b).- A la cáscara se le determinó:

El contenido de nitrógeno, fósforo, potasio, calcio y magnesio

c).- A la semilla se le determinó:

El contenido de proteína, lípidos y almidón

RESULTADOS

Los frutos recolectados de las cuatro localidades estudiadas ((Zacoalco de Torres, Autlán, Tecolotlán) y la parte sur del estado de Zacatecas, en la localidad de Santa Rosa, en el Cañón de Juchipila; tienen forma ovoide o redonda, con un diámetro de 5 a 7 cm y un peso que va de 49 a 100 g, por lo que coincide con lo reportado en frutos que crecen en condiciones similares. Los frutos colectados en la región Autlán presentan un peso promedio superior a los registrados en las localidades de Zacoalco, Santa Rosa y Tecolotlán. En su mayoría presentan cáscara lisa de color verde con tonalidades rojas (indicador del grado de maduración), cubierta de aréolas y de espinas caedizas, éstas representan del 22 al 35% del peso total del fruto. La pulpa que es la parte comestible comprende del 60 al 75% del peso total y en ella se encuentran las semillas, que son negras y pequeñas (3 al 5% del peso total). Se encontraron tres variedades de color: morado, rojo y amarillo, siendo las dos últimas las más frecuentes. Si hacemos una comparación de la pitaya con el fruto del nopal (*Opuntia* spp), podemos decir que en la primera es más alto el porcentaje comestible, ya que las semillas al ser pequeñas, son comidas junto con la pulpa y son fácilmente masticables permitiendo la liberación de proteínas, lípidos y almidón, en cambio con la tuna las semillas (mayor tamaño, difícilmente se pueden masticar y obtener sus nutrientes) junto con la cáscara representan cerca del 50% del volumen del fruto, lo cual reduce significativamente la porción comestible.

En la composición química de las pitayas analizadas, el porcentaje de los sólidos solubles totales (grados Brix) en la cáscara varió entre 10% y 14% , el valor más alto corresponde a la variedad amarilla de Autlán y el más bajo a la roja de Santa Rosa. En la pulpa fue de 11% a 13%, encontrándose un mayor contenido en las pitayas moradas de Zacoalco de Torres, y un menor contenido en las rojas de Autlán. De acuerdo a estos datos, tanto la cáscara como la pulpa constituyen un buen aporte de carbohidratos y agua, para las personas y la fauna silvestre que las consumen, así como para su aprovechamiento agroindustrial. En la cáscara se registró un valor de pH entre 4.2 y 4.7 y en la pulpa de 3.9 a 4.6, observándose que no existe una diferencia significativa entre las diversas localidades, correspondiendo en términos generales a un pH ácido. Por otro lado el contenido de acidez titulable (ácido málico) en la cáscara, fue de 0.20% a 0.58% y en la pulpa de 0.25% a 0.58%, resultado que nos indica que no hay variación tanto en la pulpa como en la cáscara de este componente químico en el fruto. Con respecto al contenido de azúcares solubles en pulpa: los valores de azúcares totales varió entre 2.6% a 6.2%, presentando la variedad roja de Autlán el mayor porcentaje y el menor la variedad roja de Zacoalco de Torres y en azúcares reductores los valores se encuentran entre 2.4% a 5.8%, el valor más alto lo tienen las pitayas rojas de Autlán y el más bajo las rojas de Zacoalco de Torres. A pesar de que en los sólidos solubles y la acidez titulable se encuentran comprendidos en un conjunto de compuestos (glucosa, fructosa y en cierto grado sacarosa) y los ácidos orgánicos (cítrico o málico), el sabor de la pitaya depende del balance entre el contenido de azúcar y de ácidos; como tales son caracteres de interés para el mejoramiento de la calidad y la aceptación del consumidor, favoreciendo su consumo y comercialización. El contenido en proteína en la cáscara osciló de 0.2 a 0.8 mg g⁻¹ y en pulpa de 1.5 a 3.7 mg g⁻¹; registrándose valores superiores en Autlán y Santa Rosa, en la variedad amarilla y menor en la variedad morada de Zacoalco de Torres. Es importante señalar que el contenido de proteínas en la pulpa de pitayas silvestres es superior al de las cultivadas, lo cual nos permite suponer que la pitaya es una buena fuente de proteínas para la fauna silvestre y pobladores cercanos que la

consumen. El contenido de vitamina C (ácido ascórbico) en cáscara es 8.4 a 10.4 mg100 g⁻¹ con mayor contenido en la variedad roja de Santa Rosa y menor en la variedad amarilla de Autlán, y en la pulpa varió de 9.6 a 13.8 mg100 g⁻¹ con mayor contenido en la variedad amarilla y el menor en la variedad roja, ambas de la localidad de Santa Rosa.

El análisis de la composición mineral en la cáscara de las pitayas, nos indica que el contenido de nitrógeno varía de 0.63% a 1.22%; de fósforo entre 0.07% a 0.11%; de potasio entre 0.98 a 1.07%; de calcio de 0.3 a 0.7% y finalmente de magnesio de 0.5 a 0.7%. Los valores más altos se registraron en frutos de color rojo colectados en las localidades de Autlán y Santa Rosa y los más bajos en los de Zacoalco de Torres. El aporte de minerales de la cáscara de la pitaya puede ser de gran valor nutricional, ya que es una fuente importante de magnesio, potasio, calcio y fósforo para la fauna silvestre que la consume. En las semillas el contenido de proteínas varió de 12 a 18% de peso seco, encontrándose que la variedad de Santa Rosa y Tecolotlán son las de mayor contenido proteico y las de más bajo contenido son las de los frutos de color rojo colectados en Zacoalco de Torres. El contenido de lípidos osciló del 13 al 24%, en donde las semillas de las pitayas amarillas de Autlán son las que mayor lo contienen y las de menor son las rojas de Zacoalco de torres y Santa rosa. Las semillas con mayor contenido de almidón son las pitayas amarillas de Santa rosa y el menor son las semillas de los frutos de Zacoalco de Torres. La pulpa y las semillas al ser masticadas en conjunto constituyen una fuente importante de proteínas al consumidor. En este estudio de acuerdo a los datos obtenidos encontramos que en las cuatro localidades estudiadas, los valores más altos registrados en peso y composición química en los frutos silvestres se registraron en la variedad roja de Autlán y en la amarilla de Santa Rosa y los más bajos los identificamos en la morada y roja de Zacoalco de Torres y la roja de Santa Rosa.

La producción y recolección de frutos del pitayo a partir de poblaciones silvestres representa una importante actividad socioeconómica para las comunidades rurales asentadas en las zonas semiáridas. Para las poblaciones silvestres de las localidades de Santa Rosa, Zacoalco de Torres y Autlán, se ha llegado a estimar una producción promedio de 2,000 frutos por hectárea, lo que representa un valor comercial que oscila entre los \$4,000 y 6,000 pesos (cada fruto se vende entre \$2.00 a \$3.00 pesos), por lo que algunas familias logran obtener ingresos por temporada (3 meses) superiores a \$12,000 pesos. Cabe destacar que esta producción se obtiene a muy bajo costo (sin ningún tipo de energías antropogénicas), lo cual representa para los recolectores ingresos con poca inversión.

Uno de los aspectos ecológicos más importantes de *S. queretaroensis* es que produce la mayor parte de sus flores y frutos durante la estación seca (de abril a junio); de esta manera provee alimento para algunas especies animales durante la época de estiaje, cuando muchos otros vegetales no son productivos, constituyéndose como una de las plantas clave del ecosistema en el cual se desarrollan.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Pimienta, B., E. y P.S.Nobel, 1994. Pitaya (*Stenocereus* spp. Cactaceae) an ancient and modern fruit crop of Mexico. *Economic Botany* 46: 76 – 83.
- 2.- Bravo-Hollis, H. 1978. Las cactáceas de México. 2ª. Ed. Instituto de Biología. UNAM. México.
- 3.- Sánchez-Mejorada, R. H. 1984. Breves notas sobre la vegetación y las cactáceas de las Islas Marías. *Cact. Suc. Mex.* 29: 8-9
- 4.-Pimienta Barrios E. 1999. El pitayo en Jalisco y especies afines en México.
- 5.- Robles, M.C. 1994. Estudio anatómico-fisiológico comparativo entre nopal (*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller) y el pitayo (*Stenocereus queretaroensis* (Weber) Buxbaum). Tesis de licenciatura en la Universidad de Guadalajara.

EVALUACION DEL EFECTO DE MICROONDAS SOBRE TRATAMIENTOS ALCALINOS EN RESIDUOS AGROINDUSTRIALES DE LA INDUSTRIA AZUCARERA

Diana Isis LLanes Gil López^a, Jorge Aurelio Lois Correa^a, María Elena Sánchez Pardo^b

^aCentro de Investigaciones en Ciencia Aplicada y Tecnología de Avanzada, CICATA-IPN. Km 14.5 carretera Tampico–Puerto Industrial Altamira, Tamps., México CP 89600, Tel: (833) 264 9302. diana.llanes@ymail.com

^bEscuela Nacional de Ciencias Biológicas, ENCB-IPN, México DF. Unidad Profesional Lázaro Cárdenas, Prolongación de Carpio y Plan de Ayala s/n, Col. Santo Tomas C.P. 11340 Delegación Miguel Hidalgo México.

RESUMEN

En México se generan más de 75 millones de toneladas de materia seca provenientes de 20 cultivos, de los cuales escasamente el 10% son aprovechados. La agroindustria azucarera genera nueve subproductos a partir de los cuales se puede producir toda una gama de co-productos de interés comercial. En el presente trabajo se evaluó el efecto de la acción de la energía de microondas sobre **fibras de bagazo (BC)** y **Cogollo (CC)** de caña de azúcar, respectivamente. Se realizaron dos tratamientos alcalinos, utilizando Hidróxido de Sodio (NaOH), en el primer caso el tratamiento fue asistido con microondas. Se realizaron experimentos con volúmenes de 30mL, 45mL, 60mL y 75mL respectivamente, utilizándose la potencia media (equivalente a 600 watts) de un equipo microondas a una frecuencia de 2,400 MHz. y en el segundo caso fue aplicado únicamente el tratamiento alcalino por inmersión en el volumen máximo evaluado (75mL de NaOH). Las fibras tratadas se analizaron espectroscópicamente con FTIR, Microscopia Electrónica de Barrido MEB, Difracción de Rayos X (DRX) y químicamente con un análisis de fibra cruda en los residuos antes y después del tratamiento alcalino. De los resultados del análisis de fibra cruda realizados al bagazo tratado alcalinamente con distintos volúmenes de solución asistidos por microondas, se pudo determinar una relación proporcional al aumento de solución *versus* disminución de la fibra cruda, correspondiéndole el menor valor de fibra cruda el experimento con 75 mL del agente alcalino registrándose valores de 52.75 %. Como resultado de las investigaciones realizadas, se puede señalar la obtención de residuos fibrosos tratados alcalinamente con una notable reducción en fibra cruda, lo cual garantiza la inclusión de estos residuos agroindustriales en la alimentación humana.

INTRODUCCIÓN

Una de las problemáticas actuales que aquejan al sector industrial es el tratamiento de los residuos, entre los cuales se encuentran los residuos ligno-celulósicos que constituyen, mediante un tratamiento previo, una materia prima para co-productos de valor agregado como es el caso del bio-etanol, productos de la alimentación y fármacos entre muchos otros. Actualmente, hay reportes que señalan que, a partir de los subproductos de la caña de azúcar se obtienen más de 300 co-productos, algunos de ellos de un significativo valor agregado [9]. En México se produjo unas 50 millones de toneladas de caña de azúcar en el año 2009 [6]. Después que la caña de azúcar se muele para la extracción del jugo, el **bagazo** se obtiene como un residuo fibroso, que corresponde a aproximadamente el 25% del peso total y contiene 60% a 80% de hidratos de carbono [2] con un 50 % de humedad. El bagazo se desecha como residuo agrícola o es quemado para el suministro de energía en las calderas de las fábricas de azúcar [1,7] convirtiéndose en un problema medioambiental. Otro de los subproductos de la agroindustria azucarera que lamentablemente se desperdicia en los campos, es el **cogollo de caña** de azúcar, el cual representa el 23.1% de la cosecha en verde. De manera similar a otras paredes celulares de las plantas, el bagazo y el cogollo de caña de azúcar están formados principalmente por dos fracciones de hidratos de carbono (celulosa y hemicelulosa) embebidas en una matriz de lignina. La lignina es una macromolécula fenólica, que se distingue por su resistencia al ataque enzimático y a la degradación, y por lo tanto su contenido y distribución se reconocen como los factores más importantes que determinan la pared celular recalcitrante a la hidrólisis [4, 8]. Considerando lo anteriormente expresado, es importante mencionar el papel tan importante que juegan los pretratamientos en los residuos ligno-celulósicos previos a su utilización. A lo largo del tiempo, se han aplicado distintos tratamientos con mecanismos diferentes. Los tratamientos alcalinos fueron utilizados inicialmente para aumentar la digestibilidad de la biomasa en la alimentación animal. Soluciones alcalinas diluidas conducen a la ruptura de las paredes celulares ligno-celulósicas por disolución de hemicelulosa, lignina y sílice, por hidrólisis de ésteres de ácidos urónicos y acético y por la hinchazón que provoca a la celulosa [12]. La descomposición de lignina se suele atribuir a la escisión de los enlaces éter- α

arilo de sus monómeros polifenólicos, mientras que la disolución de hemicelulosa y la hinchazón de celulosa son una consecuencia de enlaces de hidrógeno debilitados. El Hidróxido de Sodio (NaOH) presenta los mayores índices de degradación y posteriores rendimientos de fermentación en comparación con otros álcalis. En el presente trabajo se describe la aplicación de un tratamiento alcalino al 2.0 % asistido con microondas aplicando diferentes volúmenes de solución alcalina, ya que en experiencias previas se había observado que el bagazo se caracteriza por poseer una gran higroscopicidad. Paralelamente, se realizó experimentos sin aplicar microondas con la finalidad de evaluar la acción de la irradiación de microondas.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales

El bagazo fue donado por el ingenio SAPI, S.A. de C.V., ubicado en la ciudad de Panuco, Veracruz recibíendose con una humedad aproximada de 40 %, a continuación fue secado en un deshidratador vertical por aire forzado. Por su parte, el cogollo de caña de azúcar fue proporcionado por un grupo de ganaderos de la ciudad de Ozuluama, Veracruz. Ambos residuos lignocelulosicos fueron lavados y desinfectados previos a su procesamiento. Posteriormente, se molieron en un molino de martillos con malla 140 mesh (1 mm haz de luz). Para el tratamiento alcalino se utilizó Hidróxido de Sodio ACS de la marca *Fermont* con número CAS 1310-73-2 en presentación de lentejas. La Microscopia Electrónica de Barrido (MEB) se realizó en un Microscopio *JEOL JSM-5800/LV*. El Análisis con Espectroscopia de Infrarrojo (FTIR) se efectuó en un equipo *Spectrum one* marca *Perkin Elmer*. Por su parte, el análisis de Difracción de Rayos X se efectuó en un difractorómetro *Bruker D8 Advance*.

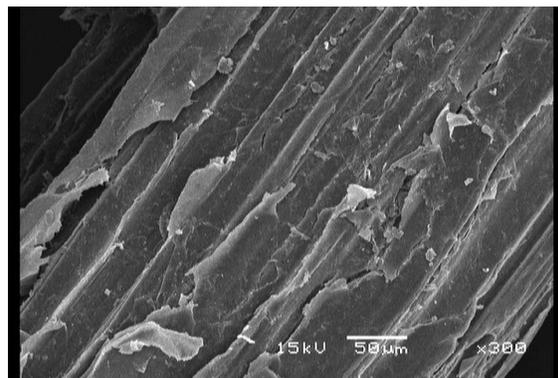
Metodología

En el presente trabajo fueron realizados experimentos con diferentes cantidades del agente alcalino Hidróxido de Sodio (NaOH) con la finalidad de optimizar el método que adecuara este parámetro, ya que se tienen reportes de la alta higroscopicidad del Bagazo de Caña de Azúcar. A ese efecto, se realizaron experimentos con 30 mL, 45 mL, 60 mL y 75 mL utilizando la potencia media (equivalente a 600 w) de un equipo microondas a una frecuencia de 2400 MHZ. Después del tiempo de reacción las fibras fueron lavadas con agua destilada hasta igualar el pH de esta última, posteriormente fueron filtradas en un embudo *Buchner*, adaptado al vacío. Previo a su análisis las fibras tratadas fueron secadas a 100° C. El fundamento de este tratamiento radica en que el calentamiento del agua intersticial que posee la muestra distiende sus células y lleva a la ruptura de sus glándulas y receptáculos del material, propiciando a su vez la ruptura de enlaces de hemicelulosa y lignina. Con el objetivo de tener un patrón de referencia, se realizó un análisis químico y microscópico con Microscopia Electrónica de Barrido (Fig.1) de los residuos fibrosos, previo a la aplicación del agente alcalino, cuyos resultados se muestran en la Tabla 1 correspondientes al Bagazo y Cogollo de Caña de Azúcar respectivamente.

Tabla 1. Caracterización inicial del bagazo y cogollo de caña de azúcar.

Parámetro	Bagazo sin tratamiento	Cogollo sin tratamiento [6]
% Materia seca	92.5	88.88
% Humedad	7.4	11.12
% Proteína cruda	4.2	4.41
% Cenizas	4.0	4.98
% Fibra Cruda	80.7	68.00
% Extracto Etéreo	1.7	2.79

En el análisis químico proximal (AQP) de los residuos sin tratar, se puede apreciar el alto contenido de fibra en ambos casos, lo cual para fines del presente trabajo es deseable en tanto la lignina se despolimerice para, a partir de estos residuos, poder dar un aporte de fibra nutricional a alimentos para humanos. Por su parte, en las imágenes de MEB se puede apreciar para ambos materiales, las paredes totalmente lignificadas, también se observa unas especies de incrustaciones, debidas a la matriz lignocelulósica.



Resultados de Fibra Cruda a tratamientos alcalinos asistidos con microondas.

De los resultados del análisis de Fibra Cruda realizados al Bagazo tratado alcalinamente con distintos volúmenes de solución, se puede encontrar una relación proporcional al aumento de solución versus disminución de la fibra cruda, siendo el menor valor de fibra cruda el experimento con 75 mL del agente alcalino teniéndose valores de 52.75 % de fibra cruda, en todos los experimentos se aplicó la acción de microondas, teniéndose como testigo al experimento de bagazo sin tratamiento (BCA) donde se obtuvo un 80.7% de Fibra Cruda. El cuadro 2 muestra los resultados del análisis de fibra cruda realizado al Cogollo de Caña de Azúcar, observándose un comportamiento semejante que lo ocurrido en los experimentos con bagazo, ya que los valores más bajos de Fibra Cruda se reportan al mayor volumen de agente alcalino, obteniéndose 52.75 % de FC; no obstante, el valor para el experimento donde se utilizaron 30 mL de NaOH tienen valores semejantes de 53.6 % de FC.

Muestra	% Fibracruda
BCA	80.7
BCAMW-30mL	53.6
BCAMW-45MI	56.3
BCAMW-60mL	56.2
BCAMW-75MI	52.75
BCA S/MW-75 MI	57.78
Muestra	% Fibracruda
CCA	68
CCAMW-30mL	57.5
CCAMW-45mL	36.56
CCAMW-60mL	65.8
CCAMW-75mL	34.7
CCA S/MW-75mL	39.5

A partir de los resultados de Fibra Cruda se puede vislumbrar el efecto positivo de la irradiación de microondas ya que se obtuvo valores de fibra más bajos en el experimento al que se aplicó energía de microondas en comparación con el testigo en orden de 4.0 y 5.0 % para los experimentos de Bagazo y Cogollo de Caña de Azúcar respectivamente.

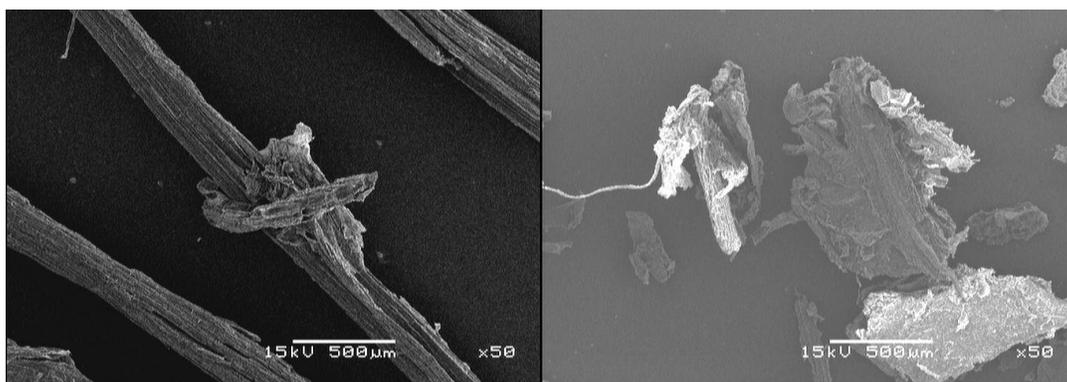
Caracterización con difracción de rayos X (DRX)

En la Figura 2 se muestran los experimentos de bagazo tratados alcalinamente asistidos con microondas con

diferentes volúmenes de agente alcalino, se puede observar una disminución de la amorficidad de las muestras en relación directa al aumento del agente alcalino en el pico 22 de 2 teta grados, el cual se ha reportado corresponde a las inflexiones de la celulosa [8]. En la Figura 3 se muestran los difractogramas de los experimentos realizados a Cogollo de Caña de azúcar en los difractogramas en los que se observan particularmente los planos de difracción de la celulosa I, los cuales son 101, 101 y 002 presentes en los ángulos de difracción 2θ alrededor de 14.6 , 16.6 y 22.7 , respectivamente.

Resultado de micrografías con MEB

En las microscopías se muestran imágenes de fibras de bagazo (Fig. 4) y cogollo (Fig. 5) tratadas alcalinamente con NaOH al 2% asistido por microondas. En la Figura 4 podemos observar que las fibras están agrietadas en las paredes a la vez, se puede apreciar fibras con dobleces debidos a que los haces de fibra no están empaquetados y tienen más flexibilidad debido a la acción del agente alcalino.



En la Figura 5 se observa un notable fraccionamiento de las fibras del cogollo de caña de azúcar debido a la despolimerización de la lignina y ruptura de enlaces.

Resultados de la caracterización con espectroscopia con infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)

En la Figura 6 se observan, absorciones características de los grupos OH alcohólico de polisacáridos y OH fenólicos de la lignina, que se encuentran formando enlaces de hidrógeno inter- e intramoleculares las vibraciones de valencia en la zona de 3400 a 330 cm^{-1} y las vibraciones de doblaje de 1000 a 1200 cm^{-1} , se observan disminuidas en el bagazo con tratamiento alcalino asistido por microondas, por lo que se asume que se disminuyeron los enlaces de la lignina.

CONCLUSIONES

A partir de los experimentos realizados con el tratamiento alcalino asistido con microondas se pueden apreciar cambios físicos en las fibras tratadas, debidos a la ruptura de los enlaces de la lignina, también se observa la formación de cúmulos en las fibras tratadas, esto se puede atribuir a la formación de compuestos y acumulación de minerales. También se observaron cambios químicos destacándose la disminución de Fibra Cruda, lográndose reducciones de 27.95 % de Fibra Cruda para el caso del Bagazo y 33.3 % para el Cogollo, ambos con tratamiento alcalino utilizando 75 mL de agente alcalino. A partir de estos resultados se puede vislumbrar la utilización de estas fibras delignificadas como fibra dietética en alimentos para consumo humano. A partir de los resultados obtenidos se puede aseverar que el efecto de la radiación de microondas es positivo en el tratamiento alcalino.

AGRADECIMIENTOS

A los proyectos: SIP20140206 y SIP20151141 del Instituto Politécnico Nacional. Y al Ingenio Panuco, S.A.P.I. S.A de C.V.

BIBLIOGRAFÍA

1. Betancur GJV, Pereira N Jr. Bagazo de caña como materia prima para la producción de etanol de segunda generación. Parte I optimización del pretratamiento ácido. *Electron J Biotechnol*. 2010;13: pp.1-9.
2. Deschamps FC, Ramos LP, Fontana JD. El pretratamiento del bagazo de caña de azúcar para mejorar la digestión ruminal. *ApplBiochem. Biotechnol* 1996. pp. 171-182.
3. EeroSjöström ,Wood Chemistry, *Fundamentals and Applications*, Second Edition.1993.p.86.
4. Himmel ME, Ding SY, Johnson DK, Adney WS, Nimlos MR, Brady JW, Foust TD. Biomass Recalcitrance: Engineering Plants and Enzymes for Biofuels Production *Science* 315, 804 (2007); DOI: 10.1126/science.1137016.
5. Lois Correa, Jorge A., Consideraciones de base para una propuesta de diversificación de la agroindustria del azúcar de caña. Extenso de conferencia magistral en el marco del “7 ° Congreso Internacional de la Academia Mexicana MultidisciplinariaCiencia, Tecnología e Innovación en Movimiento”4-6 de marzo del 2015.
6. Orta Guzmán V.Cogollo de caña de azúcar tratado alcalinamente y suplementado para alimento de ganado bovino. Extenso de conferencia en el marco del “27 ° Encuentro Nacional de Investigación Científica y Tecnológica del Golfo de México.4-6 de marzo del 2015.
7. Pauly M, Keegstra K. Carbohidratos de la pared celular y su modificación como un recurso para los biocombustibles. *Plant J*. 2008; 54 : 559-568. doi:. 10.1111 /j.1365-313X.2008.03463.x
8. Ralph J, Brunow G, Boerjan W. Lignins. Rose F, Osborne K, editors. *Encyclopedia of Life Sciences*. Wiley & Sons, Chichester, UK, (2007), pp 1–10
9. Rezende, C. A., de Lima, M. A., Maziero, P., de Azevedo, E. R., Garcia, W., &Polikarpov, I. Chemical and morphological characterization of sugarcane bagasse submitted to a delignification process for enhanced enzymatic digestibility. *Biotechnology for Biofuels*, (2011). 4, 54. doi:10.1186/1754-6834-4-54.
10. Sarkanen KV, Ludwig CH. Lignins: Occurrence, Formation, Structure and Reactions. *John Wiley and Sons*,(1971) New York
11. Weihua Xiao, Lujia Han, Yanyan Zhao, Comparative study of conventional and microwave-assisted liquefaction of corn stover in ethylene glicol, *Industrial Crops and Products*34 (2011) Pg 1602–1606.
12. Zhang YP, Lynd LR. Hacia una comprensión agregada de la hidrólisis enzimática de la celulosa: sistemas de celulasa no complejados. *BiotechnolBioeng*. 2004; 88: 797-824. doi:. 10.1002 / bit.20282.

PRODUCCIÓN DE UN EXTRACTO ENZIMÁTICO CON PROPIEDADES CELULOLÍTICAS A PARTIR DE UN MICROORGANISMO CELULOLÍTICO

Florencia Salinas ^a, E. Torresa, C. Álvarez^a, E. Bazán^a,
^aUniversidad Tecnológica de Tecámac, Estado de México, biotlofencia@yahoo.com.mx

RESUMEN

En el presente trabajo se realizó un estudio sobre la actividad enzimática que tienen algunos microorganismos obtenidos de una composta madura. Se realizó su aislamiento para obtener una cepa pura en medio Luria Bertani (Medio LB), por método de vaciado en placa; se realizó la identificación del microorganismo con la técnica de Gram y pruebas bioquímicas con la ayuda del equipo VITEC 2 de BIOMÉRIEUX, identificando a la bacteria como *Pseudomonas aeruginosa*. La bacteria se inoculó en un medio con solución isotónica permaneciendo en contacto varios días, se tomó 1 ml que contenía 1.912×10^8 UFC (Unidades Formadoras de Colonias) en dos distintos medios de cultivo a base de triptona, extracto de levadura, NaCl, $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$, KH_2PO_4 , se utilizó como sustrato paja pretratada químicamente con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y sin pretratar. Se utilizaron 6 diferentes combinaciones de sustrato con diferentes tamaños de partícula para evaluar la diferencia de degradación así como consumo y calcular rendimientos de biomasa de la fermentación que tuvo un periodo de 10 días mediante cálculos y gráficas, dando como resultado una mayor degradación en el medio que contenía como sustrato la paja pretratada con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y la partícula de menor tamaño. El medio de la fermentación se trató con sulfato de amonio al 80% de saturación para precipitar las enzimas y conservándolo en 3 ml de buffer con pH de 5.5; obteniendo así el extracto enzimático. La actividad celulolítica de la bacteria fue evaluada mediante la técnica del ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) en las distintas fermentaciones dando como resultado mayor actividad en la fermentación que obtuvo la paja pretratada con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y con la partícula más pequeña, para ello se analizaron por medio de gráficas y métodos estadísticos, mediante un diseño en bloques azúcares reductores y actividad enzimática y análisis de medias utilizando el método de Duncan.

INTRODUCCIÓN

En gran parte del territorio mexicano se realiza la actividad agrícola y en ello se lleva a cabo la cosecha de trigo cuya producción anual es de 3 245 370 toneladas (INEGI, 2014) que representa un alto contenido de lignocelulosa, ya que es el principal componente de la pared celular de las plantas, esta biomasa producida por la fotosíntesis es la fuente de carbono renovable más prometedora para solucionar los problemas de degradación ambiental (Sanchez O. y Cardona C., 2005). De esta producción hay un alto volumen de residuos, la cual se ha aprovechado desde la elaboración de compostas hasta producción de etanol. Los microorganismos encargados de la degradación de la celulosa, principal componente de la pared celular de las plantas, contienen la maquinaria enzimática necesaria para dicho propósito, en el cual se encuentran las celulasas, hemicelulasas, enzimas xilanasas degradadoras de xilano, mananas, enzimas degradadoras de manano, enzimas celulolíticas donde se despliegan las endocelulasas, exocelulasas y celobiasas.

El proyecto "Producción de un extracto enzimático con propiedades celulolíticas a partir de un microorganismo celulolítico", realizado en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Tecnológica de Tecámac (UTTEC), tiene como objetivo efectuar procesos biotecnológicos aprovechando la capacidad celulolítica de microorganismos aislados de composta madura para degradar los residuos vegetales para su posterior implementación en diversas áreas como la alimentaria, salud, agropecuaria, ambiental, industrial y de desarrollo e investigación para la mejora del medio ambiente e implementación en procesos industriales.

Objetivo general

Producir un extracto enzimático con propiedades celulolíticas a partir de un microorganismo celulolítico.

Objetivos específicos

- Aislar e identificar un microorganismo con capacidad celulolítica para obtener una cepa pura a partir de medio de cultivo Luria Bertani.
- Producir un extracto enzimático con propiedades celulolíticas a partir de la fermentación de paja de trigo químicamente pretratada con $\text{Ca}(\text{OH})_2$.
- Determinar la capacidad celulolítica del extracto producido para conocer los rendimientos de actividad enzimática mediante mediciones espectrofotométricas

TEORÍA

Componentes de lignocelulosa

Todos los tipos de materiales lignocelulósicos se construyen principalmente de celulosa, hemicelulosa y lignina. La composición y proporciones de estos tres componentes varían entre plantas, pero juntos constituyen alrededor del 90% del peso seco.

Celulosa

Se trata de un homopolímero lineal de Dglucosa vinculado- β -1,4 moléculas de celobiosa, dímero como la unidad de repetición, distribuida en largas cadenas de celulosa con un grado de polimerización de hasta 15.000 unidos entre sí con enlaces de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals

Hemicelulosa

Es el segundo constituyente principal de la lignocelulosa, es la vinculación material entre la celulosa y la lignina. Es un ramificado heteropolímero con menos resistencia, estructura más amorfa y menor grado de polimerización (<200) que la celulosa(Saha, 2003). Se compone principalmente de diversas hexosas tales como D-glucosa, D-galactosa y D-manosa, y de pentosas tales como D-xilosa y L-arabinosa, unidos entre sí por β -1,4 y algunas veces por β -1,3- enlaces glicosídicos.

Lignina

La lignina, el tercer constituyente principal de la lignocelulosa, es complejo, muy ramificado, de alto peso molecular, amorfo, polímero aromático, que está estrechamente ligado tanto a la celulosa y la hemicelulosa en parte de los materiales. En contraste con la celulosa y la hemicelulosa, no se compone de unidades de repetición. La lignina es muy resistente a los tratamientos químicos y microbianos, y junto con la celulosa, da una fuerza increíble a los árboles, lo que permite que se coloquen en posición vertical y crecer hasta más de 100 m de altura.

Enzimas celulolíticas

El complejo de enzimas celulolíticas consiste en tres enzimas hidrolíticas: Endoglucanasas, exoglucanasas y celobiasas, las cuales trabajan sinérgicamente (Lemaire. M., 1996).

Pretratamiento de la biomasa

El pre-tratamiento tiene como objetivo desintegrar la matriz de carbohidratos de tal manera que la celulosa reduzca su grado de cristalinidad y aumentar la celulosa amorfa, que es la más adecuada para el posterior ataque enzimático. El pre-tratamiento permite que los rendimientos en la hidrólisis de celulosa aumenten del 20 al 90%. Se han propuesto y desarrollado diferentes métodos físicos, fisicoquímicos, químicos y biológicos (Sun Y. y Cheng, 2002).

PARTE EXPERIMENTAL

Aislamiento e identificación del microorganismo

El microorganismo se aisló a partir de una composta en fase madura, inoculado en medio estéril con harina de celulosa de trigo como fuente de carbono, se incubó durante un periodo de 5 días con aireación. Para la identificación primaria del microorganismo se utilizó la técnica de Gram. La identificación bioquímica del género y especie del microorganismo se realizó en SENASICA (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria) mediante el equipo llamado VITEK 2 de BIOMÉRIEUX

Fermentación

Se tomó 1 ml del inóculo utilizando 6 diferentes combinaciones de sustrato basada en tamaño de partícula y la concentración con y sin tratamiento químico ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) como se muestra en la tabla número 1.

*1 A	60	0.5
*1B	60	1
*2 A	40	0.5
*2B	40	1
*3 A	20	0.5
*3B	20	1

Tabla 1. Combinaciones de sustrato de diferentes mallas.

Determinación de parámetros

Se realizó la determinación de biomasa, consumo y degradación de sustrato mediante gravimetría. La determinación de concentrado enzimático se realizó a partir del extracto de la fermentación y precipitación con sulfato de amonio al 80%. La actividad enzimática se determinó mediante la degradación de la paja con la técnica de DNS.

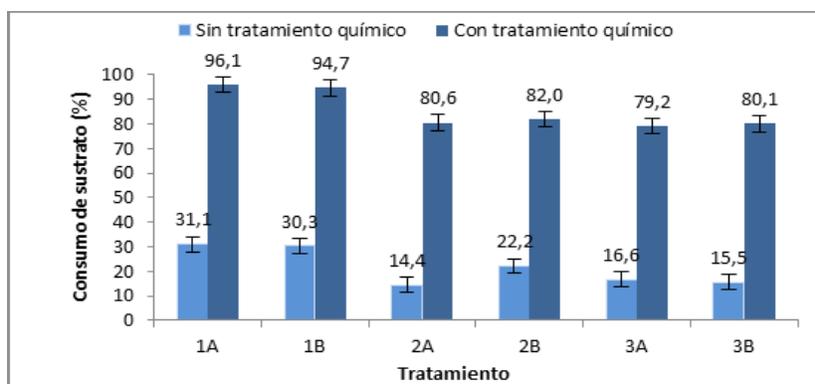
RESULTADOS

Aislamiento e identificación del microorganismo

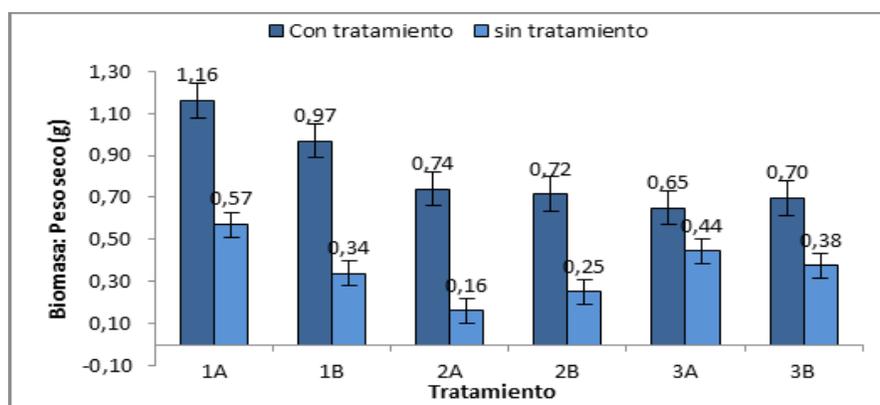
Se obtuvo una cepa pura Gram negativa, las pruebas bioquímicas la identifican como *Pseudomonas aeruginosa*.

Formación de biomasa, consumo y degradación de sustrato

Los resultados obtenidos se graficaron para una mayor apreciación de la diferencia entre las condiciones. (Gráficas 1 y 2), en donde se observa que es significativamente mayor tanto el consumo de sustrato, como formación de biomasa en paja químicamente pretratada.



Gráfica 1. Valores obtenidos para el consumo de sustrato con y sin tratamiento.



Gráfica 2. Formación de biomasa con tratamiento y sin tratamiento

Azúcares reductores y actividad enzimática

Mediante un diseño de arreglo en bloques se manejaron los datos de azúcares reductores y actividad enzimática (Tabla 2), para realizar el análisis de varianza y comparación de medias, utilizando el método de DUNCAN. Los resultados indican que ambos parámetros tienen diferencias entre sí, esto puede ser por el tamaño de partícula y la concentración en la fermentación, ya que esto influye en el consumo de sustrato y la cantidad de azúcares formados. El análisis de varianza establece que hay diferencia significativa en los tratamientos ya que el valor P es de 0.8341 lo que indica que es superior al valor F0 que establece que hay diferencia entre los tratamientos siendo los medios significativamente diferentes en azúcares reductores, en consideración al proceso presenta una diferencia de un alfa de $<0,0001$; lo cual indica que hay una diferencia significativa en los días.

Tratamiento	DÍAS															
	1		2		4		5		6		7		9		11	
A. R	A. E	A. R	A. E	A. R	A. E	A. R	A. E	A. R	A. E	A. R	A. E	A. R	A. E	A. R	A. E	
1A	1,71	0,00	1,62	1,75	1,65	1,92	1,05	1,88	1,88	1,65	1,92	1,68	1,74	1,69	1,75	1,76
1B	1,66	0,00	1,70	1,69	1,63	1,93	1,87	1,89	1,91	1,68	1,93	1,67	1,76	1,69	1,77	1,77
2A	1,69	0,00	1,69	1,67	1,71	1,84	1,89	1,82	1,90	1,68	1,91	1,63	1,72	1,68	1,72	1,72
2B	1,66	0,00	1,69	1,65	1,72	1,82	1,88	1,83	1,89	1,65	1,91	1,69	1,72	1,70	1,70	1,70
3A	1,69	0,00	1,71	1,62	1,70	1,81	1,88	1,78	1,87	1,66	1,93	1,64	1,75	1,69	1,76	1,87
3B	1,70	0,00	1,64	1,78	1,72	1,80	1,90	1,75	1,91	1,67	1,90	1,67	1,77	1,69	1,77	1,76

A.R: Azúcares reductores; A.E: Actividad Enzimática (mg/ml)

Tabla 1. Arreglo del diseño en bloques azúcares reductores y actividad enzimática.

En las tablas 3 y 4 se observa el análisis de medias para determinar significativamente las diferencias entre las muestras; se puede apreciar que la agrupación de las muestras utilizando el método de Duncan, todas las medias son significativamente diferentes ya que comparten una letra en la agrupación. Conforme los azúcares reductores como la actividad enzimática tienen diferencias entre sí, esto puede ser por el tamaño de partícula y la concentración que se tuvo en la fermentación ya que esto influye de manera directa en el consumo del mismo y la cantidad de azúcares, como de actividad desarrollada.

AGRUPACIÓN	MEDIA	N	TRATAMIENTO
A	1.78875	8	TRATAMIENTO06
A			
A	1.78625	8	TRATAMIENTO05
A			
A	1.77875	8	TRATAMIENTO03
A			
A	1.77875	8	TRATAMIENTO02
A			
A	1.7775	8	TRATAMIENTO01
A			

A 1.77125 8 TRATAMIENTO04

Tabla 2. Análisis de varianza de medias para azúcares reductores.

AGRUPACIÓN	MEDIA	N	TRATAMIENTO
A	1.66625	8	TRATAMIENTO06
A	1.665	8	TRATAMIENTO05
A	1.64	8	TRATAMIENTO03
A	1.63375	8	TRATAMIENTO02
A	1.63	8	TRATAMIENTO01
A	1.63	8	TRATAMIENTO04

Tabla 3. Análisis de varianza de medias para actividad enzimática.

CONCLUSIONES

Se aisló e identificó con un 98% de certeza la bacteria celulolítica *Pseudomonas aeruginosa*. El tamaño de partícula y la concentración del sustrato si tienen gran efecto sobre la degradación de las enzimas celulolíticas, ya que entre más pequeña sea la partícula y entre más sustrato posea mayor es su producción aunque varía de acuerdo a los días de proceso

BIBLIOGRAFÍA

1. INEGI, I. N. (2014). Boletín de Información Oportuna del sector alimentario. México.
2. Lemaire. M. (1996). The cellulosome- an exocellular multiprotein complex specialised in cellulose degradation. *Critical Reviews and Biochemistry and Molecular Biology*, 2001-2036.
3. Saha, B. (2003). Hemicellulose bioconversion *J Ind Microbiol Biotechnol*. Estados Unidos.
4. Sanchez O. y Cardona C. (2005). Producción biotecnológica de alcohol carburante I: Obtención de diferentes materias primas. *Interciencia*, 30 (11), 671-677.
5. Sun Y. y Cheng, J. (2002). Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production. *Bioresource Technology*, 83, 1-11.

IDENTIFICACIÓN DE POSIBLES RECEPTORES DE PROGESTERONA Y PROLACTINA EN LARVAS DE *TOXOCARA CANIS*

Chávez-Güitrón L.^a, Nava-Castro K.^b Muñoz-Guzmán M.^c, Morales-Montor J.^c y Alba-Hurtado, F.^c

^aDivisión de Biotecnología, Universidad Tecnológica de Tecámac, Edo. de México. Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal de la UNAM.

^bDepartamento de Inmunología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM.

^cDepartamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.
fealba@hotmail.com.

RESUMEN

En perros adultos las larvas de *T. canis* se enquistan en diferentes tejidos, durante la gestación, las larvas se reactivan y se transmiten por vía transplacentaria y lactogénica a los cachorros. En esta etapa gestacional, se ha propuesto que las variaciones hormonales observadas en este periodo están relacionadas con la reactivación. Lo que implicaría que las larvas son capaces de reconocer estas variaciones hormonales y utilizarlas para su desarrollo. Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue determinar la presencia de posibles receptores de progesterona y prolactina en larvas de *T. canis*. Las células de larvas de *T. canis* fueron disgregadas y analizadas por citometría de flujo. La presencia de posibles receptores se evaluó en larvas de *T. canis* mantenidas en cultivos durante 20, 35 y 57 días. Los anticuerpos utilizados reconocieron células de larvas de *T. canis*, por lo que probablemente tengan receptores para las hormonas evaluadas. En general, el porcentaje de células positivas obtenidas de larvas de *T. canis* aumentó conforme se incrementó la duración de los cultivos. Los resultados sugieren que las larvas de *T. canis* presentan receptores que reconocen algunas hormonas de la gestación y éstas podrían ser las responsables de la reactivación de las larvas.

Financiado por proyecto PAPIIT IN215314

INTRODUCCIÓN

Toxocara canis es uno de los nematodos más frecuentes en perros a nivel mundial. Las fases adultas afectan principalmente a los cachorros, produciéndoles problemas digestivos, afectando su desarrollo y ocasionando muertes esporádicas en infestaciones severas. En perros adultos y hospederos paraténicos, las larvas se encuentran en estado de latencia en diferentes órganos, como: hígado, riñones, pulmones, músculos, ojos y cerebro (Schnieder, *et al.*, 2011). Las larvas latentes presentes en los tejidos de las perras se reactivan durante el último tercio de la gestación y migran desde los tejidos hasta el útero y la glándula mamaria, infectando a sus cachorros. Tomando en cuenta que las larvas que se encuentran en latencia en los tejidos, se reactivan únicamente durante la segunda mitad de la gestación, es probable que algún evento fisiológico en la perra, asociado a este estado, es el detonante de la reactivación.

Fisiológicamente, uno de los eventos más importantes en esta etapa son las variaciones hormonales, principalmente de estrógenos, prolactina y progesterona.

Las hormonas esteroideas 17- β estradiol (E2) y progesterona (P4), así como la hormona proteica, prolactina, actúan activando células del tracto reproductivo de la perra a través de la unión a receptores celulares específicos (Concannon, 2011; Pfaff *et al.* 1994). En este contexto, es probable que si las larvas de *T. canis* pueden utilizar estas hormonas en su reactivación, deben contar con receptores específicos para las mismas. Por lo anterior, el objetivo del presente proyecto, fue determinar por citometría de flujo la presencia de posibles receptores para progesterona, estrógenos y prolactina en larvas de *T. canis*.

PARTE EXPERIMENTAL

Obtención y cultivo de larvas.-Se recolectaron parásitos adultos de *Toxocara canis* a partir de necropsias realizadas a cachorros de entre uno y tres meses de edad, que fueron donados por los centros antirrábicos de Cuautitlán y Ecatepec en el Edo. de México. Los huevos se obtuvieron y cultivaron de acuerdo a la técnica de Oshima (1961). La obtención de las larvas se realizó siguiendo el método desarrollado por De Savigny (1975) y modificado por Bowman *et al.*, (1987). Las larvas obtenidas se cultivaron en medio de cultivo estéril RPMI-1640,

bufferado con HEPES a un pH de 7.2, adicionado con 100 U/μg/ml de Penicilina y Estreptomocina, 2.5 μg/ml de Anfotericina B y glucosa al 1% (Maizels, *et. al.*, 1984). El cultivo se mantuvo a una concentración de 1,000 larvas/ml y se incubaron a 37°C con 5% de CO₂ y 95% de humedad. Semanalmente se cambió el medio de cultivo.

Detección de receptores de Progesterona (PR), Estrógenos α (ERα), Estrógenos β (ER β) y Prolactina (PRL-R) por Citometría de Flujo.-

Las células de larvas 2 de *T. canis* fueron disgregadas y analizadas de acuerdo a la técnica descrita por Nava-Castro *et. al.* 2011. La tinción intracelular de las células se realizó con los siguientes anticuerpos: anti-PR, anti-PRL-R. Como anticuerpos secundarios se utilizaron un anti-IgG de ratón (eBioscience, USA) y anti-IgG de conejo (Molecular, Probes®, USA) acoplados con APC y Alexa 647 respectivamente. Se utilizaron células de útero de ratón como control positivo para todos los anticuerpos. La presencia de receptores para: PR, PRL-R se evaluó en larvas 2 de *T. canis* de 20, 35 y 57 días de cultivo larvario. Todas las muestras fueron analizadas utilizando un equipo FACS Calibur (BD, Biosciences, USA), se identificaron las poblaciones celulares predominantes agrupadas por tamaño, granularidad y fluorescencia, midiendo diez mil eventos por muestra y los datos fueron analizados con el software FlowJo®.

En la figura 1 se compara el tamaño y granularidad de células disgregadas de bazo de ratón (1a), larvas de *Trichinella spiralis* (1b) y larvas de *T. canis* (1c). Las células de bazo de ratón fueron hasta 3 veces más grandes y complejas que las células de larvas de *T. canis* y *T. spiralis*, no se observaron diferencias entre células de *T. canis* y de *T. spiralis*.

Los anticuerpos anti-PR y anti-PRL-R reconocieron células de *T. canis* (figura 2). El porcentaje de células reconocidas por ambos anticuerpos varió de acuerdo al tiempo de cultivo de las larvas.

El porcentaje de células-PR+ obtenidas de larvas cultivadas a los 20, 35 y 57 días fue de 6.5, 13.6 y 17.1 respectivamente. El porcentaje de células-PRL-R+ obtenidas de larvas cultivadas a los 20, 35 y 57 días fue de 10.3, 10.3 y 13.9 respectivamente. La expresión de receptores anti-PR presentó variaciones porcentuales en los diferentes días de cultivo larvario (Fig. 2).

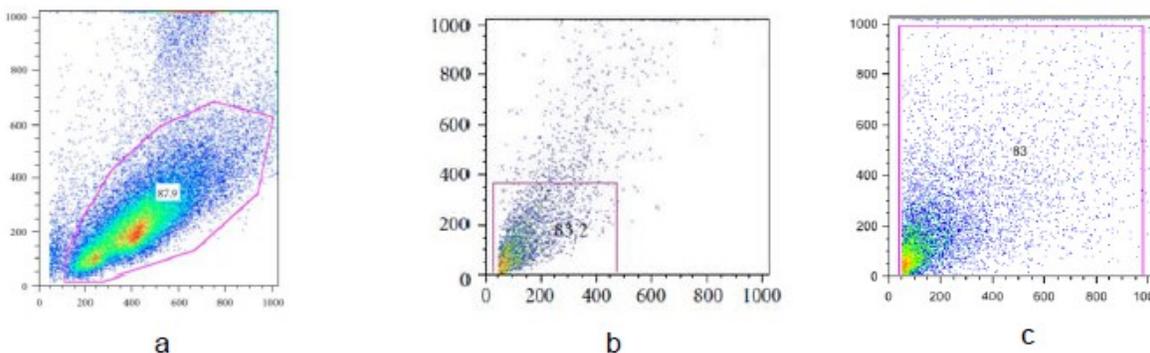


Fig. 1. Comparación entre tamaño y granularidad de células de bazo de ratón (a) de *T. spiralis* (b) y de *T. canis* (c)

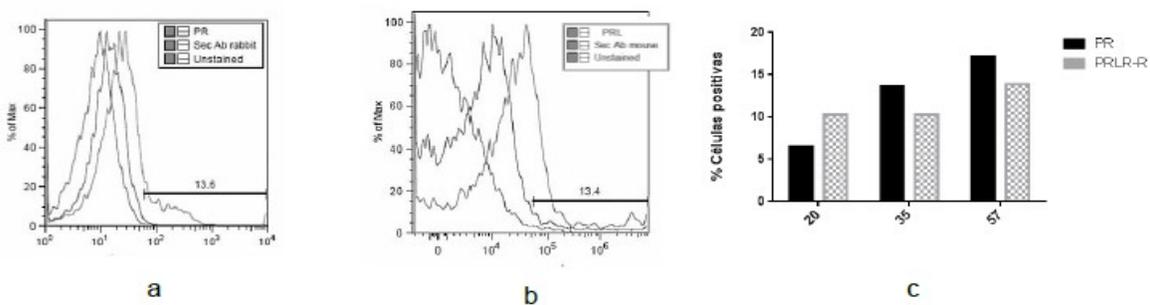


Fig. 2. Porcentaje de células positivas a PR (a) y PRL-R (b) a los 35 días de cultivo larvario y en diferentes días de cultivo larvario (c)

La granularidad de células se ha usado en forma indirecta para medir complejidad celular. En estudios previos

se ha demostrado que las células disgregadas de larvas de *T. spiralis* son aproximadamente 3 veces de menor tamaño y complejidad que las células de bazo de ratón (Nava-Castro *et. al.* 2011). En el presente estudio se demostró que las células de *T. canis* son similares en tamaño y granularidad a las de *T. spiralis* y menores a las de bazo. Lo anterior, nos permitió estandarizar la técnica para su estudio.

Se ha demostrado que las células blanco de diferentes hormonas, presentan receptores hormonales específicos y que éstos pueden ser detectados por anticuerpos monoclonales. En el presente estudio se demostró que estos anticuerpos monoclonales para receptores de estrógenos, progesterona y prolactina reconocen algunas células de larvas de *T. canis*, por lo que probablemente estas células presentan dichos receptores.

En los receptores hormonales específicos se fijan las hormonas a sus células blanco dentro del hospedero y las activan. Si las células de larvas de *T. canis* tienen receptores que reconocen estrógenos, progesterona y prolactina, es probable que estas hormonas se fijen a estas células y también las activen. Esto podría explicar la reactivación de las larvas durante la gestación, que es el estado fisiológico en el que aumentan estas hormonas en el hospedador.

La expresión de diversos genes de las larvas de *T. canis*, probablemente esté asociado a la maduración de las larvas. En el presente estudio, se observó que a mayor tiempo de cultivo *in vitro* de las larvas, aumentó el porcentaje de células con los probables receptores hormonales, lo que probablemente este asociado a la maduración de las larvas.

Sin embargo, se requieren estudios como aislamiento y secuenciación de los receptores e identificación de genes que codifiquen para los receptores hormonales en las células de *T. canis* para confirmar esta hipótesis

BIBLIOGRAFIA

1. Bowman Dd, Mika-Grieve M, Grieve Rb. 1987. Circulating excretory-secretory antigen levels and specific antibody responses in mice infected with *Toxocara canis*. Am. J. Trop. Med. Hyg. 36: 75-82.
2. Concannon *et. al.*, 2011. Reproductive cycles of the domestic bitch. An. Reprod. Sci. 124: 200-210.
3. De Savigny, D.H. 1975. In vitro maintenance of *Toxocara canis* larvae and a simple method for the production of *Toxocara* ES antigen for use in serodiagnosis test for visceral larva migrans. J. Parasitol. 61: 781-782.
4. Maizels R. De Savigny D, Ogilvie Bm. 1984. Characterization of surface and excretory-secretory antigens of *Toxocara canis* infective larvae. Parasite Immunol. 6: 23-37.
5. Nava-Castro, *et. al.*, 2011. New Method to disaggregate and analyze single isolated helminthes cells using flow cytometry: proof of concept. J. Biomed. Biotech. Article ID 257060: 1-9
6. Oshima T. 1961. Standardization of techniques for infecting mice with *Toxocara canis* and observations on the normal migration routes of the larvae. J. Parasitol. 47: 652-656.
7. Schnieder, *et. al.*, 2011. Larval development of *Toxocara canis* in dogs. Vet. Parasitol. 175: 193-206.
8. Pfaff, *et. al.*, 1994. Competition for DNA steroid response elements as a possible mechanism for neuroendocrine integration. J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 49: 373-379.

ESTABLECIMIENTO *IN VITRO* DE *Echeveria calycosa* MORAN (CRASSULACEAE)

María de Jesús Salgado Gutiérrez^a y Eva Noemí Obledo Vázquez^a,

^aCentro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño de estado de Jalisco. Av. Normalistas # 800. Colinas de la Normal, Guadalajara Jalisco, salgado_g_maria@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

Echeveria calycosa Moran. Pertenece a la familia *Crassulaceae*. Son plantas que poseen hojas, tallos y raíces suculentas. El género *Echeveria* se caracteriza por tener sus hojas dispuestas en forma de roseta, haciéndolas muy apreciadas como plantas ornamentales, tanto en México como en el extranjero.

Se han reportado poblaciones en el cañón del río Cupatitzio en la localidad de Tinaja verde en el municipio de Uruapan, Edo de Michoacán. Al igual que otras especies del género presenta un lento crecimiento. Esto, aunado a la dificultad de su propagación y la pérdida de su hábitat natural debido al incremento en las actividades agrícolas en la región, la convierte en una especie cuya prevalencia está en riesgo.

Cuando se presentan problemas en la propagación normal de una planta se puede recurrir al cultivo *in vitro*, el cual consiste en producir pequeñas plantas completas sobre un medio de cultivo nutritivo, en condiciones estériles, partiendo de diferentes partes de la planta denominados "explantes".

El cultivo *in vitro* se compone de 4 etapas: establecimiento, multiplicación, enraizamiento y aclimatación.

En este trabajo se ha recurrido al cultivo *in vitro* con la finalidad de aumentar la tasa de propagación y prevalencia de *Echeveria calycosa*, utilizando explantes de hojas y tallos de plantas obtenidas de su hábitat natural. Se desarrolló un proceso de desinfección y se establecieron en condiciones de asepsia en medio de cultivo Murashige y Skoog, (MS) [1962], manteniéndolos en cámaras de incubación a temperatura e iluminación adecuada.

Al ser la contaminación microbiana el principal problema de pérdida de explantes durante la primera etapa del cultivo *in vitro*, que es la de establecimiento, y con la finalidad de incrementar el éxito en el establecimiento *in vitro* de explantes de *E. calycosa*, en este trabajo se evaluó el tratamiento fungicida de la planta donadora, el tipo de explante y su proceso de desinfección, sobre su porcentaje de contaminación y tiempo de sobrevivencia bajo condiciones de cultivo *in vitro*. El tratamiento de la planta donadora fue el factor que mayor influencia tuvo en la disminución de contaminación microbiana pasando de un 99 a un 15%. El tipo de explante que mostró mayor sobrevivencia, fueron las inflorescencias. Por lo tanto, se logró el establecimiento *in vitro* de *E. calycosa* utilizando como explantes rosetas e inflorescencias procedentes de una planta donadora con tratamiento fungicida y desinfectados con 1.5 % de cloro activo por 20 minutos. Con el establecimiento *in vitro*, se sientan las bases para inducir la proliferación de nuevas plantas de *E. calycosa* con métodos biotecnológicos y de esta forma contribuir a preservar esta especie endémica.

TEORÍA

Todas las especies que existen en nuestro planeta son esenciales para el buen funcionamiento de los ecosistemas, la desaparición de alguna de ellas es una pérdida irreparable, lo que nos lleva a proteger y conservar la biodiversidad.

Lamentablemente a pesar de que reconocemos el gran valor e importancia de la biodiversidad, la pérdida de esta es una realidad debido principalmente a actividades del ser humano, como son agricultura ganadería, urbanismo, sector industrial entre otros, siendo tan rápida que en la mayoría de los casos no se llega a conocer su importancia.

E. calycosa de la cual se han reportado poblaciones en el cañón del río Cupatitzio en la localidad de Tinaja verde en el municipio de Uruapan apreciada como planta de ornato de la cual se extraen ejemplares obtenidos directamente de su hábitat natural no es ajena al riesgo que llevan estas actividades por lo que es importante protegerla desarrollando protocolos de propagación asexual de *Echeveria calycosa* con fines comerciales y de conservación.

FAMILIA CRASSULACEAE

Del latín “*crassus*”= hoja gruesa; integrada por cerca de 1 400 especies repartidas en 35 géneros (Reyes y col., 2011), cultivadas ampliamente como ornamentales. México es el primer centro de diversidad a nivel mundial con aproximadamente 330 especies. En general, crecen mejor en zonas áridas y semiáridas y ambientes rocosos montañosos con climas templados (Reyes y col., 2011; Oviedo, 2003). Muchas están en peligro de extinción y la gran mayoría de los casos están pobremente documentados.

Distribuidas en 6 subfamilias colocadas en dos linajes, linaje *Crassula*, que incluye tres subfamilias (*Crassuloideae*, *Cotyledonoideae* y *Kalanchoideae*) y linaje *Sedum* – que incluye tres subfamilias (*Echeverioideae*, *Sedoideae*, y *Sempervivoideae*) (Hart, 1995; Carrillo y colaboradores 2009).

Las plantas *crasuláceas* se multiplican por dos vías distintas, principalmente por reproducción sexual mediante semillas y en menor proporción por vía vegetativa: esquejes, vástagos y hojas; ahorrándose el periodo de semilla hasta planta adulta, En esta forma de propagación la descendencia tiene los mismos genes que la planta madre. Muchas veces es la única forma de conservar la planta, sobre todo cuando no se cuenta con semillas (Uhl, 2008).

GENERO ECHEVERIA

Grupo exclusivo de América. La Mayoría de las especies crecen mejor en las zonas templadas del Hemisferio Norte. Está conformado por 127 especies conocidas y registradas de las cuales el 83% se restringen exclusivamente al territorio Mexicano (Reyes y carrillo, 2011).

Las especies de este género muestran preferencia por sitios con afloramientos rocosos tales como riscos, laderas escarpadas, paredes más o menos verticales de cañadas y cañones.

Tienen la capacidad de almacenar agua en sus hojas en forma de jugos mucilaginosos, principalmente durante los periodos de humedad de ahí que sean llamadas plantas suculentas. Su forma más común es la de una roseta.

Echeveria calycosa

Descubierta por el profesor Charles H. Uhl y su equipo de la Universidad de Cornell, al sur de Uruapan, Michoacán, en 1965, dándole el nombre de *calycosa* debido a su prominente cáliz (Moran 1967). Es una planta en forma de roseta, sin presencia de tallo. Debido a su aspecto, es una especie vegetal atractiva como planta de ornato, como puede observarse en la Figura 1.



Figura 1. - Planta de *Echeveria calycosa* floreciendo. Fotografía tomada por MC I. García.

Florece de julio a agosto, los tallos florales de color verde a rosa en la parte superior, de 0.5 a 2 dm de altura, de 1.5 a 5 mm de espesor en la base, los tallos florales senescentes suelen permanecer unidos a la planta por varias temporadas.

Existe muy poca información publicada sobre *E. calycosa*.- La que existe se centra en su descripción y el hábitat donde se localizó (Moran 1967). Se considera una planta delicada y difícil de propagar, de acuerdo a la experiencia que se tiene en nuestro laboratorio al trabajar con su propagación.

Cuando una especie presenta algún problema para su propagación o conservación se puede recurrir a la biotecnología vegetal.

Una de las ramas de la biotecnología vegetal que más se ha desarrollado es la propagación de especies vegetales conocida como micropropagación, que tiene como base principal el cultivo de tejidos vegetales *in vitro*, se aplica a la producción masiva de plantas comestibles, medicinales y ornamentales las cuales presentan un interés económico o biológico, resultando también una excelente alternativa para el rescate de especies vegetales en peligro de extinción.

El cultivo *in vitro* se divide en 4 etapas generales, Debergh y Maene (1981), sugirieron una etapa adicional conocida como etapa 0.

Las etapas consisten en lo siguiente:

Etapla 0.- Es el paso inicial de la micropropagación en que las plantas utilizadas para iniciar la propagación se cultivan bajo condiciones controladas. Esta etapa de pre-acondicionamiento de la planta donadora incluye establecer medidas para la reducción de contaminantes tanto superficiales como endógenos.

1) Establecimiento.- Consiste en mantener explantes en condiciones de cultivo *in vitro*, libres de microorganismos y de oxidación, desarrollándose en un medio de cultivo sintético. La razón por la que los explantes deben encontrarse libres de microorganismos, aun cuando en la naturaleza, éstos no sean patógenos e incluso puedan ser benéficos, es debido a que en el cultivo *in vitro* la planta cambia su metabolismo de autótrofo a mixotótrofo, es decir su actividad fotosintética se disminuye de manera significativa y la mayor parte de fuente de carbono lo constituye la sacarosa que es el componente mayoritario del medio de cultivo. Esta fuente de carbono es también una fuente de carbono para los microorganismos, los cuales independientemente de su nicho ecológico, tienen una tasa de propagación mucho mayor que las células vegetales y en consecuencia, pueden causar daño a los explantes como saprófitos. Por esta razón, los explantes deben pasar por un proceso de desinfección antes de sembrarse en el medio de cultivo previamente esterilizado.

2) Propagación o multiplicación.- En esta etapa, el explante establecido, entra en contacto con reguladores de crecimiento que inducen su multiplicación. Con medios de cultivo optimizados es posible lograr la propagación exponencial de las plantas.

3) Enraizamiento.- En esta etapa, las partes aéreas de las plantas se transfieren a medio de cultivo inductor de raíces y de esta forma lograr la obtención de plantas completas.

4) Aclimatación.- Durante ésta etapa las plántulas procedentes de cultivo *in vitro*, se adaptan a condiciones *ex vitro*. Deben recuperar su metabolismo autótrofo y dejar el mixotrofo.

Es por ello, que en este trabajo se tuvo el objetivo de establecer *in vitro* explantes de *E. calycosa*,

PARTE EXPERIMENTAL

El tejido vegetal o explante utilizado consistió en hojas, tallos, raíces e inflorescencias de plantas de *E. calycosa* procedentes de su hábitat natural.

Los explantes se desinfectaron de acuerdo al protocolo publicado por Ramírez (2012) para la especie vegetal *graptopetalum amethystinum* Para ello se utilizaron como explantes hojas tallos, raíces e inflorescencias, las cuales al ser separadas de la planta primero se lavan con solución jabonosa; Se enjuagan con agua destilada estéril para eliminar el exceso de jabón; se sumergen en etanol al 80 % durante un minuto y medio; se pasan a hipoclorito de sodio al 25% (cloro comercial) con dos gotas de tween 20 durante 25 min. Continuar en campana de flujo laminar: enjuagar tres veces en agua destilada estéril (2 min por enjuague) para eliminar el hipoclorito de sodio. ((Verategui, V. 2009))

Para obtener explantes con el menor número posible de microorganismos se diseñó un experimento bifactorial donde los factores fueron el tratamiento de la planta donadora y el tipo de explante. El tratamiento de la planta donadora tuvo dos niveles; con tratamiento antimicrobiano por X días previos a la obtención de los explantes y sin tratamiento antimicrobiano previo. El tipo de explante tuvo cuatro niveles; hoja, inflorescencia, tallo y raíz.

Los explante que fueron sembrados en cajas Petri conteniendo medio de cultivo MS (Murashi y co. 1962) estéril libre de reguladores de crecimiento e incubados en una cámara de crecimiento con temperatura e iluminación controladas. La temperatura se mantuvo constante a 20°C y la iluminación con lámparas fluorescentes de luz de día se mantuvo un fotoperiodo de 16:8 luz/oscuridad diario. Las variables de respuesta fueron el número de explantes libres de contaminación y la calidad del explante. La calidad del explante se determinó utilizando una escala ordinal de 0 a 100 donde el explante con calidad inicial es un valor de 100 hasta 0 donde representa explante completamente blanco o contaminado.

Los resultados se analizaron utilizando ANOVA y la prueba de rangos múltiples de diferencia mínima significativa con apoyo del programa estadístico Statgraphics centurión XV.I, comparando plantas con tratamiento y sin tratamiento antimicrobiano y contaminación y calidad del explante con respecto al tipo de

explante.

RESULTADOS

Los tres factores evaluados tuvieron influencia sobre el establecimiento *in vitro* de *E. calycosa*. El tratamiento de la planta donadora fue el factor de mayor influencia sobre su establecimiento *in vitro*. Al establecer el tejido vegetal de plantas obtenidas directamente de su hábitat natural sin un tratamiento para disminuir la cantidad de microorganismos, se perdió cerca del 99 % de los explantes por contaminación bacteriana y fúngica. Al aplicar el tratamiento antimicrobiano, la contaminación se redujo a 32.3% de los explantes (Figura 2), lo que demuestra la importancia de la etapa 0 en la propagación *in vitro* (Razdan, 2003).

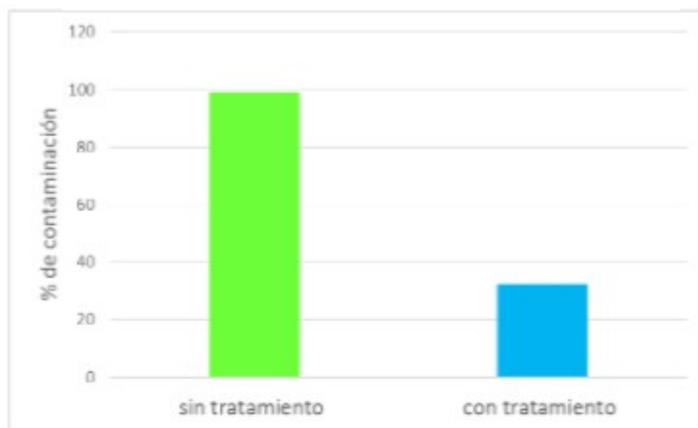


Figura 2.- Porcentaje de contaminación de explantes en plantas donadoras con y sin tratamiento antimicrobiano.

Los explantes que presentaron la mayor sobrevivencia fueron la hoja y la inflorescencia con un 73.8 % y un 71.2%, respectivamente. Los explantes de raíz y tallo, no sobrevivieron, debido a que la disminución de la cuenta microbiana no fue suficiente para desinfectar los explantes (Figura 3).

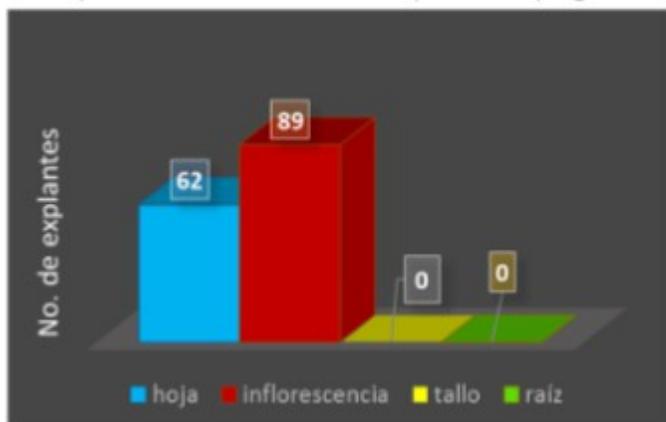


Figura 3. – Sobrevivencia de *Echeveria calycosa* de acuerdo al tipo de explantes en la etapa de establecimiento.

Respecto a la calidad de los explantes establecidos *in vitro* se encontró que las inflorescencias mostraron los mayores niveles de calidad, seguidos de las hojas, como puede verse en la Figura 4.

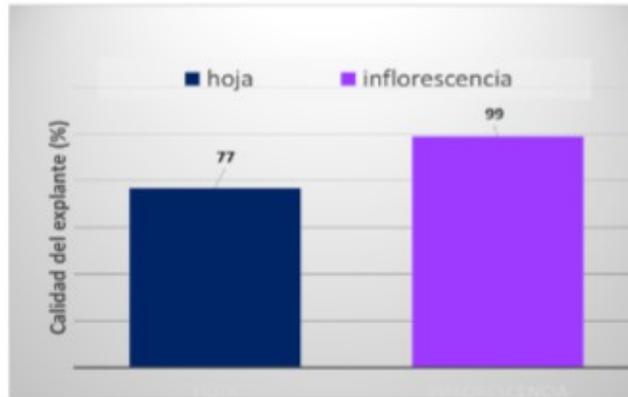


Figura 4. - Calidad del explante.- medido de 0 a 100 donde 0 equivale a color blanco y 100 a verde como su condición inicial al ser retirado de la planta donadora.

CONCLUSIONES

Se logró el establecimiento *in vitro* de explantes de *E calycosa*

El tratamiento de la planta donadora fue el factor determinante que hizo posible realizar el establecimiento de explantes *in vitro*.

Las hojas fueron los explantes que mostraron el menor porcentaje de contaminación.

Las inflorescencias mostraron la mayor calidad del tejido de *E. calycosa* establecido *in vitro*.

El tratamiento de desinfección evaluado no eliminó la totalidad de los microorganismos presentes en tallos y raíces de *E. calycosa*.

Con los resultados de este trabajo se demostró que es posible mantener explantes de *E.calycosa* bajo condiciones de cultivo *in vitro* y de esta manera se completó la primera etapa de su propagación *in vitro*.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado parcialmente por el Fondo mixto CONACYT-Gobierno del estado de Michoacán, proyecto 193612.

Los autores agradecen al consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada a la estudiante de Maestría en Ciencias, María de Jesús Salgado Gutiérrez.

BIBLIOGRAFÍA

1. H. Heart, Infraclassification and generic classification of the *Crassulaceae*, Backhuys Publishers, Leiden (1995), páginas. 159 – 171.
2. R. P. Carrillo, Sosa, V., Mont, M. E., Molecular phylogeny of the Acre Clade (crassulaceae): Dealing with the lack of definitions for *Echeveria* and *Sedum* Mol., *Phylogenet. Evol.* 53, (2009), 267-276.
3. P. M. Ramírez (2012), Protocolo de propagación *in vitro* para *graptopetalum amethystinum* (rose) E. Walther (crassulaceae), Universidad veracruzana; facultad de biología, (tesis de licenciatura en Biología).
4. V. M. Verastegui, Establecimiento de métodos de propagación vegetativa *in vivo* e *in vitro* de *Echeveria laui* (Crassulaceae), Tesis de licenciatura. Facultad de estudios superiores Iztacala, UNAM, (2009)
5. M. K. Razdan, Introduction to Plant Tissue Culture, Science Publishers, (2003), páginas 234- 235

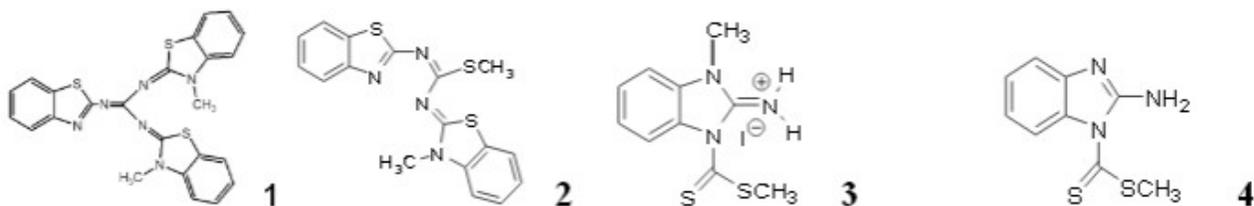
AMINOENZIMIDAZOL Y 2-AMINOENZOTIAZOL

María Esther Bautista Ramírez^a, Yolanda Gomez y Gómez^a, Alejandro Cruz^b.

^aDepartamento de Bioprocesos, ^bDepartamento de Ciencias Básicas Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, Instituto Politécnico Nacional, México D.F. maestherbr@gmail.com

RESUMEN

La ansiedad es una respuesta fisiológica normal ante estímulos nuevos, intensos o amenazantes del ambiente, se vuelve un trastorno patológico cuando se mantiene durante más tiempo del adecuado o surge sin estímulo que la desencadene. Hay varios tipos de ansiedad donde el receptor GABA_A desempeña un papel clave en el descubrimiento de mejores fármacos ansiolíticos, las benzodiacepinas son los fármacos de elección para el tratamiento farmacológico pero incluyen muchos problemas como sedación, relajación muscular, amnesia y riesgo de accidentes por lo que es necesaria la búsqueda de nuevos fármacos para su tratamiento. Los benzimidazoles y benzotiazoles son un grupo de compuestos con una gran variedad de efectos biológicos de gran importancia en el campo de la medicina entre ellas pueden actuar como ansiolíticos, antibacterianos, antifúngicos o anticancerígenos. Para evaluar la posible actividad ansiolítica de los compuestos de azufre derivados del 2-aminobenzimidazol y 2-aminobenzotiazol se llevó a cabo la prueba de potenciación del sueño inducida por pentobarbital, se usaron ratones CD1 con un peso de 20 a 30 g y se administró 10 y 20mg/Kg por vía oral de los compuestos a probar y 30 minutos después se administró pentobarbital 35 mg/Kg por vía intraperitoneal, el fármaco control fue alprazolam por vía oral 2 mg/Kg. Los compuestos **1** y **2** (benzotiazoles) no presentaron actividad a la dosis de 10 mg/Kg (37 y 32 min), los compuestos **3** y **4** (benzimidazoles) presentaron actividad a dosis de 20 mg/Kg (59.5 y 59.8 min) comparados con el pentobarbital (41.5 min), el fármaco alprazolam mostro actividad de (82 min). Esto abre la posibilidad de encontrar alternativas terapéuticas de tipo ansiolítico, anticonvulsivante y/o sedante de los compuestos probados.



INTRODUCCIÓN

La ansiedad es una respuesta fisiológica normal ante estímulos nuevos, intensos o amenazantes del ambiente, que permite al organismo adaptarse, a dichos estímulos. Solo puede hablarse de ansiedad patológica cuando la respuesta de ansiedad presenta las siguientes características: 1) es demasiado intensa en relación con el estímulo que lo provoca; 2) se mantiene durante más tiempo del adecuado; 3) surge sin estímulo que la desencadene, de forma espontánea (endógena); 4) aparece ante estímulos que no debieran despertar dicha respuesta; 5) presenta un tipo de respuesta inadecuada al estímulo que la suscita.

Los estados de ansiedad son el resultado de una activación excesiva del sistema nervioso o de algunos de sus núcleos, especialmente los que intervienen en el procesamiento del estímulo (amígdala, locus, etc), que sería susceptible de ser modulado o frenado por neurotransmisores inhibidores, entre los cuales destaca el ácido γ -aminobutírico (GABA), pero intervendrían de forma destacada la serotonina y la inhibición de los neurotransmisores activadores como el glutamato.

La ansiedad patológica se acompaña y caracteriza por una sensación subjetiva de malestar o incomodidad penosa, que se hace difícilmente soportable. Por su carácter molesto, esta sensación motiva una acción dirigida a cesar la frente de ansiedad o el estímulo activado. (P. Velázquez 2008)

Los trastornos por ansiedad abarcan una gran cantidad de síntomas e incluyen trastornos por ansiedad generalizado, obsesivo-compulsivo, por pánico, por estrés postraumático, por ansiedad de separación; asimismo incluyen fobia social, fobias específicas y estrés agudo. En general, los síntomas de ansiedad que requieren tratamiento farmacológico son aquellos que interfieren de modo significativo con las actividades

normales. Dichos síntomas se vinculan a menudo con depresión. (Goodman and Gilman, 2012)

Ansiolíticos

Una variedad de agentes y clases de fármacos proporcionan efectos ansiolíticos. Los tratamientos primarios para trastornos de ansiedad relacionados incluyen los inhibidores selectivos para la recaptación de serotonina y los inhibidores selectivos para la recaptación de serotonina y noradrenalina, las benzodiacepinas, la buspirona y los bloqueadores adrenérgicos β . Las benzodiacepinas son ansiolíticos eficaces en el tratamiento de situaciones agudas y crónicas. Aunque generan dependencia y abuso y tienen acciones sedantes e hipnóticas, anestésicas, relajantes, anticonvulsivantes y relajantes musculares además de efectos negativos en la cognición y memoria. Las benzodiacepinas como el alprazolam, clordiazepóxido, clonazepam, clorazepato, dizepam, lorazepam y oxazepam son eficaces en el tratamiento de trastornos de ansiedad generalizado el trastorno de pánico y la ansiedad situacional. Los efectos ansiolíticos de esta clase de fármacos son mediados por interacciones alostéricas con el complejo del receptor benzodiacepina-GABA_A, en particular aquellos constituidos por subunidades $\alpha 2$, $\alpha 3$ y $\alpha 5$. La acción primaria de las benzodiacepinas ansiolíticas es mejorar los efectos inhibidores de los neurotransmisores GABA (fig1).(Goodman and Gilman, 2012)

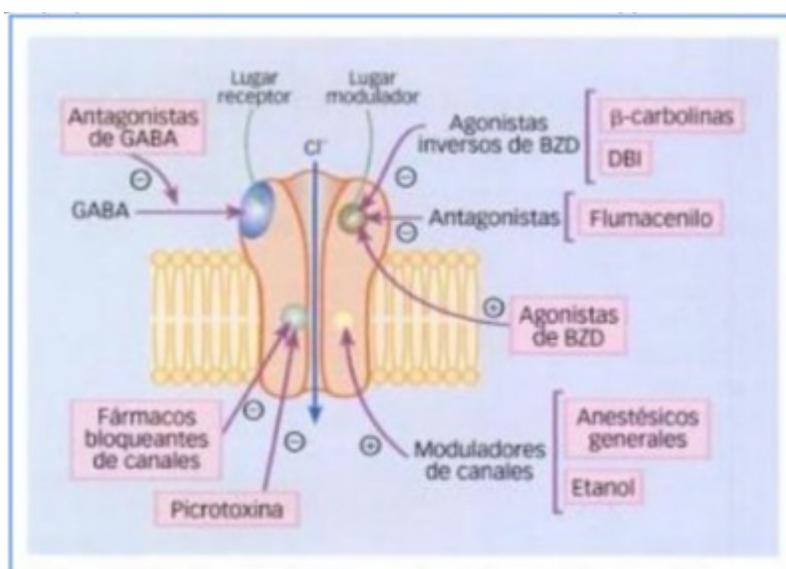


Figura 1. Receptor GABA_A con los diferentes sitios de unión.

Usos del benzimidazol

El potencial terapéutico del núcleo del benzimidazol se remonta a 1944, cuando Woolley supuso que el benzimidazol puede tener una acción similar a las purinas para obtener algunas respuestas biológicas. Cinco años más tarde, Brink identificó al 5,6- dimetilbenzimidazol como un producto de degradación de la vitamina B12 y posteriormente encontró a algunos de estos derivados teniendo una actividad similar a la vitamina B12. Estos informes iniciales provocaron una extensa investigación para evaluar el núcleo del benzimidazol y sus posibles actividades farmacológicas. Durante todos estos años de investigación activa el benzimidazol ha evolucionado como un sistema heterocíclico importante debido a su presencia en una amplia gama de compuestos bioactivos como antiparasitarios, anticonvulsivos, analgésicos, antihistamínicos, antiulceras, antihipertensivos, antivirales, anticancerígenos, antifúngicos, agentes antiinflamatorios, inhibidores de la bomba de protones y anticoagulantes. La optimización de los sustituyentes alrededor del núcleo de benzimidazol ha dado lugar a muchos medicamentos como el albendazol, mebendazol, tiabendazol como antihelmínticos; omeprazol, lansoprazol, pantoprazol como inhibidores de la bomba de protones; astemizol como antihistamínico; envirodine como antiviral; candesartan cilexetil y telmisartán como antihipertensivos y muchos otros compuestos en una amplia gama de otras áreas terapéuticas. Una serie de derivados azabíclicos del benzimidazol se han reportado como potentes antagonistas de los receptores 5HT_{3C} involucrados en desordenes de ansiedad, depresión y pérdida de la memoria (fig. 2) (B. Narasimham, et al. 2012), otra serie de

compuestos con potencial actividad ansiolítica como agonistas del receptor GABA_A son los N-sustituidos del benzimidazol debido a su interacción con el receptor α_1 de benzodiazepinas (fig. 3). (Nannapaneni, et al. 2010),(Y. Bansal, et al. 2012)

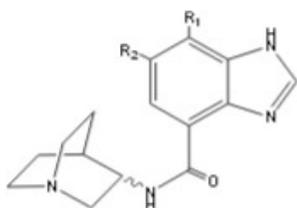


Figura. 2 Antagonista 5HT_{2c}

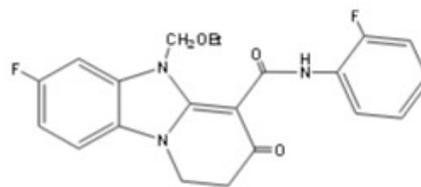


Figura.3 Agonista GABA_A

Benzotiazoles

Los benzotiazoles, son un grupo de compuestos ampliamente estudiado debido a que estos núcleos se encuentran en gran variedad de compuestos naturales y además son de gran importancia en el campo de la medicina como agentes antibacterianos, antifúngicos, anticancerígenos, antiinflamatorios, etc. Dada la gran variedad de compuestos en los que aparecen y el amplio abanico de funciones que desarrollan, es fácilmente explicable que los benzotiazoles, sus derivados y sus rutas sintéticas, sean objeto de gran cantidad de estudios en la industria química y farmacéutica. Los benzotiazoles (fig.4) se han estudiado como antagonistas del receptor 5HT_{2c} que solo se encuentra en SNC y se involucra en varias enfermedades tales como ansiedad, esquizofrenia y desórdenes afectivos. (Giorgioni,G., 2005)

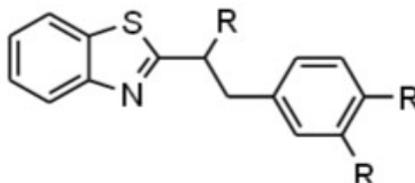


Figura. 4. Antagonista 5HT_{2c}

En la literatura se muestra que entre los derivados del benzimidazol, los 2-sustituidos son farmacológicamente más potentes y por lo tanto el diseño y síntesis de 2- benzimidazoles son una potencial área de investigación. Se ha observado que las modificaciones en el benzimidazol muestran una gran variedad de actividades lo que sugiere que los benzimidazoles y heterociclos sustituidos son estructuras que les permiten interactuar fácilmente con las biomembranas y poseen actividad potencial con toxicidades más bajas para la quimioterapia en el hombre. Por lo que es importante el diseño de derivados de benzimidazol más potentes que tengan amplia diversidad de actividades biológicas.

METODOLOGIA

Prueba de potenciación del sueño. Se seleccionaron lotes de 5 ratones machos CD1 con un peso aproximado de 25-30 g. Uno de los lotes se utilizó como testigo y se le administró por vía oral jarabe de glucosa 20 minutos antes del experimento, el segundo lote recibe por vía oral el medicamento de referencia en este caso se utilizó alprazolam a una dosis de 2mg/kg vía oral 20 minutos antes del experimento; los lotes restantes recibieron por vía oral los compuestos problema una dosis de 10 y 20 mg/Kg , 20 minutos después se les administró a todos los ratones el pentobarbital vía intraperitoneal a una dosis de 35 mg/kg de peso. El criterio de

sueño es la pérdida del enderezamiento.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La potenciación de la narcosis es una de las pruebas de sedación que permite medir la influencia de los medicamentos sobre la duración del sueño inducida por un hipnótico. Este método se utiliza para el estudio de los medicamentos psicolépticos, es decir, hipnóticos, neurolépticos o tranquilizantes mayores.

En la tabla 1 se muestran los resultados obtenidos con la prueba de potenciación del sueño en donde se muestra que los compuestos **1** y **2** (benzotiazoles) no presentaron actividad a la dosis de 10 mg/Kg (37 y 32 min) por lo que se descartaron para probar otras dosis, los compuestos **3** y **4** (benzimidazoles) presentaron actividad a dosis de 10 y 20 mg/Kg (59.5 y 59.8 min) donde los ratones aumentaron su tiempo de sueño (18.3 min) comparados con el pentobarbital (41.5 min) presentando actividad similar entre las estructuras probadas, el fármaco alprazolam mostró actividad de (82 min).

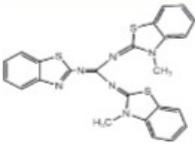
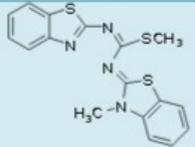
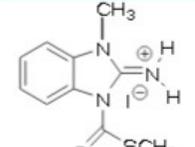
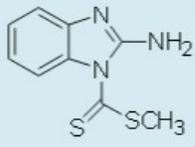
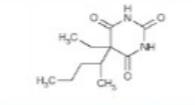
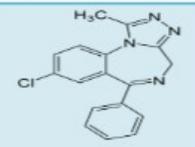
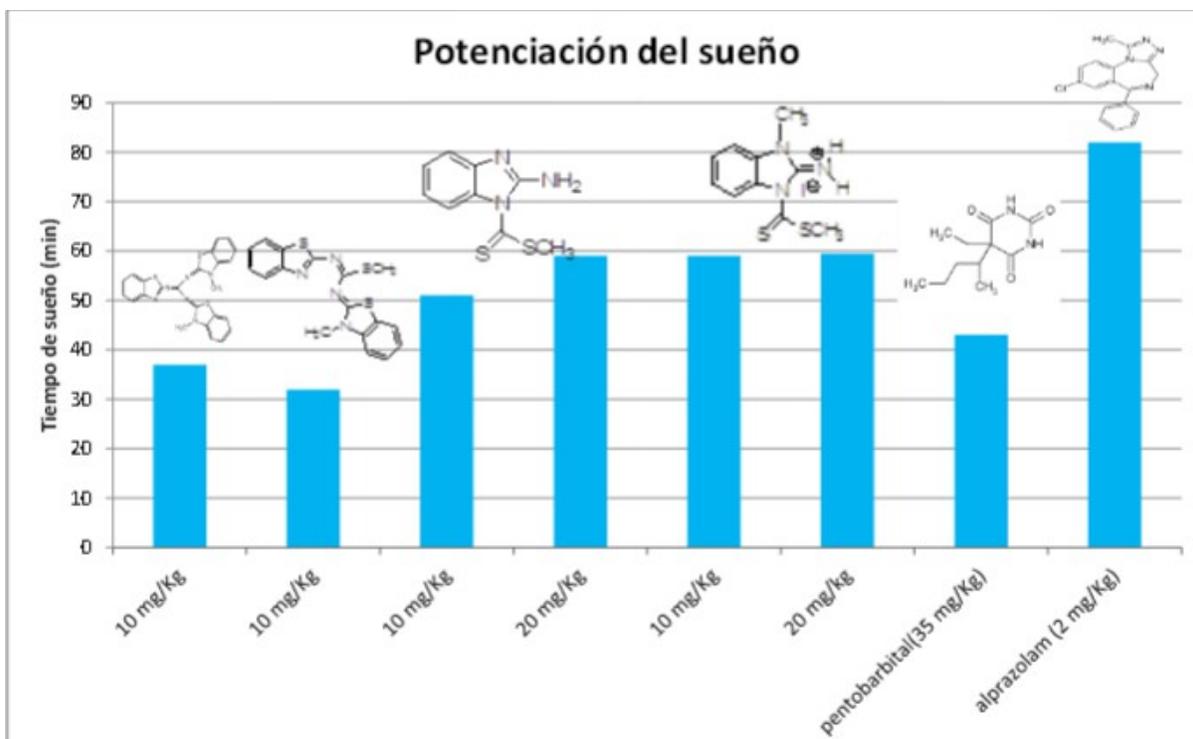
Compuesto	Estructura	Tiempo de sueño (minutos)	Tiempo de sueño (minutos)
		Dosis: 10 mg/ kg	Dosis 20 mg/kg
1		37 ± 8.04	-----
2		32 ± 7.19	-----
3		59.0 ± 15.01	59.5 ± 14.14
4		50.25 ± 25.02	59.8 ± 9.45
Pentobarbital		Dosis (35 mg/Kg) 42.79 ± 8.22	
Alprazolam		Dosis (2 mg/kg) 81.8 ± 10.54	

Tabla 1. Compuestos y dosis probadas.

En la gráfica 1 se muestran los resultados obtenidos con la prueba de potenciación del sueño donde se observan las diferentes dosis administradas de los diferentes benzimidazoles y benzotiazoles probados. Se requieren realizar otras pruebas que nos indiquen si son agonistas GABA o antagonistas 5HT para poder determinar el mecanismo de acción.



Gráfica1. Benzimidazoles y benzotiazoles probados.

CONCLUSIONES

Los compuestos 1 y 2 (derivados del 2-aminobenzotiazol) no potencializan el sueño.

Los compuestos 3 y 4 (derivados del 2-aminobenzimidazoles) mostraron cierto efecto en la potenciación del sueño.

Comparados con el alprazolam un medicamento de referencia los derivados del benzimidazol y benzotiazol son menos potentes como ansiolíticos a las dosis probadas.

Con los resultados preliminares obtenidos se abre la posibilidad de encontrar alternativas terapéuticas de tipo ansiolítico, anticonvulsivante y/o sedante de los compuestos probados, donde sería importante establecer el mecanismo de acción de dichos compuestos.

BIBLIOGRAFIA

1. B. Narasimhan, D. Sharma, P. Kumar, "Benzimidazole: a medicinally important heterocyclic moiety. Med Chem Res vol 21,(2012), pp. 269-283.
2. G. Giorgioni, B. Accorroni, A.D. Stefano, G. Murrucchi, A. Siniscalchi, F. Claudi. "Benzimidazole, benzoxazole and benzothiazole derivatives as 5HT2B receptor ligands, synthesis and preliminary". Med Chem Res, vol 14,2, 2005, pp. 57-73.
3. Goodman and Gilman, "Las bases farmacológicas de la terapéutica" 12ª edición, Mc Graw Hill, México (2012), pp 398,413.
3. L.P. Velázquez, "Farmacología básica y clínica" 18ª. Edición. Editorial Panamericana. Buenos Aires (2008), pp. 275-285
4. Nannapaneni, et al. "Synthesis, characterization and biological evaluation of benzimidazole derivatives as potential anxiolytics", J Young Pharm. 2010,10.4103/0975-1483.66809
5. Y. Basal, O. Silakari, "The therapeutic journey of benzimidazoles: a review" Bioorg & Med Chem, Vol. 20, 2012, pp. 6208-6236.

APROVECHAMIENTO Y VALOR NUTRIMENTAL DE LA CEREZA DE CAFÉ COMO SNACK DULCE

Jhoan Jimenez^a; Rosa García^a, José Rodiles^a

^aFacultad de Químico Farmacobiología, UMNSH. Tzintzuntzan No. 173 Col. Matamoros C.P. 58234 Morelia, Michoacán, México. rmgarcim@umich.mx

RESUMEN

El café es uno de los cultivos agrícolas de mayor importancia en el mundo, generalmente el grano es el utilizado comercialmente, siendo la pulpa uno de los subproductos del cultivo del café que no presentaba aprovechamiento. Sin embargo, hoy en día tiene algunas aplicaciones en el campo: en la transformación en humus a partir del cultivo de lombrices, la elaboración de abonos orgánicos fermentados tipo bocashi, en la elaboración de aboneras (composteras) y utilización como sustrato para la reproducción biológica, principalmente de *Aspergillus oryzae*, *Bacillus megatherium* y *Saccharomyces cerevisiae*. Por otro lado México ocupa el onceavo lugar en producción a nivel mundial de cacao, participando con menos del 2% de la producción mundial. Datos preliminares estiman la producción en aproximadamente 22 mil toneladas. Por lo que el chocolate es un producto caro, y motivo por el cual se está tendiendo a usar sustitutos del cacao. En este trabajo, se busca aprovechar la pulpa del café para elaborar un alimento tipo golosina con una cobertura sabor a chocolate usando los siguientes sustitutos de manteca de cacao: CEBES LSX 80 con 80% saturados y 20% insaturados, y CEBES 30-08 con 98-100% saturados y 0-2% insaturados; y ambos proporcionados la empresa AA ubicada en Morelia, Michoacán. Se utilizó fruta de café en estado maduro, se deshidrató solarmente y en estufa a 72°C durante 30 minutos. Se determinó el análisis proximal a la pulpa, así como a la cascarilla que cubre al grano y al grano del café basándose en la Metodología descrita en el AOAC. Se evaluó la humedad a diferentes tiempos y mediante pruebas panel se eligió el secado al 5 % de humedad reportándose una textura crujiente y obteniéndose un 15.9 % de pectina mediante hidrólisis ácida, dato importante para la elaboración de productos que brinden efectos funcionales a la salud del consumidor.

INTRODUCCION

El café es uno de los cultivos agrícolas de mayor importancia en el mundo, y que se produce en más de 50 países que se localizan principalmente entre los trópicos de Cáncer y de Capricornio, destacando por su volumen producido Brasil, Colombia, Vietnam, Indonesia y México (ASERCA, 2002).

Éste fue introducido en México en el año de 1796 a la región de Córdoba, Veracruz, por el señor Juan Antonio Gómez y en 1823 se importaron semillas al estado de Michoacán y para el año de 1846 se introdujeron plantas de café al estado de Chiapas con las que se expandió el cultivo hacia otros estados. El cultivo del café llegó a México por tres rutas comerciales. La primera en 1796 de Cuba a la región de Córdoba, Veracruz; la segunda en 1823 desde la región de Moka, Arabia, a Morelia, Michoacán; y la tercera en 1847 desde Guatemala a Tapachula, Chiapas (Quintero, 2011).

México produce cafés de excelentes calidades, ya que su topografía, altura, diversidad de climas y suelos le permiten cultivar y producir variedades clasificadas dentro de las mejores en el mundo.

El café es una bebida que se obtiene de las semillas tostadas de la planta del café o cafetos (*Coffea spp*). Aunque existen aproximadamente unas 100 especies de cafetos, no obstante, únicamente dos de estas se mencionan como las más cultivadas comercialmente, y destacándose de acuerdo al orden siguiente: *Coffea arabica L.* y *Coffea canephora* o robusta, Normalmente el grano era el único utilizado para el comercio, siendo la pulpa uno de los subproductos del cultivo del café que no presentaba aprovechamiento. Sin embargo, hoy en día tiene algunas aplicaciones en el campo: Transformación de la misma en humus a partir del cultivo de lombrices; Participación en la elaboración de abonos orgánicos fermentados tipo bocashi; Participación en la elaboración de aboneras (composteras); y Utilización como sustrato para la reproducción biológica, principalmente de *Aspergillus oryzae*, *Bacillus megatherium* y *Saccharomyces cearevisae*, lo que es deseable para obtener abonos orgánicos de muy buena calidad (Blanco, 2008).

Por otro lado México ocupa el onceavo lugar en producción a nivel mundial de cacao, participando con menos del 2% de la producción mundial. Datos preliminares estiman la producción en aproximadamente 22 mil toneladas. Por lo que el chocolate es un producto caro, y motivo por el cual se está tendiendo a usar sustitutos

del cacao.

Por lo que se pretende aprovechar la pulpa del café para elaborar un alimento tipo golosina con una cobertura sabor a chocolate usando los siguientes sustitutos de manteca de cacao: CEBES LSX 80 con 80% saturados y 20% insaturados, y CEBES 30-08 con 98-100% saturados y 0-2% insaturados; y ambos proporcionados la empresa AAK (Aarhus Karlshamn) dedicada a la producción de aceites comestibles, y ubicada en Morelia, Michoacán.

TEORÍA

El café fue introducido en Arabia procedente de Abisinia antes del siglo X, y se cultivó por primera vez en el siglo XIV. Se conoce con seguridad que en los siglos XV y XVI se producía intensivamente en el distrito Árabe de Yemen, el producto era tan lucrativo que los árabes prohibieron la exportación de sus semillas con el objeto de monopolizarlo; la primera introducción de café en Europa se dio en 1706, y solo se introdujo una planta desde Java al jardín botánico de Ámsterdam, a partir del cual se originaron la mayoría de variedades cultivadas actualmente en el mundo (Lashermes et al. 1996).

Fue introducido en México en el año de 1796 a la región de Córdoba, Veracruz, por el señor Juan Antonio Gómez y en 1823 se importaron algunas semillas al estado de Michoacán. Para el año de 1846 se introdujeron plantas de café al estado de Chiapas con las que se expandió el cultivo hacia otros estados. En 1803, México realizó la primera exportación de café, pero fue hasta 1882, que México pasa a formar parte de los países exportadores de café (Juan, 2010).

El café es la segunda mercancía mas comercializada en el mundo, después del petróleo; genera una gran cantidad de subproductos o residuos durante el procesamiento de la cereza hasta la obtención de la bebida (Nabais et al., 2008; Mussatto et al., 2011 b). Dependiendo del método de procesamiento de la cereza de café, es decir, proceso húmedo o seco, el tostado y la elaboración de la bebida, se generan diversos residuos sólidos como la cáscara de la pulpa, pergamino y piel que comprenden casi el 54% de la cereza del café. Por lo que en la última década, el uso de este tipo de residuos ha sido objeto de varios estudios; iniciando con algunas aplicaciones en el campo como: en la transformación en humus a partir del cultivo de lombrices, la elaboración de abonos orgánicos fermentados tipo bocashi, en la elaboración de aboneras Pero hasta ahora, los mayores avances se han logrado en su utilización para fines industriales distintos de la industria alimentaria, como lo es la producción de energía (Saenger et al., 2001; Kondamudi et al., 2008), la adsorción de compuestos tóxicos (Oliveira et al., 2008; Franca et al., 2009b; Franca et al., 2010) y la manufactura de productos industriales, tales como obtención de etanol, ácido giberélico y α -amilasa (Machado et al., 2002; Murthy et al., 2009; Gouvea et al., 2009; Bekalo y Reinhardt, 2010).

PARTE EXPERIMENTAL

El fruto fue obtenido de un cultivo localizado en la zona de Morelia obteniéndose la pulpa a partir de una separación manual del grano. Se determinó el análisis proximal a la pulpa, así como a la cascara que cubre al grano y al grano del café basándose en la Metodología descrita en el AOAC, lo cual incluye los siguientes parámetros: humedad, lípidos, proteínas, fibra dietética, cenizas y carbohidratos por diferencia. Se determinó la concentración de cafeína por una técnica de extracción modificada por solventes y sublimación para su purificación, al grano verde y diferentes tostados así como a la pulpa con cáscara ya deshidratada.

Se realizó un análisis por vía infrarroja a la cafeína obtenida del grano y se comparó con la de la pulpa deshidratada, grano verde y tostado. También se determinó la presencia de pectinas mediante una hidrólisis ácida. Se establecieron formulaciones base para la elaboración de la cobertura de chocolate utilizando diferentes sustitutos de cacao y comparándolos con un chocolate comercial a fin de evaluar cual producto es más aceptable mediante pruebas sensoriales. El análisis sensorial se hará bajo el formato de una escala hedónica de 5 puntos y empleando panelistas inexpertos. Se determinará la tabla de valor nutricional de la formulación obtenida con mayor grado de aceptación.

Se utilizó fruta de café en estado maduro para disminuir un poco la humedad y el mucílago así como aumentara la dulzura de la fruta, esta fue deshidratada utilizando un deshidratador solar. Se realizó el análisis bromatológico con ya una previa deshidratación solar a diferentes partes del fruto del café, separándose la pulpa con la cascara, el pergamino que protege al grano y al grano fresco, obteniendo los resultados descritos en la tabla siguiente.

DETERMINACION	% CONTENIDO EN GRANO	% CONTENIDO EN CASCARILLA	% CONTENIDO EN PULPA Y CASCARA
HUMEDAD	11.80	8.72	14.72
PROTEINAS	7.50	6.86	3.96
LIPIDOS	9.86	5.60	7.84
FIBRA	49.85	57.85	29.16
CENIZAS	3.65	3.76	6.16
CARBOHIDRATOS TOTALES	17.34	17.21	38.16

TABLA 1. Resultados de análisis proximales al fruto del café ya en estado maduro con previa deshidratación.

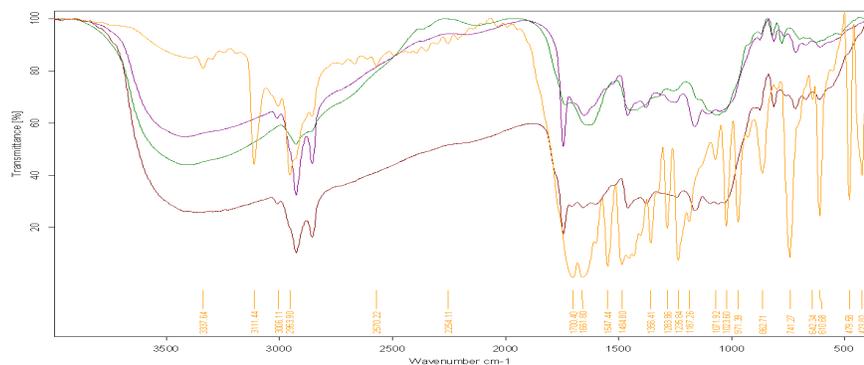
Se realizaron pruebas para obtener una estructura crujiente aplicándose un secado adicional en estufa a diferentes tiempos y con una temperatura constante de 72°C. Se evaluó la humedad a diferentes tiempos y mediante un análisis sensorial se consideró que la mejor muestra era la que tenía de 4 a 5% de humedad y donde se sometió la pulpa del café a una temperatura de 72°C por un tiempo de 30 minutos en la estufa de secado. Para la determinación de la pectina presente en el fruto del café se dividió en dos partes, una que fue la pulpa con cascara del café donde se obtuvo un resultado de 1.3% de pectina y la otra parte es la cascarrilla que protege al grano conocida como pergamino con una concentración de 14.6% de pectina.

Para la extracción de cafeína se modificó la técnica de extracción por solventes y se adiciono un paso de sublimación para obtener un resultado más exacto y preciso. Los resultados obtenidos de la extracción de cafeína por solventes del fruto del café fueron los siguientes:

Muestra	Porcentaje
Grano verde	0.48%
Grano tostado medio	0.77%
Grano muy tostado	0.95%
Pulpa y cascara deshidratada	0.42%

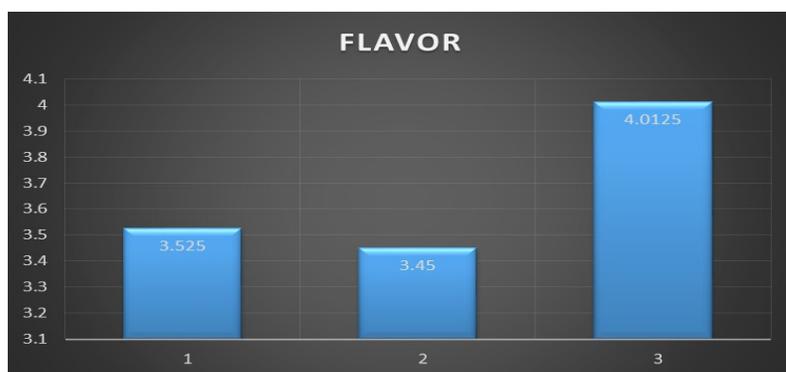
TABLA 2. Concentraciones de cafeína.

Se realizó un análisis por infrarrojo a la pulpa deshidratada así como la cafeína obtenida del grano para conocer la pureza de la extracción, así también en el grano verde y bien tostado ya que se encontró que conforme aumenta el tostado aumenta la concentración de cafeína disponible.



TIPO DE MUESTRA
Cafeina del grano
Grano tostado
Grano fresco
Pulpa deshidratada
Ensayo %T.XPM

En lo que respecta a las formulaciones base, una vez obtenida la consistencia adecuada de la pulpa, se realizaron las botanas utilizando como cobertura dos sustitutos de cacao y un chocolate comercial Moctezuma^R. A los cuales se les realizaron pruebas sensoriales con 20 panelistas obteniendo los siguientes resultados.



1 Silka verano

2 CEBES 30-08

3 chocolate comercial

GRAFICA 1. Flavor de la botana con diferentes coberturas.

En la siguiente Tabla (3) se muestra el valor nutricional del producto terminado utilizando como cobertura el chocolate comercial, que de acuerdo a las pruebas panel fue el de mayor aceptación.

Determinación	Contenido en % en 100 gr
Humedad	5%
Proteínas	3.95%
Lípidos	22.85%
Fibra	29.85%
Cenizas	6.40%
Carbohidratos totales	31.75%

TABLA 3. Análisis bromatológico producto terminado.

CONCLUSIONES

Para la elaboración de la botana con la pulpa del café se llegó a un porcentaje de humedad final del 4 a 5 % obteniendo una textura crujiente ligeramente amarga. Primero se utilizó un deshidratador solar y posteriormente a un secado en estufa a 72°C durante 30 minutos. En la extracción de pectina se obtuvo un resultado de 1.3% de pectina en pulpa con cascara y en la cascarrilla que protege al grano (conocida como pergamino) se obtuvo una concentración de 14.6% de pectina; que en la bibliografía se describe una concentración de 15 a 16%.

Para la extracción de cafeína se probaron diferentes técnicas de la cual se optó por la que tuvo más aproximación a los datos establecidos en la bibliografía, obteniendo concentraciones en el grano verde de 0.48%, en grano medio tostado de 0.77% y en grano bien tostado de 0.95%, así como en la pulpa deshidratada de 0.42%. Comparando los resultados de bibliografía se encuentran solo datos del grano en los cuales la concentración de cafeína oscila entre los 0.80% a 1.20% en el caso de *Coffea arabica*. La baja concentración de cafeína también se le puede atribuir la baja concentración de Nitrógeno proteico y aceites esenciales (lípidos) ya que este compuesto varía dependiendo de la tierra en la que se encuentra, estrés hídrico y otros factores al que esté sometido el cafeto. En los espectros obtenidos por infrarrojo nos muestra que en el caso de la cafeína extraída del grano del café tostado, está en una mayor concentración por lo que es más grande el espectro al igual que en el tostado pero hay una mayor interferencia que en los demás y esto es debido a la probable formación de otros compuestos por la acción de los reactivos utilizados para la extracción. En este trabajo, se obtuvo una deliciosa botana, estimulante por su contenido de cafeína, con un gran aporte de fibra dietética y fuera de lo común, aprovechando la cereza del café que hasta el momento no ha tenido aplicación en la industria de alimentos.

BIBLIOGRAFÍA

1. ASERCA. (2002). Claridades agropecuarias en Cafè. D.F., Mèxico.
2. CAFE LA NACIONAL. (FEBRERO de 2010). CAFE LA NACIONAL TOSTADO EN CASA. Obtenido de <http://www.cafelanacional.com/nosotros/proceso-de-produccion-del-cafe/>
3. Cafés de mexico. (13 de junio de 2012). cafés de México. Obtenido de <http://www.cafesdemexico.com/index.php/es/el-cafe.html>
4. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. (abril de 2010). cafè de colombia. Obtenido de http://www.cafedecolombia.com/particulares/es/sobre_el_cafe/el_cafe/el_cultivo/
5. H. manson, R., hernandez ortiz, v., gallina, s., & mehlreter, k. (2008). groecosistemas cafetealeros de veracruz, manejo y conservcion. En R. H. manson. mexico: Instituto Nacional de Ecologia A.C.
6. Juan, C. R. (2010). Historia del Café. Revista Técnica Mensual del Sector cafetalero, 9-13.
7. Moisés Blanco, J. H. (2008). MORFOLOGÍA DEL CAFÉ (*Coffea arabica* L.), EN LOTES COMERCIALES. Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal, 97-103.
8. Moisés Blanco, J. H. (14 de enero de 2008). Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal. costa rica , nicaragua.
9. Quintero, G. I. (2011). COMPOSICIÓN QUÍMICA DE UNA TAZA DE CAFÈ. Avances Técnicos Café , 3-7.

SISTEMAS DE SIEMBRA Y DENSIDAD DE POBLACIÓN EN EL CULTIVO DE SORGO DULCE

Rosa Laura Rebolledo García^a, Sergio Uribe Gómez¹ y Noé Montes García^b

^a INIFAP- Campo Experimental Cotaxtla, rosa.rebolledo@hotmail.com

^b INIFAP- Campo Experimental Río Bravo

RESUMEN

El calentamiento global se da como consecuencia de la emisión de gases de efecto invernadero. Una forma de mitigar las emisiones es mediante el uso de biocombustibles como el bioetanol. Uno de los cultivos con potencial para la producción de bioetanol es el sorgo dulce. Sin embargo, se carece de tecnología para el manejo agronómico adecuado de sorgo dulce para hacer rentable la producción de bioetanol. El objetivo de este trabajo fue evaluar sistemas de siembra y densidades de población en el cultivo de sorgo dulce. Se estableció un experimento con diseño de bloques al azar en parcelas divididas con cuatro repeticiones. La parcela grande correspondió a los sistemas de siembra, hilera sencilla y doble, y la parcela chica a la densidad de población, 70000, 140000 y 210000 plantas ha⁻¹. Se evaluó la producción de biomasa en 4 m⁻². Además se determinó a cinco plantas altura, diámetro, sólidos solubles totales y pesos de hoja, panoja y tallo. Los datos se analizaron con SAS 9.3 empleando la prueba de comparación de medias de Tukey. No se observaron interacciones entre factores, ni diferencias significativas en sistema de siembra. La densidad de 210000 plantas ha⁻¹, fue significativamente superior a las otras en producción de biomasa con 4463 g 4 m⁻². Las variables altura y diámetro de tallo no mostraron diferencias significativas. En sólidos solubles totales, 210000 plantas ha⁻¹, fue significativamente mayor con 11.3 °Brix. En peso de hoja por planta no se encontraron diferencias estadísticas. En peso de panoja, tallo y total por planta, la densidad de 70000 plantas ha⁻¹, destacó sobre las otras. Se concluye que densidades de población alta producen mayor biomasa y azúcares, mejorando la rentabilidad del bioetanol.

INTRODUCCIÓN

El calentamiento global acelerado, ha sido generado por la alta emisión de gases de efecto invernadero (GEI). En México se emiten anualmente alrededor de 17 millones de Mg de GEI, provenientes en gran medida, del uso de combustibles fósiles como diésel y gasolina (SEMARNAT-INE, 2006). Una alternativa para mitigar la emisión de estos gases es la sustitución de gasolina por bioetanol. La rentabilidad de esta alternativa depende principalmente de los costos de producción de la materia prima (SENER/GTZ, 2010). Dentro de los cultivos energéticos con potencial para la producción de bioetanol se encuentran la caña de azúcar, el maíz y el sorgo dulce (SENER/BID/GTZ, 2006). El sorgo dulce es de ciclo corto, tiene una amplia adaptación, bajos requerimientos nutrimentales e hídricos, su cultivo es totalmente mecanizado por lo cual su costo de producción es tres veces menor al de la caña de azúcar (Montes *et al.*, 2010) (Prasad, *et al.*, 2007) (SENER/BID/GTZ, 2006). Sin embargo, se carece de tecnología optimizada para el manejo agronómico adecuado de este cultivo, como nutrición, riego, control de plagas y enfermedades, fechas de siembra, sistemas de siembra y densidad de población. El objetivo de este trabajo fue evaluar sistemas de siembra y densidades de población en el cultivo de sorgo dulce.

PARTE EXPERIMENTAL

En el municipio de Medellín, Veracruz, dentro de las instalaciones del Campo Experimental Cotaxtla, se estableció un experimento de sorgo dulce en el mes de octubre de 2014. En éste se evaluaron dos sistemas de siembra: hilera sencilla e hilera doble; y tres densidades de población: 70000, 140000 y 210000 plantas ha⁻¹. El diseño experimental fue bloques al azar en parcelas divididas con cuatro repeticiones, donde la parcela grande corresponde a los sistemas de siembra y la parcela chica a las densidades de población. El genotipo de sorgo dulce empleado fue el experimental denominado CANDY. El sorgo dulce se evaluó en enero de 2015, al momento de la cosecha. Se evaluaron los pesos de hoja, panoja, tallo y producción de biomasa total en 4 m².

Además se seleccionaron cinco plantas representativas de la población a las que se les determinó altura, diámetro, sólidos solubles totales y pesos de hoja, panoja, tallo y total. Los datos se analizaron con SAS 9.3, empleando la prueba de comparación de medias de Tukey.

En el análisis de producción de biomasa verde 4 m^{-2} , no se encontraron interacciones entre sistema de siembras y densidad de población. Los sistemas de siembra no mostraron diferencias. Sin embargo, se observaron diferencias significativas en la densidad de población (Cuadro 1).

Cuadro 1. Valores de F y significancia de parámetros de producción de biomasa de sorgo dulce sometidos a dos sistemas de siembra y tres densidades de población, en una superficie de 4 m^2 .

	Densidad de población	Interacción sistema de siembra/ densidad de población	Sistema de siembra
Peso de hojas	21.97 *	1.36 NS	0.00 NS
Peso de panojas	37.89 *	0.90 NS	0.24 NS
Peso de tallo	32.40 *	1.17 NS	0.00 NS
Peso total	31.23 *	1.15 NS	0.00 NS

*Estadísticamente significativo, NS=no significativo, $p=0.05$

En la Figura 1 se muestran los pesos promedio por hilera sencilla y doble, los cuales muestran una producción de biomasa verde de 3445 y 3428 g, respectivamente.

En cuanto a la producción de biomasa verde 4 m^{-2} , en base a la densidad de población, se encontraron diferencias, siendo la de 70000 pl ha^{-1} , con $1957 \text{ g } 4 \text{ m}^{-2}$, significativamente menor a las otras dos (Figura 2). Esto concuerda con lo encontrado por Uribe *et al.*, (2013), quienes observaron que al incrementar la densidad de población incrementa la producción de biomasa en sorgo dulce.

En la evaluación por plantas solo se observó una interacción, en el peso de panoja, entre los sistemas de siembra y la densidad de población Figura 3. Los sistemas de siembra no mostraron diferencias significativas. La densidad de población mostró diferencias significativas en la producción de biomasa y en sólidos solubles totales (Cuadro 2).

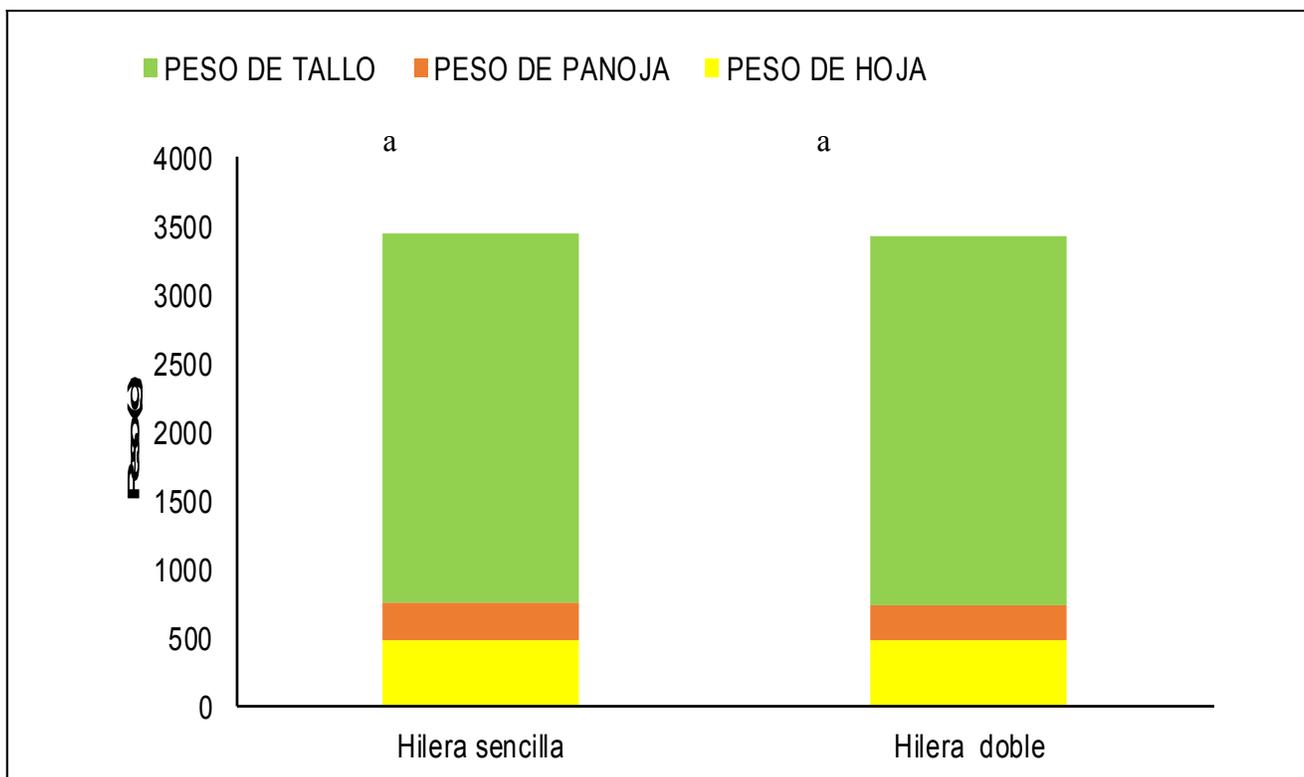


Figura 1. Producción de biomasa verde por cada sistema de siembra en 4 m². Medias con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha=0.05$).

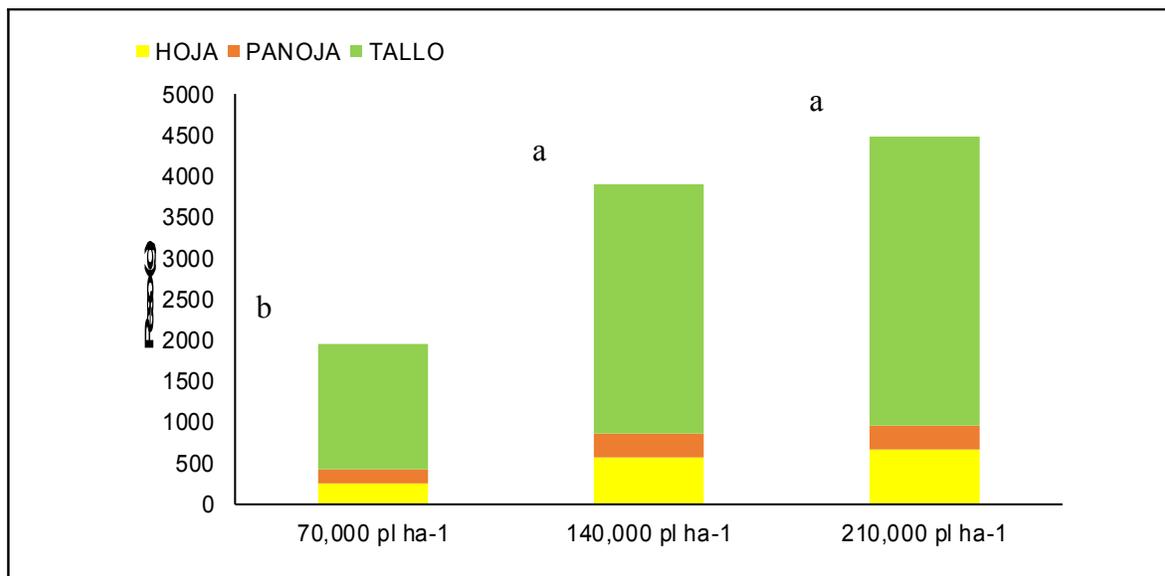


Figura 2. Producción de biomasa verde por cada densidad de población en 4 m². Medias con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha=0.05$).

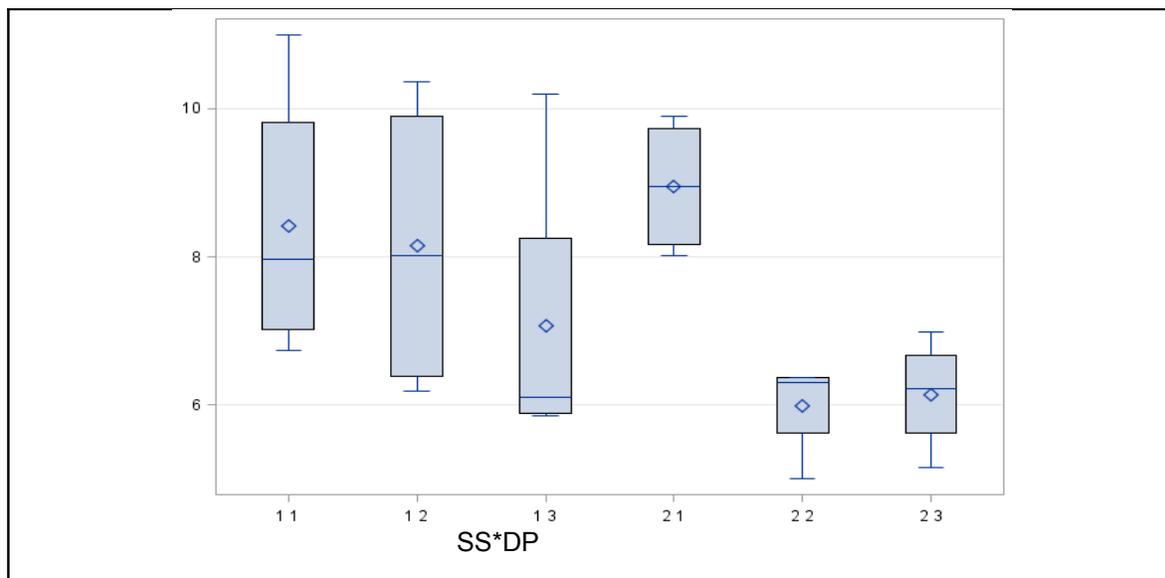


Figura 3. Interacción entre sistema de siembra y densidad de población en la variable peso de panoja.

Cuadro 2. Valores de F y significancia de parámetros de crecimiento de sorgo dulce bajo dos sistemas de siembra y tres densidades de población.

	Densidad de población	Interacción sistema de siembra/ densidad de población	Sistema de siembra
Altura	1.62 NS	0.20 NS	0.28 NS

Diámetro	2.39 NS	1.46 NS	1.54 NS
Peso de hoja	3.10 NS	1.96 NS	3.82 NS
Peso de panoja	13.66 *	5.17 *	1.57 NS
Peso de tallo	5.06 *	1.22 NS	0.62 NS
Peso total	5.56 *	1.75 NS	1.03 NS
S.S.T.	7.93 *	1.82 NS	0.95 NS

*Estadísticamente significativo, NS=no significativo, p=0.05

La altura, diámetro de tallo y sólidos solubles totales no mostraron diferencias significativas entre los sistemas de siembra, consistente con lo encontrado en la evaluación por superficie (Cuadro 3).

Cuadro 3. Altura, el diámetro y sólidos solubles totales promedio por planta en cada sistema de siembra.

Sistema de siembra	Altura (cm)		Diámetro (cm)		SST (°Brix)	
Hilera doble	179.27	a	0.78	a	10.24	a
Hilera sencilla	177.55	a	0.80	a	9.80	a

Medias con la misma letra entre filas son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha=0.05$).

Los sistemas de siembra no mostraron diferencias significativas en la producción de biomasa por planta (Figura 3).

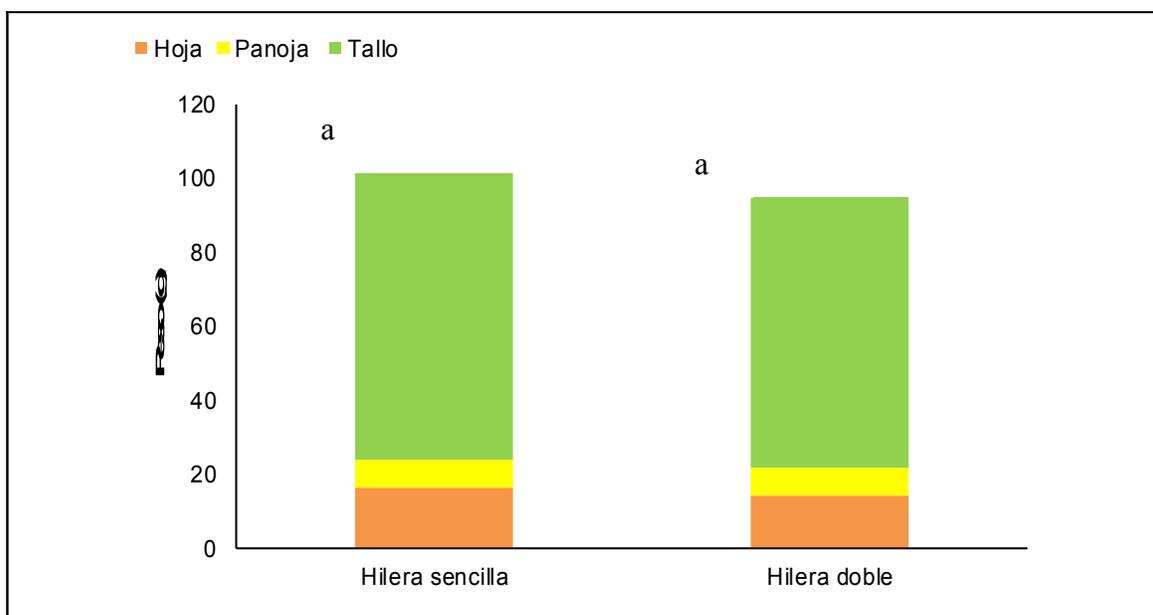


Figura 3. Producción de biomasa en cada sistema de siembra por planta. Medias con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha=0.05$).

La densidad de población no mostró diferencias significativas en altura y diámetro de tallo. Sin embargo, se encontraron diferencias significativas en los sólidos solubles totales, los cuales están directamente relacionados con el contenido de azúcares; siendo la densidad de 70000 pl ha⁻¹ significativamente menor a las otras (Cuadro 4).

Cuadro 4. Altura, el diámetro y sólidos solubles totales promedio por planta en cada sistema de siembra.

Densidad de población (plantas ha⁻¹)	Altura (cm)	Diámetro (cm)	SST (°Brix)
210000	181.23 a	0.79 a	11.33 a

140000	174.30 a	0.76 a	10.47 a
70000	179.70 a	0.82 a	8.26 b

Medias con la misma letra entre filas son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha=0.05$).

En la Figura 4 se observa que existen diferencias significativas en la producción de biomasa por planta, siendo la densidad de 70000 pl ha⁻¹ significativamente mayor a las otras.

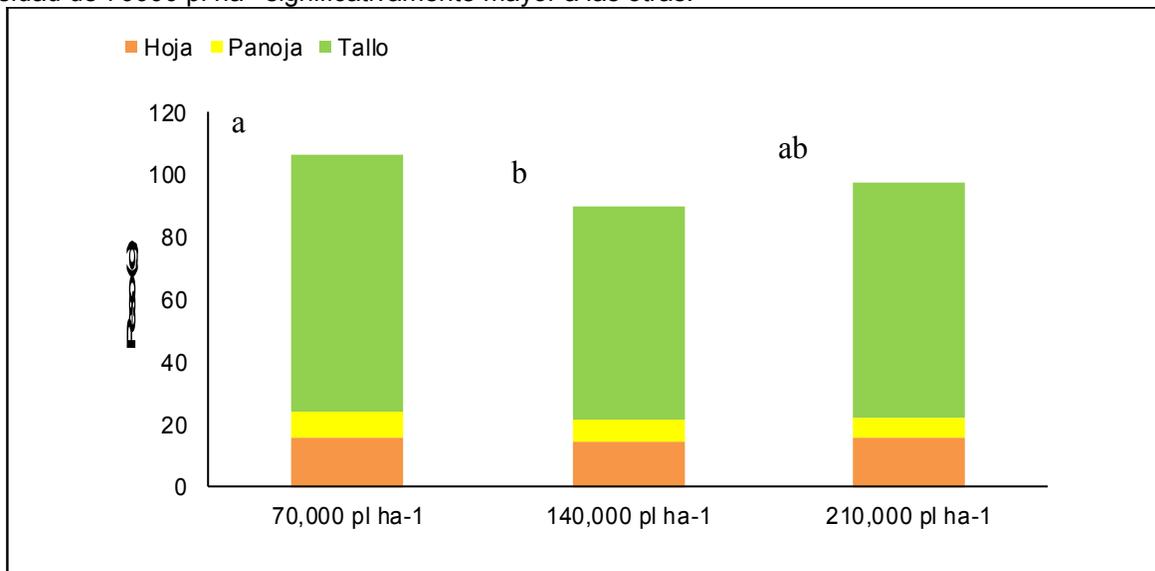


Figura 4. Producción de biomasa en cada densidad de población por planta. Medias con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha=0.05$).

Estos resultados difieren con los de Martínez *et al.*, (2012) quienes realizaron un experimento con sorgo dulce en Oaxaca, donde evaluaron diferentes dosis de fertilización, sistemas de siembra y densidades de población, encontrando una mayor eficiencia con el arreglo de hilera sencilla y diferencias entre densidades de población en la producción de biomasa y sólidos solubles totales por planta no fueron observadas.

CONCLUSIONES

Se concluye que los sistemas de siembra no influyen en la producción de biomasa del sorgo dulce, pero si en las características de la planta. A densidades de población alta se incrementa la producción de biomasa y azúcares, mejorando la rentabilidad del bioetanol.

BIBLIOGRAFÍA

1. S. Prasad, A. Singh, N. Jain, and H.C. Joshi, "Ethanol Production from Sweet Sorghum Syrup for Utilization as Automotive Fuel in India", *Energy Fuels* Vol 21, 4, 2007, pp. 2415-2420.
2. J. Martínez-Sánchez, Y. Villegas-Aparicio, J. C. Carrillo-Rodríguez y H. Espinosa-Paz. "Efecto de prácticas agronómicas en la producción de biomasa de sorgo dulce (*Sorghum bicolor* L.)." *Naturaleza y Desarrollo* Vol.10, 2012, pp. 14-26.
3. N. Montes, V. Pecina, M. E. Cisneros y M.A. García, "RB CAÑERO: sorgo dulce [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] para la producción de bioetanol", 2010.
4. SEMARNAT-INE, "Inventario Nacional de Emisiones de México, 1999", Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología, 2006.
5. SENER/BID/GTZ, "Potenciales y Viabilidad del Uso de Bioetanol y Biodiesel para el Transporte en México", 2006.
6. SENER/GTZ, "Recomendaciones de especificaciones técnicas para el etanol y sus mezclas (E-6) y la infraestructura para su manejo en México", 2010.

DETERMINACIÓN DE LA TOXICIDAD DE MERCURIO (Hg) EN TRES VARIEDADES DE *PHASEOLUS VULGARIS* L. ENDÉMICAS DE ZACATECAS

Josefina Huerta García ^a, Jorge Bluhm Gutiérrez ^b, Felipe de Jesús Escalona Alcázar ^b, Edgar León Esparza Ibarra ^a y Francisco Javier Cabral Arellano ^a

^a Unidad Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Zacatecas, jhuga@msn.com

^b Unidad Académica de Ciencias de la Tierra, Universidad Autónoma de Zacatecas.

RESUMEN

Los Metales Pesados (MP) tales como el mercurio (Hg) pertenecen a un grupo de agentes que inducen una respuesta de estrés a nivel celular y bioquímico. Una característica importante de esta respuesta en las plantas reside principalmente en alteraciones en germinación, desarrollo radicular y concentración de proteínas. En esta investigación se evaluó *in vitro* el efecto del Hg en tres variedades de *Phaseolus vulgaris* L., cultivadas en Zacatecas, con la finalidad de analizar si estas leguminosas crecidas en hábitats metalíferos han desarrollado tolerancia y/o sensibilidad a los MP. Las semillas de frijol flor de mayo, flor de junio y negro zacatecas fueron sometidas a cuatro tratamientos de HgCl₂ (0.01g/L, 0.1g/L, 1g/L y 10 g/L). Los resultados obtenidos mostraron una notable inhibición de la germinación conforme aumentó la dosis de Hg. También la raíz reveló claramente inhibición en su desarrollo a partir de 0.1g/L/HgCl₂. Finalmente la evaluación sobre la concentración de proteínas a través de perfiles de expresión electroforética y cuantificación por espectrometría mostraron una disminución muy marcada a medida que se incrementaron las concentraciones del metal, comparadas con el grupo testigo. Dos de las variedades de estudio, flor de mayo y flor de junio resultaron más sensibles a los efectos mercuriales en comparación con el negro zacatecas que expresó mayor tolerancia al Hg en los parámetros evaluados.

INTRODUCCIÓN

La industria minera, tiene un alto impacto en el ambiente desde el subsuelo hasta la atmósfera, incluyendo suelos y cuerpos de agua. Durante los procesos mineros se genera gran cantidad de desechos sólidos (jales), líquidos (aguas residuales) y gaseosos (gases, humos y partículas). De esta manera, la generación de residuos peligrosos en la minería constituyen problemas de contaminación difíciles de resolver (Gutiérrez y Moreno, 1995).

Los principales peligros ambientales en la transferencia de metales pesados desde el suelo a las plantas son la entrada de ellos a la cadena trófica, pérdida de cobertura vegetal o cosecha por su fitotoxicidad y la absorción desde el suelo por plantas tolerantes, lo que conlleva a graves efectos tóxicos en la salud humana (Azebedo y Rodríguez, 2012). Por lo tanto, además del suelo, las plantas son un elemento importante en los procesos de contaminación. Esto es especialmente relevante en zonas agrícolas, ya que la transferencia de MP a los seres humanos puede producirse de manera directa. Los metales con mayor peligrosidad para los seres humanos son el cadmio (Cd), mercurio (Hg) y plomo (Pb) (Chojnacka *et al.*, 2005). El Hg, es un metal que adopta varios estados de oxidación, esta característica le permite fácilmente dispersarse en todos los ecosistemas.

La selección del modelo *Phaseolus vulgaris* L. (frijol) en ésta investigación, se realizó en base a estudios efectuados por Hernández (2001) quien sugirió el uso de esta especie como planta fitoremediadora, lo cual fue corroborado por López (2002), adicionalmente estudios realizados por Cabral (2003) demuestran que este modelo representa un sistema de referencia estable para monitorear proteínas y RNAs mensajeros, donde la abundancia de estas moléculas permitirá, disponer de ellas de forma estable y económica para futuros estudios. Por otro lado Huerta (2011), manifiesta que dosis micromolares de Hg (10 µm/L) en frijol, alteran la expresión de la proteína nucleolar Fibrilarina (Fb) de manera específica. Además se pretende evaluar la respuesta de la planta a nivel radicular en presencia del contaminante y los cambios morfológicos que pueda generar.

DISEÑO EXPERIMENTAL

Este trabajo evaluó el efecto de Hg en *Phaseolus vulgaris L.*, a través de tres parámetros, como indicadores de toxicidad: índice de germinación, desarrollo radicular y concentración de proteínas. El diseño experimental consistió en someter las semillas a distintos tratamientos de HgCl₂, los resultados mostraron clara evidencia de toxicidad con una disminución en la germinación, elongación radicular y síntesis de proteínas conforme se incrementaron las dosis de mercurio, lo que conllevó finalmente a la muerte del 100% de las semillas.

La metodología empleada consistió en analizar tres variedades de frijol (flor de mayo, flor de junio y negro zacatecas) cultivadas en el estado de Zacatecas a distintas concentraciones de HgCl₂. Las semillas fueron esterilizadas previamente en una disolución de hipoclorito sódico al 3%. En seguida se lavaron 5 veces con agua destilada estéril. La imbibición de las semillas fue llevada a cabo por inmersión en 20 mL de las diferentes soluciones de Hg ((0.01g/L, 0.1g/L, 1g/L y 10 g/L) por 4 horas.

Germinación y desarrollo. Posteriormente las semillas se colocaron en cajas petri con doble capa de papel filtro, con 15 mL de la misma solución, se colocaron en incubadora simple a 25° C con diferentes tiempos: 0, 72, 144, 216 y 288 horas, quedando codificados de la siguiente manera: la letra A-0 horas, B-72, C-144, D-216 y E-288 horas, generándose tres grupos de estudio GI (flor de mayo), GII (flor de junio) y GIII (negro zacatecas), con 5 periodos de tiempo: 0, 72, 144, 216 y 288 horas y 4 tratamientos de HgCl₂: T1-0.01g/L, T2-0.1g/L, T3-1g/L, T4-10g/L, el grupo testigo fue codificado como T0 sin HgCl₂. El porcentaje de germinación fue monitoreado cada 72 horas.

Obtención de tejido radicular y extracción de proteínas solubles. Una vez que cada uno de los grupos cumplieron los tiempos establecidos, se procedió a cortar la raíz de las plántulas, se midió la longitud y peso de biomasa obtenida (dato no mostrado) y se fotografiaron, tras lo cual se sumergieron en nitrógeno líquido y se trituraron en un mortero de porcelana hasta obtener un polvo fino, al cual se le adicionó buffer de extracción NET-2 (Tris- HCl 500mM ph 7.4, NaCl 150mM, Nonidet NP- 40 o Igepal 0.05%), se colocaron 20 µL/mg de tejido radicular (Nambara,1992). Se disolvió en agitador (vortex), se centrifugó a 6000 rpm por 5 minutos, el sobrenadante se transfirió a tubos eppendorf, se almacenó en congelación (-4°C) para la cuantificación de proteínas solubles de acuerdo a la técnica de micro Bradford (1976).

Medición de concentración de proteínas. La medición de proteínas se realizó en el espectrofotómetro (Bradford, 1976), donde se adicionaron en varios eppendorf cantidades de 1 hasta 10 µl de muestra ajustando a un volumen de 800 µl con solución NaCl 150 mM, después se agregó 200 µl de solución de trabajo Bradford (Bradford Dye Sigma MO). Se mezclaron los tubos en el vortex y se dejaron reposar por tres minutos a temperatura ambiente. Después se transfirió a una cubeta y se leyó la absorbancia a una densidad óptica de 595 nm de luz visible. El blanco para ajustar el espectrofotómetro a cero contiene 800 µl de NaCl 150 mM + 200 µl de solución de trabajo de Bradford. La cantidad de proteína se calculó con una curva patrón. Cada determinación se hizo por triplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tabla 1 resume los resultados obtenidos por el efecto de HgCl₂ en la germinación de los tres grupos de estudio. Como se observa en el T-1 la germinación fue un tanto homogénea en cada uno de los grupos. Sin embargo en el T-2 los grupos mostraron una respuesta diferencial, el grupo II fue el más sensible con un 95% de semillas germinadas y con el T-3 también mostró ser el más afectado solo el 10% germinó, seguido por el grupo I donde el 20% germinó y finalmente el grupo III mostró gran capacidad de tolerancia con un 65% de semillas germinadas en un periodo de 288 horas. El T-4 fue letal para los tres grupos, ninguna semilla germinó.

Tabla 1 Germinación de *Phaseolus vulgaris* L expuestos a HgCl₂

Grupo I Semillas Frijol flor de mayo						
Tiempo/Hrs	No semillas	T0/Testigo	T1-0.01 g/L/HgCl ₂	T2-0.1 g/L/HgCl ₂	T3-1 g/L/HgCl ₂	T4-10 g/L/HgCl ₂
72	20	20/100%	19/95%	19/95%	2/10%	0/0%
144	20	20/100%	20/100%	19/95%	3/15%	0/0%
216	20	20/100%	20/100%	20/100%	4/20%	0/0%
288	20	20/100%	20/100%	20/100%	4/20%	0/0%

Grupo II Semillas flor de junio						
Tiempo/Hrs	No semillas	T0/Testigo	T1-0.01 g/L/HgCl ₂	T2-0.1 g/L/HgCl ₂	T3-1 g/L/HgCl ₂	T4-10 g/L/HgCl ₂
72	20	19/95%	18/90%	17/85%	2/10%	0/0%
144	20	20/100%	19/95%	18/90%	2/10%	0/0%
216	20	20/100%	20/100%	19/95%	2/10%	0/0%
288	20	20/100%	20/100%	19/95%	2/10%	0/0%

Grupo III Semillas negro zacatecas						
Tiempo/Hrs	No semillas	T0/Testigo	T1-0.01 g/L/HgCl ₂	T2-0.1 g/L/HgCl ₂	T3-1 g/L/HgCl ₂	T4-10 g/L/HgCl ₂
72	20	20/100%	20	20/100%	3/15%	0/0%
144	20	20/100%	20	20/100%	3/15%	0/0%
216	20	20/100%	20	20/100%	6/30%	0/0%
288	20	20/100%	20	20/100%	13/65%	0/0%

En lo referente al desarrollo de plántulas y elongación de la raíz, los grupos testigo y experimentales se evaluaron de manera comparativa, los resultados se muestran en las siguientes imágenes representativas del estudio. En la figura 1 se observan las etapas de desarrollo de *Phaseolus vulgaris* L de los grupos testigo, donde se puede observar una germinación y desarrollo radicular óptimas en cada una de las variedades en un periodo de 288 horas, tiempo durante el cual se llevó a cabo el estudio.



Fig. 1 Desarrollo de plántulas de *Phaseolus vulgaris* L / Testigo: flor de junio (grupo I), flor de mayo (grupo II) y negro zacatecas (grupo III): A-0 horas, B-72 horas, C-144 horas, D-216 horas y E-288 horas.

Los efectos del T-2 (0.1gr/L/HgCl₂) revelaron una notable reducción en la elongación radicular desde las 72 a

las 216 horas, reactivándose a las 288 horas en los tres grupos (datos no mostrados). Estas observaciones también fueron reportadas por Patra y colaboradores (2004) quienes mencionan que el $HgCl_2$ reduce la elongación de raíces primarias en plántulas de *Zea mays* y genera un lento crecimiento de las plántulas coincidiendo esto con los resultados obtenidos.

La figura 2 ilustra el desarrollo de plántulas sometidas a T-3 ($1g/L/HgCl_2$) en las cuales hubo cambios significativos en los tres grupos inhibiéndose desde un 90% la germinación en el grupo II, 80% en el grupo I y un 45% en el grupo III, este último continuó mostrando mayor tolerancia al Hg en comparación con los grupos I y II. Sin embargo el 55% de las semillas del grupo III que lograron germinar, no alcanzaron su desarrollo y murieron poco después. La inhibición y retraso de la germinación también fue observada por Varshney (1990) quien plantea que altas concentraciones de Hg reducen en gran medida la germinación y desarrollo radicular de *Phaseolus vulgaris L* por activación proteolítica.



Fig.2. Desarrollo de plántulas de *Phaseolus vulgaris L*. Tratamiento $3/1g/L/HgCl_2$: flor de junio (grupo I), flor de mayo (grupo II) y negro zacatecas (grupo III): A-0 horas, B-72 horas, C-144 horas, D-216 y E-288 horas

Por último con el T-4 ($10g/L/HgCl_2$) se observó una completa inhibición de la germinación e incluso provocó la muerte del 100% de las semillas en las tres variedades. El Hg ha sido catalogado por Munzuroglu y Geckil (2002) como uno de los metales más tóxicos y con una mayor capacidad de inhibir la germinación en comparación con otros metales como el Cd, Co, Cu y Pb.

En relación a los valores obtenidos en la concentración de proteínas de muestras testigo y experimentales, los resultados nos permiten observar cambios sustanciales. La concentración proteica disminuyó conforme aumentó la dosis de $HgCl_2$, datos reportados en la tabla 2 que coinciden con resultados publicados por otros investigadores (Prasad y Strzalka, 2002; Hamid, *et al.*, 2010). Al iniciar la germinación, en las semillas se presenta el fenómeno de hidratación que conlleva a la movilización de una gran cantidad de proteínas almacenadas, en las primeras horas y síntesis de novo en las horas subsiguientes. La técnica por espectrometría nos permite visualizar los niveles de proteínas que están siendo codificadas en los muestras testigo (sin $HgCl_2$) y como están siendo moduladas en respuesta al metal en los grupos experimentales, con los diferentes tratamientos. Como se observa las semillas inician el proceso germinativo con una alta concentración proteica y conforme aumentan los niveles de Hg la síntesis de proteínas va en detrimento. Estas observaciones concuerdan con Costa y Spitz (1997), quienes detectaron una disminución de proteínas solubles por exposición a MP y Palma (2002), declara que la disminución de proteínas es resultado de incremento de actividades proteolíticas celulares en respuesta al Hg. Una observación interesante es que el grupo III presentó una mayor concentración proteica en los diferentes tratamientos comparado con los grupos I y II.

Tabla 2 Concentración de proteínas $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ de tejido radicular en <i>Phaseolus vulgaris</i> L.					
Grupos testigo y expuestos a cuatro tratamientos de HgCl_2					
Grupo I Semillas Frijol flor de mayo					
Tiempo/Hrs	Testigo	T-1	T-2	T-3	T-4
0	1.104	1.099	1.076	1.212	1.112
72	1.089	0.969	0.596	0.294	0.129
144	0.939	0.756	0.382	0.157	0.072
216	0.587	0.587	0.218	0.121	0.047
288	0.792	0.821	0.585	0.091	0.06
Grupo II Semillas Frijol flor de junio					
Tiempo/Hrs	Testigo	T-1	T-2	T-3	T-4
0	1.113	1.014	1.107	1.099	1.101
72	1.023	0.777	0.489	0.141	0.12
144	0.899	0.614	0.323	0.102	0.012
216	0.456	0.473	0.241	0.082	0.01
288	0.699	0.704	0.561	0.031	0.002
Grupo II Semillas Frijol negro zacatecas					
Tiempo/Hrs	Testigo	T-1	T-2	T-3	T-4
0	1.231	1.114	1.127	1.199	1.201
72	1.103	0.907	0.689	0.399	0.152
144	0.999	0.744	0.623	0.238	0.099
216	0.606	0.563	0.471	0.432	0.058
288	0.999	0.904	0.854	0.521	0.046

CONCLUSIONES

En base a estos resultados podemos concluir que el Hg es uno de los contaminantes más tóxicos y que puede difundirse con mucha facilidad a través de los diferentes ecosistemas, produciendo así efectos perjudiciales en procesos biológicos fundamentales.

Las plantas presentan ciertos mecanismos de acumulación y tolerancia a los metales pesados, esta capacidad puede ser útil en fitorremediación, sin embargo esto conlleva a un grave problema de salud pública, porque son la puerta de entrada a la cadena alimenticia.

Este modelo permitió valorar el efecto del HgCl_2 a través de tres parámetros: germinación, desarrollo radicular y concentración de proteínas, los cuales demostraron una marcada inhibición, aunque de manera diferencial, los grupos I y II resultaron más sensibles a la exposición del metal que el grupo III.

Se manifiesta que la variedad negro zacatecas de *Phaseolus vulgaris* L., expresó desde un principio ser más tolerante a los efectos de HgCl_2 , en cada uno de los parámetros evaluados, estos resultados constituyen el primer paso para estudiar la posible capacidad de fitorremediación y/o acumulación de metales en esta variedad de frijol endémica del estado de Zacatecas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Azevedo R., y Rodríguez E. "Phytotoxicity of Mercury in Plants": A Review. Journal of Botany. 2012: pp. 1-6.
2. Cabral A.F.J. "U1 snRNP en embriones de Frijol en dormancia". Disertación Doctoral, 2003, Universidad Autónoma de Zacatecas
3. Costa, G., and Spitz E. "Influence of cadmium on soluble carbohydrates, free amino acids, proteins content of *in vitro* cultured *Lupinus albus*". Plant Sci. 1997, pp. 131-140
4. Chojnacka, K., Chojnacki, A., Górecka, H., Górecki, H. "Bioavailability of heavy metals from polluted soils to

plants". The Science of the Total Environment. 2005, pp. 175-182.

5. Gutiérrez R. M.E. y Moreno T. M. 1995. Los residuos en la minería mexicana. En: Garfias y Ayala, F.J. y Barojas W. L. (Eds.). Residuos Peligrosos en México. SEMARNAP - INE. 1ª Edición México. p. 126

6. Hamid, N., Bukhari, N., and Jawaid F. "Physiological responses of *Phaseolus vulgaris* to different lead concentrations". Pak. J. Bot. 42 (1) 2010, pp. :239-246.

7. Hernández P.J.L. "Respuestas biológicas de plantas superiores a la exposición de altas concentraciones de metales pesados. Disertación Doctoral".2001, Universidad Autónoma de Nuevo León, México.

8. Huerta G. J. "Influencia de HgCl₂ en la Proteína Fibrilarina y su Expresión Genética en etapas tempranas de Germinación de *Phaseolus vulgaris* L." Disertación Doctoral, 2011, Universidad Autónoma de Zacatecas

9. López S.D.L. "Evaluación de minerales y metales pesados en cultivos agrícolas y selección de especies con potencial de fitorremediación". Disertación Licenciatura, 2002, Universidad de Las Américas, Puebla, México.

10. Palma, J.M., Sandalio, C.F., Romero-Puertas M.C. "Plant Proteases protein degradation and oxidative stress: role of peroxisomes". Plant Physiol Bioche. 2002, pp. 521-530.

11. Prasad, M.N.V. and Strzalka K. "Physiology and Biochemistry of heavy metal toxicity and tolerance in plants". 2002. *Dordrech Kluwer Academic Publishers*. Chapter 4, pp. 147-149

ESTUDIO PRELIMINAR DE LA DEGRADACIÓN DEL COLORANTE AZUL ÍNDIGO MEDIANTE UN PROCESO FERMENTATIVO AEROBIO UTILIZANDO UNA CEPA DE *CITROBACTER FREUNDII*.

Martha E. Ocaña López^a, Gerardo J. Sosa Santillán^a, Yolanda Garza García^a

^aUniversidad Autónoma de Coahuila. Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias Químicas. Saltillo, Coahuila. Emily_26_sol@hotmail.com

RESUMEN

En la actualidad, la presencia de colorantes en las aguas residuales representa un problema ambiental, ya que este tipo de compuestos no puede eliminarse con los métodos de tratamiento convencionales, esto se debe a la alta concentración de colorantes. Para la eliminación de estos se han empleado diversos procesos, de tipo físico, químico y biológico. Por ello este trabajo tienen por objetivo establecer las mejores condiciones para la biodegradación del colorante Azul índigo, mediante un proceso fermentativo aerobio utilizando una cepa de *Citrobacter freundii*. Para la evaluar la degradación del colorante se realizaron cinéticas empleando diferentes concentraciones de colorantes (2.5, 5 y 7.5 ppm) y temperaturas (30, 35 y 40 °C). Utilizando un medio mineral de referencia, la cepa empleada fue previamente adaptada a la presencia del colorante. La determinación de proteínas se realizó por el método de Peterson modificado. Para el análisis de datos se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo de parcelas divididas, siendo la concentración del colorante el factor principal. La variable a evaluar fue el porcentaje de degradación. Los resultados muestran que se logró degradar el colorante Azul índigo eficientemente, obteniendo hasta 56 % de remoción. El sistema que tuvo mayor porcentaje de degradación fue bajo las siguientes condiciones: 5 ppm del colorante y 35 °C. El porcentaje y la velocidad de degradación del Azul índigo son directamente proporcionales a la concentración inicial del colorante y se modela como un decaimiento exponencial con respecto al tiempo

Palabras clave: Biodegradación, *Citrobacter freundii*, Colorantes indigoides.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, como una consecuencia de la industrialización, el mundo enfrenta problemas de contaminación ambiental. Este problema se vuelve día a día más importante a pesar de que existen tratamientos de remoción de contaminantes y programas de reducción y disposición de residuos; en muchos de estos procesos, el problema se elimina solo parcialmente o al resolverlo, se genera otro, debido a la difícil degradación total de los residuos (Cervantes, 2007). Una opción con la que es posible mineralizar completamente los contaminantes son los procesos biológicos. La biodegradación de colorantes utilizados en la industria textil ha sido objetivo de investigación desde hace ya algunos años debido al problema de contaminación ambiental que representan. (Cai *et al.*, 2009). Es por ello que se está generando una fuerte demanda de tecnologías que permitan eliminar el color en las aguas residuales. Sin embargo, algunas tecnologías son altamente específicas, tienen costos elevados, y no se aplican para una amplia variedad de colorantes (Anjaneyulu *et al.*, 2005).

METODOLOGÍA

Se empleó como modelo de estudio el colorante; Azul índigo, el cual fue diluido con agua destilada al 0.5% posteriormente se esterilizó para evitar cualquier contaminación posible. Se utilizó una cepa de *Citrobacter freundii* previamente adaptada a la presencia del colorante. Con respecto a la cinética de degradación, se preparó medio mineral (40 mL) de acuerdo a lo siguiente: Cloruro de sodio 0.5%, Cloruro de potasio 0.5%, Fosfato de potasio 0.2%, Nitrato de sodio 0.3%, Sulfato de magnesio 0.001%, Agar bacteriológico 0.5% y Glucosa 0.5% a pH 8; también se preparó un matraz de medio líquido (50 mL): caldo nutritivo 0.8%, peptona de caseína 0.3%, extracto de levadura 0.2%. Se inoculó la cepa en el medio líquido y se puso a incubar en agitación constante durante 12 horas a 32 °C. Al medio mineral se le agregó 10 ml de la suspensión celular y diferentes concentraciones de colorante (2.5, 5 y 7.5 ppm), enseguida se metió a la incubación a diferentes temperaturas (30, 35 y 40°C) en agitación constante, para tomar las alícuotas de 1 ml por muestra cada 3 horas, una vez terminado el monitoreo, las muestras se centrifugaron a 10,000 rpm durante 5 minutos, del sobrenadante obtenido se le agregó 1 ml de agua destilada para realizar la lectura en el espectrofotómetro a 420 nm de absorbencia. La fórmula 1 se emplea para determinar el porcentaje de decoloración. Para la determinación de proteínas se utilizó el paquete celular que fue obtenido de cada muestra, el cual fue lavado un par de veces, para ello fue utilizado el método de Peterson modificado y las muestras se leyeron a una longitud de onda de 750 nm.

RESULTADOS

Los resultados de la evaluación de remoción de colorantes mediante diferentes temperaturas se muestran a continuación (Cuadro I), en ellos se demuestra que a la temperatura de 35 °C se obtiene mayor porcentaje de decoloración,

Cuadro I. Resultados de la remoción del colorante azul índigo bajo diferentes temperaturas (30, 35 y 40 °C).

T°C	Abs inicial	Abs final	% de remoción
30°	0.4193	0.2627	37.34
35°	0.6173	0.3463	43.90
40°	0.5177	0.3880	25.05

Los resultados del incremento de proteína a cada nivel de temperatura probado se muestran en la Figura 1. Donde a 35 °C el microorganismo aumenta su capacidad para tomar el colorante como fuente de carbono e incrementar así su cantidad de proteína y lograr porcentajes de decoloración aceptables.

Figura 1. Incremento de la proteína celular durante el proceso de biodegradación a diferentes temperaturas.

En relación a las diferentes concentraciones de colorantes, se observó que con 5 gr de azul índigo el porcentaje de degradación era mayor (Cuadro II).

Cuadro II. Resultados de la remoción azul índigo bajo diferentes concentraciones de colorantes (2.5, 5 y 7.5 ppm).

Conc del colorante	Abs inicial	Abs final	% de remoción
2.5 ppm	0.4170	0.3053	26.78
5.0 ppm	0.6193	0.3817	38.36
7.5 ppm	0.5163	0.3903	24.40

El análisis estadístico mostró diferencia significativa para los tres niveles de concentraciones evaluados. Donde a simple vista se puede observar la diferencia significativa que muestra la siguiente figura, haciendo énfasis en la concentración de 5 ppm donde existe mayor cantidad de proteína.

Figura 2. Incremento de la proteína celular durante el proceso de biodegradación a diferentes concentraciones de colorante.

Es evidente observar que a una menor y mayor concentración de colorante (2.5 y 7.5 ppm) se obtuvo un menor porcentaje de decoloración, sin embargo a 5.0 ppm decolorante se presentó un incremento de proteínas y por ende un mayor porcentaje de degradación.

Estos factores han sido más frecuentemente utilizados, ya que ayuda a disminuir la contaminación ambiental e incluso a la reutilización del agua.

CONCLUSIONES

En los resultados de esta investigación, mediante el proceso fermentativo aerobio propuesto, se logró degradar el colorante Azul índigo eficientemente, obteniendo hasta 56 % de remoción. El sistema que tuvo mayor porcentaje de degradación de la solución de Azul índigo fue bajo las siguientes condiciones: 5 ppm del colorante y 35 °C. El porcentaje y la velocidad de degradación del Azul índigo son directamente proporcionales a la concentración inicial del colorante y se modela como un decaimiento exponencial con respecto al tiempo.

La capacidad de degradar colorantes textiles *in vitro*, bajo diferentes condiciones de Temperatura y Concentraciones de colorantes sustenta la aplicación de *Citrobacter freundii* (en medios de cultivo de referencia) en procesos de biorremediación de estos compuestos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Anjaneyulu, Y. Sreedhara-Chary, N. y Suman-Raj, S. 2005. Decolourization of industrial effluents – available methods and emerging technologies – a review. *Rev. Environ. Sci. Technol.*, 4: 245–273.
2. Cervantes, F. J. 2007. Increase business competitiveness with water recycling. *AsianWater*3:14-17.
3. Cai, J. Cui, L. WANG, Y. LIU Chengfu. 2009. Effect of functional groups on sludge for biosorption of reactive dyes. *Journal of Environmental Sciences*. 21:534–538.

EVALUACIÓN DE TRES ESPECIES DE PLANTAS PARA LA REMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON PB Y CD EN UNA REGIÓN MINERA

^aMaurilio Flores Guzmán, ^bM. Rico Rodríguez, ^cAlejandro Carrillo Chavez, ^cCarolina Muñoz Torres y ^bMiguel A. Ramos-López,

^aUniversidad Juárez Autónoma de Tabasco, ^bCentro de estudios Académicos sobre Contaminación Ambiental, Universidad Autónoma de Querétaro, Cerro de las Campanas s/n, Querétaro, 76001

^cCentro de Geociencias-UNAM, Campus Juriquilla, Blvd.. Juriquilla 3001, Juriquilla, Querétaro, México 76230

El objetivo de esta investigación fue determinar la concentración total de plomo (Pb) y de cadmio (Cd) en tres especies de plantas colectadas en un transecto sobre una presa de residuos mineros y así identificarlas como bioacumuladoras. El estudio se realizó en la comunidad minera de Maconí, municipio de Cadereyta de Montes, en el estado de Querétaro, México. Se muestrearon tres especies de plantas de mayor abundancia (*Alyssum murale*, *Tecoma stans* y *Nicotiana glauca*) en cinco sitios a una equidistancia de 25 m a partir del perímetro de la presa en dirección de los vientos dominantes. Se prepararon un total de 75 muestras vegetales (5 de cada especie en 5 puntos de muestreo) y 18 muestras de suelo (tres en cada punto de seis de muestreo). También se realizó experimentos de bioacumulación en un invernadero con condiciones controladas de temperatura (25°C/60% humedad) durante cinco meses con suelo colectado de la presa. Las muestras se sometieron a un proceso de digestión en un horno de microondas (Micro Marx modelo 230 / 60) y se analizaron en un espectrofotómetro de absorción atómica de flama (Perkin Elmer AAnalyst 300). La concentración promedio de plomo acumulada en *Tecoma stans* fue de 240 mg/kg, en *Alyssum murale* de 394 mg/kg y en *Nicotiana glauca* de 508 mg/kg. Mientras que para el Cadmio fue el valor más alto acumulado de 97.5 mg/kg en *Allisum m.*, 33.3 en *Tecoma s.* y 12.3 para *Nicotiana g.* Estos valores las identifican como bioacumuladoras y candidatas a remediar suelos contaminados.

INTRODUCCIÓN

Durante años, los residuos mineros se han abandonado a cielo abierto sin ningún tratamiento, desechos que representan un problema grave para la salud humana y ambiental porque contienen metales pesados potencialmente tóxicos bajo ciertas condiciones entre estos se encuentran el cadmio y el plomo (Wilfried *et al.* 2008; Ravi *et al.* 2009). Se han utilizado técnicas tradicionales para intentar resolver el problema de contaminación de suelos, entre las que se encuentran excavación y entierro, electroquímica, lavado químico aunque éstas últimas, por sus altos costos y bajas eficiencias, han resultado inadecuadas Baker *et al.* (1980). Por otro lado, se han desarrollado durante las últimas décadas técnicas alternativas, para la redemediación de los suelos como es el caso de la fitorremediación (Glick 2010). En este proyecto se determinó la bioacumulación (concentración de plomo y cadmio) mediante la técnica de absorción atómica de flama, en las plantas penacho amarillo (*Alyssum murale*), sardinillo amarillo (*Tecoma stans*) y tabaco moruno (*Nicotiana glauca*) colectadas en un sitio contaminado por residuos mineros figura 1.



Figura 1. Localización de la zona de muestreo en la región de Maconí, Cadereyta de Montes, Querétaro

METODOLOGÍA

Suelo Para conocer la variación de la concentración, de plomo y cadmio en el suelo con respecto a la distancia, se localizaron cinco puntos de muestreo equidistantes 25 metros y alejándose de la presa de jales (NMX-AA-132-SCFI-2006). Las muestras se etiquetaron y se guardaron en bolsas de polietileno, herméticamente cerradas, para su posterior análisis (NOM 021 RECNAT 2000).

Análisis de las muestras de suelo y plantas

Se colectaron cinco individuos completos de cada una de las tres especies de mayor abundancia (*Nicotiana glauca*, *Tecoma stans* y *Alyssum murale*) y se colocaron en bolsas de papel. Las partes se lavaron con agua tridestilada para retirar completamente la tierra y polvo, se secaron completamente (Puga y col. 2006). Se pesaron 0.25 g de muestra (suelo o planta) tamizadas para posteriormente digerirlas en un horno de microondas MARXS modelo (907501). La cuantificación de plomo y cadmio en muestras de suelo y plantas se llevó a cabo en un espectrofotómetro de absorción atómica de flama modelo AAnalyst 300 (NMX-AA-051-1982)

Determinación de la bioacumulación de plomo y cadmio en plantas a nivel laboratorio

Al cabo de 45 días de haberse sembrado las plántulas de las tres especies se retiraron de los almácigos y se lavaron la raíces para ser trasplantadas a macetas con suelo colectado de los diferentes puntos de muestreo, en cada maceta se colocaron 2.5 Kg de suelo en cinco replicas para obtener material durante los cinco meses hasta el final del experimento (Prieto *et al* 2006, Rico *et al* 2013).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el cuadro I, que para todos los sitios el valor se encuentra entre 5.2-6.3 y se clasifica como suelo moderadamente ácido (NOM-021-SEMARNAT 2000). Sommer *et al* (2000) encontró valores muy similares y menciona que el pH tiende a disminuir en las cercanías a la presa, hasta valores de 2.9. En este estudio se observa un incremento en el pH, mientras se aleja del sitio de jales, es ligeramente ácido en los puntos más cercanos a la presa. Esto puede ser, debido a reacciones entre algunos anhídridos y el agua para formar ácidos y favorecer la solubilidad de compuestos de cadmio y plomo, también se menciona que el pH es una de las mediciones más comunes e importantes en los análisis químicos rutinarios de suelo, ya que controla reacciones químicas y biológicas que se dan en los suelos. Se pone de manifiesto que el contenido de materia orgánica es bajo que va desde 0.7 a 1.3 % en el punto 1. Se demuestra porque en ese punto no se observaron plantas de ninguna especie, debido a la composición y concentración de sustancias que ocasionan toxicidad hacia las plantas. La densidad entre los diferentes sitios difiere entre más lejano este del lugar de la descarga disminuye, y podría estar relacionado a la cantidad de agua, en el punto 1 el suelo se satura no permitiendo la aireación que debe de existir entre los poros del suelo (Cepeda, 2009) por tal razón, las plantas se encontraron a partir del punto 4 y 5. Las concentraciones promedio que se encontraron de plomo y cadmio en el suelo (NOM-147-SEMARNAT-2004).

La Conductividad eléctrica (C.E.) para los diferentes sitios fue baja (promedio 0.53-1.2 mmhos/cm. La medición del potencial redox (Eh) en medios naturales demuestra la capacidad de oxido-reducción, causada directamente por las condiciones químicas de éste, que muy a menudo son inducidas por actividades microbiológicas (por ejemplo, bacterias sulfatoreductoras y ferrobacterias). Las muestras de suelos analizados presentaron valores de (Eh) de 178 a 180 mv, y que según la clasificación de Boulding (1995) son de tipo reductor intermedio (+400 a -100). Las condiciones REDOX pueden afectar indirectamente la movilidad de los metales. En ambientes muy reductores el Fe se puede combinar con el S^{2-} hasta convertirse en pirita (Callejas, 2005). Cuando los suelos y sedimentos contienen cantidades significantes de pirita y aumenta el Eh (creación de condiciones mas oxidantes) el S^{2-} se oxida a SO_4^{2-} liberando cantidades de H_2SO_4 , el suelo se acidifica fuertemente y los metales se hacen muy solubles (Rojas, 1995) Los valores encontrados se pueden observar en la figura 2, la mayor concentración de plomo en el punto 1 (178 mg/kg) y cadmio (35 mg/kg), debido a que es el sitio de entrada de los residuos a la presa de jales.

bioacumulación de plomo y cadmio en plantas colectadas en sitio

En la figura 2, demuestra las concentraciones de plomo y cadmio a diferentes distancias, partiendo del origen del vertimiento en la presa de Jales, se puede observar que las concentraciones de los metales disminuyen conforme se aleja del lugar donde se están depositando.

CONCLUSIONES

Las tres especies de plantas *Tecoma Stans*, *Alyssum murale* y *Nicotiana glauca* pueden ser consideradas como bioacumuladoras de plomo y cadmio en base al criterio de Brooks. La bioacumulación de plomo y cadmio en las tres especies de plantas se ve favorecida en los puntos del suelo donde existen mayores concentraciones de plomo y cadmio. Estas plantas bioacumuladoras constituyen una alternativa para resolver problemas relacionados con la contaminación y la eventual recuperación de suelos contaminados por metales pesados. La salud humana, sobre todo para la comunidad de Maconí, en particular y para todo el ecosistema en general, puede estar en riesgo; debido a que estos metales pueden incorporarse a las cadenas alimenticias, o afectar los cuerpos de agua superficiales y subterráneos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cepeda D. J.M. (2009) Química de suelos. Ed Trillas, México D.F. pp. 5-159
2. Boulding JR. (1995). Description and sampling of contaminated soils. A field guide, 2nd ed. Boca Raton, FL7 Lewis Publishers; Chapter 3.
3. NOM-021-RECNAT-2000. Norma Oficial Mexicana que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreos y análisis
4. NMX-AA-051. (1982). Determinación de metales por el método de espectrometría de Absorción Atómica, publicada en el Diario oficial de la Federación, México.
5. NMX-AA-132-SCFI-(2006). Muestreo de suelos para la Identificación y la Cuantificación de Metales y Metaloides y Manejo de la muestra.
6. NOM-147-SEMARNAT-(2004). Norma Oficial Mexicana, que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plomo, selenio, talio y vanadio.
7. Puga, S. (2006). Concentraciones de As y Zn en vegetación nativa cercana a una presa de Jales. Revista Internacional de Contaminación Ambiental. Vol. 22: 75-82.
8. Sommer C.I.; Frenández L. P.; Rivas S.H.; Gutierrez R.M.; (2000). La geoestadística como herramienta en estudios de contaminación de suelos, análisis de casos: afectación de suelo por arsénico, plomo y cadmio contenidos en Jales mineros. Rev. Inter. Contam. Ambient. Vol. 16 Número 4: 205-214.
9. Wilfried H. E, Gerd-Joachim K., Jos A. V. & Dirk W. (2008). Interaction of heavy metals with the sulphur metabolism in angiosperms from an ecological point of view. *Plant, Cell and Environment* 31, 123–143
10. Ravi N., Euan S. M., Imamul H., Owens G. (2009). Sorption and bioavailability of
11. arsenic in selected Bangladesh soils. *Environ Geochem Health*, 31:61–68
12. Glick B. (2010). Using soil bacteria to facilitate phytoremediation. *Biotech Adv* 28; 367–374
13. Prieto, G. F., Lechuga, V. M.A., Méndez, M. M.A., Barrado, E. E y, Oyarzún, G. J. (2006) Daños tóxicos en tejidos vegetales, producidos por aguas contaminadas con arsénico en Zimapán, Hidalgo México. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 26(1): 94-97
14. Rico-Rodríguez, M. Á., Otazo-Sánchez, E. M., Prieto-García, F., Acevedo-Sandoval, O. A., & Román-Gutiérrez, A. D. (2013). Caracterización de tres suelos en Hidalgo y Querétaro, México: disponibilidad y daño tóxico por arsénico en garbanzo (*Cicer arietinum* L.). *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuy*

SUSTENTABILIDAD PAISAJISTICA DEL CENTRO UNIVERSITARIO DE LOS ALTOS

Jorge H. Medina ^a, Raymundo Velasco ^a, Martha F. García ^a, Carlos A. Colmenero ^a, Eduardo Galaviz ^a

^a Universidad de Guadalajara, Jalisco jhmedina@hotmail.com

RESUMEN

El presente estudio, tiene como objetivos el conservar las áreas verdes de esta institución de educación superior así como dar a conocer la influencia multisensorial que tienen los recursos naturales para que mediante esos puntos se conozcan otro tipo de beneficios que se obtienen no solo como bases de alimentación y bienestar sino incluso, para la salud humana, reflejados principalmente en cambios etológicos, uno de los aspectos que además debe motivar la integración de trabajos interdisciplinarios. Ante los crecientes avances de los centros urbanos y las actuales condiciones climáticas que se encuentran afectando de diversas formas a las especies vegetales y animales, resulta necesario impulsar desde la formación académica de los recursos humanos, el conocimiento de otras ventajas de contar con recursos naturales cercanos a nuestros desempeños e igualmente propiciar que se generen acciones destinadas a conservar los valores intangibles del acervo genético presente en determinado lugar, como en este caso se trata de lograr en el Centro Universitario de los Altos de la Universidad de Guadalajara, es diseñado arquitectónicamente por el Arq. Fernando González Gortazar [4] para ser construido con el mayor respeto a la diversa vegetación contenida en el espacio de las 20 hectáreas que ocupa, quedando para las comunidades universitarias a partir del año 1995, la responsabilidad de que ello suceda para beneficio de las futuras generaciones de alumnos, académicos, trabajadores y directivos de la Institución.

En la metodología, se utilizan textos bibliográficos, reportes de investigación en materia de ecología general; esta investigación se lleva a cabo en el Centro Universitario de Los Altos, Universidad de Guadalajara a partir de 2008 a la fecha con el objetivo de conservar principalmente el acervo genético del lugar mediante acciones tendientes a reproducirlo, plantar en diferentes espacios los productos obtenidos y dotarles de las labores culturales necesarias para que prosperen en con variables áreas verdes, conservación, educación, influencia multisensorial, recursos naturales, bienestar, los cambios etológicos y de resiliencia que provocan en la salud humana.

En discusión y resultados, se determina que el crecimiento de infraestructura obliga a mantener continuamente los recursos naturales y llevar a cabo la conservación, promoción y desarrollo numérico de los elementos naturales contenidos, efectuando acciones para reforestar y dotar de imágenes acordes a determinados espacios.

Se observa que en la cercanía a la capital del estado de Jalisco, la Región Sur de Los Altos, contiene pujantes industrias agropecuarias productoras de carnes de pequeños y grandes rumiantes, de cerdo y aves, lácteos y huevo para plato, así como agricultura y tequila, que reflejan su accionar colocando a este Estado en el 4º lugar del PIB nacional y en los primeros lugares nacionales. Esa productividad y el crecimiento poblacional motivan que la apropiación de recursos naturales y materias primas, produzcan una considerable huella ecológica y presionen a la gran variedad de especies de flora y fauna que contienen sus microclimas, afectando a la misma naturaleza y al habitante de esta región.

Concluyendo, las acciones para mantener sitios dignos a las actividades sustantivas a partir de los recursos naturales, promoviendo desarrollo sustentable de manera permanente, son la clave para generar un patrimonio cultural ecológico que beneficie a la triada naturaleza-humano-salud mental.

Palabras claves: Paisaje natural, multisensorialidad, sustentabilidad, beneficio ambiental, educación

INTRODUCCIÓN

El presente estudio, tiene como objetivos el conservar las áreas verdes de esta institución de educación superior así como dar a conocer la influencia multisensorial que tienen los recursos naturales para que mediante esos puntos se conozcan otro tipo de beneficios que se obtienen no solo como bases de alimentación y bienestar sino incluso, para la salud humana, reflejados principalmente en cambios etológicos, uno de los aspectos que además debe motivar la integración de trabajos interdisciplinarios.

Ante los crecientes avances de los centros urbanos y las actuales condiciones climáticas que se encuentran afectando de diversas formas a las especies vegetales y animales, resulta necesario impulsar desde la formación académica de los recursos humanos, el conocimiento de otras ventajas de contar con recursos naturales cercanos a nuestros desempeños e igualmente propiciar que se generen acciones destinadas a conservar los valores intangibles del acervo genético presente en determinado lugar, como en este caso se trata de lograr en el Centro Universitario de los Altos de la Universidad de Guadalajara, es diseñado arquitectónicamente por el Arq. Fernando González Gortazar [4] para ser construido con el mayor respeto a la diversa vegetación contenida en el espacio de las 20 hectáreas que ocupa, quedando para las comunidades universitarias a partir del año 1995, la responsabilidad de que ello suceda para beneficio de las futuras generaciones de alumnos, académicos, trabajadores y directivos de la Institución.

En la metodología, se utilizan textos bibliográficos, reportes de investigación en materia de ecología general; esta investigación se lleva a cabo en el Centro Universitario de Los Altos, Universidad de Guadalajara a partir de 2008 a la fecha con el objetivo de conservar principalmente el acervo genético del lugar mediante acciones tendientes a reproducirlo, plantar en diferentes espacios los productos obtenidos y dotarles de las labores culturales necesarias para que prosperen en con variables áreas verdes, conservación, educación, influencia multisensorial, recursos naturales, bienestar, los cambios etológicos y de resiliencia que provocan en la salud humana.

En discusión y resultados, se determina que el crecimiento de infraestructura obliga a mantener continuamente los recursos naturales y llevar a cabo la conservación, promoción y desarrollo numérico de los elementos naturales contenidos, efectuando acciones para reforestar y dotar de imágenes acordes a determinados espacios.

Concluyendo, las acciones para mantener sitios dignos a las actividades sustantivas a partir de los recursos naturales, promoviendo desarrollo sustentable de manera permanente, son la clave para generar un patrimonio cultural ecológico que beneficie a la triada naturaleza-humano-salud mental.

TEORÍA

Son diversos los objetivos que a corto, mediano y largo plazo se contemplan para esta investigación, el primero es trabajar con los recursos naturales nativos de la región, que existen en la institución para duplicarles por medio de semillas y posteriormente destinarlos a un espacio definitivo definido al azar para que sea lo más parecido a los sucesos naturales, ello implica que aunque su ubicación no sea por la naturaleza, se cuide no propiciar una vista de plantación técnica y que no falten las labores culturales necesarias para que prosperen y así las 20 hectáreas se conviertan en una “isla de termorregulación climática” ante el avance poblacional que se manifiesta en la ciudad de Tepatitlán de Morelos.

Al respecto, los crecientes avances de los centros urbanos desplazan y presionan a los recursos naturales que les son inmediatos, esto ocasiona cambio de actividades laborales humanas, cinturones de pobreza y el deterioro ambiental de los propios centros urbanos, por su crecimiento desordenado; un ejemplo de ello lo refiere el Dr. Exequiel Ezcurra (2) quien describe en forma amplia y amena como la cuenca de la ciudad de México, previo a la conquista, era un ejemplo de desarrollo tecnológico y cultural donde sobresalía la agricultura de chinampas que reciclaba nutrientes en forma eficiente; en la actualidad es una de las megalópolis con mayor deterioro ambiental y la arquitectura de sus paisajes naturales se ha perdido en gran proporción.

Para el Dr. Omar Rosier Barrera (6) en geomorfología, la estructura del relieve expresa el esqueleto o el armazón del mismo, para González Bernaldez “el paisaje no solo es la percepción de la imagen visual lo que se

aprecia, sino que su estructura provoca la percepción multisensorial de lo intangible en un sistema geográfico”; de ambas expresiones el ser humano obtiene el beneficio de los cambios etológicos, en donde se modifica positivamente el carácter, comportamiento, actitudes y se genera una actitud diferente capaz de provocar la recuperación general del organismo”.

En la impartición del conocimiento se encuentra una alternativa que el mismo Tamayo Pérez [5] menciona “ya que finalmente se ha dejado de lado la educación tradicional y actualmente se da lugar a formar mediante la capacidad de pensar y resolver los problemas nuevos”.

En cuanto a la óptica de observar al medio ambiente no como un problema, Enrique Leff (1) compila entre otros trabajos, uno de Pablo Gutman titulado “Ambiente y Planificación del desarrollo” al cual se suma en la misma obra el de Mario Robirosa C.”Articulación transdisciplinaria de conocimientos en la planificación y gestión ambiental en el desarrollo”.

Apreciar los beneficios que se reciben de los recursos naturales al invertir una mínima cantidad de tiempo en un sitio donde estos sean suficientes para ello, como un jardín o un parque público en las ciudades y los espacios abiertos en las zonas rurales, estar en uno de estos sitios en contacto con la naturaleza y aplicar nuestros sentidos a la percepción del paisaje y su arquitectura, refiere González Bernáldez [3] “no solo es la percepción de la imagen visual lo que se aprecia, sino que se provoca la percepción multisensorial de lo intangible en un sistema geográfico”.

De esa forma se obtiene un cambio etológico en los individuos y la gama de cambio ocurre desde el relajamiento físico motivado por la observación, hasta una forma diferente de expresar el carácter, comportamiento e incluso, de apreciación a las situaciones apremiantes de la vida porque se ha pasado a generar una “recuperación general del organismo”.

PARTE EXPERIMENTAL

Metodología

En la metodología, se utilizan textos bibliográficos, observación y acciones directas e indirectas, reportes de investigación en materia de ecología general; esta investigación se lleva a cabo en el Centro Universitario de Los Altos, Universidad de Guadalajara a partir de 2008 a la fecha, que se encuentra aún en etapas de construcción y se ubica en parte de lo que fue una gran cubierta de robles y especies arbustivas nativas que en otros sitios han ido cediendo terreno debido a la presión de las agroindustrias y los avances urbanos.

El objetivo es conservar principalmente el acervo genético del lugar mediante acciones tendientes a reproducirlo, plantar en diferentes espacios los productos obtenidos y dotarles de las labores culturales necesarias para que prosperen en con variables áreas verdes, conservación, educación, influencia multisensorial, recursos naturales, bienestar, los cambios etológicos y de resiliencia que provocan en la salud humana.

La colecta de datos, se hizo con procesos, acciones y adecuada selección de especies a la problemática.

DISCUSIÓN Y RESULTADOS

Se observa que en la cercanía a la capital del estado de Jalisco, la Región Sur de Los Altos, contiene pujantes industrias agropecuarias productoras de carnes de pequeños y grandes rumiantes, de cerdo y aves, lácteos y huevo para plato, así como agricultura y tequila, que reflejan su accionar colocando a este Estado en el 4º lugar del PIB nacional y en los primeros lugares nacionales. Esa productividad y el crecimiento poblacional motivan que la apropiación de recursos naturales y materias primas, produzcan una considerable huella ecológica y presionen a la gran variedad de especies de flora y fauna que contienen sus microclimas, afectando a la misma naturaleza y al habitante de esta región.

La ubicación del Centro Universitario de Los Altos, institución de la Red de la Universidad de Guadalajara en Tepatitlán de Morelos, con su impartición de programas académicos acreditados y actualizados a competencias, representa una oportunidad inmejorable de recuperar las necesarias interrelaciones del ser humano con la naturaleza mediante la enseñanza no tradicional y apoyando el conocimiento y la autoestima puede generar una gran autoestima individual que superará con herramientas positivas cualquier reto. Mediante el fomento de utilizar los valores humanos y aunarlos al crecimiento morfológico, fisiológico, etológico y el proceso educativo.

Se determina que el crecimiento de infraestructura obliga a mantener continuamente los recursos naturales y llevar a cabo la conservación, promoción y desarrollo numérico de los elementos naturales contenidos, efectuando acciones para reforestar y dotar de imágenes acordes a determinados espacios.

CONCLUSIONES

Son necesarias las acciones para mantener sitios dignos a las actividades sustantivas a partir de los recursos naturales, promoviendo desarrollo sustentable de manera permanente, son la clave para generar un patrimonio cultural ecológico que beneficie a la triada naturaleza-humano-salud mental.

BIBLIOGRAFÍA

1. L. Enrique, Compilador. "Los problemas del conocimiento y la perspectiva ambiental del desarrollo". Siglo XXI editores, sa de cv. México, D. F. 2ª edición, 2000.
2. E. Exequiel, "De las chinampas a la Megalópolis. El Medio Ambiente en la Cuenca de México". Secretaría de Educación Pública, Fondo de Cultura Económica. 1ª Edición, 1990.
3. G. B. Fernando. "Ecología y Paisaje", 1983.
4. G. G. Fernando. "Centro Universitario de Los Altos de la Universidad de Guadalajara", 199
5. T. P. Luis, "La Locura Ecocida, Ecosofía psicoanalítica", Distribuciones Fontamara, S. A. 2010.
6. *B.R.Omar, R.* "Geomorfología del Estado de Jalisco
<http://siga.jalisco.gob.mx/moet/SubsistemaNatural/GeologiaYGeomorfologia/sintgeo.htm>
Rescatada el Jueves 19 de Febrero de 2015 | 12:35 horas.

CALIDAD SANITARIA DE ZARZAMORA DESHIDRATADA POR TECNOLOGÍA OSMÓTICA Y SOLAR.

^aJuan Carlos Zamudio Carreño, ^aBerenice Yahuaca Juárez, ^aConsuelo de Jesús Cortés Penagos.

^aFacultad de Químico Farmacobiología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
forijc@hotmail.com

RESUMEN

Michoacán ocupa el primer lugar en la producción anual de Zarzamora. Se estima que cerca del 40% de la producción se pierde por causas asociadas a factores climatológicos y malas prácticas poscosecha. Las opciones de deshidratación son 1. Deshidratación osmótica, la cual permite eliminar parcialmente el agua de los tejidos de los alimentos por inmersión en una solución hipertónica, sin dañar el alimento y afectar su calidad. El medio de deshidratación es generalmente una solución acuosa concentrada de un azúcar o una sal o mezclas de diversos azúcares y/o sales, y 2. Deshidratación solar. Se utilizó como material de estudio frutos de zarzamora (*Rubus fruticosus*), se caracterizó mediante un análisis químico proximal y análisis de firmeza, color y pH. La zarzamora se deshidrató osmóticamente en soluciones de sacarosa a 40, 50 y 60 °Brix, por 10 horas; posteriormente se deshidrató mediante técnica solar con promedios de temperatura de 60 a 70°C por intervalos de 4 y 5 horas todo por duplicado. La zarzamora deshidratada por solución osmótica presentó una pérdida de agua de 55.26% para las tres concentraciones de sacarosa. Los frutos deshidratados, posteriormente fueron expuestos a una deshidratación solar, con una temperatura promedio de 30°C. Posteriormente, se realizaron pruebas microbiológicas para la identificación de microorganismos indicadores como lo pueden ser: Bacterias Mesófilas Aerobias, Coliformes Totales, Hongos y Levaduras. Esta reducción en humedad no representó un deterioro en su calidad. La deshidratación osmótica y la deshidratación solar en conjunto representan una alternativa para la deshidratación de la zarzamora, conservando mayoritariamente sus características de calidad.

INTRODUCCIÓN

La Zarzamora (*Rubus fruticosus*), de la familia *Rosácea* es un fruto de tamaño pequeño, redondo o ligeramente alargado, compuesto por pequeños glóbulos que contienen en su interior una semilla diminuta. El árbol de Zarzamora presenta un fruto agregado, formado por un grupo de drupeólas que se desarrollan de la misma flor y éstas se unen entre sí para formar el fruto completo. Las drupeólas se encuentran adheridas al receptáculo, que es el centro de la fruta que consumimos. Crecen en forma arbustiva, rígidamente erectas, arqueadas o en forma rastrera, producen cañas bianuales; pero hay excepciones con cañas perennes. Se trata de una planta arbustiva espinosa que da unas frutillas rojas, que al madurar se tornan negras, con sabor dulce y aromático. Cada zarzamora está compuesta de numerosos frutos dispuestos alrededor de un núcleo fibroso. (SIAP, SAGARPA, 2014). Contiene en promedio un 80% de peso de agua, el resto está compuesto por azúcares, vitaminas, ácidos orgánicos, entre otros (Ortiz Calderón, et al. 2009). Es un fruto exótico agridulce, apreciado en todo el mundo para la preparación de jugos, mermeladas, dulces y mosto de frutas. El secado de los alimentos es el método más antiguo de conservación de los productos perecederos. El uso de la radiación solar para reducir el contenido de agua de un producto es un procedimiento artesanal de bajo costo (Juárez, 2006) Un producto deshidratado es el que no contiene más de 2.5% de agua (base seca), mientras que el alimento seco es todo producto alimenticio que ha sido expuesto a un proceso de eliminación del agua y contiene más de 2.5% de agua (base seca) (Sotomayor, 2013). Los alimentos deshidratados presentan las siguientes ventajas: conservan su valor nutricional, preservan sus características sensoriales, pueden ser consumidos en cualquier época del año gracias a su facilidad de almacenamiento y conservación a temperatura ambiente, presentan un periodo de conservación prolongado y se le permite comercializar a precios mayores (Sámano, 2011). La técnica de deshidratación por ósmosis permite la eliminación parcial del agua en un 50-60% lo cual permite obtener alimentos de humedad intermedia (Manivel, 2007).

OBJETIVO GENERAL

Realizar un proceso de deshidratación osmótica del fruto de Zarzamora (*Rubus fruticosus*) con posterior deshidratación solar.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material de Estudio. Zarzamora (*Rubus fruticosus*) de la variedad Tupi. Caracterización de la materia prima. Se le realizaron pruebas de Análisis Químico Proximal al fruto en fresco las cuales consistieron en Determinación de Humedad, Proteína, Fibra, Cenizas, Acidez, Sólidos solubles, pH, y Color empleando Colorímetro HunterLab. Proceso de Deshidratación Osmótica. A la fruta se le realizó un lavado con agua, posteriormente las zarzamoras se escaldaron en agua hirviendo (80-90°C) por 1 minuto para llevar a cabo la inactivación enzimática. Transcurrido ese tiempo el fruto fue retirado y colocados en un recipiente con agua fría para su enfriamiento. Se procedió a cortar el fruto en rodajas de tamaño aproximado de 0.4 a 0.5 cm de grueso, el largo dependió de la fruta, el cual oscilaba entre 2.6 ±2 mm de largo. Posteriormente los trozos de fruta fueron sumergidos en solución de Sacarosa a tres concentraciones (40, 50 y 60° Brix) y se inició el proceso de deshidratación osmótica a la condición establecida de proceso, 10 horas a temperatura ambiente. Proceso de Deshidratación Solar. Finalizado el proceso de deshidratación osmótica, la Zarzamora fue deshidratada solarmente utilizando un equipo de deshidratación en un intervalo de 5 a 6 horas. Determinación de la calidad microbiológica de la Zarzamora deshidratada. Se hizo la determinación de Microorganismos Indicadores: Bacterias Mesófilas Aerobias, Coliformes Totales, Hongos y Levaduras. Se prepararon los siguientes medios: Agar Cuenta Estándar para Bacterias Mesófilas Aerobias, Agar Papa Dextrosa para Hongos y Levaduras, y Agar Rojo Bilis para Coliformes Totales. Se preparó la muestra fresca y molida adicionada con Diluyente de Peptona en siete diluciones sucesivas con una concentración inicial de 0.01 para inocular los medios y en el transcurso de 5 días se reportaron los crecimientos en placas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se presentan los resultados del análisis químico proximal del fruto de zarzamora en fresco donde se aprecia que el fruto fresco tiene un alto contenido de agua lo cual lo hace un alimento altamente perecedero. La coloración medida con el Colorímetro HunterLab de dicho fruto se da debido a los Flavonoides; dichos flavonoides una vez al consumirse se convierten en Vitamina A y Vitamina C. El contenido de fibra lo hace un alimento bueno para la digestión y efectos terapéuticos.

Análisis Químico Proximal	Zarzamora en fresco (100 g.)
Humedad (g%)	74.26
Proteína (g)	1.31
Lípidos (g)	0.14
Fibra Cruda (g)	18.58
Carbohidratos (g.)	5.29
Cenizas (g)	0.42
Color °HUE	331° Morado/Violeta Oscuro
Acidez (mL)	1.39
pH	3.6

Tabla 1. Análisis Químico Proximal en Zarzamora Fresca.

Las técnicas establecidas para preservar la calidad sanitaria evaluada mediante las pruebas de microorganismos indicadores reportaron la baja presencia de estos grupos de microorganismos, (Tabla 2). Las Bacterias Mesófilas Aerobias, Coliformes totales, Hongos y Levaduras, se reportaron por debajo de las 10 UFC/g por lo cual se asevera que el fruto deshidratador aún con un promedio del 55% de humedad presenta una cantidad nula de microorganismos ya que las Normas 113, 111 y 092 indican que de no observarse crecimiento en las muestras se informa “no desarrollo de microorganismos por ml” y/o <10 UFC/g.

Microorganismos	(log UFC/g)
Bacterias Mesófilas Aerobias.	<10
Coliformes.	<10
Hongos.	<10

Levaduras.

<10

Tabla 2. Calidad Sanitaria de Zarzamora deshidratada.

La técnica de deshidratación mediante la metodología establecida, permitió la disminución de Humedad en promedio de 55.26% (Tabla 3), sin embargo la Norma Codex Alimentaria indica que un fruto deshidratado debe contener 20% en Humedad para considerarse un alimento seguro por lo que se establecerán nuevas condiciones de proceso para aumentar en mayor grado la pérdida de Humedad del fruto.

CORRIDA	°Brix	HORAS	% HUMEDAD
1	40	10 Osmótica 4 Solar	56.52
2	50		56.52
3	55		55.41
4	60		54.51
5	40	10 Osmótica 5 Solar	55.55
6	50		55.00
7	55		54.41
8	60		54.16

Tabla 3. Humedad del fruto Deshidratado.

CONCLUSIONES

La Deshidratación Osmótica complementada con deshidratación solar es un procedimiento útil para el secado de Zarzamora dando un promedio de pérdida de humedad de 55.26%. Se implementaran parámetros para reducir en mayor cantidad la humedad en el fruto deshidratado. Las técnicas de sanitización utilizadas en el proceso de deshidratación osmótica complementado con deshidratación solar reducen significativamente la presencia de microorganismos indicadores de contaminación o manejo sanitario inadecuado.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Juárez H.E. Tesis (2006) "Uso de la Energía Solar en Deshidratación de Frutas y Verduras" Facultad de Ing. Química, Universidad Autónoma de Puebla.
2. Manivel C. R., Tesis (2007) "Elaboración de pera cristalizada mediante deshidratación Osmótica". Facultad de Químico Farmacobiología, U.M.S.N.H.
3. Ortiz C. L., Tesis (2009) "Efecto de la Localidad y Estado de Madurez sobre Propiedades Físicoquímicas y Texturales de Zarzamora Variedad Tupi (*Rubus eubates*)". Ingeniería Bioquímica, Instituto Tecnológico de Celaya.
4. Sámano D. E., Tesis (2011) "Optimización de un Deshidratador Solar como Tecnología para la Deshidratación de Frutas y Hortalizas". Facultad de Químico Farmacobiología, U.M.S.N.H.
5. Sotomayor A. C., Tesis (2013) "Deshidratación osmótica a base de Sacarosa seguida de una Deshidratación solar en la fruta Carambola (*Averrhoa carambola L*)". Facultad de Químico Farmacobiología, U.M.S.N.H.
5. W4.SIAP.SAGARPA.gob.mx/AppEstado/monografías/Frutales/Zarzamora.html. Consultado el 23 de Marzo del 2014.
6. Norma Oficial Mexicana 092-SSA1-1994. Consultado el 25 de Marzo de 2015.
7. Norma Oficial Mexicana 111-SSA1-1994. Consultado el 25 de Marzo del 2015.
8. Norma Oficial Mexicana 113-SSA1-1994. Consultado el 25 de Marzo de 2015.

FIBRA DIETÉTICA Y COMPUESTOS ANTIOXIDANTES EN CULTIVOS DE GUAYABA

C. de J. Cortés-Penagos^a, T. Sánchez-Rico^a, J.S. Padilla-Ramírez^b, N. E. Maldonado-Sierra^a, P.A. García-Saucedo^c, B. Yahuaca-Juárez^a.

^aFacultad de Químico Farmacobiología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH),
ccpenagos@yahoo.com

^bInstituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Aguascalientes

^cFacultad de Agrobiología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH)

RESUMEN

En las últimas décadas ha cobrado importancia el estudio de alimentos que proporcionen beneficios adicionales a la salud. Por otra parte, el desarrollo de nuevos materiales frutícolas como las guayabas de pulpa rosa puede contribuir en el contenido de compuestos con actividad funcional. El objetivo del presente trabajo consistió en la cuantificación de Fibra Dietética y el contenido de Compuestos Antioxidantes de cinco materiales, los cuales fueron SI, SS, C87, Calvillo S-XXI e HidroZac, éstos dos últimos como variedades registradas. El contenido de Fibra Insoluble para los materiales oscilaron entre $33.4 \pm 0.1\%$ y $45.41 \pm 0.48\%$, en lo que respecta a Fibra Soluble, los porcentajes fueron $8.93 \pm 0.96\%$ hasta $12.75 \pm 0.34\%$, obteniendo para la variedad Calvillo S-XXI la concentración superior de Fibra Dietética con un total de $56.21 \pm 0.64\%$. Los Compuestos Antioxidantes analizados fueron Ácido Ascórbico (AOAC;1988; mét. 43.056), polifenoles extraíbles (Singleton & Rossi, 1965) y licopeno (Fish y col. 2002). El material con mayor concentración de ácido ascórbico y polifenoles fue SI reportando 459.83 ± 18.48 mg/100g y 13934.9 ± 177.6 mg EAG/100g peso seco, respectivamente. El contenido superior de licopeno lo registró el material C87 con una concentración de 4.38 ± 0.06 mg/100g. La generación de nuevos materiales de guayaba de pulpa rosa considerando su potencial como alimentos funcionales contribuirá a la salud humana y a la comercialización del cultivo.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de guayaba en México ocupa el tercer lugar mundial, sin embargo, su producción está limitada al tipo media china por lo cual el INIFAP, ha generado nuevos Genotipos con ventajas competitivas, incluidos frutos de pulpa de color rosa, buscando la sustentabilidad y colocación en el mercado internacional. Existen metabolitos secundarios presentes en los frutos son los compuestos carotenoides como el licopeno que proporcionan a los frutos y verduras colores anaranjados y rojizos; presenta una estructura química propicia para captar, retrasar o eliminar los radicales libres y actuar como antioxidante. La fibra vegetal de los frutos promueve efectos fisiológicos benéficos al ser humano tales como poder laxativo, disminución de los niveles de colesterol en sangre, glucosa sanguínea, disminuye riesgos de ataque al corazón e incidencia de cáncer de colon. La guayaba es fuente importante de fibra y compuestos antioxidantes en variadas tonalidades de pulpa presentando un gran potencial para su cultivo y comercialización.

TEORÍA

Un antioxidante puede ser cualquier sustancia que es capaz de inhibir o retrasar significativamente la oxidación en cadena de dicho sustrato, entendiéndose como sustrato como cualquier sustancia biológica como proteínas, carbohidratos, lípidos y ADN (Tirzitis & Bartosz, 2010; Martínez, 2008; Halliwell, 2007; Bravo, 1998). Por su estructura frenan la formación de RL, previenen o son utilizadas en el tratamiento de enfermedades causadas por estrés oxidativo (Birute et al., 2009). Los radicales antioxidantes son estables por su resonancia y no promueven la oxidación como lo hacen los radicales de los ácidos grasos (Badui, 2006). Los mecanismos por los cuales pueden actuar son: (i) removiendo la concentración de oxígeno molecular, (ii) quelación de los metales catalíticos que participan en producción de radicales libres, (iii) supresión de las especies reactivas de oxígeno como superóxido y peróxido de hidrógeno, mediante la inhibición de enzimas, (iv) reducción inicial de los radicales libres como especies hidroxil y peroxil, (v) rompimiento de la cadena de reacción, (vi) enfriamiento del oxígeno singlete (Tachakittirungrod, Okonogi, & Chowwanapoonpohn, 2007; Hassimotto, Genovese, & Lajolo, 2005; Gutteridge, 1995). Pueden ser clasificados en base a su origen, es decir endógenos, lo que son

sintetizados por los propios organismos como Superóxido dismutasa SDS (dependientes de Cu, Zn, Mn), glutatión GSH (Se) y los exógenos, adquiridos a través de la dieta como polifenoles, Vitamina A, C, E, licopeno, (Halliwell, 2007; Gutteridge, 1995).

Dentro de los compuestos bioactivos presentes en los frutos encontramos la fibra dietética, que ha demostrado en los últimos años proporcionar beneficios adicionales a la salud. Existen varias definiciones relacionadas con los compuestos que la forman, sin embargo, la Asociación Americana de Química del Cereal la define como la parte comestible de vegetales y carbohidratos análogos que son resistente a la absorción y digestión en el intestino delgado humano, con una parcial o completa fermentación en el intestino grueso, incluye polisacáridos, oligosacáridos, lignina y sustancias asociadas a los vegetales. (DeVries, 2004). La Fibra soluble son aquellas estructuras fermentadas por la microflora colónica humana generándose ácidos grasos de cadena corta que favorecen la absorción de agua y sodio, además, al ser hidratada forma un gel que retrasa tanto el vaciamiento gástrico como el tránsito intestinal (Birute, *et al.*, 2009; Martínez, 2008; Chambilla-Mamani & Matos-Chamorro, 2010). Comprende sustancias como pectina β -glucanos (Martínez, 2008; Gil, 2010). Por otra parte, la fibra insoluble en los alimentos de origen vegetal promueven la masticación, salivación, excreción de jugos digestivos, favorece el bolo alimenticio y el aumento del volumen fecal (Birute, *et al.*, 2009). Es fermentada mínimamente en el colon por lo cual son excretadas casi íntegramente, retienen poco el agua y no se digiere en el intestino delgado. En éste grupo encontramos la celulosa, algunos tipos de hemicelulosa y lignina (Martínez, 2008; Gil, 2010). La celulosa constituye una red tridimensional de microfibrillas unidas por puentes de hidrógeno, rodeada por polisacáridos (hemicelulosa y pectinas), proteínas y fenoles que constituyen la pared celular (Azcon-Bieto y Talón, 2008). La hemicelulosa se hidroliza al madurar produciéndose pentosas, manosas y ácidos urónicos (Gil, 2010), está constituida por una cadena lineal y cadenas laterales cortas (Azcon-Bieto y Talón, 2008). La lignina es la fibra más hidrófoba, no es un carbohidrato porque está formado a partir de unidades de fenilpropano formando una matriz de alcoholes condensados, por lo cual, se puede clasificar dentro de los compuestos fenólicos (Chambilla-Mamani & Matos-Chamorro, 2010).

La fibra dietética, presenta un efecto laxante se da a partir del incremento del volumen fecal, la reducción del tránsito intestinal incrementando la frecuencia de la defecación, reducción de la dureza de las heces, por lo que reduce los síntomas de estreñimiento crónico (Markland *et al.*, 2011). Disminuye el pH colónico aumentando la microflora intestinal, hecho que se considera benéfico. La recomendación sobre el consumo de la fibra es 20-35 g ó de 13 a 20 g de FD por cada 1000 Kcal de ingesta (Birute, *et al.*, 2009; Gómez, *et al.*, 2002). Reducen el riesgo de enfermedades del corazón mediante la modificación de factores de riesgo como lípidos en suero. Las dietas altas en fibra son favorecen al control de peso y protección contra el desarrollo de diabetes (Kendall, Esfahani, & Jenkins, 2010; DeVries, 2004)

PARTE EXPERIMENTAL

El Banco de germoplasma que alberga los materiales se localiza en el Área Experimental “Los Cañones” ubicada en el municipio de Huanusco, Zacatecas, México con las coordenadas 21°44.7' LN; 102°58.0' LO y 1508 msnm.

Los materiales utilizados fueron los genotipos C87, SI, SS y las nuevas variedades HidroZac y Calvillo S-XXI. Los frutos fueron colectados en madurez fisiológica o estado sazón (FMX-FF-040-SCFI-2002) y fueron almacenados hasta presentar madurez de consumo en el laboratorio, bajo condiciones establecidas, es decir, a 85%±5 HR y a temperatura de 20 °C±2°C.

Metodología

-Determinación de Ácido Ascórbico.

Se utilizó la metodología aprobada por la (AOAC, 1988) (método. 43.056), la cual consistió en homogenizar 5g de muestra con solución de extracción, posteriormente se centrifugó a 5 000 rpm por 15 min. El punto final de la titulación se consideró cuando la solución viró a rosa pálido persistente por 15 segundos.

-Extracción de compuestos.

Se utilizó el método descrito por Pérez-Jiménez y col. (2008) con modificaciones, el cual consistió en dos extracciones, la primera con metanol/agua (50:50) acidificado (pH 2), posteriormente se agitó y centrifugó a 5000 rpm, la segunda extracción se llevó a cabo con acetona/agua (70:30), ambos sobrenadantes fueron juntados y aforados a 100 ml. Se almacenó a -20 °C hasta su utilización.

-Polifenoles Extraíbles

De la solución de extracción, se tomaron 100 µL y se le adicionaron 2000 µL de agua destilada, 500 µL del Reactivo Folín-Ciocateau, 2000 µL de Carbonato de Sodio al 20 % y posteriormente se aforó a 10 mL y se dejó reposar por 2hr en obscuridad. La absorbancia se leyó a 765 nm en un Espectrofotómetro UV/Vis Smartec Plus marca Bio-Rad. La curva de calibración se realizó con ácido gálico. Los resultados fueron reportados como mg AG/100g parte comestible (Singleton & Rossi, 1965).

-Licopeno

Se pesó 0.5 g la muestra y posteriormente se adicionó 5 ml de Butil-Hidroxi-Tolueno: acetona al 0.05%, 5 ml de etanol, 10 ml de n-hexano. Se agitó por 15 min a 180 rpm a 25 °C. Se adicionó 3 ml de agua desionizada y nuevamente se agitó por 15 min a 180 rpm a 25 °C. Reposó por 5 min a 25 °C. La absorbancia fue leída tomando la fase superior a 503 nm. Se utilizó hexano como blanco (Fish, Perkins-Veazie, & Collins, 2002). Se utilizó la Ecuación 1 para los cálculos correspondientes.

Ecuación 1

$$\frac{A503 * 31.2}{g \text{ muestra}} = mg \text{ licopeno}/100g$$

-Fibra Dietética Total

Se llevó a cabo un análisis enzimático-gravimétrico el cual consistió en pesar 1 g de la harina de guayaba y someter a la hidrólisis enzimática con amilasa, proteasa y amilogucosidasa, las cuales se les proporcionó condiciones de temperatura y pH requeridas, para ello se utilizó el Baño María marca FELISA termo-baño, modelo: FE-375. Posteriormente se filtró la FI con lavados de alcohol etílico al 78%, 95% y acetona. La FS fue precipitada con cuatro volúmenes de alcohol etílico al 95% a 70 °C, filtrada, lavada, secada a peso constante y pesada. Se utilizó un Kit de fibra dietética total SIGMA®. Para la corrección de cenizas se utilizó el método 44.19 (AACC, 2000) utilizando una Mufla marca FELISA modelo FE-260, así como para proteína (AACC, 2000). La Ecuación 2 se utilizó para efectuar los cálculos.

Ecuación 2

$$FD = \frac{W \text{ residuo} - (W \text{ cenizas} - W \text{ proteína})}{W \text{ muestra}}$$

Donde:

W residuo: papel filtro seco con muestra – papel filtro W constante.

W proteína: peso de la proteína

W cenizas: peso de cenizas

W muestra: peso inicial de la muestra

FD: Fibra Dietaria.

El Diseño Experimental fue completamente al azar con tres repeticiones. Los Tratamientos fueron los genotipos y variedades. Dentro de las Variables evaluadas fueron: ácido ascórbico, polifenoles, licopeno y Fibra Dietética (Fibra Soluble y Fibra Insoluble),

A las variables evaluadas se les realizó un análisis de varianza (ANOVA) con prueba de Tuckey-Kramer a $P \leq 0.05$, utilizando el software JMP 6.

Los resultados generados de los compuestos antioxidantes analizados se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 1. Compuestos antioxidantes

Genotipo	Ácido Ascórbico mg/100g muestra	* Polifenoles mgEAG/100g	Licopeno mg/100g
Calvillo S-XXI	162.43±2.66 ^c	8937.8±217.12 ^c	0.14±0.05 ^e
C87	61.25±11.5 ^d	8198.4±181.89 ^d	4.38±0.06 ^a
HidroZac	244.81±15.1 ^b	11419.3±176.29 ^b	0.33±0.04 ^d

SI	459.83±18.48 ^a	13934.9±177.62 ^a	1.9±0.13 ^c
SS	271.43±20.34 ^b	8821.6±198.7 ^c	2.03±0.03 ^b

± Desviación Estándar. Literales iguales en las columnas indican que no hay diferencia estadística (P<0.05).

*Cuantificado en peso seco de la muestra.

El genotipo SI, registró la concentración superior de AA, (459.83±18.48^a), mientras que el genotipo C87 registró el menor contenido (61.25±11.5^d). El contenido de compuestos polifenólicos extraíbles fue de 8198.4 ± 181.89 mgEAG/100g a 13934.9±177.62 mgEAG/100g en peso seco. La mayoría de los materiales fueron estadísticamente diferentes (P<0.05). El material que registró el menor contenido de PE fue C87 (Tabla 1). No se estableció una relación entre el color de pulpa y el contenido de PE debido a que la variedad Calvillo S-XXI de pulpa crema y el genotipo SS de pulpa rosa son estadísticamente iguales (P<0.05), a pesar de que SS tiene el valor más alto en la coordenada a (35.20±0.69), mientras que Calvillo S-XXI solamente registró 0.65±1.21.

La mayor concentración de licopeno fue el genotipo C87 (4.38 ±0.06 mg/100g), sin embargo, es el genotipo con menor concentración de AA (Tabla 1). La variedad HidroZac y SS, son estadísticamente iguales (P<0.05), sus concentraciones se no superan 1mg/100g.

Tabla 2. Fibra Dietética Total y sus fracciones, Soluble e Insoluble.

Genotipo	FI	FS	FDT
	(%)		
Calvillo S-XXI	45.41±0.48 ^a	10.8±0.16 ^b	56.21±0.64 ^a
C 87	36.88±0.3 ^b	12.75±0.34 ^a	49.63±0.52 ^b
HidroZac	34.73±0.65 ^d	13.57±0.3 ^a	46.97±0.93 ^c
SI	34.41±0.47 ^c	8.93±0.96 ^c	46.32±1.04 ^c
SS	33.4±0.1 ^{cd}	11.91±1.09 ^{ab}	43.66±1.21 ^d

± Desviación Estándar. Literales iguales en las columnas indican que no hay diferencia estadística (P<0.05).

CONCLUSIONES

Es necesario tomar en cuenta parámetros nutricionales que aporten beneficios adicionales a la salud para el desarrollo de nuevas variedades de guayaba en México. Los materiales estudiados, la variedad Calvillo S-XXI, e HidroZac y los genotipos SS, SI y C87 registraron valores superiores en la mayoría de los parámetros cuantificados con referencia a guayabas establecidas en el mercado internacional, siendo más favorecidos los genotipos SS, SI y la variedad HidroZac.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. G. Evans, "Perspectiva on the development of high-toughness ceramics", J. Am. Ceram. Soc., Vol. 73, 2, 1990, pp. 187-206.
2. T. Kreis, "Speckle Metrology," in *Holographic Interferometry* (Akademie Verlag Inc., New York, NY, 1996), Chapter 4, pp. 125-149.

EXTRACCIÓN DE STEVIÓSIDO Y REBAUDIÓSIDO A POR MÉTODOS NO CONVENCIONALES

Ada María Ríos Cortés^a, Victor Gabriel Canuas Landero^b, Claudia Fernanda Romero Medina^b, Sandra Luz

RESUMEN

El esteviósido y rebaudiósido A, son glucósidos diterpenoides extraídos de *Stevia rebaudiana* (Bertoni), los cuales cada día cobran mayor interés ya que poseen un poder edulcorante 300 veces mayor que el azúcar, son no calóricos y tienen propiedades medicinales. La extracción de dichos compuestos hasta el momento se ha realizado únicamente por métodos convencionales. No obstante; los métodos no convencionales han ganado mayor popularidad en los procesos industriales a causa de los buenos rendimientos que generan, así como la reducción en la velocidad de extracción y el uso de disolventes, lo que hace un proceso ecoamigable. Por todo esto, en el presente trabajo se planteó la extracción de dichos compuestos combinando dos métodos no convencionales. En este caso se empleó una extracción enzimática y una extracción por ultrasonificación, de igual forma se aplicó una extracción enzimática asistida por ultrasonido. La cuantificación se realizó por HPLC logrando la separación e identificación del esteviósido a un tiempo de 5.6 min. y del rebaudiósido a un tiempo de 5.35 min. Los métodos aplicados favorecieron la extracción del rebaudiósido A, el cual posee mayor interés comercial debido al sabor y potencia. Los métodos no convencionales realizados fueron efectivos en la extracción de los glucósidos ya que reducen el tiempo del proceso y el uso de disolventes.

INTRODUCCIÓN

La *Stevia rebaudiana* Bertoni es una planta nativa de la región Amambay en Paraguay, ha sido utilizada como endulzante natural, así como por sus efectos benéficos sobre la salud. Las hojas de la planta son 30 veces más dulces que el azúcar y el extracto hasta 300 veces. El extracto está mayormente compuesto por glucósidos derivados del esteviol como el esteviósido y rebaudiósido "A", es éste último el que posee una capacidad edulcorante de hasta 450 veces más que el azúcar (1). Estos compuestos edulcorantes se encuentran en las hojas de la planta, en las cuales, el esteviósido se encuentra como componente dulce mayoritario llegando hasta un 20% del total de la hoja. El rebaudiósido A, por otra parte, ocupa un máximo del 4% en el total de la hoja, sin embargo, el rebaudiósido A está libre de sabores amargos o metálicos característicos de los edulcorantes sintéticos. Otra característica de importancia es su estabilidad, esto debido a que resisten temperaturas de hasta 140 °C y soportan un amplio rango de pH, el cual va desde el pH 2 hasta el pH 10. Es debido a todo ello que estos edulcorantes naturales tienen un importante papel en la industria alimenticia.

TEORÍA

Los métodos de extracción para obtener esteviósido y rebaudiósido A han estado en constante avance, principalmente aquellos en los que se utilizan nuevas tecnologías, a los cuales se les denominan métodos no convencionales (2). Los métodos convencionales de extracción de acuerdo a Puri *et al.* son (2) aquellos en los que se utilizan solventes con calentamiento; una extracción acuosa acoplada con agentes decolorantes; cromatografía de absorción, entre otros. En general, se ha descrito que los procesos convencionales que han mostrado los mejores rendimientos tienen cuatro etapas: extracción solvente (acuoso u orgánico), un intercambio iónico, precipitación o coagulación después del filtrado y por último la cristalización y el secado (2). Por otro lado, el uso de nuevas tecnologías aplicadas a la extracción de los glucósidos de esteviol buscan como objetivo la reducción del tiempo de extracción, así como la reducción de gastos en los solventes. Ejemplo de lo anterior fue el uso de fluidos supercríticos utilizando CO₂ y disolventes como etanol, con los cuales se reportaron mejores rendimientos en comparación al uso del sistema Soxhlet como método convencional (3), sin embargo, el uso de fluidos supercríticos implica el uso de instrumentaria de alto costo como también la presencia de cierto riesgo en el proceso. Otro método no convencional utiliza las microondas para disminuir de manera importante el tiempo (4), con este método se logró una mayor extracción que el método con Soxhlet al igual que el método no convencional con agua a alta temperatura y presión. Dado este comportamiento en las extracciones utilizando radiación se empleó el uso de ultrasonido, con el cual se exponía a las hojas secas de la

planta a una rápida rehidratación y a una destrucción de la pared celular (5), esta técnica de extracción claramente mejoró los rendimientos del esteviósido y rebaudiósido A en comparación al método convencional (6), a la par que el uso de instrumentaria para ultrasonido es de menor costo en comparación a los métodos no convencionales previamente descritos.

El uso de agentes biológicos, tales como enzimas, para la extracción de estos compuestos dulces obtuvo un rendimiento comparable con los mejores métodos convencionales, sin embargo, en el trabajo donde se realizó este experimento no se hizo comparación con ningún otro método de extracción (7). Las enzimas utilizadas en dicho experimento fueron celulasa, hemicelulasa y pectinasa, todas a concentraciones distintas. El uso de enzimas asociado a ultrasonido como asistente para la extracción de compuestos de interés en vegetales demostró una recuperación de dichos compuestos por encima de cualquier método (8-11). A diferencia de lo que se creía anteriormente, el uso de ultrasonido a una frecuencia y potencia adecuada favorece la actividad enzimática, encontrándose un mejoramiento hasta del 23% para el caso de la celulasa (12). El uso de este método, extracción enzimática asistida por ultrasonido (EEAU), no se ha implementado para la obtención de esteviósido y rebaudiósido A, por lo que el principal objetivo fue la aplicación de esta técnica a *S. rebaudiana*.

PARTE EXPERIMENTAL

Se utilizaron hojas de Stevia rebaudiana secas (humedad no mayor al 3%) de la variedad criolla, posteriormente fueron pulverizadas y tamizadas para obtener un tamaño de partícula uniforme.

Para la extracción convencional con equipo Soxhlet se utilizó 5 gramos de pulverizado de hoja el cual fue posteriormente extraído con metanol en una proporción de 1:10 (w/v) y una temperatura de 50°C por 2 horas (equivalente a 4 reflujos).

La extracción asistida por ultrasonido se utilizó el pulverizado de hoja, 2.5 g de hoja, se disolvió en una mezcla de 12.5 ml de una solución buffer de acetato de sodio (0.02 M, pH 5) y 25 ml de metanol. La mezcla fue expuesta a sonicación en un baño de ultrasonido de 44 kHz por 60 min a temperatura ambiente.

En el caso de la extracción enzimática se pesaron 2.5 g de hoja pulverizada en un matraz Erlenmeyer y se disolvieron en una mezcla de 12.5 ml de solución buffer de acetato de sodio (0.02 M, pH 5) y 25 ml de metanol. Por otra parte se realizó una mezcla de tres enzimas: celulasa, hemicelulasa y pectinasa para obtener una concentración de 0.2 g/ml de cada enzima. La mezcla del extracto fue tratada con dos cantidades diferentes de enzimas, al 0.5% y al 3.0% con respecto

al peso total del material vegetal, posteriormente la mezcla se trató a diferentes temperaturas, 50, 55 y 60°C por 60 min.

Para la extracción enzimática asistida por ultrasonido (EEAU) se pesaron 2.5 g de pulverizado de hoja y se disolvieron en 12.5 ml de solución buffer de acetato de sodio y 25 ml de metanol. Se agregó 0.5% de enzimas, la mezcla se expuso a sonicación en un baño de ultrasonido por 1 hora.

El método de clarificación de los extractos se realizó mediante un aclaramiento con carbón activado (1 g de carbón por cada 50 ml de extracto), después un proceso de filtrado junto con enjuagues de metanol. Por último una concentración del extracto hasta obtención de polvo mediante el uso de rotaevaporador acoplado a vacío.

Para la determinación de esteviósido y rebaudiósido "A" se ocupó el método analítico de HPLC con equipo HP 1100 (Módulo de separación DAD) y un sistema cuantificador (Agilent OpenLAB CDS Chem Station 490 Micro GC Driver v1.9.0. Software). Se utilizó una columna LiChrospher® 100, 250-4 mm RP-18c (5 µm, Agilent) a 20°C. Las muestras (10 µL) fueron eluidas a un flujo de 0.7 mL/min, utilizando una fase móvil isocrática de agua (H₂O) y acetonitrilo (CH₃CN) relación 65:35 respectivamente. Los compuestos fueron detectados a 210 nm utilizando un detector de arreglo de diodos (DAD Agilent HP 1100 G1312A). La cuantificación de esteviósido y rebaudiósido "A" se realizó por el método estándar externo, por lo que se construyeron curvas de calibración con soluciones estándar de 0.01, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mg/mL en agua con los compuestos puros de Esteviósido (TCI) rebaudiósido "A" (TCI).

Para el análisis de datos se realizó un ANOVA ($p < 0.05$) utilizando el software Minitab® 17.1.0.0

CONCLUSIONES

El método de extracción enzimática obtuvo los mayores rendimientos, siendo de 20.56 ± 2.21 y 68.40 ± 7.88 mg/g de hoja para esteviósido y rebaudiósido "A" respectivamente. Sin embargo, el método propuesto en el

presente trabajo, EEAU, fue el método con los menores rendimientos (estevisido: 16.19 ± 2.73 y rebaudiósido A: 56.72 ± 9.40), incluso menores a los encontrados por el método convencional. El método con ultrasonido demostró ser mejor que el método convencional con Soxhlet, pero no mejor que el método enzimático, esto de acuerdo a lo presentado en la tabla 1, donde se muestran todos los resultados de los métodos desarrollados en el presente estudio.

Método de extracción	Glucósidos totales (mg/g de hoja)	Estevisido (mg/g de hoja)	Rebaudiósido A (mg/g de hoja)
Enzimático 0.5%	88.96 ± 10.08	$20.56 \pm 2.21_a$	$68.40 \pm 7.88_a$
Ultrasonido	78.12 ± 4.64	$16.81 \pm 1.09_b$	$61.31 \pm 3.55_b$
Soxhlet	76.97 ± 0.68	$17.39 \pm 0.40_c$	$59.58 \pm 0.30_c$
EEAU	72.91 ± 12.13	$16.19 \pm 2.73_d$	$56.72 \pm 9.40_d$

Tabla 1. Rendimiento de estevisido y rebaudiósido “A” por los distintos métodos empleados.

El efecto de la disminución en la los glucósidos de esteviol observada en el método EEAU puede ser debido a un tiempo mayor de exposición a radiación ultrasónica según lo sugerido por Subhedar *et al.* (12) donde menciona que una exposición por arriba de los 50 minutos decrece significativamente el rendimiento de la enzima, encontrando cantidades inclusive por debajo de un tratamiento enzimático simple.

El método de extracción ultrasónica resultó con menores rendimientos en comparación al método enzimático debido a la temperatura, según distintos autores (6, 13) mencionan que la extracción de estevisido y rebaudiósido A se ve favorecida al aumentar la temperatura, de forma que este factor tiene efecto importante en la extracción.

La extracción de rebaudiósido “A” fue en promedio 77.4% mayor en comparación con el estevisido, esto observado en todos los métodos de extracción realizados en el presente estudio. Este fenómeno fue debido a la variedad de la planta (criolla) tanto como por el uso de metanol.

La temperatura tiene una importante influencia en la actividad enzimática ($p < 0.05$) encontrándose que a los 50°C se obtuvieron los mejores rendimientos tanto de estevisido (20.56 ± 2.21 mg/g de hoja) como de rebaudiósido “A” (68.40 ± 7.88 mg/g de hoja). Conforme se incrementó la temperatura, el rendimiento disminuía gradualmente para el caso del uso de celulasa, hemicelulasa y pectinasa, observándose el menor rendimiento a la temperatura de 60°C (19.25 ± 0.78 mg/g de hoja para estevisido y 61.97 ± 2.88 mg/g de hoja para rebaudiósido “A”), sin embargo, dichos rendimientos son mayores a los blancos (Tablas 2 y 3). Estos resultados concuerdan con los encontrados por Puri *et al.* (7) debido que a los 50°C existe una sinergia entre la mezcla enzimática y la posible degradación de la pared celular, logrando así rendimientos mayores que a temperaturas cercanas a los 60°C . Se menciona que la pectinasa y celulasa tienen un descenso en el rendimiento sobrepasando los 60°C , siendo similar al observado en este trabajo, esto es debido a la desnaturalización de la proteína y evidente inactivación de la misma, sin embargo, la hemicelulasa tiene su mayor rendimiento a los 60°C .

Para el caso de la concentración de enzima, el uso de 0.5% de la mezcla de enzimas resultó la mejor ya que se obtuvieron los mejores rendimientos (68.40 ± 7.88 mg/g de hoja) en comparación por los observados con el uso de enzimas al 3% (66.22 ± 2.65 mg/g de hoja). Esto es benéfico debido a que se puede obtener mayores concentraciones de glucósidos de esteviol con un menor gasto de enzimas.

Temperatura (°C)	Rendimiento (mg/g de hoja seca)		
	Blanco	0.50%	3.00%
50	12.38 ± 0.12 _a	20.56 ± 2.21 _c	20.32 ± 1.18 _c
55	16.01 ± 0.04 _b	19.81 ± 1.78 _d	19.52 ± 1.06 _{d,f}
60	15.93 ± 0.27 _b	17.92 ± 0.70 _e	19.25 ± 0.78 _f

Tabla 2. Rendimiento de esteviósido por el método enzimático.

Temperatura (°C)	Rendimiento (mg/g de hoja seca)		
	Blanco	0.50%	3.00%
50	43.15 ± 0.10 _a	68.40 ± 7.88 _c	67.77 ± 3.41 _c
55	53.59 ± 0.15 _b	68.32 ± 5.29 _c	66.22 ± 2.65 _e
60	53.14 ± 0.19 _b	61.97 ± 2.88 _d	65.03 ± 2.10 _f

Tabla 3. Rendimiento de rebaudiósido A por el método enzimático.

El sistema de gradientes usado en el presente trabajo logró una adecuada separación de los glucósidos de interés (Figura 1), con un tiempo de retención de 5.201 min para el esteviósido y 4.928 min para rebaudiósido "A". Con reproducibilidad en los diferentes métodos de extracción (Figura 2).

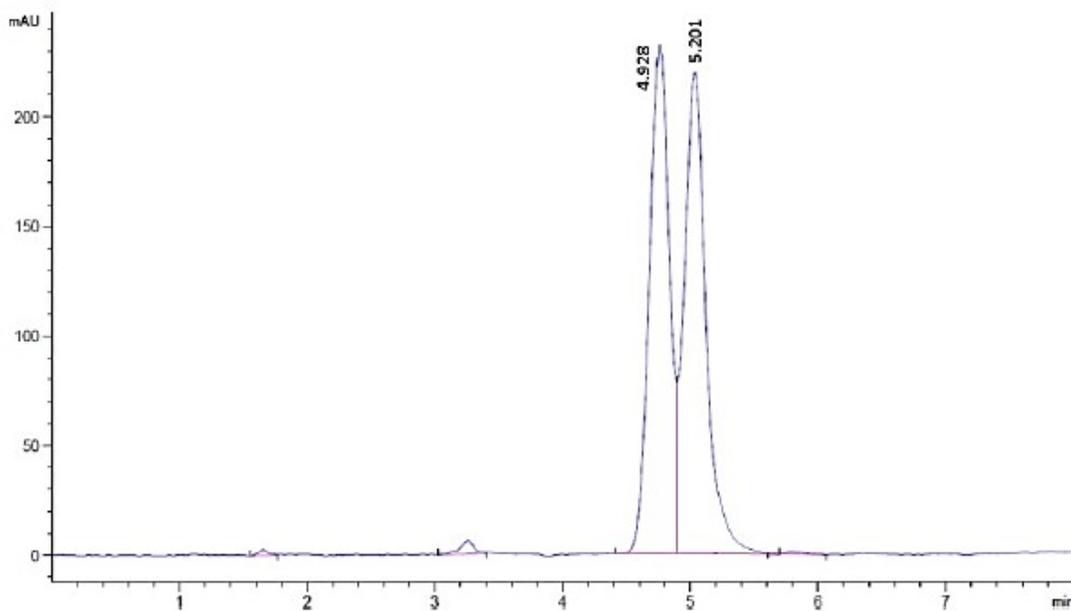


Figura 1. Cromatograma de la mezcla de esteviósido y rebaudiósido "A".

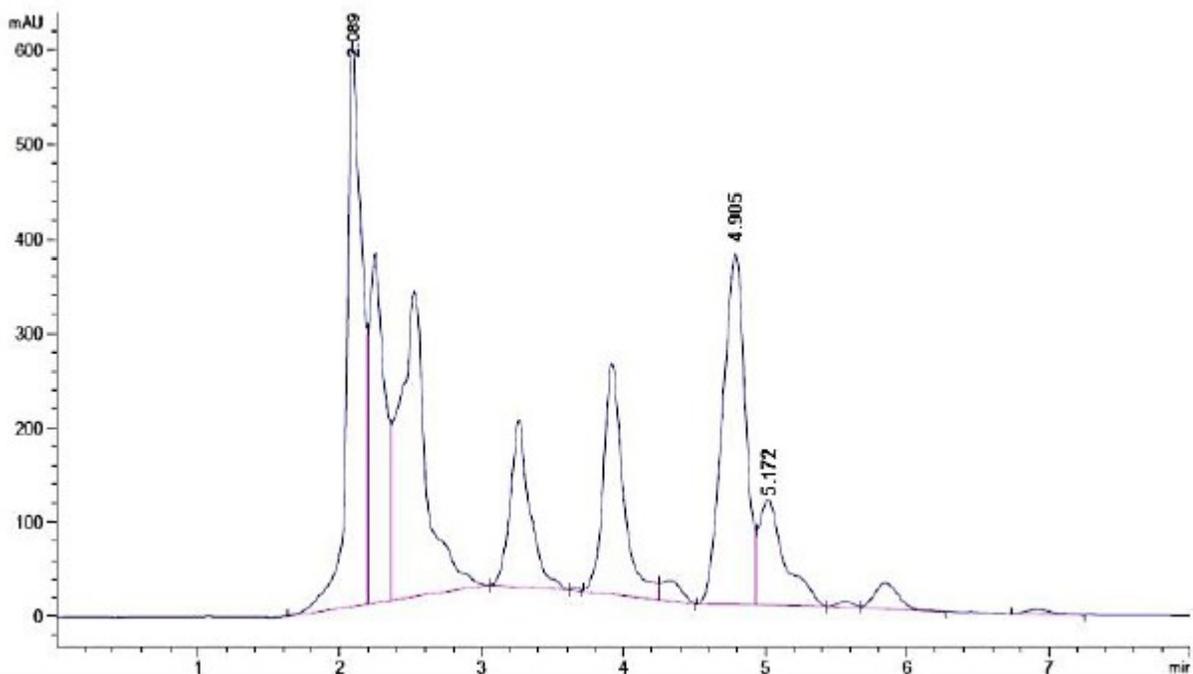


Figura 2. Cromatograma de extracción química convencional con sistema Soxhlet. Señal de esteviósido a 5.172 min (0.98 mg/ml) y señal de rebaudiósido "A" a 4.905 min (3.40 mg/ml).

Pudiendo concluir con todo esto que:

1. La extracción enzimática obtuvo el mayor rendimiento de glucósidos de esteviol en el presente estudio, al usar 0.5% de la combinación de celulasa, hemicelulasa y pectinasa a una temperatura de 50°C por un lapso de 60 minutos. Bajo las condiciones anteriores se logró un rendimiento de 13.9% mayor al obtenido por el método convencional.
2. El uso de ultrasonido a temperatura ambiente, con una frecuencia de 44 kHz y por un lapso de 60 minutos mostró un rendimiento de 10.4% menor al método enzimático, pero 2.9% mayor al método convencional.
3. El método de extracción enzimática asistida por ultrasonido demostró tener menor rendimiento en comparación con el método convencional (4.9%) y los no convencionales
4. (17.1%), debido a una posible inactivación enzimática a las condiciones expuestas en el presente estudio.
5. La extracción de rebaudiósido "A" fue en promedio 77.4% mayor en comparación con el esteviósido, esto observado en todos los métodos de extracción realizados en el presente estudio. Este fenómeno fue debido a la variedad de la planta (criolla) tanto como por el uso de metanol.
6. La extracción del rebaudiósido A fue mayor a la del esteviósido debido a la variedad de planta utilizada, así como el uso de metanol para su extracción.

BIBLIOGRAFÍA:

1. J.M.C, Genus. "Molecules of Interest: Stevioside". Phytochemistry, Vol. 64, 2003, pp. 913–921.

2. M. Puri, D. Sharma, A. K. Tiwary. "Downstream processing of stevioside and its potential applications". *Biotechnology Advances*, Vol, 29, 2011, pp. 781–791.
3. J. Pol, J., E.V. Ostra, P. Karasek, M. Roth, K. Benesova, P. Kotlarikova, *et al.* "Comparison of two different solvents employed for pressurized fluid extraction of stevioside from *Stevia rebaudiana*: methanol versus water". *Anal. Bioanal. Chem.*, Vol, 388, 2007, pp. 1847–57.
4. C. C. Teo, S. N. Tan, J. W. Hong Yong, C. S. Hew, E. S. Ong. "Validation of green-solvent extraction combined with chromatographic chemical fingerprint to evaluate quality of *Stevia rebaudiana* Bertoni". *J. Sep. Sci.* Vol. 32, 2009, pp. 613 – 622.
5. M. Toma, M. Vinatour, L. Paniwnyk, T. J. Mason. "Investigation of the effects of ultrasound on vegetal tissues during solvent extraction". *Ultrasonics Sonochemistry*, Vol, 8, 2001, pp. 137-142.
6. J. Liu, L. Jin-Wei, J. Tang. "Ultrasonically assisted extraction of total carbohydrates from *Stevia rebaudiana* Bertoni and identification of extracts, short communication". *Food and bioproducts processing*, 88, 2010, pp. 215–221.
7. M. Puri, D. Sharma, A. C. J. Barrow, K. Tiwary. "Optimisation of novel method for the extraction of steviosides from *Stevia rebaudiana* leaves". *Food Chemistry*, Vol, 132, 2012, pp. 1113–1120.
8. G. Vale, R. Rial-Otero, A. Mota, L. Fonseca, J.L. Capelo. "Ultrasonic-assisted enzymatic digestion (USAED) for total elemental determination and elemental speciation: A tutorial". *Talanta*, Vol 75, 2008, pp. 872–884.
9. Z. Qian, Z. Ming-Ming, C. Pei-Lin, C. Yun-Ying, T. Xiang-Ling. "Optimization of Ultrasonic-Assisted Enzymatic Hydrolysis for the Extraction of Luteolin and Apigenin from Celery". *Journal of Food Science*, Vol, 76(5), 2011, pp. 680–685.
10. V. Romaris-Hortas, P. Bermejo-Barrera, A. Moreda-Piñeiro. "Ultrasound-assisted enzymatic hydrolysis for iodinated amino acid extraction from edible seaweed before reversed-phase high performance liquid chromatography–inductively coupled plasma-mass spectrometry". *Journal of Chromatography A*, Vol, 1309, 2013, pp. 33– 40.
11. J. Wang, B. Sun, Y. Liu, H. Zhang. "Optimisation of ultrasound-assisted enzymatic extraction of arabinoxylan from wheat bran". *Food Chemistry*, Vol, 150, 2014, pp. 482–488.
12. P. B. Subhedar, P. R. Gogate. "Enhancing the activity of cellulase enzyme using ultrasonicirradiations". *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, Vol, 101, 2014, pp. 108–114.
13. M.A.A. Gasmalla, R. Yang, A. Musa, X. Hua, Y. Faying. "Influence of sonication process parameters to the state of liquid concentration of extracted rebaudioside A from *Stevia (Stevia rebaudiana bertoni)* leaves". *Arabian Journal of Chemistry*, 2014 doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.06.012>.

CONCENTRACIÓN FOLIAR DE PROTEÍNAS EN DOS ESPECIES DE ALCATRAZ EN FUNCIÓN DE LA FERTILIZACIÓN NITROGENADA Y POTÁSICA

Nadia Issaí Torres Flores^a, Libia I. Trejo Téllez^a, Brenda I. Trejo Téllez^b y Fernando C. Gómez Merino^c

Colegio de Postgraduados

^aCampus Montecillo, nadia.torres@colpos.mx

^bCampus San Luis Potosí

^cCampus Córdoba

RESUMEN

Se evaluó el efecto de la aplicación de tres dosis nitrógeno en la etapa vegetativa (0.5, 1.5 y 2.5 g planta⁻¹) y tres dosis de potasio en la etapa reproductiva (4, 6 y 8 g planta⁻¹), generando nueve tratamientos de fertilización, en la concentración foliar de proteínas en dos especies de alcatraz: *Zantedeschia albomaculata* cv. Captain Murano y *Z. elliotiana* cv. Solar Flare, en tres etapas fenológicas del cultivo (vegetativa, reproductiva y senescencia). Se utilizó un diseño completamente al azar con diez repeticiones por tratamiento. La concentración foliar de proteína en la primer etapa fenológica en *Z. albomaculata* se relacionó de manera positiva con la concentración de N suministrada en la solución nutritiva; en *Z. elliotiana* en fase vegetativa solo la dosis más alta de N ocasionó un incremento significativo en la concentración de proteínas. En fase reproductiva en la especie *Z. albomaculata* solo el tratamiento con las dosis bajas de N y K tuvo menor concentración de proteínas en hojas; mientras que para *Z. elliotiana* la mayor concentración se obtuvo con las dosis más bajas de N y K (0.5 y 4 g planta⁻¹ respectivamente), observándose un efecto negativo al incrementarse las dosis. En senescencia se observó una mayor degradación de proteínas en la especie *Z. albomaculata*; mientras que para *Z. elliotiana* las dosis altas de K afectaron negativamente la concentración foliar de proteínas.

INTRODUCCIÓN

La floricultura es una actividad con importancia económica, en la cual los floricultores tienen la misión de cautivar a los consumidores de los diferentes estratos sociales (ASERCA, 2008). En este contexto destaca el alcatraz, especie cuya demanda nacional se encuentra en ascenso (Cruz y Cárdenas, 1997), por ser una planta ornamental con características tales como espata vistosa y follaje frondoso, que lo hacen atractivo al consumidor (López *et al.*, 2005). La producción es principalmente como flor de corte por su aceptación en el mercado y su alto índice de venta (Schnettler *et al.*, 2006).

Funell (1993), menciona que los requerimientos nutricionales del alcatraz están estrechamente relacionados con la etapa de crecimiento, absorbiendo la mayor cantidad entre los 40 y 85 días después de la plantación; siendo importante considerar las diferencias entre cultivares. El nitrógeno (N) es un elemento mineral esencial absorbido por las plantas normalmente en cantidades altas, dependiendo de la especie, el cual contribuye con el 16% de las proteínas totales aproximadamente, siendo después del agua, el factor edáfico limitante más importante para el crecimiento y la productividad (Marschner, 2005). El catión K⁺ no posee funciones estructurales; sin embargo, tiene roles esenciales en la síntesis de proteínas, en el proceso la acción del potasio en la síntesis de proteínas aumenta la conversión del nitrato absorbido en proteínas, lo que contribuye a mejorar la eficiencia de los fertilizantes nitrogenados aplicados (Tjalling, 2006).

Por lo anterior, este trabajo plantea como objetivo la evaluación de la concentración de aminoácidos en hojas de dos especies de alcatraz *Zantedeschia albomaculata* cv. Captain Murano y *Z. elliotiana* cv. Solar Flare en tres etapas fenológicas (vegetativa, reproductiva y senescencia) en función de la nutrición nitrogenada en etapa vegetativa y de la nutrición potásica en etapa reproductiva.

MATERIALES Y METODOS

Los rizomas utilizados en esta investigación fueron de la especie *Zantedeschia albomaculata* cv. Captain Murano y *Z. elliotiana* cv. Solar Flare, los cuales fueron desinfectados en una solución de Mancozeb® + Tecto® 60 a razón de 2 g L⁻¹ de agua, durante 15 min para prevenir enfermedades fungosas, para después introducirse

a una solución de 100 mg L⁻¹ de ácido giberélico, por 15 min para promover la floración; posteriormente a la desinfección, los rizomas fueron plantados en una mezcla de tezontle de 3 mm + Agrolita® (60/40, v/v); utilizando bolsas de polietileno negro de 25 x 25 cm, siendo estas las unidades experimentales, conteniendo un rizoma por bolsa. La investigación se desarrolló bajo condiciones de invernadero; donde se evaluaron nueve tratamientos producto de la combinación de la aplicación de tres dosis de nitrógeno (0.5, 1.5 y 2.5 g planta⁻¹) durante la etapa vegetativa y de tres dosis de potasio (4, 6 y 8 g planta⁻¹) en la etapa reproductiva. Se utilizó un experimento Completamente al azar con diez repeticiones por tratamiento. Los niveles de N y K evaluados fueron suministrados de manera fraccionada durante las etapas vegetativa y reproductiva, a través de la solución nutritiva de Steiner al 100% (Steiner, 1984), sin modificación en el resto de los nutrimentos que la constituyen. La aplicación de tratamientos se inició 15 días después de la plantación (ddp), aplicando 500 mL por semana por planta en dos riegos.

Durante las etapas vegetativa (45 ddp), reproductiva (66 ddp) y senescente (83 ddp) (**Figura 1**) se evaluaron las concentraciones foliares de proteínas en los dos cultivares (de acuerdo a lo descrito por Höfner *et al.* (1989)).



Figura 1. Etapas fenológicas en que se realizaron los muestreos para las determinaciones de proteína en hojas, *Zantedeschia albomaculata* cv. Captain Murano (A) y *Z. elliotiana* cv. Solar Flare (B) en condiciones de invernadero.

Los resultados obtenidos se sometieron a un análisis de varianza y pruebas de comparación de medias por Tukey ($\alpha=0.05$) con el software Statistical Analysis System (SAS, 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en la concentración de proteína foliar en etapa vegetativa realizada a los 45 ddp, mostró diferencias estadísticas significativas entre tratamientos en los dos cultivares (**Figura 2**). La concentración foliar de proteínas en la especie *Z. albomaculata* aumentó significativamente con el incremento en la dosis de N aplicada (**Figura 2A**). La especie *Z. elliotiana* fue menos sensible a la dosis de N en fase vegetativo; solo la dosis más alta empleada (2.5 g planta⁻¹) fue significativamente mayor al resto de los tratamientos (**Figura 2B**).

Marschner (2005), reporta que el aporte de N favorece en aproximadamente el 16% de las proteínas totales; al ser constituyente estructural de éstas. Por tanto, el N favorece el desarrollo foliar, además de ser componente esencial de aminoácidos y clorofila (Wright y Burgue, 2000).

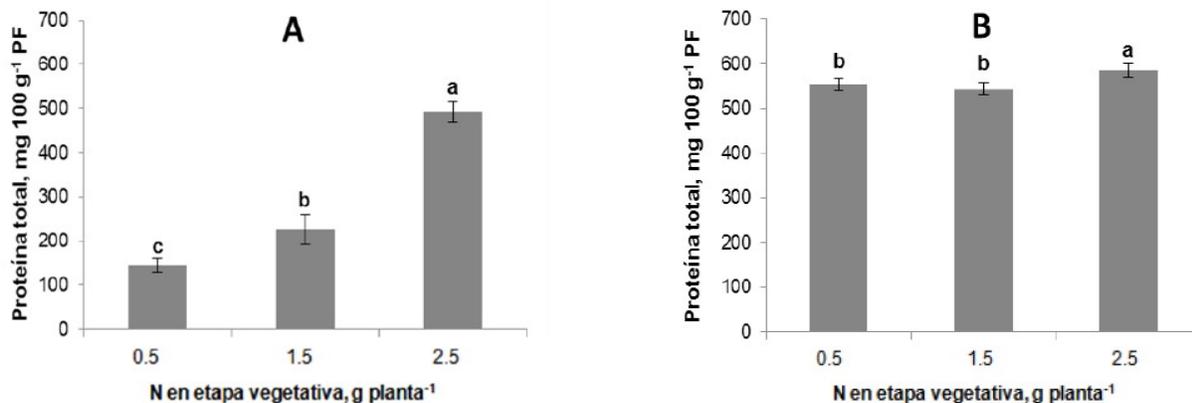


Figura 2. Concentración foliar de proteínas solubles totales en plantas de alcatraz *Z. albomaculata* cv. Captain Murano (A) y *Z. elliotiana* cv. Solar Flare (B), en respuesta a fertilización nitrogenada en etapa vegetativa. Barras ± DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$) entre tratamientos.

En la segunda evaluación de la concentración de proteínas en hojas, realizada a los 66 ddp (**Figura 3**), se observa que en *Z. albomaculata* esta variable no se vio influenciada por los tratamientos evaluados, con excepción del tratamiento consistente en las dosis más bajas tanto de N como de K, donde se redujo significativamente la concentración de proteínas (**Figura 3A**). En *Z. elliotiana*, se observa de manera clara, los efectos negativos de las dosis crecientes de K en etapa reproductiva en la concentración foliar de proteínas (**Figura 3B**).

En la etapa de senescencia de los cultivares (83 ddp), se realizó el análisis foliar de proteínas solubles totales donde se advierte una mayor degradación de éstas en la especie *Z. albomaculata* (**Figura 4A**). En *Z. elliotiana* se presentaron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos; pero en general se observa que dosis altas de K en etapa reproductiva afectan de manera negativa la concentración foliar de proteínas solubles totales en este cultivar (**Figura 4B**).

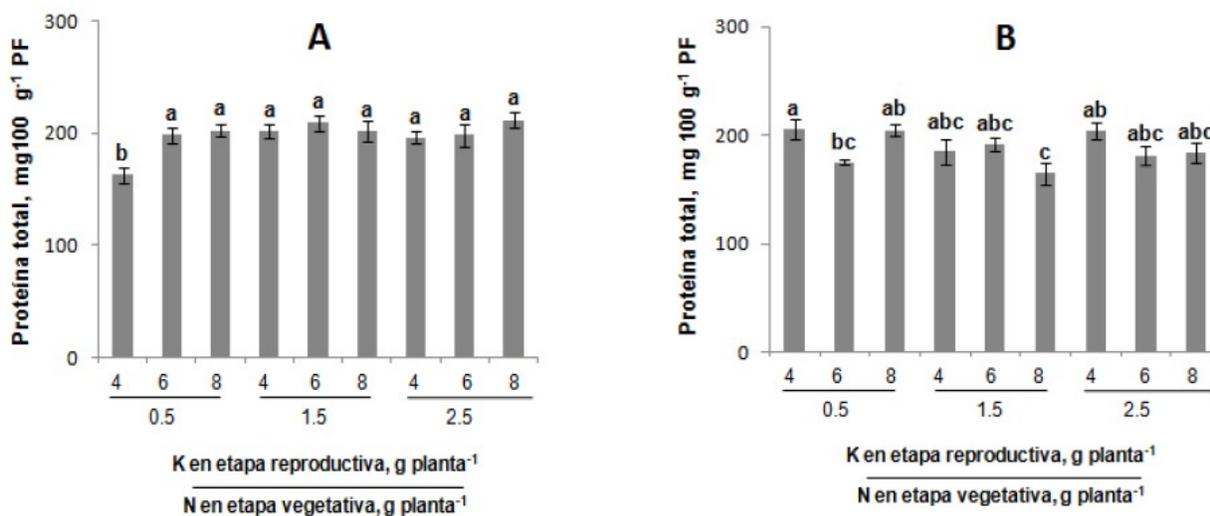


Figura 3. Concentración de proteínas solubles totales en hojas de plantas de alcatraz *Z. albomaculata* cv. Captain Murano (A) y *Z. elliotiana* cv. Solar Flare (B), en respuesta a fertilización nitrogenada en etapa vegetativa y potásica en etapa reproductiva. Barras ± DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$) entre tratamientos.

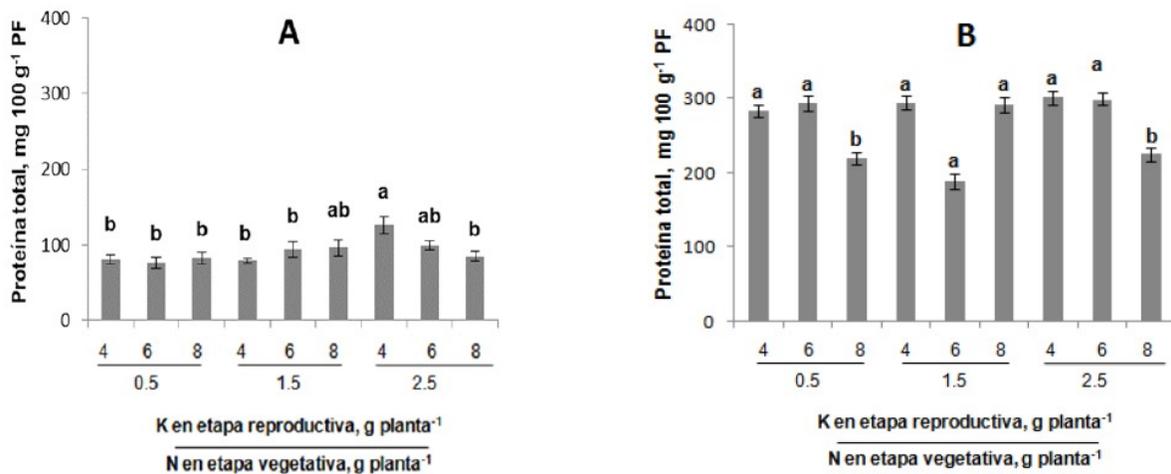


Figura 4. Concentración de proteínas solubles totales en plantas de alcatraz *Z. albomaculata* cv. Captain Murano (A) y *Z. elliotiana* cv. Solar Flare (B), en respuesta a fertilización nitrogenada en etapa vegetativa y potásica en etapa reproductiva. Barras \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$) entre tratamientos.

CONCLUSIONES

Se concluye que durante la etapa vegetativa en las dos especies, con la dosis de N de 2.5 g planta⁻¹ se obtienen las mayores concentraciones de proteína foliar; mientras que para la etapa reproductiva y de senescencia en *Zantedeschia albomaculata* se requiere una dosis de N de 2.5 g planta⁻¹ y de K entre 4 y 8 g planta⁻¹ de K. En *Z. elliotiana* se requiere de N 0.5 g planta⁻¹ con entre 4 y 6 g de K planta⁻¹. Estos resultados permiten afirmar que *Zantedeschia albomaculata* requiere de altas dosis de N y *Z. elliotiana* demanda de dosis bajas de N y K, para favorecer las concentraciones de proteínas en hojas.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. Steiner. "The universal nutrient solution" *In*: ISOSC Proceedings 6th International Congress on Soilless Culture, The Netherlands, 1984. Vol. 1, pp. 633-649.
2. ASERCA. "La Floricultura". Boletín ASERCA Regional Peninsular. 2008.
3. B. Schnettler M., S. A. Mera. y S. R. Pihan. "Evaluación técnico económica de la producción de calas de color en la región de la Araucanía, Chile". Universidad de la Frontera, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales. 2006. 24(1):17-24.
4. H. Tjalling, H. "Nutrición Vegetal de Especialidad Tomate". Guía de Manejo. The Worldwide Business Formula SQM. 2006. pp 84.
5. H. Marschner. "Mineral nutrition of higher plants". 2nd edition. Academic Press, London. 2005. pp 98.
6. J. G. Cruz C. y A. M. Cárdenas. "El alcatraz (*Zantedeschia* spp.) un cultivo nuevo para el trópico de Veracruz, México". Proc. Interam. Soc. Trop. Hort. 1997. 41:84-87.
7. J. P. Wright y G. K. Burgue. "Irrigation, sawdust mulch, and Enhance® biocide" Journal of Crop and Horticultural Science, 2000. 28:3, 225-231.
8. K. Funell. *Zantedeschia*. *In*: De Hertogh, A. y Le Nard, M. (Eds.). "The Physiology of Flower Bulbs". Amsterdam, Holland. Elsevier Science. 1993. pp. 683- 704.
9. R. Höfner, L. V. Moreno, A. A. Mandour, H. J. Bohnert, and J. M. Schmitt. "Two isoforms of phosphoenolpyruvate carboxylase in the facultative CAM plant *Mesembryanthemum crystallinum*". Plant Physiol. Biochem. 1989. 27: 803-810.
10. SAS. "SAS High-Performance Forecasting 2.2: User's Guide. (Vol. 1 & 2)", Cary, NC: SAS Institute Inc. Ver. 9, 2002), pp 652.

11. V. A. López, J. Pérez, C. Sosa, J. M. Mejía y L. Bucio. "El cultivo de plantas ornamentales tropicales". Instituto Para el Desarrollo de Sistemas de Producción del Trópico Húmedo de Tabasco. 2005. pp 117.

PARTICIPACIÓN DE ÁCAROS ORIBÁTIDOS COMO POSIBLES VECTORES EN EL CICLO BIOLÓGICO DE *Thysanosoma actinooides* EN AGOSTADERO DE HIDALGO

Constanza Abigail Almeida Alcántara¹, Margarita Ojeda Carrasco², Javier Olivares Orozco³, Silvia Rodríguez Navarro³, Juan Esteban Barranco Florido⁴ y Lluvia de Carolina Sánchez Pérez⁵

1 Departamento de Producción Agrícola y Animal , 2 Colección Nacional de Ácaros, 3 Departamento de Producción Agrícola y Animal, 4 Depto. de Sistemas Biológicos, UAM-Xochimilco, 5 Doctorado en Ciencias Agropecuarias. abigail_12@hotmail.com

RESUMEN

A nivel nacional, en las zonas forrajeras los ácaros oribátidos, son considerados como huéspedes intermediarios en el ciclo biológico de parásitos, principalmente cestodos de la familia Anoplocephalidae, el objetivo fue conocer la incidencia de estados inmaduros de *Thysanosoma actinooides* (Anoplocephalidae), asociada a los ácaros en agostaderos de La Mesilla, Hidalgo. Se colectaron cinco muestras de suelo de 300 g; en áreas con presencia de excremento de ganado. La revisión de los ácaros fue por colecta directa en un microscopio, utilizando 60 ácaros en 10 cajas de Petri con papel filtro de 45 µm como base, cada una con seis ácaros. En cada caja se aplicaron dos gotas de la solución de huevos de *Thysanosoma actinooides* de proglótidos del excremento de borregos infestados con *T. actinooides*. Bioensayo: se conservó en una cámara bioclimática y la revisión cada 48 h. con dos tratamientos: T1 - con suelo y la solución de huevos y T2 - la solución de huevos sin suelo. Los ácaros muertos se montaron en líquido de Hoyer para su identificación (Instituto de Biología, UNAM). De los 60 oribátidos, solamente 10 (16.6%) quedaron posiblemente infectados y correspondieron al T2. Observándose en su interior de uno a cuatro posibles cisticercoides, de los cuales seis del género *Oribatula* sp y cuatro del género *Zygoribatula* sp. La presencia de cisticercoides en éstos dos géneros nos indican una posible participación en el ciclo de vida de los cestodos de la familia Anoplocephalidae, en particular de *Thysanosoma actinooides*. Además, se incrementó el acervo de la colección acarológica del Dpto. de Producción Agrícola y Animal, CBS, UAM-X. La presencia de cisticercoides (13 huevos de cestodos) en los oribátidos *Zygoribatula* sp y *Oribatula* sp, es un indicio de la participación de estos ácaros en el ciclo biológico de la familia Anoplocephalidae en particular de *Thysanosoma actinooides*.

INTRODUCCIÓN

En las diversas regiones ganaderas de México existe un número considerable de grupos entomológicos que tienen efectos muy graves en el desarrollo de la industria ganadera y esta se manifiesta en la baja producción, un bajo crecimiento y a veces hasta la muerte (Agyei, 2003).

Parasitosis ocasionadas por nemátodos y céstodos producen severos daños en el ganado caprino y ovino, especialmente en animales jóvenes y son una de las principales causas que impiden a los rebaños alcanzar los niveles óptimos de producción, estos daños dependen de la especie, patogenicidad del agente, susceptibilidad del huésped y de la carga parasitaria (Olivares et al., 2010, Iturrondobeitia et al., 2004).

Se cree que en el ciclo biológico de céstodos anoplocefálicos participan los ácaros oribátidos. En 1937 se infectaron por primera vez a ácaros galumnidos con huevos de *M. expansa* observando el desarrollo de los estadios larvales de estos céstodos en las cavidades de los cuerpos (Schuster et al., 2000). Sin embargo, también existen factores importantes que determinan que ácaros oribátidos funcionen como hospederos intermediarios como: tipo de suelo, temperatura, humedad, morfología y hábitos alimenticios (Eileen , 2001).

MÉTODOLGÍA

El diseño experimental consistió en dos tratamientos; el T1 y T2, el T1 consistió en suelo (como fuente de alimento) y la solución de huevos y el T2 la solución de huevos sin alguna fuente de alimento o suelo (Tabla 1). Al final de 12 semanas se sacrificaron los ácaros restantes.

Tabla 1. Tratamientos establecidos en el Bioensayo.

Tratamiento		N° (individuos)
T1	Suelo + Proglótido *	30
T2	Proglótido *	30

* Suministro de solución cada 2 d.

Los proglótidos utilizados se obtuvieron directamente del excremento de borregos infestados con *Thysanosoma actinoides*, la confirmación de la presencia del céstodo se llevó a cabo por medio de análisis coprológicos y por simple observación de los huevos (en forma de arroz) en el excremento. El método que se utilizó para preparar la solución fue una adaptación de la utilizada por Akrami (2014).

Se utilizaron 60 ácaros y 10 cajas de Petri de 60x15 mm de plástico con un papel filtro milipore® de 45 µm como base para que la solución de huevos de *Thysanosoma actinoides* no se filtrara, en cada una de las cajas se colocaron seis ácaros. La solución se agregó cada dos días con una pipeta dejando caer solamente tres gotas, una en el centro y las otras a los lados con el fin de que la solución quedara distribuida uniformemente en toda la caja de Petri. Las muestras se conservaron en una cámara bioclimática bajo condiciones de temperatura interna promedio de 27.3°C, externa promedio de 15.9°C y 29.2%% de humedad relativa (HR). Cada dos días se revisaron las cajas de Petri para retirar a los ácaros muertos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La determinación taxonómica de los ácaros colectados en pastos del agostadero “La Mesilla”, utilizados en el diseño experimental corresponden a los géneros de oribátidos : *Zygoribatula sp* y *Oribatula sp*. De los 60 ácaros oribátidos utilizados para la infección con cisticercoides, solamente

10 (16.6%) quedaron posiblemente infectados siendo estos del T2, observándose en su interior de uno a cuatro posibles cisticercoides, correspondiendo 6 ácaros del género *Oribatula sp* y 4 del género *Zygoribatula sp*.

Denegri et al (2002) infectaron más de 500 ácaros de diferentes especies del género *Oribatula* y *Zigorybatula striassima*, en donde los porcentajes de infección con *Thysanosoma actinoides* fueron de 1.3 a 7.3 % siendo estos de 2 a 9 ácaros. Akrami et al (2007) encontraron ácaros *Galumna iranensis*, *G. karajica* y *Schelorbates fimbriatus*, infectados naturalmente por *Moniezia expansa*, observando en un *Galumna iranensis* y en un *S. fimbriatus* un solo cisticercoide y en un *G. karajica* 7 cisticercoides. Sin embargo, cuando quisieron infectar los 75 ácaros que utilizaron, solamente encontraron cisticercoides en el 57.1 a 78.5 % de *S. fimbriatus* donde el número de cisticercoides fue de 1 a 6.

En otro estudio realizado por Rodríguez et al (2005), reportaron la presencia del estado larvario del céstodo en ácaros tidéidos y oribátidos, aunque de igual manera fue bajo el porcentaje de ácaros infectados. Sin embargo, esto continúa mostrando alguna relación o la participación de los ácaros como hospederos intermediarios.

La infección de ácaros de estos dos géneros nos indican una posible participación en el ciclo de vida de los céstodos de la familia Anoplocephalidae, en particular de *Thysanosoma actinoides*. Estos resultados coinciden con lo mencionado por Denegri (1993) quién hizo un listado con los géneros y especies de ácaros que posiblemente son hospederos intermediarios anoplocefálicos señalando como las especies (35) entre ellas: *Zygoribatula elongata*, *Z. lata*, *Z. longiporosa*, *Z. skrijabini*, *Z. cognana*, *Z. exarata*, *Z. saayedi*, *Z. tadrosi*, *Z. curviseta*, *Z. conglobatus*, *Oribatula minuta*, *O. venusta* y *Schelorbates laevigatus*.

Los oribátidos según Schneider et al., (2004) se alimentan principalmente de hongos y otros materiales vegetales presentes en el suelo e incluso pueden alimentarse de animales muertos. Esto ayuda a explicar porque los ácaros del T1, quiénes tenía suelo como fuente de alimento (había hongos y pedazos de insectos), no ingirieron los proglótidos.

CONCLUSIÓN

El hallazgo de la posible presencia de cisticercoides (13 huevos de céstodos dentro de 10 ácaros oribátidos) en los oribátidos *Zygoribatula sp* y *Oribatula sp*, es un indicio del papel o participación de estos ácaros en el ciclo de vida de céstodos de la familia Anoplocephalidae en particular de *Thysanosoma actinoides*.

BIBLIOGRAFÍA

1. Agyei A.D. (2003). Epidemiological studies on gastrointestinal parasitic infections of lambs in the Coastal Savanna regions of Ghana. *Tropical Animal Health and Production*, 35 (3): 207-217.
2. Akrami M.A., Saboori A. y Eslami A. 2007. Observations on oribatid mites (Acari: *Oribatida*) serving as intermediate hosts of *Moniezia expansa* (Cestoda: *Anoplocephalidae*) in Iran. *International Journal of Acarology*, 33(4): 365-369.
3. Akrami M.A. (2014). Metodología: Solución de huevos de *Thysanosoma actinoides*. Comunicación personal [akrami@shirazu.ac.ir]
4. Denegri M.G. (1993). Review of oribatid mites as intermediate hosts of tapeworms of the *Anoplocephalidae*. *Experimental & Applied Acarology*, 17 :567-580.
5. Eileen J.M. (2001). Population dynamics of oribatid mites (acari: oribatida) on

horse pastures of north central Florida. (Tesis maestría inédita) Universidad de Florida.

6. Iturrondobeitia J.C, Caballero A.I y Arroyo J. (2004). Avances en la utilización de los Ácaros Oribátidos como indicadores de las condiciones edáficas. S.C Aranzadi MUNIBE (21).
7. Olivares O.J., Rodríguez D.J.G., Escobedo O.I.A, Camachi C.J.C., Herrera G.H.A, Montiel S.D., Fierro A.A. y Ruiz J.D. (2010). Evaluación del Albendazol y Praziquantel contra *Thysanosoma actinoides* (céstodo: Anoplocephalidae) en ovinos. Revista Salud Animal, 32(1): 54-56.
8. Rodríguez S., Cruz L.F, Olivares J.L y Rodríguez D.J.G. (2005). *Thysanosoma actinoides* (Cestoda : Anoplocephalidae): Prevalencia y posible papel de ácaros como hospederos intermediarios en una zona de cría de ovinos en la comunidad de La Mesilla municipio de Tecozautla , Hidalgo , México. Rev. Salud Anim. 27(3): 176-179.
9. Schneider K., Renker C., Scheu S. y Maraun M. (2004). Feeding biology of oribatid mites: a minireview. Phytophaga 14: 274-256.
10. Schuster R., Coetzee L. y Putterill J.F. (2000). Oribatid mites (Acari, Oribatida) as intermediate hosts of tapeworms of the family Anoplocephalidae (Cestoda) and the transmission of *Moniezia expansa* cysticercoids in South Africa. Onderstepoort Journal of Veterinary Research. 67: 49-55.

DETERMINACIÓN DE LA INOCUIDAD DE EXTRACTOS DE CAFÉ

Arianna Meléndez Romero¹; Minerva Rosas Morales² Ada María Ríos Cortes²

1 Facultad de ciencias químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla,
annaira_amig@hotmail.com

2 Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada CIBA-IPN Tlaxcala, mormin@hotmail.com

RESUMEN

El café es la bebida de mayor consumo e impacto social en todo el mundo, generar un extracto de café que reúna sus características innatas conlleva a generar un estudio de la seguridad de dicha bebida; es por ello que se generaron extractos a partir de café tostado y molido, mediante una técnica de percolación en batería, utilizando como solvente agua caliente, al mismo tiempo se realizaron pruebas microbiológicas para garantizar su inocuidad, se realizó el método de vertido en placa para bacterias aerobias y cuenta de mohos y levaduras, además de tinción de Gram a las poblaciones microbianas presentes en el extracto de café, se cuantificaron 1.8×10^3 UFC/ml de bacterias aerobias en agar cuenta estándar incubadas a 37°C durante 24 horas y 0.6×10^1 UFC/ml de levaduras en agar papa-dextrosa acidificado, incubadas a 25°C durante 5 días, las poblaciones microbianas fueron gram positivas de morfología bacilar. Esto indica un incumplimiento de la Norma Mexicana NOM-149-SCFI-2001 y NTC 4675 respecto a la microbiología de dicha bebida.

INTRODUCCIÓN

Las características físicas, químicas, organolépticas y funcionales propias del café lo han hecho trascender a lo largo de la historia, convirtiéndolo en la bebida de mayor impacto a nivel mundial, en ello radica la necesidad de generar procedimientos mejorados de extracción mediante los cuales todos los olores y aromas propios del mismo se obtengan de la manera más natural, sin perder propiedades. Al mismo tiempo el crecimiento mundial y la demanda por alimentos, exige la inocuidad de los mismos con el objetivo de no afectar directa o indirectamente la salud humana, garantizando el consumo del producto en el mercado.

TEORÍA

Se denomina café a la bebida preparada por infusión a partir de las semillas de los frutos de los cafetos, que son arbustos de hoja perenne de la familia de las Rubiáceas, estos producen flores de color blanco y frutos de color rojizo, los cuales en la parte interior contienen dos semillas o granos de café. El café se caracteriza por un agradable aroma y sabor, además contiene una inmensa variedad de compuestos químicos responsables de su calidad sensorial y de sus efectos fisiológicos.

El extracto líquido de café, es resultado de un proceso de lixiviación en el cual se hace pasar un solvente a temperatura y presión alta, para extraer los componentes de sabor y aroma del café tostado y molido, en este proceso el grano es sometido a humectación, extracción de solubles e hidrólisis. (Budryn, G., *et al.* 2013).

Etapas de la extracción.

(Ivon Flament 2002) hace referencia al proceso de extracción donde los granos de café son sometidos a una serie de etapas que culminan en conferir cualidades sensoriales a la bebida:

Humectación: Las partículas absorben agua en una cantidad igual al doble de su peso. La estructura fibrosa del grano lo convierte en un secante que absorbe el agua y ayuda a la posterior extracción de los compuestos solubles.

Extracción de solubles: Los solubles en el café se disuelven en el agua absorbida, provocando un aumento rápido de la concentración, creando un gradiente de transferencia de masa; a medida que este gradiente es más grande, mayor será el rendimiento en la extracción.

Hidrólisis: Si se aplican condiciones de alta temperatura, dependiendo del tipo de café y del grado de tostación se puede obtener un mayor contenido de sólidos solubles, debido al rompimiento (hidrólisis) y solubilización de las grandes moléculas de carbohidratos insolubles, que dan moléculas más pequeñas solubles en agua.

Características microbiológicas:

(Frazier W. C., & Westhoff D. C., 2009). La calidad microbiológica del café es fundamental para su conservación, la ausencia de microorganismos garantiza la inocuidad de la bebida y la descarta de ser causante de enfermedades transmitidas por alimentos.

El extracto de café está conformado por una serie de nutrientes, a los cuales hace referencia el cuadro 1, estos tienen un efecto selectivo sobre el crecimiento de la flora microbiana, la cual se desarrolla en función de parámetros físico-químicos de la bebida y características de cada microorganismo. Debido a las condiciones del medio, solamente una pequeña cantidad de los diferentes microorganismos existentes será capaz de multiplicarse y producir alteraciones en la bebida las cuales estarán en función del tipo y número de los agentes microbianos presentes en el medio. De esta forma algunos microorganismos presentes sobreviven, otros se multiplican y otros se inactivan.

Cuadro 1. Composición promedio del café arábica.

COMPONENTE QUÍMICO	ARABICA (%)
Polisacáridos	50.80
Sacarosa	8.00
Azúcares reductores	0.10
Proteínas	9.80
Aminoácidos	0.50
Cafeína	1.20
Trigonelina	1.00
Lípidos	16.20
Ácidos alifáticos	1.10
Ácido clorogénico	6.90
Minerales	4.20
Compuestos aromáticos	Trazas

(Frazier W. C., & Westhoff D. C., 2009)

Uno de los mayores riesgos que se presenta en el extracto de café es un alto valor de actividad de agua, el cual es de 0.95, este valor indica la relación entre la presión de vapor del aire alrededor de un alimento y la presión de vapor de agua a una misma temperatura, al mismo tiempo es un parámetro indicador del crecimiento microbiano y de la velocidad de deterioro de la bebida mostrando la cantidad de agua disponible metabólicamente para los microorganismos. Los valores mínimos de actividad de agua para diferentes tipos de microorganismos son: bacterias $a_w > 0.90$, levaduras $a_w > 0.85$, hongos filamentosos $a_w > 0.80$.

Además de la actividad de agua, el pH y la concentración de carbohidratos tienen un papel crucial en el desarrollo de microorganismos. La mayoría de los microorganismos tiene un crecimiento óptimo entre un pH de 6.5-7.5, aunque éste puede variar dependiendo del microorganismo presente. Al mismo tiempo la gran concentración de carbohidratos favorece su metabolismo. Por estas razones, las normas en materia de alimentos generalmente establecen la calidad microbiológica en términos de microorganismos indicadores.

El cuadro 5 hace referencia a los principales grupos u organismos que advierten oportunamente de un manejo inadecuado o contaminación que incrementan el riesgo de presencia de microorganismos patógenos en bebidas o alimentos.

Cuadro 5: Principales microorganismos indicadores.

INDICADORES DE CONDICIONES DE MANEJO INADECUADO O DEFICIENCIA DE PROCESO	INDICADORES DE CONTAMINACIÓN FECAL
Mesófilos aerobios	Coliformes totales
Hongos y levaduras	

NORMA TECNICA COLOMBIANA 4675

La Norma Oficial Mexicana NOM-149-SCFI-2001. CAFÉ. ESPECIFICACIONES Y MÉTODOS DE PRUEBA, establece en sus criterios microbiológicos: mesófilos aerobios menor de 1000 UFC/ml. Al mismo tiempo como complemento microbiológico la NORMA TÉCNICA COLOMBIANA 4675. CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS PARA EL EXTRACTO LIQUIDO DE CAFÉ, establece: mesófilos aerobios menor de 1000 UFC/ml, mohos y levaduras menor de 100 UFC/ML y negativo para coliformes totales y fecales.

RESULTADOS

Los extractos de café mostraron las siguientes características fisicoquímicas: 30 °Brix, pH 5.6, y un rendimiento de 240 gr de materia prima para obtener 450 ml de extracto de café en 12 horas. Las pruebas microbiológicas realizadas mostraron crecimiento de poblaciones microbianas, se encontraron 1.8×10^3 UFC/ml de bacterias aerobias en agar cuenta estándar incubadas a 37 °C durante 24 horas y 0.6×10^1 UFC/ml de levaduras en agar papa-dextrosa acidificado, incubadas a 25 °C durante 5 días, las poblaciones bacterianas fueron gram positivas de morfología bacilar.



CONCLUSIONES

La elaboración de extractos de café por el método de percolación en batería logro reunir las características sensoriales de la bebida, sin embargo la concentración de carbohidratos y agua favorece el crecimiento microbiano, a su vez las condiciones acidas del medio desfavorecen el crecimiento de ciertos microorganismos. Sin embargo la cuantificación de bacterias, hongos y levaduras muestran la necesidad de buscar alternativas que garanticen la inocuidad de la bebida para su consumo y prolonguen o mantengan la vida de anaquel de la bebida, así como la conservación de sus características organolépticas.

BIBLIOGRAFÍA

1. BUDRYN, G., *ET AL.* (2013). INFLUENCE OF ADDITION OF GREEN TEA AND GREEN COFFEE EXTRACTS ON THE PROPERTIES OF FINE YEAST PASTRY FRIED PRODUCTS. *FOOD RESEARCH INTERNATIONAL*, 50(1), pp. 149-160.
2. IVON FLAMENT. (2002). COFFEE FLAVOR CHEMISTRY (1ST ED). USA: ILUSTRADA. pp.380-424
3. FRAZIER, W. C. & WESTHOFF D. C. (2009). MICROBIOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS, (4TA ED). ZARAGOZA, ESPAÑA pp. 61-64.

Influencia de la temperatura en la síntesis de nanopartículas de oro con quitosan

Angel Netzahual^a, Orlando Zaca Moran^a, Ada Maria Rios Cortez^a, Baudelia Chavez Aguilar^a,
Marlon Rojas Lopez^a, Abdu Orduña Diaz^a y Julio Roberto Reyes Leyva^b

^a Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, IPN Tlaxcala. gelo89_@live.com.mx

^b Centro de Investigación Biomédica de Oriente. julio.reyes@imss.gob.mx

Resumen

En la actualidad los nanomateriales están cobrando importancia debido a sus posibles aplicaciones en diversas áreas que incluyen textil, agricultura, farmacéutica, biomédica etc., entre estas nanoestructuras están las nanopartículas de oro, las cuales poseen propiedades de compatibilidad con organismos y son de bajo nivel tóxico. Se realizó la síntesis de nanopartículas de oro, utilizando al quitosan como agente reductor, en ausencia y presencia de trifosfato de sodio pentabásico, el proceso de síntesis se realizó con cuatro temperaturas diferentes a 70°, 80°, 90° y 100°C. Por lo que el propósito de este trabajo es observar que influencia tiene la variación temperatura y la aplicación del fosfato en la generación de las nanopartículas. Para la caracterización de las nanopartículas se utilizó espectroscopia Uv-visible y microscopia de transmisión (TEM). Los espectros de Uv-vis indican una mayor intensidad y un corrimiento a menores longitudes de onda a medida que se incrementa la temperatura durante la reacción, dando un indicio de que el tamaño disminuye a mayor temperatura, por microscopia se confirmó el tamaño siendo 20 nm y forma esférica a 70°, la aplicación del fosfato produce dos bandas de absorción del espectro electromagnético.

Introducción

Las nanopartículas metálicas son agregados aislados de átomos de tamaño comprendido 1 y 100 nm rodeados de una capsula protectora o estabilizadora que evita la aglomeración (Friederici, 2013), estas poseen propiedades físicas diferentes al estado *bulk*, entre ellas los plasmones superficiales (Vidal & Moreno, 2008), los cuales en interacción con un haz incidente de la misma frecuencia entran en resonancia, que se traduce en una banda de absorción aproximadamente a 520 nm del espectro electromagnético, esta propiedad es dependiente del tamaño, concentración, geometría, la distancia entre partículas, naturaleza de la capa estabilizadora, carga superficial, índice de refracción del solvente (X.E.G.Dib, Mendez, S.S.Guzman, Luppi, & Yacaman, 2008). Hoy en día se ha manipulado diferentes parámetros como el uso de distintos agentes reductores, como citrato trisódico, tartrato de sodio y borohidruro sódico (Lucioni, 2012), en la denominada síntesis verde se utilizan extractos (Rico-Moctezuma, Vilchis-Nestor, & V. Sánchez-Mendieta, 2010) o productos de origen biológicos como el quitosan (Anuradha, Anand, & Hemanth, 2006) (Bhumkar, Joshi, Sastry, & Pokharkar, 2007) (Malathi, Balakumaran, Kalaichelvan, & Balasubramanian, 2013), este es un polímero que se obtiene de la desacetilación de la quitina mismo que se ha utilizado en la síntesis de nanopartículas (Huerta, Rincón, Valbuena, & López, 2012) (Malathi, Balakumaran, Kalaichelvan, & Balasubramanian, 2013), adicionalmente la aplicación de estabilizantes, variación en el tiempo de reacción, agitación y temperatura, determinaran el tamaño y forma de las nanopartículas, ya que en función de ello se busca una aplicación. Por lo que el objetivo de este trabajo es observar la influencia de la temperatura y la aplicación del trifosfato de sodio

pentabásico en las nanopartículas, utilizando al quitosán como agente quelante, para determinar la forma y tamaño se utilizó microscopía TEM.

Sección experimental

Los reactivos trifosfato de sodio pentabásico ($\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$), quitosán peso medio molecular (180000-330000 g/mol) con 75-85 % de desacetilación, ácido cloroáurico ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), ácido acético (CH_3COOH), se adquirieron de sigma. Debido a la baja solubilidad del polímero, este se disolvió en ácido acético al 1%, dejando en agitación rotatoria a 30 rpm por 12 hrs, enseguida se adiciono el fosfato a una concentración de 0.5 mM, se dejó homogenizar a 30 rpm durante 3hrs. Una vez teniendo la solución base (con y sin fosfato) se mezcló con el precursor metálico a una razón volumen de 7:3 de oro y disolución respectivamente, la reacción se realizó durante 3 hrs, y agitación de 300 rpm, se realizó a diferentes temperaturas 70°, 80°, 90° y 100°C.

Resultados y discusión

Se obtuvieron soluciones acuosas que presentan una coloración roja insertado en la figura 1, la cual refiere a la formación de nanopartículas de oro (Takeuchi, 2012), la espectroscopia Uv-vis es ampliamente utilizada en la caracterización de las nanopartículas metálicas, esto debido a la resonancia del plasmón superficial (Haiss, Thanh, Aveyard, & Fernig, 2007).

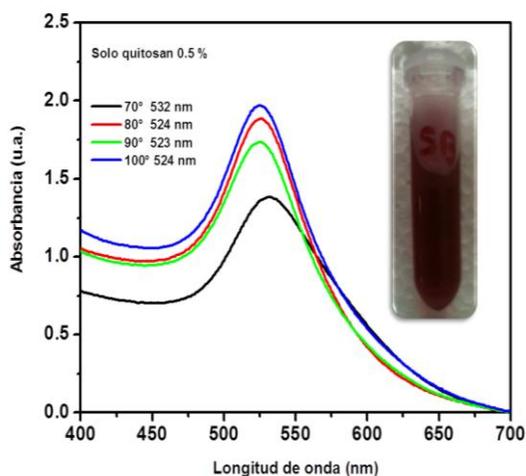


Figura 1. Espectros de absorción de nanopartículas de oro con quitosán

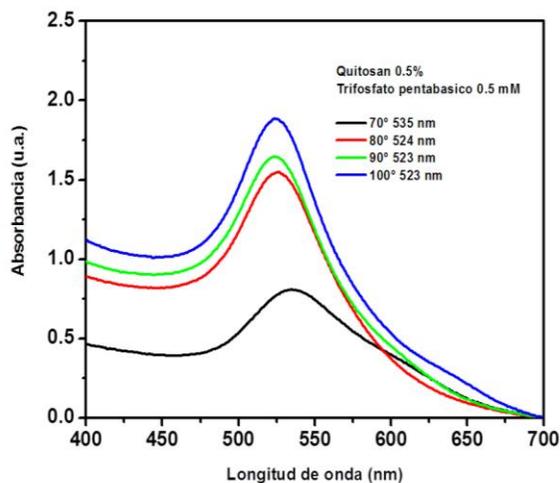


Figura 2. Espectros de absorción de nanopartículas de oro con quitosán y TPP

En los tratamientos (presencia y ausencia del fosfato) se observan un efecto hipsocrómico en el máximo de absorción a medida que se incrementa la temperatura, lo cual implica un menor tamaño en la nanopartícula (Haiss, Thanh, Aveyard, & Fernig, 2007), este corrimiento a longitudes de onda menor, indican que el proceso de nucleación se incrementa y el crecimiento disminuye (Ramires, 2004), la intensidad de absorción aumenta en relación a la temperatura 1.389 unidades arbitrarias (u.a.) - 1.960 u.a. solo con quitosán, y 0.802 u.a. - 1.884 u.a. con la aplicación de fosfatos, en este último se observa una banda de absorción en 600 nm probablemente a la agregación de partículas o bien partículas con forma triangular como lo reporta (yang, 2004). El método más adecuado para determinar el tamaño de nanopartículas es mediante microscopía de transmisión, y de acuerdo a esta técnica el tamaño medio es de 20 nm para ambos tratamientos a temperatura de 70°, tienen

forma esférica mostrado en la figura 3 (a, b). Los resultados del tratamiento de quitosán a 80° son similares a lo reportado por Malathi, Balakumaran, Kalaichelvan, & Balasubramanian, 2013, ya que la posición de la banda de absorción de Uv-visible caen en la misma longitud de onda.

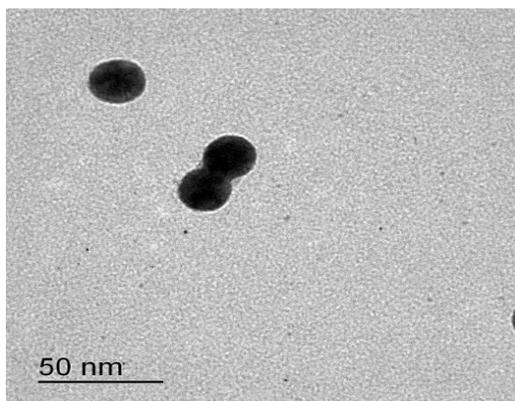


Figura 3a). Micrografía de nanopartículas de oro con quitosán

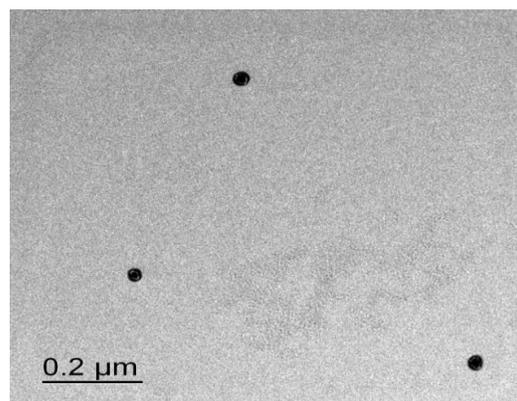


Figura 3b). Micrografía de absorción de nanopartículas de oro con quitosán y TPP

Conclusión

El incremento de temperatura en la síntesis produce un corrimiento a longitudes de onda menor y mayor intensidad de la banda de absorción de las nanopartículas, que da un indicio de una disminución del tamaño de estas mismas. El tamaño de partícula es de 20 nm con forma esférica. La aplicación de fosfatos forma otras bandas de absorción indicando agregación de partículas.

Referencias

1. Anuradha, S., Anand, V. R., & Hemanth, K. (2006). Surface modification of chitosan for selective surface–protein interaction. *Carbohydrate Polymers*, 321–332.
2. Bhumkar, D. R., Joshi, H. M., Sastry, M., & Pokharkar, a. V. (2007). Chitosan Reduced Gold Nanoparticles as Novel Carriers for Transmucosal Delivery of Insulin. *Pharmaceutical Research*, 1415-1426.
3. Friederici, M. M. (2013). Nanopartículas de Au y Pd: Síntesis, funcionalización y aplicaciones catalíticas. *Universitat de Barcelona, Departament de Química Inorgànica*, 1-30.
4. Haiss, W., Thanh, N. T., Aveyard, J., & Fernig, a. D. (2007). Determination of Size and Concentration of Gold Nanoparticles from UV-Vis Spectra. *Analytical Chemistry*, 4215-4221.

5. Huerta, A. C., Rincón, M. C., Valbuena, A. C., & López, y. A. (2012). OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PAPEL DE QUITOSANO. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 41-51.
6. Lucioni, A. C. (2012). Síntesis de nanopartículas de oro obtenidas por reducción de H(AuCl₄). *Rev Soc Quím Perú*, 79-90.
7. Malathi, S., Balakumaran, M. D., Kalaichelvan, P. T., & Balasubramanian, S. (2013). Green synthesis of gold nanoparticles for controlled delivery. *ADVANCED MATERIALS Letters*, 933-940.
8. Ramírez, J. F. (2004). *Nanopartículas metálicas: síntesis, caracterización y aplicación en celdas de combustible*. Puebla: Benemerita Universidad Autónoma de Puebla.
9. Rico-Moctezuma, A., Vilchis-Nestor, A. R., & V. Sánchez-Mendieta. (2010). Biosíntesis de nanopartículas de oro mediante el extracto de *Opuntia ficus-indica*. *Sociedad Mexicana de Ciencia y Tecnología de Superficies y Materiales*, 94-97.
10. Takeuchi, N. (2012). Capítulo 6. En N. Takeuchi, *Nanociencia y nanotecnología: La construcción de un nuevo mundo átomo por átomo*. México DF: Fondo de Cultura Económica.
11. Vidal, F. J., & Moreno, L. M. (2008). Plasmones Superficiales. *Investigación y Ciencia*, 66-76.
12. X.E.G.Dib, Méndez, U., S.S.Guzmán, Luppi, D., & Yacamán, y. M. (2008). Síntesis y propiedades de nanopartículas monometálicas y bimetálicas oro y plata. *ingenierías*, 73.78.
13. Yang, H. H. (2004). Synthesis of chitosan stabilized gold nanoparticles in the absence/presence of tripoliphosphate. *Biomacromolecules*, 2340-2346.

Efecto de aditivos antioxidantes en semen ovino post-congelación

Iván Gómez^a, Y.M Domínguez^b, G. De La Isla^a, D. Velazquez^b

^a Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro, Qro., ^bCEIEPAA-FMVZ-UNAM, Tequisquiapan, Qro. yesdomin@hotmail.com

RESUMEN

El proceso de criopreservación de semen de carneros da como resultado un aumento en el número de células apoptóticas en comparación con el semen fresco. Este estrés provoca daños en la integridad de la membrana con la consecuente pérdida de la motilidad y viabilidad. Los factores perjudiciales durante la criopreservación figuran los ocasionados por los radicales libres que se forman en este proceso siendo los responsables del daño oxidativo. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de adicionar antioxidantes (las vitaminas C y E) en el semen de carnero para su criopreservación y evaluar su efecto en la motilidad al descongelarlo. Se utilizaron nueve carneros y se analizaron tres eyaculados de cada semental. Cada eyaculado fue dividido en cuatro tratamientos: control, con vitamina C, con vitamina E y combinación de vitaminas C+E. La determinación de la motilidad espermática al descongelar se realizó por medio del Test de Endosmosis (HOST). Los datos fueron analizados por medio del Análisis de Varianza (ANOVA) mediante un modelo simple, comparando el porcentaje de motilidad individual de las medias de los tratamientos post-congelación. Los resultados mostraron que todos los sementales previo al proceso de congelación tuvieron buenos resultados de las características seminales en promedio obtuvieron 0.75 ml de volumen, 3.6×10^9 espermatozoides/ml, 86% de motilidad individual y 73% Host. Posterior a la descongelación se registró aumento de la mortalidad en los espermatozoides con los tratamientos con vitamina C y la combinación de vitamina C+E, se estimó que la combinación de antioxidantes con vitamina E no redujo estadísticamente la mortalidad espermática (43.8% de motilidad individual, 56.2% mortalidad) en comparación el grupo control ($p > 0,05$). Se concluye que la adición de antioxidantes al diluyente, puede reducir el estrés oxidativo causado por la congelación y descongelación de los espermatozoides; sin embargo, no es de manera significativa.

INTRODUCCIÓN

La membrana plasmática de los espermatozoides de mamíferos es una estructura dinámica que participa en el reconocimiento y transporte de moléculas. Antes y después de la eyaculación, la membrana espermática sufre cambios que están asociados a la capacidad fecundante de los espermatozoides. Diversos eventos ocurren durante el proceso de fertilización: capacitación, reacción acrosomal y fusión del espermatozoide a la superficie del oocito. Todos ellos requieren de la actividad bioquímica de la membrana, y, por lo tanto, es muy importante evaluar la estructura e integridad funcional de la misma (Córdova *et al.*, 2003).

Consecuentemente, los espermatozoides sólo son viables un corto periodo de tiempo en el tracto reproductivo de la hembra y, por lo tanto, tendrían una menor oportunidad de poder fecundar los ovocitos (Gillan y Maxwell, 1999).

El proceso de congelación de semen da como resultado un aumento en el número de células apoptóticas en comparación con el semen fresco. Durante la criopreservación del semen, el estrés provoca daños en la integridad de la membrana con la consecuente pérdida de la motilidad y

viabilidad. Dentro de los principales factores perjudiciales durante la criopreservación figuran los ocasionados por los radicales libres que se forman en este proceso siendo los responsables del daño oxidativo (Watson, 2000). El daño a bajas temperaturas ocurre en la membrana plasmática, en la membrana acrosomal, en la mitocondria y en la vaina del axonema y aunque fisiológicamente se forman radicales libres durante la respiración mitocondrial, es importante tener en cuenta que las anomalías en la mitocondria pueden contribuir a la producción excesiva de los radicales libres (Castillo *et al.*, 2011).

La generación de especies reactivas del oxígeno (ROS) por espermatozoides dañados tiene un impacto negativo sobre las células viables restantes, ya que representa un daño acumulativo para los espermatozoides que son almacenados. Las ROS cumplen una importante función en la fisiología espermática normal, ya que pueden activar al espermatozoide en la fecundación; un desequilibrio entre su producción y degradación causa efectos adversos sobre el espermatozoide, provocando un estrés oxidativo que se ha definido como un desequilibrio entre los agentes oxidantes y los mecanismos antioxidantes. Estos últimos involucran sistemas enzimáticos y moléculas orgánicas diversas entre las que se incluyen las vitaminas E y C, que cumplen su función antioxidante al disminuir el porcentaje de peroxidación lipídica (Castillo *et al.*, 2011).

TEORIA

La generación de especies reactivas del oxígeno (ROS) por espermatozoides dañados tiene un impacto negativo sobre las células viables restantes, ya que representa un daño acumulativo para los espermatozoides que son almacenados.

Entre las ROS destacan fundamentalmente el anión superóxido (O_2^-), el hidroxilo (OH) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2). La reacción inicial de la oxidación de los ácidos grasos consiste en una lipoperoxidación y es generada por las ROS que inducen una reacción en cadena, provocando un rompimiento de dobles enlaces en los lípidos de las membranas (Córdova *et al.*, 2003).

Para el control o disminución de la peroxidación lipídica del espermatozoide se ocupan los antioxidantes con función biológica que se definen como aquellas sustancias que presentes en concentraciones muy pequeñas comparadas con las de un sustrato oxidable, disminuye o evita la oxidación del sustrato toda vez que resulta un agente reductor más potente. En bioquímica inorgánica puede considerarse como un donador de electrones capaz de evitar una reacción en cadena de oxidorreducción. Existen los antioxidantes preventivos que actúan al inicio de una cadena de oxidación para reducir o impedir el comienzo de una cadena de oxidorreducción. Como ejemplos se pueden considerar los reductores de peróxidos orgánicos e inorgánicos (enzimas glutatión peroxidasa, catalasa y peroxidasa). Mientras que los antioxidantes secundarios son interruptores que actúan al bloquear en alguna etapa la cadena de oxidación ya iniciada al captar radicales libres y al acortar la longitud de la cadena de oxidación y sus consecuencias (vitaminas E y C y la enzima superóxidodismutasa) (Hicks, 2002). Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar la viabilidad de los espermatozoides de ovino post-congelación a través de la adición de antioxidantes en el diluyente.

PARTE EXPERIMENTAL

El estudio se realizó en el CEIEPAA-FMVZ-UNAM, ubicado Tequisquiapan, Querétaro. Se utilizaron 9 machos ovinos de las razas Suffolk (3), Katahdin (3) y Dorset (3) con una edad promedio de 3 años reproductivamente activos, durante la época de primavera (marzo- abril) los cuales fueron alojados en sementaleras individuales y alimentados con avena (administrando el 4% de su peso corporal en Materia Seca) y agua *ad libitum*. Se obtuvieron 3 tomas de semen de cada animal en el transcurso de 5 semanas (2 tomas cada semana y 1 la última semana), obteniéndose un total de 27

eyaculados totales. Se administró 3 tratamientos diferentes en cada eyaculado y un control, los cuales fueron; Grupo Control :Triladyl (25%), Agua bidestilada (70%) y yema de huevo (5%), Tratamiento 1: Triladyl (25%), Agua bidestilada (70%), yema de huevo (5%) y vitamina C (.05mg/ml), Tratamiento 2: Triladyl (25%), Agua bidestilada (70%), yema de huevo (5%) y vitamina E (.05mg/ml), y Tratamiento 3: Triladyl (25%), Agua bidestilada (70%), yema de huevo (5%), vitamina E (.05mg/ml) y vitamina C (.05mg/ml). Previo a la dilución se realizó el examen macroscópico del semen donde se examinó volumen, color, consistencia y motilidad en masa macroscópica y el examen microscópico donde se determinó la concentración espermática por medio de la cámara de Neubauer, se evaluó la motilidad en masa microscópica y motilidad individual, posteriormente se realizó la dilución con los diferentes tratamientos y control a cada eyaculado y se volvió a evaluar la motilidad individual y la permeabilidad de la membrana (HOST) con una solución hipotónica de citrato de sodio y fructosa manteniendo la temperatura a 37°C, al término se procedió a la refrigeración (descendiendo la temperatura hasta 4°C durante 2 horas), consecutivamente al empajillado (pajillas de .25ml) y la congelación primero con vapores de nitrógeno líquido (durante 7 minutos) después en nitrógeno líquido directamente para almacén en el termo. La descongelación se hizo 24 horas después introduciendo las pajillas por 1 minuto en un baño maría a 37 °C. Al sacar las pajillas del agua eran secadas y evaluadas de cada pajilla se utilizó una gota para evaluación microscópica y una gota para realizar el HOST.

Los datos fueron analizados por medio del Análisis de Varianza (ANOVA) mediante un modelo simple, de un factor comparando el porcentaje de motilidad individual de las medias de los tratamientos (control, Vitamina C, Vitamina E y un combinado de vitamina C con Vitamina E) post-congelación y comparando las medias aritméticas de todos los tratamientos. También se evaluó el coeficiente de correlación entre las muestras con tratamientos y el Host.

Al evaluar el semen, se obtuvieron resultados satisfactorios en la evaluación macroscópica y microscópica (Tabla 1). El promedio del semen de los carneros evaluados cumplió con las características de motilidad individual y motilidad masal de los espermatozoides requeridos para criopreservación de las muestras, siendo 86.83 % de motilidad individual (con un rango entre el 80 % - 90%), concentración, 3523X10⁶ por mililitro (con un rango entre 2000 y 4500x10⁶ por mililitro) y motilidad masal de 5 puntos (movimiento progresivo, rápido y enérgico del espermatozoide, valor 4 o 5) (Aisen, 2004).

Tabla 1. Promedio evaluación de semen pre-congelación todos los machos.

Raza	Volumen (ml)	Concentración espermática (x 10 ⁶)/ml	Motilidad Masal	Motilidad Individual (%)	Host Control
Machos Katahdin	0.71	3773	+++++	88.88	75.22
Machos Suffolk	0.87	4115	+++++	87.22	72.77
Machos Dorset	0.91	2683	+++++	84.44	72.55
General	0.83	3523	+++++	86.83	73.34

Los resultados demostraron diferencias estadísticas significativas (Tabla 2 y 3) entre los tratamientos analizados después de descongelar repercutiendo negativamente la motilidad individual y el HOST a la adición de vitamina C para la disminución del grado oxidativo con respecto al grupo control ($p < 0,05$). Se observó que el tratamiento con Vitamina E fue el que mejor respuesta tuvo al descongelar disminuyendo la motilidad un 49.53% sobre el 86.83 general. Sin embargo la vitamina E ($p > 0,05$) no tuvo diferencias significativas con el grupo control y por ende

no se puede decir que tuvo un efecto protector oxidativo en los espermatozoides. El grupo control disminuyó un 50.37%; esto muestra el buen comportamiento de estos dos tratamientos a lo largo del proceso de descongelación, lo que se encuentra dentro del rango de motilidad individual deseada, pues según Gillian y Maxwell (1999), al congelar el semen sólo alrededor del 50% de los espermatozoides mantienen su viabilidad.

Tabla 2. Porcentaje promedio de la motilidad individual en la evaluación de semen post-congelación todos los machos.

	Control	Tratamiento Vitamina C	Tratamiento Vitamina E	Tratamiento Vitamina C + Vitamina E
Machos Katahdin	27.39	12.96*	30.73	22.58*
Machos Suffolk	49.99	25.17*	49.99	32.58*
Machos Dorset	51.84	20.36*	50.73	34.42*
Promedio	43.07	19.49 *	43.81	29.86 *

*tratamientos con diferencia estadística $p < 0.05$

Se evaluó el coeficiente de correlación entre las muestras con cada uno de los tratamientos y la prueba HOST, resultado que todas las muestras tuvieron una correlación positiva (Tablas 3).

Tabla 3. Porcentaje promedio de la evaluación HOST de las pajillas descongeladas de los tratamientos de todos los machos.

HOST	Control	Tratamiento Vitamina C	Tratamiento Vitamina E	Tratamiento Vitamina C + Vitamina E
%	45.74	15.36 *	40.74	25.51 *
Correlación/ motilidad individual	0.695	0.675	0.487	0.269

Los resultados de la combinación de antioxidantes C+E no tuvo un efecto significativo en el mantenimiento de la motilidad individual refiriéndonos como viabilidad del espermatozoide, esto contrasta con lo reportado por Castillo *et al* (2011) que determinaron que la combinación de antioxidantes disminuye significativamente el efecto de oxidación celular durante la congelación de semen. Mientras que Mathews (2001) reportó que no se encuentran diferencias estadísticas entre diluyentes adicionados con vitamina E o sin esta, y reporta que la vitamina E necesita necesariamente la adición de vitamina C para poder ser aprovechada por las células y evitar la peroxidación lipídica. En el caso de la vitamina C, está se caracteriza por expresar uno de los mecanismos de defensa contra las ROS; pero no influencia el porcentaje de motilidad individual de los espermatozoides en almacenamiento, ya que provoca una reducción del pH, efecto que se observó en este estudio, ya que fue el tratamiento con el porcentaje menor en cuanto a motilidad individual al descongelar, este efecto contraproducente en los espermatozoides lo reportó también Castillo *et al* (2011).

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos podemos concluir que no existe diferencia estadística entre los tratamientos, mas sin embargo se recomienda seguir con la investigación en el porcentaje de la adición de antioxidantes para evaluar su efecto durante el proceso de congelación de semen de carnero.

BIBLIOGRAFIA

1. E. Aisen, "Reproducción ovina y caprina". Primera edición. Editorial Intermédica. 2004. Buenos Aires, Argentina.
2. H. Castillo, A.Córdova, J.Hicks, A.Membrillo y J.Valencia, "Efecto de la adición de antioxidantes en el diluyente de semen de macho cabrío antes de congelar y después de descongelar", 2011, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. México.
3. A.Córdova, J. Hicks, V.Martínez , A.Membrillo, M. Olivares y J. Valencia,"Peroxidación lipídica y antioxidantes en la preservación de semen", 2003, Asociación Interciencia. Venezuela.
4. L. Gillan, W. Maxwell, "The functional integrity and fate of cryopreserved ram spermatozoa in the female tract". 1999, Journal of Reproduction and Fertility, Volume 54, pp:271-283.
5. J.Hicks,"Bioquímica",2002, 1° Edición, Editorial McGraw Hill. México.
6. C.Mathews, K.Van Holde "Bioquímica" 2001, 2° Edición. Editorial McGraw Hill Interamericana. España.
7. P. Watson, "The causes of reduced fertility with cryopreserved semen" 2000, Animal Reproduction Science ,Volume60-61, pp: 481-492.

RESISTENCIA ANTIBACTERIAL DE CEPAS AISLADAS DE MASTITIS BOVINA EN EL ESTADO DE HESSEN ALEMANIA Y EL ESTADO DE JALISCO MÉXICO

Martha Alicia Castañeda Vazquez¹, Hugo Castañeda Vazquez¹, Erika Patricia Salas Castañeda¹, Tobías Eisenberg², Wilfried Wolter², Carlos Bedolla Cedeño³

¹Laboratorio de Mastitis y Diagnóstico Molecular, CUCBA Universidad de Guadalajara

²Instituto Estatal de Investigaciones de Hessen, Alemania

³Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo México
arcoiris2565@hotmail.com

RESUMEN

Entre los principales problemas que ocasiona graves pérdidas económicas a la industria lechera se encuentra la mastitis bovina, causada principalmente por bacterias patógenas. Actualmente, la multiresistencia de cepas bacterianas ha llegado a ser un fuerte problema para la salud pública internacional por la ineficiencia en el tratamiento y la transmisión de enfermedades zoonóticas.

El objetivo del estudio fue conocer la resistencia microbiana de cepas aisladas en el estado de Hessen Alemania y el estado de Jalisco México. Se obtuvieron un total de 419 muestras de leche de bovino con técnica aséptica y se determinó los géneros y especies bacterianas con el análisis de proteínas por Maldi-Toff Proteómica en el Instituto de Investigaciones de Hessen, Alemania, Se evaluaron un total de 419 muestras, determinando 8 familias, 13 géneros y 24 especies bacterianas, a los cuales se les realizó la prueba de susceptibilidad a los antibióticos con el Thermo Scientific Multiskan EX. Se observaron valores elevados de resistencia frente a amoxicilina, ampicilina, penicilina G, eritromicina, oxacilina y cefazolina en las cepas de la familia *Enterobacteriaceae*, así como resistencia marcada de *Estafilococos* coagulasa positivos a ampicilina y penicilina G y resistencia a la eritromicina de *Streptococcus* esculina positivos y negativos. Concluimos haciendo notar la importancia de analizar la resistencia a los antimicrobianos de uso habitual en cada especie bacteriana causante de mastitis en bovinos y así obtener resultados satisfactorios al tratamiento y disminuir la incidencia de enfermedades transmisibles por la leche.

INTRODUCCION

Los antibióticos constituyen unos de los principales métodos terapéuticos utilizados en el control y erradicación de enfermedades infecciosas de origen bacteriano.

Las bacterias adquieren resistencia a antimicrobianos de una misma familia o con diferentes estructuras y mecanismos de acción. El uso indiscriminado de los fármacos ha inducido la aparición de microorganismos patógenos multiresistentes, ocasionando en algunos casos, fracaso en el tratamiento que puede llevar a la muerte del paciente (B. San Martin, 1991, 2001).

Se ha demostrado que cada vez son menos las barreras para la transferencia de genes de resistencia entre microorganismos patógenos, incluso entre bacterias de géneros y familias diferentes, así como también para la transferencia horizontal de bacterias resistentes de los animales al hombre y viceversa (Heisig y col., 1995; Molbak y col., 1999).

Entre los principales problemas que ocasionan graves pérdidas económicas a la industria lechera se encuentra la mastitis bovina. La mastitis es una inflamación de la glándula mamaria que se produce como respuesta al daño causado principalmente por bacterias patógenas y sus toxinas, productos químicos, traumas, temperaturas extremas, etc.

Estas pérdidas se estiman en base a la disminución en la producción de leche (en vacas con mastitis clínica puede llegar a un 14%), deterioro en la calidad de la leche y sus subproductos, así como los costos relacionados por eliminación prematura de vacas con mastitis crónica y reemplazo de las mismas, costos de la terapia medicamentosa, honorarios de atención por médicos veterinarios y pérdidas por eliminación de leche contaminada con antimicrobianos u otros químicos por el tratamiento de la ubre.

Además de los altos costos financieros para el ganadero, la mastitis tiene una gran importancia en el valor higiénico de la leche y de sus subproductos debido a que algunos agentes causales de mastitis son patógenos en humanos, lo que favorece a la transmisión de enfermedades zoonóticas tales como Intoxicación alimentaria, Brucelosis, Listeriosis, tuberculosis intestinal, entre otras.

Así pues el consumidor exige que la leche provenga de animales sanos. (Calvinho 2005, Castañeda 2004).

Los agentes patógenos de la mastitis han sido clasificados en dos grandes grupos debido a sus diferentes propiedades:

Grupo 1: Agentes patógenos asociados a las vacas (Mastitis Infecciosa).

Grupo 2: Agentes patógenos asociados al medio ambiente (Mastitis Ambiental).

La gran mayoría de los casos de mastitis infecciosa, se debe a la penetración de microorganismos, generalmente bacterias (Scaramelli 2005), como *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* (Castañeda 2004), estos se transmiten más fácilmente durante la ordeña por que el principal reservorio es la glándula infectada, en cambio, las infecciones por patógenos ambientales como *E. coli*, *Klebsiella spp*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae* y *Pseudomonas*, son más frecuentes en los períodos de interordeña, especialmente en animales estabulados, debido a que los pezones se contaminan ya sea por contacto directo con las heces, por contacto con descargas vaginales, camas contaminadas, o por la lactación (Kruze 1998).

Para seleccionar adecuadamente un antimicrobiano, el médico veterinario no sólo necesita conocer el agente etiológico involucrado, sino también su sensibilidad a los antibióticos. Dentro de los más utilizados en la mastitis, tanto en el ámbito internacional como nacional están los betalactámicos, cefalosporinas, tetraciclinas, macrólidos, aminoglucósidos y sulfonamidas (Watts y col., 1995).

Existen numerosas publicaciones internacionales en el ámbito de la producción animal, incluyendo al ganado lechero, que señalan la existencia de multiresistencia bacteriana, por lo que el objetivo del estudio fue conocer la resistencia microbiana de cepas aisladas en el estado de Hessen Alemania y el estado de Jalisco México.

MATERIAL Y METODOS

Las muestras de leche se obtuvieron de vacas con mastitis clínica y subclínica, provenientes de rebaños lecheros en el estado de Hessen Alemania y el estado de Jalisco México. Las muestras fueron recolectadas asépticamente de cuartos mamarios individuales en tubos estériles desechables con tapa de rosca de 15 ml de capacidad, siguiendo las recomendaciones del National Mastitis Council, USA (1990).

Para el aislamiento de los patógenos mamarios se siguieron normas internacionales estandarizadas, empleando agar sangre de borrego, y una vez inoculadas se mantuvieron en incubación a 37°C por 24 a 48hrs.

La identificación de los géneros y especies bacterianas se realizó con el análisis de proteínas por Maldi-Toff Proteómica en el Instituto Estatal de Investigaciones de Hessen, Alemania.

La determinación de la sensibilidad bacteriana a los antibióticos se realizó en el Instituto Estatal de Investigaciones de Hessen, Alemania, con el Thermo Scientific Multiskan EX, utilizando Ampicilina, Amoxicilina, Cefazolina, Cefoperazona, Cefquinom, Eritromicina, Kanamicina/Cefalexina, Oxacilina, Penicilina G y Pirlimicina.

RESULTADOS

Se evaluaron un total de 419 muestras, determinando 8 familias, 13 géneros y 24 especies bacterianas (cuadro 1).

La sensibilidad a los antibióticos en los patógenos aislados con mayor frecuencia como en las cepas de la familia *Enterobacteriaceae*, mostró valores elevados de resistencia frente a ampicilina (55%), Penicilina G, Eritromicina, Oxacilina y Pirlimicina (todas con el 100% de resistencia).

En el caso del Género *Streptococcus*, se evidenció la sensibilidad en el 100% hacia Ampicilina, Amoxicilina, Cefazolina, Cefoperazona, Cefquinom y Kanamicina/Cefalexina y del 95.5% hacia Oxacilina y Penicilina G.

Con el género *Staphylococcus*, la resistencia hacia Amoxicilina y Penicilina G fue del 50.6% y del 49% sensibilidad hacia Ampicilina.

CONCLUSIONES

Concluimos haciendo notar la importancia de analizar la resistencia a los antimicrobianos de uso habitual en cada especie bacteriana causante de mastitis en bovinos y así obtener resultados satisfactorios al tratamiento, control de la enfermedad y así disminuir la incidencia de enfermedades transmisibles por la leche.

CUADRO 1. Distribución de patógenos mamarios aislados de mastitis bovina

FAMILIA	GENERO	ESPECIE	TOTAL	%
1.Streptococcaceae	<i>Streptococcus</i>	<i>agalactiae</i>	1	
		<i>dysgalactiae</i>	9	
		<i>uberis</i>	35	
	<i>Lactococcus</i>	<i>garvieae</i>	2	
	<i>Streptococcus</i> esculina positivos	<i>sp</i>	21	
2.Enterobacteriaceae	<i>Citrobacter</i>	<i>Koseri</i>	1	
	<i>Enterobacter</i>	<i>cloacae</i>	1	

	<i>Escherichia</i>	<i>coli</i>	12	
	<i>Klebsiella</i>	<i>oxytoca</i>	1	
	<i>Klebsiella</i>	<i>pneumoniae</i>	5	
3- Costridiaceae	<i>Clostridium</i>	<i>perfringens</i>	1	
4-Corynebacteriaceae	<i>Corynebacterium</i>	<i>bovis</i>	2	
	<i>Corynebacterium</i>	<i>sp</i>	1	
5.Staphylococcaceae	<i>Staphylococcus</i>	Coagulasa negativo (penicilina positivo)	96	
	<i>Staphylococcus</i>	Coagulasa negativo (penicilina negativo)	41	
	<i>Staphylococcus</i>	Coagulasa negativo	1	
	<i>Staphylococcus</i>	<i>aureus</i>	5	
	<i>Staphylococcus</i>	<i>aureus</i> (penicilina negativo)	116	
	<i>Staphylococcus</i>	<i>aureus</i> (penicilina positivo)	24	
	<i>Staphylococcus</i>	<i>lentus</i> (penicilina positivo)	2	
	<i>Staphylococcus</i>	<i>simulans</i>	1	
	<i>Staphylococcus</i>	<i>simulans</i> (penicilina positivo)	1	
6- Enterococcaceae	<i>Enterococcus</i>	<i>Faecalis</i>	26	
	<i>Enterococcus</i>	<i>faecium</i>	6	
	<i>Enterococcus</i>	<i>saccharolyticus</i>	3	
	<i>Enterococcus</i>	<i>sp</i>	1	
7-Pasteurellaceae	<i>Pasteurella</i>	<i>multocida</i>	1	
8 Actinomycetaceae	<i>Trueperella (Arcanobacterium)</i>	<i>pyogenes</i>	3	

BIBLIOGRAFÍA

1. Calvino, L. F., Tirante, I.; Prevalencia de microorganismos patógenos de mastitis bovina y evolución del estado de salud de la glándula mamaria en Argentina en los últimos 25 años. *Revista FAVE sección ciencias veterinarias*, 2005, vol. 4, n°1, p. 29-40.
2. Castañeda, V. H., Wilfried, W., Kloppert, B. y Michael, Z. *Mastitis Bovina, Control Diagnostico y Tratamiento*. Editado por Universidad de Guadalajara. 1ª ed. Guadalajara Jalisco (México): Universidad de Guadalajara, 2004, ISBN 970270487-1.

3. Kruze, M. V.; La rutina de ordeño y su rol en los programas de control de mastitis bovina. *Arch. Med. Vet.* , 1998, vol. 30 n° 2, [consulta:10 junio 2009].
4. Heisig, P., B. Kratz, E. Halle, Y. Graser, M. Altwegg, W. Rabsch, J. P. Faber. 1995. Identification of DNA gyrase A mutations in ciprofloxacin-resistant isolates of *Salmonella typhimurium* from men and cattle in Germany. *Microb. Drug Res.* 1: 211-218.
5. Michael Zschöck, Amr El-Sayed, Nawara Eissa, Christoph Lämmler, Hugo Castañeda-Vazquez. Penicillin G and oxacillin resistance in *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine subclinical mastitis. *Vet. Méx.*, 42 (3) 2011.
6. Molbak, K., D. L. Baggesen, F. M. Aarestrup. 1999. An outbreak of multidrug-resistant, quinolone-resistant *Salmonella enterica* serotype typhimurium DT104. *New Engl. J. Med.* 341: 1420-1425.
7. San Martin, B., C. Borie, L. Zurich. 1991. Estudio de resistencia bacteriana frente a diferentes antibióticos utilizados en mastitis clínica bovina. *Monogr. Med. Vet.* 13: 49-52
8. San Martin, B., H. Cañon, D. Iragüen, S. Espinoza, J. Lillo. 2001. Depletion study of trimethoprim and sulphadiazine in milk and its relationship with mastitis pathogenic bacteria strains minimum inhibitory concentrations (MICs) in dairy cows. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 24: 1-6.
9. Scaramelli, A., Zuleima, G. Epizootiología y diagnóstico de la mastitis bovina. *Manual de Ganadería Doble Propósito. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Central de Venezuela, 2004, cap. 9, p. 328-334*
10. Watts, J. L., S. A. Salmon, R. S. Yancey, S. C. Nickerson, L. J. Weaver, C. Hoemberg, J. W. Pankey, L. K. Fox. 1995. Antimicrobial susceptibility of microorganisms isolated from the mammary glands of dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 78: 1637-1648.

Alteraciones en la calidad de carne de cerdo por la pérdida de proteína originada por el uso de diferentes técnicas de matanza

Gonzalo Palomares Calleja ^a, Elba Orozco Estrada ^a, Méndez Gómez Humarán María Concepción^a, Juana Elizabeth Elton Puente^a, Roxana Preciado Cortes^a, Ma. Del Carmen Salazar Piñón^a y Arturo Estrada Gonzalez^a.

^aUniversidad Autónoma De Querétaro. Facultad de Ciencias Naturales. Grupo Colegiado Alimentación, Sociedad y Salud. Av. de las Ciencias s/n Juriquilla, Delegación Santa Rosa Jáuregui, Querétaro, México. C.P. 76230, gpalomares@gmail.com

RESUMEN

El inadecuado aturdimiento y/o matanza de porcinos afecta directamente a la calidad de la carne tanto en los aspectos sensoriales como nutrimentales, lo cual acarrea pérdidas económicas significativas al presentarse carnes Pálidas Suaves y Exudativas (PSE), resultado del mal manejo *antemortem* de los cerdos. El presente trabajo se realizó en el periodo de enero – julio del 2013 con un total de 17 cerdos matados obteniendo 50 muestras; en 9 cerdos se utilizó una matanza libre de estrés, en los 8 restantes fue una técnica tradicional utilizada donde supone exposición a estrés, ya que es una técnica tardada. De la técnica con estrés el 82% resultaron PSE y tan solo el 11% con la técnica instantánea. Se realizaron diferentes pruebas como: capacidad de retención de agua (CRA), pérdida por oreo, pérdida de proteínas (técnica de Bradford) y aminoácidos esenciales en líquidos exudados, pH y nitrógeno (N₂) amoniacal para evaluar la calidad de carne. Se observó una pérdida mínima de aminoácidos en el líquido obtenido por el oreo de carne, no siendo significativa nutrimentalmente hablando, sin embargo se observó que por cada 100g de carne se pierden 2.34g de proteína, y 10.16% de peso en oreo. Esta pérdida tiene una implicación económica debido a que la canal perderá más peso y por ende representara un menor rendimiento, por ejemplo un cerdo de 100 kg da un rendimiento del 83%, lo cual equivale a 83kg, considerando que la pérdida por oreo en carne PSE es del 10.16% se perderían 8.4 kg, pudiendo venderse en \$80 pesos el kilo, se tiene una pérdida de \$672.00 por cada cerdo de 100 kg. En el lugar de estudio se destinan 4 cerdos a la semana para venta en su carnicería, dando esto una pérdida de \$2,688.00 por semana y al año \$139,776.00.

INTRODUCCIÓN

Durante muchos años la carne de cerdo fue considerada como un alimento poco nutritivo, “pesado” (porque anteriormente el valor del cerdo era estimado por la cantidad de grasa que este tenía, sin importar la calidad de su carne, esto ha cambiado gracias a que se han hecho modificaciones genéticas al animal para obtener carne magra) y en general, asociado con enfermedades como la cisticercosis o la triquinosis. Sin embargo, en los últimos 25 años la carne de cerdo ha reducido 31% el contenido de grasa, 14% en calorías y 10% en colesterol, producto del avance tecnológico en la porcicultura mundial. Además de proteínas de alto valor biológico, la carne es fuente importante de vitaminas del grupo B, en especial tiamina, niacina, vitamina B₂, B₆, B₁₂ y vitamina A, de algunos nutrimentos inorgánicos como hierro, cobre, zinc y selenio. El hierro de la carne tiene una alta biodisponibilidad, su deficiencia nutrimental es la más común del mundo. La carne no contribuye al aporte de hidratos de carbono para la dieta, tampoco aporta fibra, ni vitaminas C y K (Muñoz, 2010, FAO, 2012). La carne ha sido durante muchos años parte especial de la dieta y es el platillo principal en la mayoría de las culturas.

TEORÍA

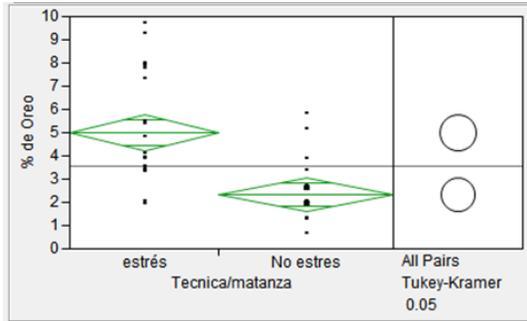
El bienestar animal se ha convertido en un tema de gran importancia en las fases de producción de las carnes, ya que se ve reflejado en su calidad, por lo que es motivo de gran preocupación dentro de la industria cárnica tanto para productores como para consumidores (Mirallas, 2007). El manejo del animal en la granja, el transporte, el manejo ante-mortem y post-mortem se debe realizar sin sufrimiento y estrés. Garantizando el bienestar del animal, se impide la aparición de carne PSE (Pálida, suave y exudativa). Esta carne mantiene un pH por debajo de 5.4 lo cual da lugar a desnaturalización de proteínas, pérdida excesiva de agua y con ella pérdida de proteínas (Bendall, 1973); esto se ve reflejado en una merma significativa de peso. El 56% de los animales en México son PSE, de acuerdo a la media de los siguientes trabajos. Alarcon *et al* (2005) encontraron que el 80% de las canales evaluadas eran PSE, Valadez *et al* (2013) encontraron que el 35% de las canales evaluadas eran PSE. Gomez *et al.* (2015) encontraron que el 72% de las canales evaluadas eran PSE y Palomares *et al.* (2015) encontraron que el 34% de las canales eran PSE. Además las características sensoriales de la carne se ven alteradas lo cual puede orillar al consumidor a no comprar esta carne por tener un aspecto diferente, lo que repercute en pérdidas para el carnicero (O'Neill *et al.*, 2003).

MÉTODO

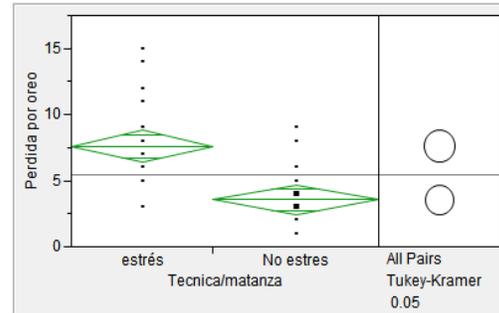
El estudio fue de tipo observacional transversal y se llevó a cabo en una unidad de producción en el estado de Michoacán, la cual se dedica a la engorda, matanza y comercialización de la carne de porcinos. Se realizó en el periodo de enero – julio del 2013 con un total de 17 animales los cuales se mataron bajo dos diferentes técnicas (con y sin estrés), en 9 cerdos se utilizó una matanza libre de estrés ya que fue instantánea y en los 8 restantes fue una técnica tradicional utilizada donde supone exposición a estrés, ya que es una técnica tardada. Los animales presentaron características en común como lo fueron edad de aproximadamente 5 meses y 15 días, con un peso aproximado de 90 kg. Todos cruzas de las razas Yorkshire con líneas terminales Promagro®. De estos animales se recolectaron 50 muestras, que fueron trozos de costilla tomados de la 10ma costilla y lomo (*Longissimus dorsi*), a las cuales se les realizó las siguientes pruebas: análisis de pH a las 24 horas, nitrógeno amoniacal por la técnica de Kjendahl, capacidad de retención de agua, perdida por goteo, porcentaje de oreo, aminograma y proteína por la técnica de Bradford. Para conocer la calidad de la carne de porcino bajo estas dos técnicas de matanza.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Porcentaje por oreo: Se obtuvieron un total de 27 muestras de la técnica de matanza sin estrés y 23 muestras de la técnica de matanza con estrés. Como se puede observar en la gráfica 1, las muestras obtenidas de la técnica con estrés (imagen 2), presentaron más perdidas por oreo, en promedio un 10.16% ,en comparación con las muestras de las técnicas sin estrés (imagen 1), que presentaron una media de 2% de pérdida, resultando ser estadísticamente diferentes con una $p = 0001$ (gráfica 3). Las perdidas consideradas como normal por el efecto de oreo de canal caliente a canal fría, se considera menor a 3.2% (Braña *et al.*, 2011). Esta pérdida tiene una implicación económica debido a que la canal perderá más peso y por ende representara un menor rendimiento, por ejemplo un cerdo de 100 kg da un rendimiento del 83%, lo cual equivale a 83kg, considerando que la pérdida por oreo en carne PSE es del 10.16% se perderían 8.4 kg, pudiendo venderse en \$80 pesos el kilo, se tiene una pérdida de \$672.00 por cada cerdo de 100 kg. En el lugar de estudio se destinan 4 cerdos a la semana para venta en su carnicería, dando esto una pérdida de \$2,688.00 por semana y al año \$139,776.00.



Gráfica 1. Porcentaje de oreo por técnica de matanza

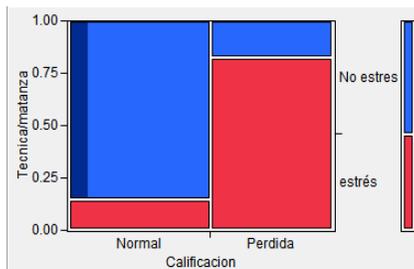


Gráfica 2. Perdida por oreo por técnica de matanza

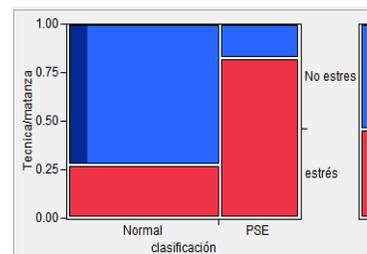
En la gráfica 2, se puede observar la pérdida por goteo expresada en gramos, siendo nuevamente evidente que la mayor pérdida de agua fue en las muestras provenientes de la técnica de matanza con estrés. Lo que se obtuvo de este escurrimiento se utilizó para identificar los aminoácidos presentes en este líquido, así como la determinación de proteínas por la técnica de Bardford.

Capacidad de retención de agua (CRA): De las 23 muestras con la técnica de matanza con estrés, 21 resultaron con pérdidas de agua arriba del rango normal y 2 de ellas en el rango normal (una pérdida menor del 6%). De las 27 muestras con la técnica de matanza sin estrés, 23 resultaron con una pérdida de agua dentro de los parámetros normales y 4 de ellas con pérdida por arriba del rango normal (gráfica 3). La bajada del pH, provoca la desnaturalización de las proteínas de la fibra muscular, por lo que el agua presente en esta se libera, este cambio estructural ocurre de manera frecuente en el proceso de conversión de musculo a carne; en cambio, en la carne que provienen de animales estresados antes de la matanza, este proceso se acelera, por lo cual la pérdida de agua es mayor.

pH a 24 horas: Se analizó el pH a las 24 horas *post mortem*, este tiempo se decidió ya que en el lugar de procedencia de la carne, es el tiempo cuando se vende al público. De las 23 muestras de la técnica de matanza con estrés, 14 resultaron con un pH menor de 5.6 lo que corresponde a una carne PSE, representando el 60.8% y 9 de ellas en el rango normal de pH de 5.7. De las 27 muestras de la técnica de matanza sin estrés, resultaron 3 con un pH abajo de 5.6 siendo PSE (11%) y 24 resultaron con un pH normal de 5.7 (gráfica 4). Con base a las líneas genéticas utilizadas para este estudio, se supone que tanto la raza Yorkshire y la línea terminal Promagro® llevan sangre de la raza Pietrain, la cual con base a varios estudios se sabe que presentan el gen halotano, reconocido como el gen del síndrome de estrés porcino, lo que pudiera dar un mayor número de carnes PSE.



Gráfica 3. Capacidad de Retención de Agua



Gráfica 4. pH a las 24 horas *post-mortem*

Aminograma: Se recolectó el líquido de 12 muestras obtenido del análisis de la técnica por goteo, que correspondieron a la técnica de matanza con estrés, las 11 restantes de esta técnica no se recolectaron, debido a que no era suficiente el contenido del líquido, para llevar a cabo la técnica de Bradford y aminograma. El resto de las muestras (27) de técnica sin estrés, no se recolectaron, ya que no presentaron líquido de oreo.

En el cuadro 1 se puede observar que se pierden aminoácidos esenciales en el líquido de oreo de la carne de cerdo. Los aminoácidos que más se pierden son la Histidina y Arginina, esenciales durante la niñez, la mayor fuente se encuentra en alimentos de origen animal. Se pierde un 10% en el exudado de la carne PSE pudiendo generar en los infantes problemas de audición, déficit de desarrollo y crecimiento, por una deficiencia del consumo de este aminoácido en la dieta. Aunque el promedio del resto de los aminoácidos es de 4.7% es una pérdida innecesaria y que se evitaría con una matanza que garantice el no sufrimiento del animal durante todo el proceso *ante-mortem*.

Cuadro 1. Comparación de promedio de aminoácidos en carne de cerdo vs los aminoácidos del exudado

Aminoácido	Promedio de exudados en %	Promedio en carne de cerdo semigrasa mg*	Cantidad de mg por cada 10.16% de exudado	Cantidad que se pierde en una carne PSE en %
Ac. Aspartico	0.85	1664	86.3600	5.190
Ác. Glutámico	1.06	2676	107.6960	4.025
Serina	0.33	763	33.5280	4.394
Histidina	0.71	677	72.1360	10.655
Glicina	0.49	977	49.7840	5.096
Treonina	0.38	857	38.6080	4.505
Arginina	0.98	1046	99.5680	9.519
Alanina	0.56	1055	56.8960	5.393
Tirosina	0.31	712	31.4960	4.424
Valina	0.54	977	54.8640	5.616
Fenilalanina	0.29	669	29.4640	4.404
Isoleucina	0.47	866	47.7520	5.514
Leucina	0.52	1321	52.8320	3.999
Lisina	0.7	1509	71.1200	4.713

-aminoácidos esenciales, -aminoácidos esenciales en la niñez *Díaz, 2010.

Proteína de Bradford: Se determinó la cantidad de proteína contenida en el líquido de oreo, obtenido de las muestras con estrés. Se encontró un promedio de proteína 234 mg/ml. Considerando que la pérdida de proteínas por cada 100g de carne darían un total de 2.34g, en un kg de carne serían 23.4g. Considerando que el consumo per cápita de carne de cerdo en México es de 15.7 kg al año, esto supondría que el consumidor, come 8.8 kg de carne proveniente de canales PSE (considerando el 56% reportado en estudio anteriores), al año 206g de proteína se perdería por la carne proveniente de los 8.8 kg de canales PSE, que si se convierte en carne serían 891g no consumida. Suponiendo que somos 112,337,000 de mexicanos (INEGI, 2010), habría una pérdida de 231,414,222 kg de proteína al año. Para conocer la pérdida exacta de proteína en consumo, utilizamos el método de equivalentes que consiste en dividir los alimentos por nutrimento principal en porciones; el sistema de equivalentes desglosa la carne por 30gr con un contenido de 7g de proteína, 5-7g de grasa (que varía por tipo de corte) y 0g de hidratos de carbono. Por ejemplo 30g de carne PSE aportarían 6.29g de proteína, lo cual nos da una diferencia de 0.710g contra una normal, por cada equivalente. El consumo de carne PSE en nuestro país es de 8.8kg por habitante al año (56% del consumo per cápita), lo cual serían 293.3 equivalentes, si esto lo multiplicamos por la pérdida de proteína nos da 208g de proteína no consumida al año; la cual si la convertimos a carne serían 891g.

CONCLUSIONES

La matanza inadecuada de porcinos afecta la calidad de la carne, produciendo carnes PSE, lo que conlleva a pérdidas económicas para el carnicero (\$672.00 por cada cerdo de 100 kg), ya que se pierde líquido por goteo, hasta en más de un 10.16%, teniendo rendimientos menores ya que de un cerdo de 100kg se pierden 8.4kg por goteo. Si se considera que al año en México se matan 21,249,287 cerdos, si a estos le sacamos el 56% PSE (media de estudios), 11,899,600 cerdos resultan carne PSE. Considerando que la media de pérdida por oreo en carne PSE de nuestro estudio fue de 10.16% del total de canales PSE en México el peso perdido equivaldría a aproximadamente 1,209, 000 cerdos con lo que podrías alimentar a 4,110,600 personas en un año, considerando el consumo per cápita de 15.7 kg al año por mexicano. Todos estos efectos negativos sobre la calidad de la carne, se evitaría si la matanza de los animales es llevada sin estrés, ya que de esta manera, la canal no tiene una abrupta baja del pH, y por lo tanto la conversión de músculo a carne se lleva sin la desnaturalización de las proteínas de la fibra muscular, y por ende no se libera agua en el tiempo de oreo. Es importante fomentar que las matanzas ya no sean llevadas a cabo por matanzas clandestinas y fuera de normatividad. Después de este estudio esta unidad de producción lleva sus animales al rastro municipal.

BIBLIOGRAFÍA

1. Muñoz C. M. (2010). Composición de alimentos. Mc Graw Hill. México. Pp. 98-109.
2. Bendall, J.R. (1973). Post-mortem changes in muscle. En. The structure and function of muscle. Vol. 2, part 2. 2nd ed. G.H. Bourne ed. Academia Press, New York. NY. Pp. 244-309
3. Alarcón R.A., Duarte A.J., Rodríguez A. F. y Janacua V.H. (2005). Incidencia de carne Pálida- Suave-Exudativa (PSE) y oscura-firme-seca (DFD) en cerdos sacrificados en la región del Bajío en México. Técnica pecuaria en México 43 (3) Pp.335-346
4. Braña V.D., Ramírez R.E., Rubio L.M., Sánchez E.A., Torrescano U.G., Arenas M.M., Partida P.A., Ponce A. Ed., y Ríos R.F. (2011). Manual de análisis de calidad en muestras de carne. INIFAP, SAGARPA. Folleto Técnico 11. Pp. 13-20.
5. Diaz G.D. (2010). Los aminoácidos y donde encontrarlos. Vitónica, Alimentación Deporte y salud. En línea: <http://www.vitonica.com/alimentos-funcionales/los-aminoacidos-y-donde-encontrarlos-v>

Paquete tecnológico para el cultivo orgánico de acelga arcoíris *Beta vulgaris* var. *Brightlights* y coliflor *Brassica oleraceae* var. *Botrytis*

Eduardo Villada ^a, Ma. Socorro Orozco ^b

Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM., Unidad de investigación en Ecología Vegetal.
Ccentro de capacitación en agricultura urbana ecológica "Chímalxochipan" México, D.F.,
eddie_villada@Hotmail.com

RESUMEN

La agricultura orgánica es un sistema de producción que utiliza al máximo los recursos de la finca, dándole énfasis a la fertilidad del suelo y la actividad biológica, sin utilizar fertilizantes y plaguicidas sintéticos que dañan el medio ambiente y la salud humana. El objetivo de este trabajo fue desarrollar dos paquetes tecnológicos para el cultivo de la acelga arcoíris y la coliflor. El estudio se desarrolló en el Centro de Agricultura Urbana Chímalxochipan, ubicado en el campo II de la FES ZARAGOZA. Ambos cultivos se sembraron inicialmente en almácigo y posteriormente se trasplantaron, en el caso de la acelga arcoíris a una cama biointensiva de 6 m² y la coliflor a bolsas de plástico negro calibre 600 de 35 X 35 cm, los dos a cielo abierto. En el caso de ambos cultivos, se biofertilizaron con abonos orgánicos elaborados *in situ* y con recursos naturales y locales, también se determinó la cantidad de luz requerida, el riego y la frecuencia de poda, esto último solo en el caso de la acelga. Las plagas se identificaron y se controlaron con biopreparados. Durante el desarrollo de los cultivos, se evaluó la altura, cobertura, tamaño de las hojas, tamaño de la pella, tiempo de cosecha, fenología, rendimiento e índice de cosecha. Los dos cultivos, llegaron a buen fin, la acelga maduró en 90 días y la coliflor en 85 días. El rendimiento fue de 0.889 kg/m² para la acelga y de 2.4 kg/m² para la coliflor. El costo de producción fue de \$643 pesos para la acelga y de \$600 pesos para la coliflor. El índice costo beneficio fue de 1.08 y de 1.11, respectivamente. Como conclusión, el cultivo orgánico de estas dos especies resulta rentable económicamente cuando se utilizan los insumos naturales óptimos para cubrir sus requerimientos nutricionales, así como de luz, agua y temperatura.

INTRODUCCIÓN

La agroecología es la alternativa más importante para ampliar tanto las fronteras actuales de la investigación agronómica en relación con sus fundamentos, métodos y técnicas, como sus perspectivas científicas y sociales. El enfoque agroecológico consiste en una estrategia de desarrollo tecnológico para las regiones agrícolas. Puede entenderse como una proposición cultural para explicar el papel social y ecológico del ser humano en los agroecosistemas. Este tipo de cultura no sólo aborda los procesos ideales de representación o reelaboración simbólica que utilizamos para relacionarnos con la naturaleza, y tampoco se centra de manera exclusiva en los objetos o bienes culturales de las sociedades del medio rural, sino que también se ocupa de los procesos de producción necesarios para comprender, representar y transmitir el conocimiento agroeconómico y la realidad agrícola (Torres *et al.*, 2012).

La agricultura orgánica debe entenderse como un sistema de producción de alimentos que conjuga los conocimientos empíricos tradicionales con los científicos modernos, busca una armonía y equidad en el uso de los recursos naturales, para evitar el uso de productos de síntesis química como los pesticidas, los fertilizantes y la no utilización de organismos genéticamente modificados.

- Los lineamientos básicos fundamentales en la certificación de la agricultura orgánica, son (Ruiz, 2012).
- :
- No usar agroquímicos sintéticos.
 - Mantener y mejorar la fertilidad natural del suelo a largo plazo.
 - Aumentar la biodiversidad (policultivos).
 - Producción buena, rentable y constante.
 - Manejar integralmente el área del cultivo, es decir la finca como sistema biológico.
 - Cero labranza.
 - Producir con base en la capacidad natural del suelo y no maximizar la producción, explotando al suelo.
 - Utilizar siempre que sea posible recursos renovables como fuentes de energía (solar, eólica, hídrica, etc.).

Las hortalizas son un conjunto de plantas cultivadas generalmente en huertas o regadíos, que se consumen como alimento, ya sea de forma cruda o cocida. El término hortaliza incluye a las verduras y a las legumbres verdes. Los principales tipos de hortalizas son: acelga, ajo, alcachofa, apio, berenjena, brócoli, calabacín, calabaza, cebolla, champiñón, chícharo, col, coliflor, endibia, escarola, espárrago, espinaca, haba, judía, lechuga, nabo, papa, pepino, perejil, pimiento, puerro, rábano, tomate y zanahoria (Rozano,2004).

La agronomía, efectivamente, considera a los sistemas de producción agrícola como su ámbito propio, es decir, detenta a un objeto de estudio que es altamente interdisciplinario. El abordaje de los problemas ambientales por parte de la investigación agronómica exige un nivel de construcción y reelaboración de las estructuras materiales y simbólicas que nos permite comprender, reproducir y transformar no sólo nuestro sistema social y productivo, sino también la naturaleza misma que sustenta las condiciones de vida. Esto significa cambiar nuestra cultura de hacer investigación científica en agronomía, lo cual no es posible sin haber asumido en nuestros esquemas de trabajo y en la vida cotidiana otro tipo de cultura: la ecológica (Torres, et al. 2012).

Por lo que el objetivo de este trabajo fue generar un paquete tecnológico para el cultivo orgánico de la acelga y la coliflor.

TEORÍA

Originaria de Europa, la acelga arcoíris tiene un ciclo vegetativo que varía entre 6 a 8 meses, dependiendo de la variedad y las condiciones de manejo. Sus hojas constituyen la parte comestible. Aunque esta especie no es de las más cultivadas, sí goza de una buena demanda en algunas regiones. Es una especie muy rústica. Soporta temperaturas muy bajas sin perder la calidad de sus hojas y también temperaturas hasta de 35 °C. Si bien es un cultivo que se siembra en una amplia gama de suelos, prefiere aquellos ricos en materia orgánica. Es una de las pocas verduras que resiste la salinidad (Goites, 2008) y contiene cantidades insignificantes de hidratos

de carbono, proteínas y grasas, dado que su mayor peso se lo debe a su elevado contenido en agua. Por ello resulta una verdura poco energética, aunque constituye un alimento rico en nutrientes reguladores, como ciertas vitaminas, sales minerales y fibra. Es una de las verduras más abundantes en folatos (vitamina que debe su nombre del latín folium, hoja), con cantidades sobresalientes de beta-caroteno (provitamina A) y discretas de vitamina C. Sus hojas verdes más externas son las más vitaminadas. (Durán, 2011).

La coliflor también es de origen europeo; la pella constituye la parte comestible. Necesita de un período de frío para que se forme la inflorescencia. La coliflor necesita un óptimo de 16-18 °C de temperatura para su crecimiento. La pella resiste las heladas según la cantidad de hojas que la recubran. Prefiere suelos bien abonados a base de compost, con buena retención de agua. Es un cultivo exigente en nutrientes (Goites, 2008). Es un vegetal con un elevado contenido en agua, lo que, acompañado del bajo contenido que presenta tanto de carbohidratos, proteínas y grasas, la convierte en un alimento de escaso aporte calórico. Se considera buena fuente de fibra, así como de vitaminas y minerales.

En relación con las vitaminas destaca la presencia de vitamina C, folatos y vitamina B6. También contiene otras vitaminas del grupo B, como la B1, B2 y B3, pero en menores cantidades (García, 2012).

La vitamina C tiene acción antioxidante, interviene en la formación de colágeno, huesos, dientes y glóbulos rojos, además de favorecer la absorción del hierro de los alimentos y mejorar las defensas frente a las infecciones.

Al igual que otros vegetales de la familia, contiene fitoquímicos, los cuales son sustancias naturales que se han relacionado con la prevención de algunos tipos de cáncer. Especialmente indicada para aquellos que necesitan una dieta baja en colesterol y sodio (Casaca, 2005).

PARTE EXPERIMENTAL

Las dos hortalizas se cultivaron a cielo abierto en un camas de cultivo de 6 m², las cuales previamente se trabajaron mediante el método de doble excavación (Jeavons, 2002), para facilitar el desarrollo radical. La acelga y la coliflor se sembraron en almácigo, la densidad de plantación para la acelga fue de 9 plantas por m² y para la coliflor de 6 plantas por m². Durante el desarrollo de ambos cultivos, se evaluaron las siguientes variables: altura, cobertura y supervivencia y al momento de la cosecha se midió: relación peso fresco y peso seco, índice de robustez e índice de cosecha. Así mismo se cuantificó el rendimiento y el índice costo/beneficio. También se evaluó el tiempo de cosecha bajo las condiciones locales de producción.

Durante el desarrollo, se evaluó la cantidad de luz necesaria para un buen rendimiento, la cantidad de riego y la frecuencia de biofertilización, el tipo de abonos orgánicos, así como las estrategias de manejo de plagas, de esta manera se generó el paquete tecnológico de producción orgánica.

Las dos hortalizas bajo estudio, se pueden cultivar por manejo agroecológico de manera exitosa, con un supervivencia mayor al 70%, de la siguiente manera: exposición directa al sol de 4 a 6 h; biofertilización quincenal con composta y microorganismos eficientes, aplicación de riego moderado (tres veces a la semana), y control de las plagas: mosca blanca, pulgones, trips y cochinillas, con caldo sulfocálcico y purín de ortiga aplicado de manera correctiva. El rendimiento fue de 0.889 kg/m² para la acelga y de 2.4 kg/m² para la coliflor. El costo de producción fue de \$643 pesos para la acelga y de \$600 pesos para la coliflor. El índice costo beneficio fue de 1.08 y de 1.11, respectivamente.

CONCLUSIONES

El cultivo orgánico de estas dos especies resulta rentable económicamente cuando se utilizan los insumos naturales óptimos para cubrir sus requerimientos nutricionales, así como la temperatura ambiental óptima.

BIBLIOGRAFÍA

1. R.F. Durán. "Seguridad Alimentaria cultivando hortalizas". Grupo Latino editores. Colombia, 2011, pp. 857.
2. D. Casaca. "El cultivo de la coliflor", Banco interamericano del desarrollo, Proyecto de modernización de los servicios de tecnología agrícola, PRMOSTA. Costa Rica, 2005, pp. 12.
3. J. Ruíz. "Desarrollo metodológico para establecer una granja orgánica". Universidad Nacional Autónoma de Chapingo. Primera edición. México, 2012, pp. 273.
4. P. A. Torres, J. G. Cruz y D. E. Dávila. "Agronomía e investigación". Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco. Segunda edición. México, 2012, pp. 213.
5. J. Jeavons. "El huerto sustentable, como obtener suelos saludables, productos sanos y abundantes". EU, 2007, pp 20-25
6. V. Rozano, C. Quiroz, J. Acosta, L. Pimentel y E. Quiñones. "Hortalizas, las llaves de la energía". Revista digital Universitaria.2004,pp. 2-30.
7. E. Goites. "Manual de cultivos para la huerta orgánica familiar". Instituto para la Inclusión Social y el Desarrollo Humano. Primera edición, Buenos Aires. 2008, pp. 136.
8. G. García. "Alimentos que ayudan a prevenir y combatir enfermedades". Palibrio. Primera edición, USA. 2012, pp. 262.

ANÁLISIS FTIR DE LA INCORPORACIÓN DE NANOESTRUCTURAS DE TiO₂ EN PELÍCULAS DE PROTEÍNA DE *Jatropha curcas* L.

Ling-fa Montiel-Juárez^a, M. Rojas-López^a, A.L. Martínez-Ayala^b, A. Orduña-Díaz^a, V.L. Gayou^a, R. Delgado-Macuil^a, O. Zaca-Moran^a, P. Zaca-Moran^c,

^a Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada-IPN, Tlaxcala, lmontielj1000@alumno.ipn.mx,

^b Centro de Desarrollo de Productos Bióticos-IPN Yauhtepec, Morelos.

^c Instituto de Ciencias-BUAP, Puebla.

RESUMEN

En los últimos años, los materiales plásticos de origen renovable, se han constituido como una opción para la gradual sustitución de los materiales plásticos de origen petroquímico. Así mismo, las proteínas, en especial aquellas obtenidas a partir de recursos agropecuarios renovables o subproductos industriales, han mostrado ser una alternativa viable para la generación de materiales renovables. En particular, *Jatropha curcas* L. es una planta multipropósito, cuya semilla es una buena fuente de proteína, siendo glutelina una de las fracciones proteínicas más abundantes de este recurso. Sin embargo la naturaleza misma de este recurso limita su aplicación en la práctica. Recientemente se ha reportado la maniobrabilidad y optimización de las propiedades mecánicas y de barrera de polímeros renovables a partir de la incorporación de elementos nanoestructurados en la matriz polimérica.

En el presente trabajo, se elaboraron películas poliméricas, a base de glutelina de *Jatropha curcas* L. con la inclusión de nanopartículas de dióxido de titanio (TiO₂), y también se realizó el análisis de éstas por espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), para evaluar la relación entre las propiedades vibracionales de las películas y la concentración del material nanoestructurado. Las películas se realizaron a partir de procesos casting; las soluciones formadoras de película, fueron realizadas a diferentes concentraciones de TiO₂ (0-5% w/w), a pH y concentración de proteína constante y empleando glicerol como plastificante (13%w/w). Las soluciones fueron secadas a 60°C durante 48 horas y puestas en desecador antes de su caracterización por espectroscopia. El análisis FTIR, mostro modos vibracionales en la región de 1029-1109 cm⁻¹, asociados a enlaces C-O de glicerol, el cual fue empleado como plastificante. Debido a la incorporación de TiO₂ en la película polimérica a diferentes concentraciones, se obtuvo una dependencia lineal de la intensidad del modo de vibración del enlace C-O de glicerol con respecto a la concentración del material nanoestructurado TiO₂.

INTRODUCCIÓN

Los materiales plásticos de origen petroquímico se han desarrollado desde finales de los años 1800 y principios de los 1900, sin embargo factores como el encarecimiento y reducción de los recursos petroquímicos, así como los problemas medioambientales derivados de sus procesos de producción y deposición final de los materiales han llevado a la necesidad de buscar recursos sustentables para el desarrollo de materiales eco-amigables (1, 2).

De esta forma, en años recientes ha aumentado el desarrollo de materiales biodegradables provenientes de recursos renovables, debido principalmente a las ventajas que ofrecen tanto en el manejo de sus propiedades mecánicas y de barrera, para su uso en diversas aplicaciones, así como por su rápida degradación por el medio ambiente (3,4). Además de lo anterior, los materiales

verdes, basados en proteína vegetal se han vuelto foco de investigación, debido a su capacidad formadora de películas y por su bajo costo, debido a que son obtenidas como subproductos en procesos agrícolas u hortícolas (5, 6). Se ha reportado también que la pasta obtenida de la semilla de *Jatropha curcas* L., tras procesos de extracción de aceite, presenta un contenido proteínico de 40-60%, siendo glutelina una de las fracciones proteínicas mayoritarias en la semilla. Por otro lado, a pesar de que los materiales de origen proteínico presentan excelentes propiedades de barrera a dióxido de carbono y oxígeno y así como buenas propiedades mecánicas, su funcionalidad se encuentra determinada por su microestructura, la cual varía dependiendo del recurso, el estado del mismo y la metodología empleada para la elaboración del material (7,8), su aplicación aun es limitada. Recientemente se ha reportado una nueva clase de materiales (bio-nanocompuestos de origen proteínico), cuya matriz involucra la inclusión de nano-estructuras para modificar las propiedades del material, probando ser una opción promisoría para la optimización de las propiedades mecánicas y de barrera en materiales elaborados a partir de recursos proteínicos. La espectroscopia infrarroja, es una técnica de análisis que durante muchos años se ha empleado para la caracterización de materiales químicos, cerámicos, recubrimientos y plásticos. En este último caso, provee información acerca de la condición estructural del polímero, así como de su morfología. El análisis infrarrojo, es una técnica adecuada para el estudio de materiales biodegradables, debido a que se trata de una técnica no destructiva, requiere un mínimo de muestra y los resultados permiten analizar las propiedades estructurales y la composición de las películas. En este trabajo se empleó la espectroscopia FTIR en películas elaboradas a partir de la fracción de glutelina, presente en la semilla de *Jatropha curcas* L. con inclusión de nanopartículas de TiO₂.

TEORÍA

Se ha reportado que la adición de nanopartículas orgánicas e inorgánicas a matrices poliméricas de fuentes proteínicas, producen efectos en el material nanocompuesto, tales como la regulación de la permeabilidad, el mejoramiento de la estabilidad térmica y de las propiedades mecánicas (9). Chen y Zhang en 2006, mencionan que el entendimiento de la interacción molecular y estructural en los nanocompuestos a base de proteínas, es esencial para la investigación y el desarrollo de los materiales elaborados a base de proteínas. Así mismo analizan la interacción de proteína aislada de soya con montmorillonita en películas elaboradas en medio acuoso por espectroscopia FTIR, el análisis mostro la existencia de enlaces por puente de hidrogeno entre los enlaces peptídicos de la proteína de soya y grupos polares como -OH y Si-O-Si de la superficie de la montmorillonita. Yun Wang y colaboradores en 2012, analizan la estructura de la proteína frente al contenido de nanoestructura en películas nanocompuestas de proteína aislada de soya, con dióxido de titanio por espectroscopia FTIR, de donde concluyen que la adición de nanopartículas de dióxido de titanio, no modifica la estructura básica de la proteína (10).

PARTE EXPERIMENTAL

Se prepararon películas de glutelina de *Jatropha curcas* L. nanocompuestas con inclusión de nanopartículas de dióxido de titanio (TiO₂) embebidas en la matriz polimérica formada. Las soluciones formadoras de película fueron preparadas bajo diferentes concentraciones de elemento nanoestructurado (0-5% w/w) y pH y concentración de proteína constante. En todos los casos las soluciones fueron secadas en horno por 48 horas a 60°C. Los materiales fueron analizados mediante FTIR para evaluar la relación entre las propiedades vibracionales y la concentración de nanopartículas.

La figura 1 muestra los espectros FTIR de las películas de glutelina con nanopartículas de dióxido de titanio, donde destacan principalmente bandas de absorción correspondientes a los enlaces C=O en 1634 cm⁻¹, así como al enlace N-H en 1554cm⁻¹ debidas a los grupos amida I y amida II

respectivamente de las proteínas. La señal en 1300 cm^{-1} se atribuye al enlace C-N del grupo amida III también de las proteínas. Se observan además bandas centradas en 2923 y 2850 cm^{-1} las cuales corresponden a vibraciones de extensión (stretching) de los enlaces C-H. Por otra parte, los espectros de las películas conservan las señales características de la molécula de glicerol, empleado como plastificante, alrededor de 800 cm^{-1} a 1050 cm^{-1} , región en donde se observan señales correspondientes a las vibraciones de los grupos C-C y C-O. En la región denominada huella dactilar, se muestran bandas en el intervalo de 850 y 995 cm^{-1} , las cuales se asignan vibraciones del enlace C-C del esqueleto del glicerol. Las señales en 1029 cm^{-1} están asociadas a las vibraciones correspondientes al enlace C-O de los carbonos C_1 y C_3 (carbonos extremos), mientras que la banda en 1109 cm^{-1} , se asocia al enlace C-O del carbono C_2 (carbono intermedio).

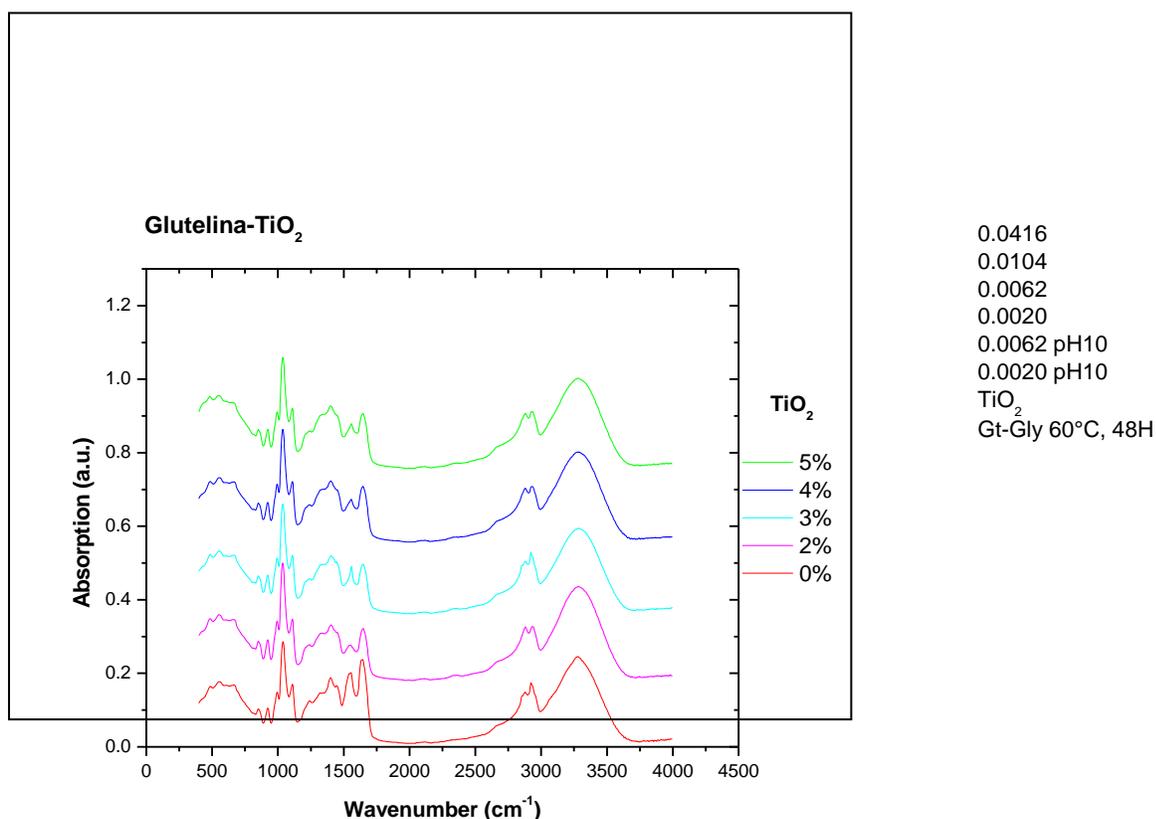


Figura 1. Espectros FTIR de películas de Glutelina-TiO₂.

La figura 2, muestra la intensidad del grupo C-O de los carbonos extremos, así como del intermedio; además del cociente de intensidades también del grupo C-O entre los carbonos intermedio y extremos de la molécula de glicerol, en la matriz polimérica. Se observa una dependencia creciente cuasi-lineal de la intensidad de absorción FTIR con la concentración de dióxido de titanio. De esta forma la absorción FTIR de estas películas nano-compuestas mostró una dependencia creciente y cuasi-lineal cuando se varía la concentración de dióxido de titanio, manteniéndose la concentración de proteína y pH constante.

El aumento observado en las intensidades FTIR absolutas, correspondiente a los carbonos terminales, sugiere una interacción inicial entre la molécula de glicerol con la proteína, el cual se va debilitando conforme aumenta la concentración de dióxido de titanio. Esto último puede derivar en cambios estructurales, lo cual puede contribuir a modular y controlar las propiedades mecánicas y de barrera de este tipo de películas nano-compuestas.

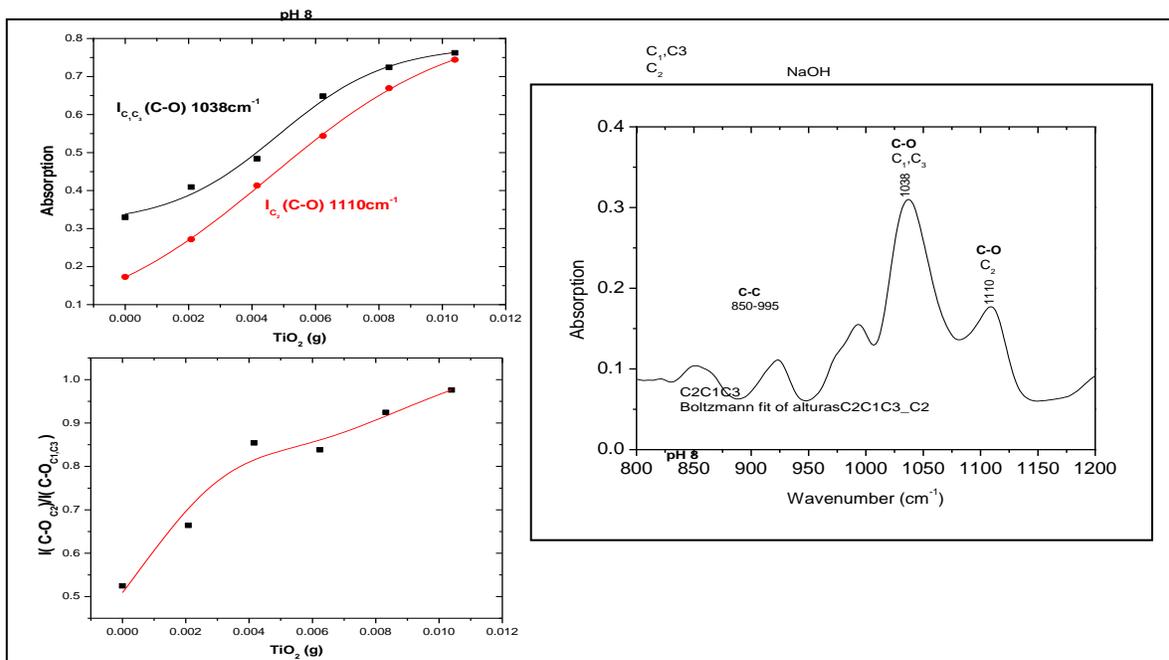


Figura 2. Intensidad y cociente de intensidades del enlace C-O de la molécula de glicerol en la película nano-compuesta.

CONCLUSIONES

El análisis FTIR realizado en películas nano-compuestas elaboradas a partir de glutelina de *Jatropha curcas* L. y glicerol, además de la adicción de nanopartículas de dióxido de titanio, permite inferir que la adicción de nanopartículas de TiO₂ genera un efecto anti plastificante de la matriz proteínica de glutelina con respecto a la que no contiene TiO₂. Así mismo, la relación $I(C-O)_{C_2} / I(C-O)_{C_1C_3}$, que se obtiene a partir de las intensidades de los modos de vibración de los enlaces C-O de la molécula de glicerol en la película en 1109 y 1039 cm⁻¹, muestra una dependencia creciente cuasi-lineal con la concentración de TiO₂. Esto sugiere una menor interacción entre la molécula de glicerol y la proteína conforme aumenta la concentración de dióxido de titanio.

BIBLIOGRAFÍA

1. J.A. Brydson, "The Historical Development of Plastics Materials," in *Plastics Materials* (Butterworth-Heinemann, London, England, 1999), Chapter 1, pp. 1-15.
2. A. Gennadios, V. M. Ghorpade, C. L. Waller, M. A. Hanna, Heat "Curing of Soy Protein Films," *Trans. ASAE*, Vol. 39, 2, 1996, pp. 575-579
3. P, Kumar., K.P. Sandeep, S. Alavi, V.D. Truong, R.E Gorga, "Preparation and characterization of bio-nanocomposite films based on soy protein isolate and montmorillonite using melt extrusion". *J. Food Eng.*, Vol. 100, 2010 480–489.
4. J-W. Rhim, S-I. Hong, and C-S. Ha, "Tensile, water vapor barrier and antimicrobial properties of PLA/nanoclay composite films". *LWT Food Sci Technol.*, Vol. 42, 2009, pp. 612–617.
5. P.Chen, L. Zhang, "Interaction and Properties of Highly Exfoliated Soy Protein/Montmorillonite Nanocomposites," *Biomacromolecules*, Vol 7, 2006, pp. 1700-1706.
6. J. R. V. Casparus, L. E. van den Berg, "Extrusion Processing and Properties of Protein-Based Thermoplastics," *Macromol. Mater. Eng.* Vol. 295, 2010, pp. 10–21.
7. M.E.L. Peralta, "Caracterización Bioquímica de las Proteínas de las semillas de *Jatropha curcas* L.," Tesis Maestría, Morelos, México, 2004, pp. 1-25.
8. A.N. Mauri, M.A. Añon, "Proteínas como envases alimentarios" en *Películas y recubrimientos comestibles: propiedades y aplicaciones en alimentos* (AM Editores, 2012), capítulo 4, pp. 95-124.
9. H. Zheng, F. Ai, M. Wei, J. Huang, P. R. Chang, "Thermoplastic Soy Protein Nanocomposites Reinforced by Carbon Nanotubes " *Macromol. Mater. Eng.*, Vol. 292, 2007, pp. 780–788.
10. Y.Wang, B.-B. Zhu, D.-Z. Li, X.-Z. Fu, L. Shi, "Preparation and characterization of TiO₂/SPI composite film," *Mater. Lett.* Vol. 83, 2012, pp. 42–45.

Determinación de patógenos gastrointestinales en becerros neonatos Holstein tratados con fermentos de *Saccharomyces cerevisiae*

Sonia Vazquez Flores¹, Consuelo Alexandra Tejas Yáñez¹, Stephany Barrera Almanza Barrera Almanza¹, Rodrigo Alberto Jiménez Moreno Jiménez Moreno¹, Lucía Karina Cornejo Peña¹ y Ma. del Refugio Amado Flores².

¹ESIABA-Tecnológico de Monterrey-Campus Querétaro, Querétaro, Qro. ² Universidad Autónoma de Querétaro svazquef@itesm.mxsvazquef@itesm.mx

RESUMEN

Tres de los patógenos más frecuentes de la etapa neonatal de becerros Holstein son 1) *E. coli* de mayor prevalencia asociado a diarrea en neonatos; 2) *Salmonella* spp. de los microorganismos más persistentes en el ambiente dentro de los hatos lecheros, causante de diarreas y neumonías; y 3) *Cryptosporidium* spp., zoonosis de relevancia mundial causante de enteritis en humanos y animales. *Campylobacter* spp., patógeno no identificado en ganado lechero en México, se agregó a este estudio para identificar su presencia y comportamiento, dado que es una importante zoonosis. Este estudio tuvo como objetivo determinar el efecto de fermentos de levadura sobre los patógenos más comunes aislados de becerras en lactancia. El experimento consistió en estudiar tres grupos de 20 hembras Holstein desde el nacimiento hasta 28 días. Recibieron tratamiento 1: fermentos de levadura (T1); tratamiento 2: manano-oligosacáridos (T2) y placebo (P) en calostro, leche y concentrado. Se realizaron pruebas microbiológicas ciegas para aislamiento, tinción y cuantificación en dos laboratorios. Los resultados arrojados por este estudio determinan la presencia de los cuatro patógenos desde el día 0 hasta el día 28. Las becerras del T1 presentaron en el día 10 de nacidos un diferencia significativa (valor $P > 0.05$) sobre T2 y P en cuanto a la presencia de *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. al analizarse por medio pruebas de Wilcoxon y comparaciones múltiples (Hsu). Las becerras sin diarrea representaron el 10%, 15% y 20% respectivamente para los T1, T2 y P, sin diferencias estadísticas. Una muestra de 9 animales por tratamiento identificó que entre los días 10 y 14 el T2 presentaron más oocistos de *Cryptosporidium* spp. que en el placebo y T1 (valor- $P > 0.05$) por ANOVA. Los días promedio de presencia de diarreas fueron 12.5 ± 6.95 . Los fermentos de levadura permiten un mejor control de las interacciones bacterianas y *Cryptosporidium* spp., entre los días 10 y 14 de vida periodo durante la mayor presencia de diarreas en las becerras, que representan los días de mayor riesgo en su vida productiva.

1. INTRODUCCIÓN

Las diarreas infecciosas son un problema común de morbilidad y mortalidad en neonatos, usualmente son producidas por cuadros complejos de patógenos relacionados a problemas gastrointestinales. Estos patógenos pueden estar predispuestos por factores como el manejo animal, una contaminación ambiental de patógenos y un deficiente desarrollo inmunológico a causa de un calostro con niveles bajos de inmunoglobulinas (Radostis, 2007).

Los patógenos relacionados a las diarreas infecciosas de relevancia en cuanto a costo de tratamiento profilácticos y terapéuticos e impacto en el establo lechero son cuatro: *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Cryptosporidium* spp. y *Campylobacter* spp.

Colibacilosis es una de las causas de mortalidad en recién nacidos (Rebhun, 1985), es producida principalmente por *Escherichia coli*, patógeno que destruye las microvellosidades del intestino delgado lo que resulta en la liberación de citotoxinas. Los principales signos que presentan son: deshidratación, debilidad, fiebre, semblante depresivo, aumento de la peristalsis, distensión abdominal, mucosa nasal y oral parece estar seca y un débil reflejo de succión (Foster, 2009). El diagnóstico clínico involucra la apariencia de la diarrea la cuál suele ser voluminosa, acuosa, heces de color verde, amarillo o blanco, algunas veces las heces presentan espuma (Rebhun, 1985). Los principales factores de riesgo que predisponen el patógeno es el estiércol de su madre al momento del parto y el ambiente de la maternidad (Foster, 2009).

La salmonelosis puede ser provocada por un estrés nutricional, transporte en malas condiciones, por contagio directo de la madre a los neonatos o por hacinamiento, es generada por *Salmonella* spp. (Kahn, 2007). Afecta principalmente el intestino delgado, el ciego y el colon. Suele aparecer a partir de los 7 y permanecer por el resto de su vida productiva. Los signos intestinales son: fiebre, diarrea y deshidratación. Las diarreas provocadas por este patógeno muestran manchas, coágulos de sangre o mucosa intestinal en las evacuaciones (Kahn, 2007). *Salmonella enteritica serovar typhimurium* es el patógeno más común relacionado a brotes de diarreas entéricas en becerros con menos de 60 días de vida ((Foster, 2009).

Campilobacteriosis es una importante causa de enteritis en los seres humanos, se ha relacionado con problemas reproductivos en ganado y considerada una importante zoonosis, principalmente transmitida por aves y perros (Smith & Smith, 2009). La principal vía de transmisión es oral para *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* a través de heces, descargas vaginales, fetos abortados y membranas fetales, semen, o factores de manejo animal como herramienta contaminada, ropa, entre otros. También existen vectores como roedores y moscas que lo transmiten. Las vacas y toros pueden ser portadores sanos. Las diarreas producidas por estos patógenos muestran diarreas voluminosas, con manchas ocasionales de sangre, mucosa, los becerros podrían presentar fiebres (Smith & Smith, 2009).

El estudio de *Cryptosporidium* es de gran relevancia ya que se trata de zoonosis mundial causante de enteritis en humanos y animales. Este parásito tiene la capacidad de infectar células epiteliales del tracto digestivo en todas las clases de vertebrados (Fayer y Xiao, 2007). Después de la esporulación de los ooquistes, las distintas etapas del parásito se unen a los bordes de las microvellosidades del hospedero. Usualmente, este parásito ha sido encontrado en asociación con diferentes microorganismos entéricos, pero en ocasiones, las excreciones de los ooquistes a través de las heces fecales no revelan la presencia de otro tipo de microorganismos con los cuales podría asociarse *Cryptosporium* (Angus et al., 1988). Debido al mecanismo propio de supervivencia del parásito, los ooquistes pueden estar dispersos en el ambiente por largos periodos de tiempo, siendo resistentes a diferentes tipos de estrés así como desinfectantes químicos.

La infección en animales comienza con la ingestión o inhalación de los ooquistes, siendo el intestino delgado el sitio primario de la infección, la cual es causante de mala absorción y diarrea en los becerros neonatos (Fayer y Xiao, 2007).

Las diarreas son uno de los factores que impide un buen desarrollo de los becerros neonatos y los hace susceptible a enfermedades durante su crecimiento que se ven reflejados en su producción en la etapa adulta. Es por esto, que este el siguiente proyecto tiene como objetivo ofrecer una alternativa para el control de los patógenos gastrointestinales que están presentes en becerros neonatos Holstein tratados con fermentos de *Saccharomyces cerevisiae*.

METODOLOGÍA

Se realizaron dos estudios simultáneos en dos establos lecheros en diferente sitio, con características similares en cuanto a número de animales estudiados y la dieta. Los grupos de estudio fueron conformados por 20 becerros, que se asignaron aleatoriamente al grupo de estudio conforme el orden de nacimiento: en el Sitio 1 se compararon tres grupos: Tratamiento 1, Tratamiento 2 y Placebo; en el Sitio 2 se analizaron dos grupos Tratamiento 1 y Placebo. El criterio de inclusión fue becerros de raza Holstein, recién nacidas con pesos entre 35 y 45 kg. sin malformaciones, ni provenientes de distocias. A cada becerro se le tomaron muestras de heces que fueron analizadas en un laboratorio de Microbiología privado en un estudio ciego, y otro grupo en el laboratorio de Diagnóstico Molecular del Tecnológico de Monterrey campus Querétaro. Al primero, se enviaron tres muestras de cada animal colectadas en medio de Stuart (días 1, 10, 28). Se realizó aislamiento y cuantificación de *E. coli*, *Salmonella* spp., y *Campylobacter* spp.. Al segundo cinco muestras (días 1, 7, 10, 14 y 28) durante su primer mes de edad. En el segundo laboratorio se realizaron pruebas parasitológicas de tinción y cuantificación, esta última por medio del sistema modificado de Arrowood & Sterling utilizando solución Sheather's y conteo en microscopio con cámara de Neubauer objetivo 40x. El estudio fue doblemente ciego, para las personas que ofrecieron los productos a los becerros así como para el personal del laboratorio.

RESULTADOS

Para analizar la información se hicieron tablas de Excel que permitieran ver la información de manera clara y puntual. La Tabla 1 muestra la cantidad de casos de diarreas relacionadas con patógenos como *E.coli*, *Salmonella* y *Campylobacter* y el número de diarreas detectadas como infecciosas tanto en el sitio 1 y 2. En la Tabla 2 se muestran los resultados del estudio estadístico de las relaciones de patógenos encontradas en ambos sitios, el índice de correlación positivo indica que existe un efecto directo de un patógeno sobre el otro y viceversa.

Tratamiento	# de casos por patógenos por tratamiento		# de diarreas por tratamiento	
	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 1	Sitio 2
Sitios de estudio	<i>Sitio 1</i>	<i>Sitio 2</i>	<i>Sitio 1</i>	<i>Sitio 2</i>
Tratamiento 1	52	51	8	10
Placebo	54	53	10	6
Tratamiento 2		60		10

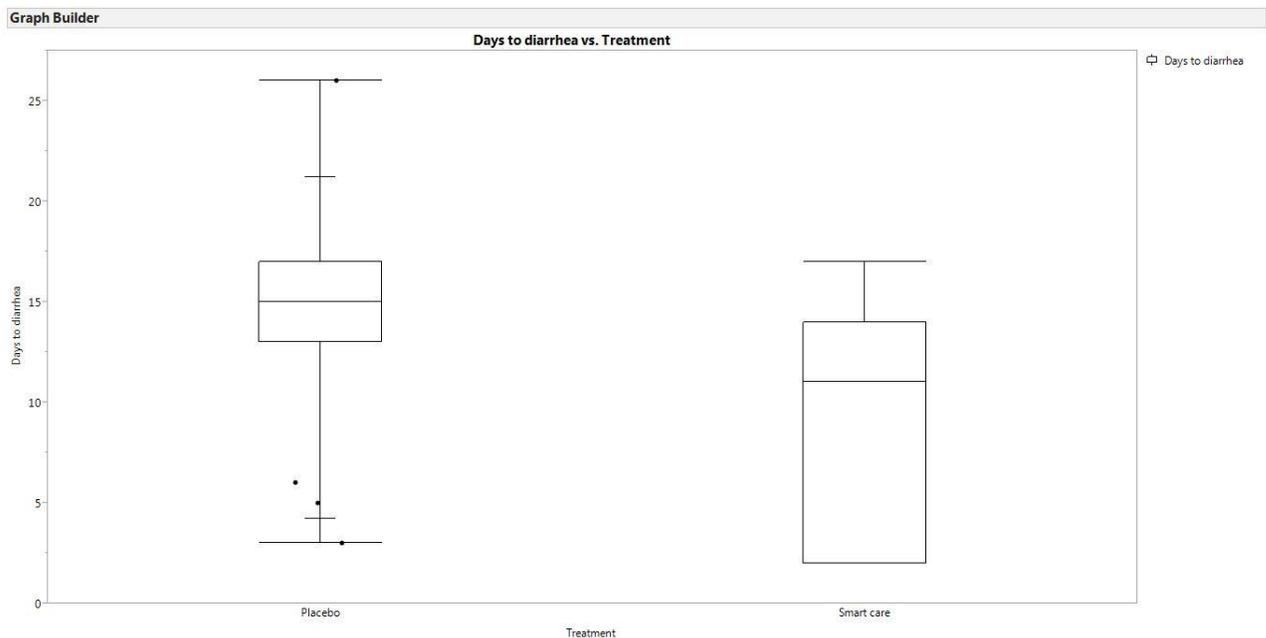
Tabla 1. Comparación de los dos sitios en cuanto al número de casos detectados de diarreas infecciosas y el número de casos registrados de actividad patogénica.

Tabla 2. Principales relaciones de patógenos con un índice de correlación positivo

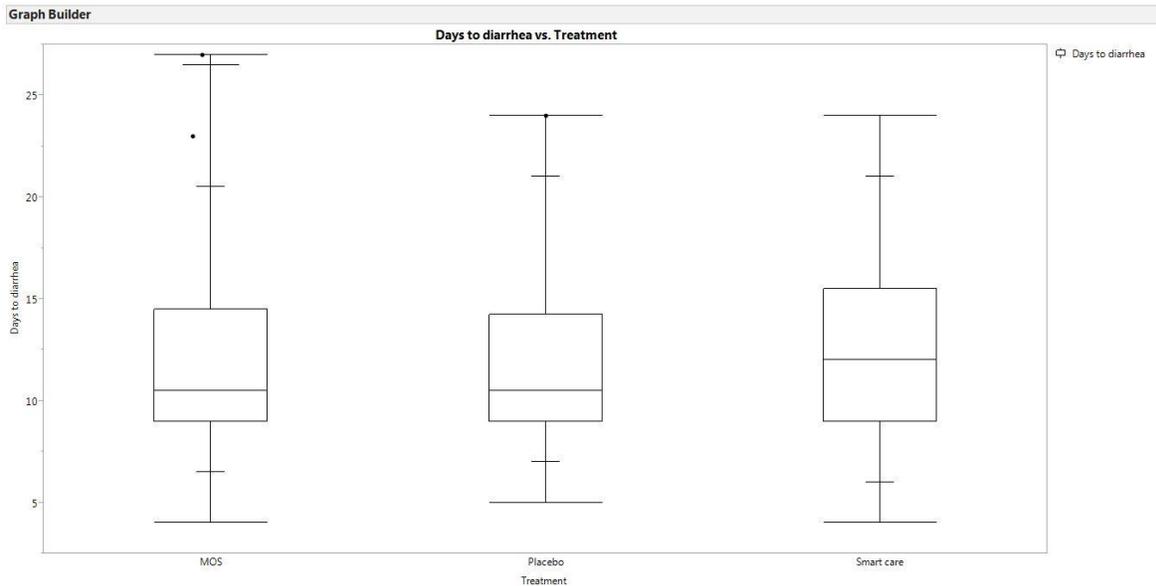
Relación de patógenos	Sitio de estudio	Índice de Correlación
<i>E.coli- Klebsiella</i>	Sitio 1	+0.10200
<i>Klebsiella- E. coli</i>	Sitio 2	+0.18890
<i>Klebsiella- Salmonela</i>	Sitio 1	+0.39679
<i>Salmonella - E. Coli</i>	Sitio 1	+0.40600
<i>Campylobacter- Salmonella</i>	Sitio2	+0.69330

Se realizaron gráficos de caja con la finalidad de visualizar el conjunto de datos obtenidos por tratamiento y sitio respecto al número de días que duraban las diarreas con la finalidad de conocer la dinámica de los patógenos en cada uno de los sitios y los tratamientos. La Gráfica 1. Muestra los días de diarrea en el Sitio 1, como se puede observar el tratamiento P muestra al menos 3 valores atípicos lo que indica que los 3 de los animales con diarreas presentaron una variación significativa en los días de diarrea respecto al número de animales total que presentaron días promedio. Por su parte T1, presenta un gráfico donde los datos son dispersos ya que sus cuartiles son diferentes comparados con su media lo que indica que el tratamiento presento variabilidad en los días de diarrea.

Gráfica 1. Días para la aparición de las diarreas en el Sitio 1



Gráfica 2. Días para la aparición de las diarreas en el Sitio 2

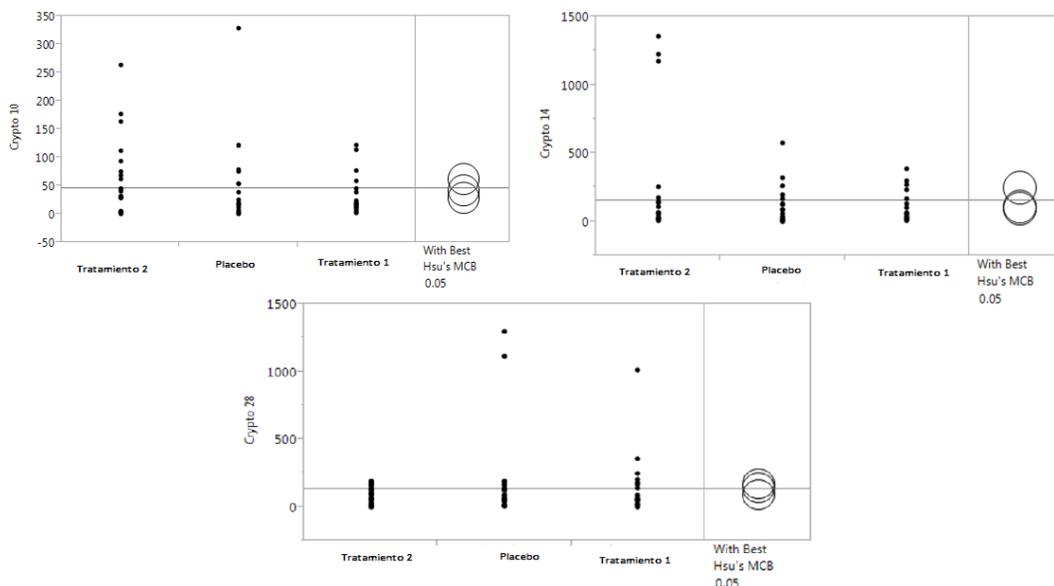


Respecto al sitio 2, se puede observar en la Gráfica 2 que en los tres tratamientos evaluados que el número de días en diarreas en los becerros Holstein es variable, pues los tres gráficos presentan cuartiles asimétricos sin embargo, el T2 presenta puntos atípicos e índices máximos y mínimos más altos comparados con P y T1 lo que indica que la duración de días en diarrea para este tratamiento podría ser mayor a su promedio y al de los otros tratamientos. Respecto a P vs T1, se puede observar que T1 tiene cuartiles asimétricos y que sus mínimos y máximos superan al P, lo que indica que T1 presentan un mayor tiempo de duración de las diarreas en becerros Holstein respecto al P y un menor respecto a T2.

Los días en diarrea para el Sitio 1 fueron 12.5 ± 6.95 , mientras que para el Sitio 2 fueron 12.72 ± 5.97 , esto indica una similitud en los días en que la diarrea es más frecuente y los tiempos en donde los patógenos deben controlarse más para no causar un mayor detrimento en la salud y productividad de los becerros, puesto que está relacionado con la edad donde estos animales empiezan a producir su propia inmunidad puesto que la inmunidad pasiva recibida por el calostro está en su punto más bajo en el torrente sanguíneo.

Para el estudio de *Cryptosporidium* spp. Se identificó una presencia del 100% en ambos sitios de estudio. En la gráfica 3 para el Sitio 1 se muestra como hay un número menor de oocistos para el Tratamiento 1 en los días 10 y 14 de vida del becerros, lo que indica que no está contribuyendo a las diarreas, en un comportamiento similar a *Salmonella* y *Campylobacter* spp. Para el Sitio 2 no se identificó ninguna diferencia por grupo en este mismo periodo. Para el día 28 hay un repunte de producción de oocistos, en el momento que ya no es detrimental para la salud del becerro.

Gráfica 3. Comportamiento del número de oocistos excretados por *Cryptosporidium* spp en el Sitio 1.



4. CONCLUSIONES

Con la realización de este experimento se pudo determinar que los dos sitios de experimentación “Rancho Fuentezuelas” y “Rancho la bien aparecida” el uso de Fermentos de *Saccharomyces cerevisiae* tiene un impacto positivo en el número de casos detectados por diarrea causadas por algún patógeno.

En la tabla 1 se puede concluir que el uso del tratamiento 1 para los dos sitios de experimentación controla el número de casos por patógenos, mientras que el tratamiento 2 el cual solo se aplicó en el sitio 2 causó que una mayor cantidad de animales tuvieran una reincidencia ya que existe una mayor contaminación ambiental lo que causa esta alza en el número de casos. Por otro lado el uso del tratamiento 1 bajo el número de diarreas en el sitio 1 mientras que en el sitio 2 no se vio ninguna ventaja el número de diarreas es mayor a la cantidad presentados por P.

La tabla 2 dos presenta la correlación de patógenos más importantes durante la fase de neonatos en becerros Holstein. Con el análisis estadístico se puede concluir que las condiciones ambientales son favorables para la supervivencia en conjunto de estos patógenos. El índice de correlación nos indica lo antes señalado, cuando este se acerca más al 1 existe una mayor correlación entre los patógenos. El caso con una mayor correlación es *Campylobacter* & *Salmonella* el cual fue encontrado en el sitio 2 el índice de correlación de estos patógenos es de .6933, lo que nos quiere decir que posiblemente *Campylobacter* aparecerá donde esté presente *Salmonella* de igual forma que las condiciones para su desarrollo son muy similares y la relación de estos patógenos produzca diarrea en los neonatos en ambos sitios.

Los fermentos de levadura permiten un mejor control de las interacciones bacterianas y *Cryptosporidium* spp., entre los días 10 y 14 de vida periodo durante la mayor presencia de diarreas en las becerras, que representan los días de mayor riesgo en su vida productiva.

La gráfica 1 presenta días en diarrea que se presentaron en el sitio 1 dependiendo del tratamiento que se aplicó a los becerros se puede ver que en el caso de P presenta cuartiles mejor distribuidos y cercanos a la media aunque se tengan algunas excepciones, lo que indica que los días en diarrea de los animales que recibieron este tratamiento estaban cercanos a la media del tratamiento lo que nos da indicios que el comportamiento de los patógenos en este tratamiento es continuo y no sufre cambios bruscos de control. Por su parte el T1 los datos están más dispersos que en el primer caso lo cual quiere decir que los cuartiles están más dispersos a la media lo que causa una variación en los días en diarrea.

La gráfica 2, presenta claramente la diferencia de la duración de las diarreas en los neonatos durante los 28 días, como se puede observar, T2 comparado con P, presentan mayores días de duración de las diarreas y puntos atípicos lo que indican que existen animales con un menor número de días en diarrea comparado con su media y también animales con mayores días de duración comparado con su media que se acerca a los 15 días. Respecto a T1 y P, se muestra que T1 presentó animales con diarreas que superaron su media que se acerca a 16 días, sin embargo sus valores máximos son menores comparados con T2 que llegó a presentar un caso de diarrea superior a los 25 días. En conclusión T1 y T2 presentan casos de diarrea infecciosa con mayor duración comparados con P, sin embargo de ambos tratamientos, T1 presentan menores días de duración respecto a T2.

En la producción lechera uno de los factores que más influye tanto en costo de producción como en la proyección de la producción es la capacidad del establo y su personal de generar becerros de reemplazo inmunológicamente fuertes (Radostis, Clive, Kenneth & Constable, 2007). Es por esto que el manejo animal y la calidad de calostro y el ambiente podrían estar relacionados con los problemas de patógenos en ambos lados lo que debe seguir siendo estudiado pues podrían presentarse casos de zoonosis o epidemias de patógenos que podrían acabar con el sector. Estos factores si fueron estudiados, sin embargo, dicha información no fue incluida en este documento. Los fermentos de levadura permiten un mejor control de las interacciones entre *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. y *Cryptosporidium* spp., entre los días 10 y 14 de vida periodo durante la mayor presencia de diarreas en las becerros, que representan los días de mayor riesgo en su vida productiva.

BIBLIOGRAFÍA

- Trotz-Williams, L. A., A. S. Peregrine, and K. E. Leslie. "Cryptosporidiosis in dairy calves: risk factors, diagnosis, and zoonotic potential." *Large Animal Veterinary Rounds* 7.4 (2007): 1-6.
- Foster, D.M. and Smith G. (2009) Pathophysiology of Diarrhea in Calves. In *Bovine Neonatology. Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, Volume 25, Issue 1, 13 - 36
- Fayer, R., & Xiao, L. (Eds.). (2007). *General Biology Chapter 1. at Cryptosporidium and cryptosporidiosis.* page 1-2 CRC press.
- Arrowood, M. J., & Sterling, C. R. (1987). Isolation of *Cryptosporidium* oocysts and sporozoites using discontinuous sucrose and isopycnic Percoll gradients. *The Journal of parasitology*, 314-319.
- Rebhun, W. (1985). *Enfermedades del Ganado Vacuno Lechero*. España: Acribia.
- Kahn, C. (2007). *Manual Merck de veterinaria Volumen 1*. México:Océano.

Geof W. Smith, D. M. (2009). Veterinary clinics of North America, food Animal Practice Bovine Neonatology .pp 37-38 Philadelphia: Guest Editor.
The Center for Food Security and Public Health and the Institute for International Cooperation in Annual Biologics (2013). Zoonotic Campylobacteriosis. Recuperado de <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/campylobacteriosis.pdf>

Radostis, O., Gay, C., Hinchcliff, K. and P. Constable. (2007). Veterinary Medicine. 10a Ed. Pp 146-160, 896-897,847-854, 1085,754-756, 775-777,1081-1082, 1265-1266, 260-265. China: Saunders Elsevier.

Gil, F.(2010). Fase preliminar de un proyecto de investigación. Scielo España. Recuperado de <http://scielo.isciii.es/pdf/albacete/v3n1/especial2.pdf>

TENDENCIA DEL COLOR EN DISOLUCIONES DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE ÁCIDO CARMÍNICO

Gabriela Arroyo Figueroa; ^aAna Karen Alejo Carmona; ^aCarlos Hernán Herrera Méndez; ^aLorena Vargas Rodríguez.

Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Campus Celaya-Salvatierra, Universidad de Guanajuato. gabiaf@yahoo.com.mx,

RESUMEN

Cada vez más industrias están volviendo al empleo de colorantes naturales, entre los que se encuentran la grana cochinilla, insecto que se alimenta del nopal. El componente principal del colorante natural obtenido del insecto mencionado es el ácido carmínico, para obtener la concentración de este componente se siguen diversos métodos. Por lo que el objetivo de este trabajo fue analizar la tendencia del color en la escala Cie-Lab de disoluciones de diferentes concentraciones de ácido carmínico. Para lo cual se empleó un reactivo Estándar, del que se pesaron y colocaron 0.025g en un tubo de vidrio con tapa, además de 7.5 ml de HCl, en solución 2N, mezcla que se sometió temperatura en baño María durante 30 minutos, tras los cuales se aforó a 250 ml con agua desionizada. La disolución obtenida se filtro usando papel filtro No. 2. A partir de la disolución obtenida, se elaboraron nueve disoluciones secundarias, con tres replicas cada una. A las que se midió el color por medio de un colorímetro en la escala Cie-Lab, registrándose los valores con respecto a la concentración de cada disolución. Con lo que se obtuvieron tres graficas de L, a y b con respecto a la concentración de ácido carmínico, en donde se pudo observar una tendencia lineal entre cada uno de los parámetros. Esto es indicio de que la medición del color en una disolución, puede aportar el valor del ácido carmínico, como es el caso de una muestra del insecto grana cochinilla seca y molida.

INTRODUCCIÓN

El *Dactylopius coccus*, grana cochinilla, cochinilla del carmín o nocheztli, es un insecto originario de México y de los países andinos como Ecuador, Perú y Bolivia, que vive en los cladodios del nopal (Ortega, 2011). Esta especie es de interés por su capacidad para producir un colorante natural que muestra una amplia gama de colores, que va desde el anaranjado y rojo en medio ácido hasta violeta en medio básico. El componente principal del colorante natural obtenido de la grana cochinilla es el ácido carmínico (Ac), utilizado por la industria de alimentos, textiles, cosméticos y farmacéutica. El ácido carmínico se comercializa en forma de polvo rojo, oscuro y brillante, soluble en agua o en alcohol y en soluciones alcalinas, resistente al calor y a la oxidación química en comparación con los colorantes sintéticos, posee poder colorante estable, y resulta inofensivo al contacto prolongado con la piel y el consumo humano. Como colorante, el carmín de cochinilla se encuentra permitido por la mayoría de las legislaciones alimentarias en diversos países; por ejemplo, la *Food and Drug Administration* (FDA) de Estados Unidos de América; La Unión Europea que le ha otorgado el número de identificación E-120 y también está incluido en el listado del Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) (Sáenz, 2006). Este pigmento es una interesante alternativa como colorante rojo natural a los colorantes sintéticos. El porcentaje del ácido carmínico contenido en la grana cochinilla, es un factor importante para catalogar su calidad, por lo que es de gran utilidad determinar este parámetro mediante técnicas

sencillas y rentables que sustituyan a los métodos actuales realizados en laboratorios especializados con equipos tecnológicos que implican fuertes inversiones económicas; sin sacrificar la asertividad en los resultados a fin de tener determinaciones y en su caso monitoreos de calidad verídicos. Para el presente trabajo se analizó la relación entre el color y el contenido de ácido carmínico de varias disoluciones de ácido carmínico reactivo puro y seis lotes diferentes de grana cochinilla, sometidas por triplicado, al método de extracción de ácido de Marmión (1984) que se basa en tratar las muestras en presencia de HCl y calor, además se realizaron lecturas de absorbancia y determinación de color, específicamente en la escala CIE-Lab, a fin de identificar una posible alternativa práctica para la calificación cualitativa de calidad en la producción de grana cochinilla, basada en el contenido de ácido carmínico de la misma; como resultado se obtuvieron tres gráficas que describen el comportamiento de la concentración de ácido carmínico en disoluciones de grana cochinilla, en función de los parámetros de color de la escala CIE-Lab (L, a y b); a través de las gráficas mencionadas, se observan tendencias de relación lineales entre los parámetros mencionados, lo que indica que se puede emplear la propiedad de color de las disoluciones de grana cochinilla, para la determinación de la concentración de ácido carmínico en las mismas, lo que abre camino a la continuación con los trabajos de ajuste de las gráficas para su uso como herramienta práctica y rentable para la determinación y monitoreo del ácido carmínico en la producción de grana cochinilla y con ello una estimación de la calidad de la producción, herramienta que se visualiza dirigida a productores, comerciantes y demás interesados en la calidad de la grana cochinilla y su uso como colorante natural.

TEORÍA

La grana cochinilla fina (*Dactylopius coccus* Costa) es un insecto, que se alimenta de la savia del nopal, y del que se obtiene un colorante natural con una amplia gama de colores, que va desde anaranjado y rojo en medio ácido, hasta violeta en medio básico. Dicho colorante tiene como principal componente el ácido carmínico utilizado en la actualidad por la industria de alimentos, textiles, cosméticos y farmacéutica debido a su nula toxicidad para con la salud humana en su uso en la industria alimentaria, y en la textil, por su alta calidad de fijación en las telas. Como respuesta a lo anterior su producción y precio han tendido a incrementarse (Hernández, 2014). El uso de Ac se ha extendido a tinciones histológica, complejantes de cationes, fotografía y elaboración de pinturas (Tovar, 2000), por lo que la presencia de este compuesto ácido en el insecto es el indicador más importante para catalogar la calidad de la mismo y su producción. Algunos factores físicos que permiten calificar la calidad de la grana cochinilla seca son su tamaño, color, madurez o forma (Ortega, 2011); a nivel laboratorio, la determinación de la calidad se logra mediante el análisis de su composición química, que incluye comúnmente determinaciones de humedad, cera, y proteínas, además de la mencionada determinación de ácido carmínico (Ortega, 2011). El cultivo de grana cochinilla existe desde tiempos remotos y es originario de nuestro país, específicamente del estado de Oaxaca. Desde la época prehispánica los campesinos distinguieron dos tipos de grana: grana silvestre y grana fina (Tovar, 2000), distinción aceptada actualmente, cuya diferencia biológica más usualmente mencionada es el tipo de protección ambiental que desarrolla, siendo para la primera (que representa a un complejo de ocho especies de grana que crece como plaga en las huertas de nopal) (Aquino, 2014), una cubierta algodonosa difícil de separar, en cambio para la segunda se tiene un polvo ceroso fácil de retirar; aunque industrialmente hablando, la diferencia más importante entre estos tipos de grana cochinilla es la calidad y cantidad de pigmento producido, reiterando la importancia de la determinación del contenido de ácido carmínico presente en el insecto, como indicador de calidad ante compradores y productores de esta materia. Entre los factores que influyen sobre el rendimiento y calidad en la producción del insecto se pueden mencionar el estado nutricional de la planta, factores abióticos como los vientos, insolación, humedad y temperatura; además de factores bióticos que incluyen a otros insectos, aves, pequeños roedores y mamíferos. Según la descripción realizada por Montiel (1997), la presencia

de ácido carmínico en el cuerpo de la grana cochinilla fina (*D. coccus*) varía según su etapa de vida y desarrollo, siendo constante la ausencia en sus estructuras de ovarios y folículos, en el tracto digestivo y en los músculos, lo anterior justifica diferencias encontradas entre peso y calidad de los ejemplares de grana cochinilla (Tovar, 2000). El porcentaje de ácido carmínico en la grana cochinilla oscila entre el 19% y el 25 %, contiene además entre 6 y 10% de ceras, de 10 a 20% de agua, entre 15 y 30% de sustancias nitrogenadas y un máximo de 5% de cenizas (Ortega, 2011). Respecto al contenido de Ac se considera bueno un valor superior al 22 por ciento (Sáenz, 2006). El Ac ó ácido 7-β-D-glucopiranosil-3,5,6,8-tetrahidroxi-1-metil-9,10-dioxoantraceno-2-carboxílico, es un polvo rojo brillante soluble en agua, alcohol y soluciones alcalinas, insoluble en éter de petróleo, benceno y cloroformo, cuya fórmula química es $C_{22}H_{20}O_{13}$ y su peso molecular es de 492 g/mol, se funde a 136°C, se descompone a 120°C, presentando resistencia al calor y la oxidación química comparado con los colorantes sintéticos, es un producto estable, inofensivo ante la ingesta o contacto humano, y es sensible a las variaciones de pH; actualmente se emplea como aditivo en alimentos, medicamentos y cosméticos, clasificado por la FD&C de la Administración de Drogas y Alimentos (FDA) de los Estados Unidos, además de estar incluido en la lista de aditivos de la Comunidad Económica Europea (actual Unión Europea) bajo parámetros de toxicidad permitida- Ingesta Diaria Admitida IDA (Ortega, 2011). Un método comúnmente empleado para la determinación de ácido carmínico en sustancias acuosas es el espectrofotométrico, este se usa para la identificación analítica de ciertas sustancias determinadas, mediante el espectro emitido o absorbido por las mismas (Ortega, 2011). Por otro lado se han venido realizando investigaciones para encontrar otros métodos en la determinación de ácido carmínico, como es el de polarografía que consiste en la medida voltamperométrica. También es conocido que en el caso de medidas en soluciones acuosas, el valor de la conductividad es directamente proporcional a la concentración de sólidos disueltos (InfoAgro, 2014), por lo que se considera que este parámetro puede ser posible de usarse para la determinación de Ac. Asimismo parámetros como el pH y el color, aprovechando la sensibilidad del pigmento a las variaciones de potencial de hidrogeno y las bases de cuantificación y caracterización del color, específicamente las de la escala CIE-Lab. El color, definido como la sensación visual que se origina por la estimulación de la retina del ojo, podía permitir mediante las medidas de ubicación espacial del color, obtenidas con un colorímetro sobre la escala CIE-Lab, establecer una relación entre la cantidad de ácido carmínico y la caracterización numérica de una muestra determinada siempre que la tendencia de cambio de dichas características de la muestra obedezcan a un patrón de cambio proporcional.

PARTE EXPERIMENTAL

Obtención del gráfico base para evaluación de la relación entre la absorbancia y el color de una disolución de ácido carmínico de concentración conocida.

Para la obtención del gráfico base se tomo como referencia el procedimiento para extracción de ácido carmínico de Lesso (2009), basado a su vez, en la metodología de Marmion (1984). Se empleó ácido carmínico reactivo Estándar Fluka 22010, se pesaron y colocaron 0.025g en un tubo de vidrio con tapa, disueltos en 7.5 ml de HCl, en solución 2N., dicha mezcla se sometió a temperatura en baño María durante 30 minutos, tras los cuales, se aforo a 250 ml con agua desionizada. La disolución obtenida se filtro usando papel filtro No. 2. A partir de la disolución obtenida, se elaboraron nueve disoluciones secundarias, con tres replicas cada una, (A [0.0/10 V/V], B [0.2/10 V/V], C [0.4/10 V/V], D [0.6/10 V/V], E [0.8/10 V/V], F [1/10 V/V], G [1.2/10 V/V], H [1.4/10 V/V], e I [1.6/10 V/V]), de las que se tomaron y registraron lecturas de absorbancia en el espectrofotómetro (UNICO, Mod. 1000), y color en la escala CIE-Lab, usando un colorímetro (CR-400 HEAD). Los datos se capturaron y analizaron usando el programa Microsoft Excel®, para la elaboración de la gráfica base de absorbancia y color.

Análisis de la relación entre la concentración de ácido carmínico y el color de una disolución de grana cochinilla.

La metodología de Marmión (1984) para extracción de ácido carmínico, se repitió para disoluciones de seis diferentes lotes de grana cochinilla, determinándose igualmente absorbancia y color en cada lote analizado, con tres replicas. Empleando las lecturas de absorbancia de las disoluciones y la ecuación [1], se calculo el contenido de ácido carmínico en la grana cochinilla de cada lote, obteniéndose valores oscilantes entre el 18 y 20%, dichos resultados se compararon empleando el programa Microsoft Excel® con las lecturas de color de las disoluciones, para establecer la relación entre el color de una disolución de grana cochinilla y su contenido de ácido carmínico, los resultados se expresaron gráficamente.

$$\%Ac = Abs * 100 / 1.39$$

Ecuación [1]

Donde:

%Ac = es el porcentaje de ácido carmínico contenido en la muestra.

Abs = es la absorbancia de la disolución de muestra medida en espectrofotómetro.

1.39 = es el valor de la absorbancia del ácido carmínico puro.

Empleando los resultados gráficos de la relación ácido carmínico puro y las disoluciones de grana con las respectivas lecturas del color y el ajuste matemático correspondiente, se elaboraron tres gráficas preliminares para la determinación de la tendencia de concentración de ácido carmínico en disoluciones de grana cochinilla, función de los parámetros L, a y b del color en la escala CIE-Lab de las mismas disoluciones.

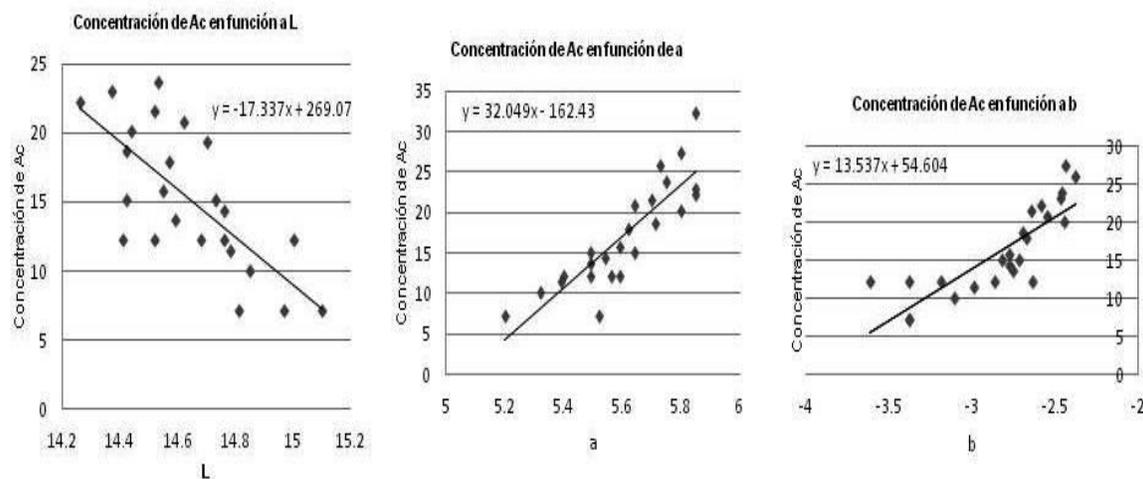


Figura 1. Gráficas base de la concentración de Ac con respecto a los parámetros de color en la escala CIE-Lab.

Las gráficas obtenidas (Figura 1) muestran una favorable relación lineal entre la concentración del ácido carmínico en las disoluciones de grana cochinilla y los valores de los parámetros de color registrados en las mismas; la relación entre el parámetro "L" (Luminosidad), que en la escala CIE-Lab determina la tendencia hacia el color blanco, tiene un comportamiento de forma inversamente proporcional a la concentración del ácido carmínico en las disoluciones de grana, mostrándose a favor de los tonos grises y negros, demostrada en una distribución de valores, que aunque no es lineal por completo, si resulta evidentemente marcada; el gráfico que expresa concentración de ácido carmínico en función del parámetro "a", muestra una linealidad destacada, debido en parte a

que dicho parámetro indica la tendencia hacia el color rojo, mismo que es característico del ácido carmínico, y demostrado analíticamente por la pendiente positiva de la línea de regresión lineal que marcan los datos obtenidos experimentalmente; por último y al igual que el parámetro “a”, la relación entre la concentración de ácido carmínico y el parámetro “b” de color que indica la tendencia hacia el color amarillo, sigue un comportamiento directamente proporcional respaldado nuevamente por la ecuación de regresión lineal.

CONCLUSIONES

Se concluye que es posible emplear la propiedad de color de las disoluciones de grana cochinilla, para la determinación de la concentración de ácido carmínico en las mismas. La continuación de esta investigación representa también una alternativa para la evaluación de la calidad en la producción de grana cochinilla, ya que permitiría, mediante los ajustes correspondientes, evaluar la calidad de la producción de grana en base a su contenido de ácido carmínico, a través de una técnica práctica y económica, que resultaría atractiva para pequeños productores y otros trabajos de investigación y aplicación de la grana cochinilla.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aquino P. G. (2011). Producción de grana cochinilla. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Dirección General de Apoyos para el Desarrollo Rural. Colegio de Posgraduados y SAGARPA.
2. Hernández S. I. (2014) Formulación del proyecto de una empresa productora de grana cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa). Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma de Chapingo, Texcoco, Estado de México, México.
3. InfoAgro (2014). La conductividad eléctrica. Recuperado el 29, mayo 2014. http://www.infoagro.com/instrumentos_medida/doc_conductividad_electrica.asp?k=53
4. Lesso A. M. (2009). Proceso de teñido en tela de algodón con grana carmín y solidez del color. Tesis de licenciatura, Universidad de Guanajuato, Guanajuato, México.
5. Ortega C. C. (2011). Comparación del rendimiento del ácido carmínico entre dos procesos de deshidratación de la cochinilla de tunas cultivadas en guano. Tesis de grado, Universidad Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.
6. Sáenz C. (2006). Producción industrial de productos no alimentarios. Utilización agroindustrial del nopal. Boletín de servicios agrícolas de la FAO-CACTUSNET, no. 162.
7. Tovar P. A. (2000). Producción de grana cochinilla del nopal *Dactylopius coccus* Costa (Homoptera: Dactylopiidae) en dos localidades del sur del estado de Nuevo León. Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Nuevo León, Linares, Nuevo León México.

PROMOTORES INDUCIBLES EN HONGOS FILAMENTOSOS

Yazmin Hernández-Díaz

División Académica Multidisciplinaria de Jalpa de Méndez, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Jalpa de Méndez, Tabasco, México, yazmin.hdez.diaz@gmail.com.

RESUMEN

Los hongos filamentosos son considerados un grupo importante en diversas áreas tales como salud, industria, alimentación y agricultura debido a la variedad de metabolitos secundarios que son obtenidos con fines comerciales. Por el potencial enzimático que tienen codificado es su genoma es fundamental el diseño y generación de herramientas moleculares, tales como vectores de expresión que permitan estudiar la función de genes y obtener proteínas recombinantes. La expresión constitutiva del gen, llevado a cabo por un amplio rango de promotores constitutivos, no siempre es la opción más adecuada a utilizar en la generación de vectores, debido a que la obtención de proteínas recombinantes puede tener un efecto tóxico en el microorganismo en constantes niveles altos de expresión. Debido a lo mencionado anteriormente, hoy en día se cuenta con una variedad de promotores inducibles a utilizar que han permitido regular estrictamente la expresión del gen de interés, obtener proteínas tóxicas y generar mutantes de expresión condicional en genes esenciales para la viabilidad de la célula. En el presente trabajo hemos realizado una búsqueda de los promotores inducibles más empleados en hongos filamentosos e incluimos los nombres de los genes que son regulados por los promotores inducibles y los datos de las especies donde se han empleado, con la finalidad que el investigador cuente con datos que puedan facilitarle la generación de vectores de expresión en hongos filamentosos.

INTRODUCCIÓN

Los hongos filamentosos pueden producir diversos metabolitos secundarios que son obtenidos con fines comerciales como antibióticos, inmunosupresores y enzimas empleadas en varios sectores industriales (Meyer *et al.*, 2011). Empleando la biología molecular, investigadores son capaces de utilizar las propiedades de los hongos filamentosos para una variedad de propósitos científicos y biotecnológicos. El primer paso para alcanzar tales metas es diseñar herramientas moleculares, tales como efectivos vectores de expresión de genes. Los vectores de expresión permiten estudiar la función de genes de origen homólogo o heterólogo en el organismo de interés. El vector de expresión debe reunir elementos básicos y adecuados para su utilización, debe ser portador de un promotor, terminador, marcador genético seleccionable en la cepa hospedante y un sitio de clonación múltiple provisto de varios sitios únicos para diferentes enzimas de restricción, de modo que en cada experimento se pueda elegir la que más convenga para la inserción del gen de interés.

En este trabajo describimos los promotores inducibles que pueden formar parte de un vector de expresión, incluyendo la información de los genes, géneros y/o especies de hongos filamentosos donde ya se han empleado dicho elemento. Esta revisión provee datos que pueden facilitar al investigador la toma de decisiones acerca de cómo diseñar un vector de expresión y las estrategias experimentales que debe usar en su investigación.

PROMOTORES INDUCIBLES

La transcripción de un gen está controlada en la iniciación por la interacción de la RNA polimerasa con su promotor. Debido a que los promotores dirigen la transcripción del gen de interés son considerados elementos claves en un sistema de expresión y en la actualidad existen una variedad de promotores con diferentes secuencias y propiedades. Existen dos opciones de promotores a utilizar en un sistema de expresión: promotores constitutivos o inducibles. La elección del tipo de

promotor a utilizar es determinada por las características del organismo y las propiedades de la proteína de interés que se desea producir.

La expresión constitutiva del gen, llevado a cabo por un amplio rango de promotores constitutivos, no siempre es la opción más adecuada a utilizar en la generación de vectores, debido a que la obtención de proteínas recombinantes puede tener un efecto tóxico en el microorganismo en constantes niveles altos de expresión. Debido a lo mencionado anteriormente, hoy en día se cuenta con una variedad de promotores inducibles a utilizar que han permitido regular estrictamente la expresión del gen de interés, obtener proteínas tóxicas y generar mutantes de expresión condicional en genes esenciales para la viabilidad de la célula (Shoji *et al.*, 2005). La mayoría de los promotores inducibles son dependientes por alguna fuente de carbono: el promotor del gen glucoamilasa de *A. nidulans* (*glaA*), el promotor del gen deshidrogenasa catabólica (*qa-2*) y del gen piruvato descarboxilasa (*cfp*) de *Neurospora crassa* (Bleichrodt *et al.*, 2012; Cheng *et al.*, 2001; Temporini *et al.*, 2004) o dependientes de alguna fuente de nitrógeno. El sistema inducible por etanol (fuente de nitrógeno) se encuentra conformado por tres componentes: el promotor del gen que codifica para el alcohol deshidrogenasa de *A. nidulans* (*alcA*), una proteína reguladora (ALCR) y un tercer componente que se basa en la fusión de un promotor constitutivo al gen *alcR*. En presencia de etanol la ALCR se une a las secuencias dianas del promotor *alcA* y dirige la expresión del gen río abajo (Nikolaev *et al.*, 2002; Peebles *et al.*, 2007; Xing-gang *et al.*, 2009), este sistema de expresión ha permitido manipular la obtención de proteínas heterólogas en hongos.

Sin embargo, el empleo de promotores inducibles dependientes del metabolismo (fuente de carbono o nitrógeno) presenta la desventaja de restringir la elección del medio de crecimiento, además que los fenotipos observados pueden ser ambiguos debido a efectos pleiotrópicos causados por cambios metabólicos (Meyer *et al.*, 2011). En la búsqueda de emplear promotores independientes del metabolismo, tres sistemas han sido recientemente verificados para su aplicación en hongos filamentosos: el sistema inducible por tiamina (*thiA*) en *A. oryzae* y *A. nidulans*, el sistema inducible por luz (*vvd*) de *N. crassa* y un sistema basado en el operón de resistencia a tetraciclina (Tet) de *E. coli* en *A. fumigatus*, este último parece ser el más prominente para utilizar en hongos filamentosos (Hurley *et al.*, 2012; Meyer *et al.*, 2011; Shoji *et al.*, 2005). Actualmente un amplio rango de diferentes promotores inducibles ha mostrado funcionar en diferentes especies de hongos filamentosos (Tabla 1).

CONCLUSION

La secuenciación de genomas ha ayudado a entender la biología de los microorganismos, pero falta mucho por aprender acerca de la función de los genes, por lo que un sistema de expresión efectivo es requerido para las investigaciones en biología molecular. Este trabajo ha compilado toda la información necesaria acerca de los promotores inducibles. Estudios futuros deben ser dirigidos para generar una amplia variedad de vectores de expresión, los cuales proveen un mejor análisis de los mecanismos moleculares de la regulación de genes en hongos filamentosos.

Table 1. Promotores inducibles

La tabla muestra los genes, la función de los productos de los genes y el inductor/represor de cada promotor.

Promotor/ Sistema	Gen a regular	Producto/función	Inductor	Represor	Especie	Referencias
<i>alcA</i>	<i>gus</i>	Beta-glucuronidasa	Etanol	Glucosa	<i>B. bassiana</i>	Xing-gang <i>et al.</i> (2009) Bromley <i>et al.</i> (2006)
<i>amyB</i>	<i>lacZ</i>	Beta-galactosidasa				
	<i>gfp</i>	Proteína verde fluorescente	Dextrosa	Glicerato	<i>A. oryzae</i>	Shoji <i>et al.</i> (2005)
<i>cbhB</i>	<i>lacZ</i>	Beta- galactosidasa	Cellobiohidrolasa	Glucosa	<i>A. fumigatus</i>	Bromley <i>et al.</i> (2006)
<i>cfp</i>	<i>eth-1</i>	S-adenosylmetionina sintetasa	Glucosa	Etanol	<i>N. crassa</i>	Temporini <i>et al.</i> (2004)
	<i>hph</i>	Higromycina B fosfotransferasa				
<i>glaA</i>	<i>uidA</i>	Beta-glucuronidasa			<i>A. nidulans</i>	
	<i>gfp</i>	Proteína verde fluorescente	Maltosa	Xylosa	<i>A. niger</i>	Bleichrodt <i>et al.</i> (2012) Vinck <i>et al.</i> (2005)
<i>qa-2</i>	<i>frq</i>	Frecuencia	Ácido quínico	Glucosa	<i>N. crassa</i>	Cheng <i>et al.</i> (2001); Shi <i>et al.</i> (2010)
	<i>wc-1</i>	White collar 1				
	<i>wc-2</i>	White collar 2				
	<i>cry</i>	Criptocromo				Froehlich <i>et al.</i> (2010)
<i>tet</i>	<i>actA</i>	Actina	Tetracyclina/ Doxycyclina	Ausencia de tetracyclina/ doxycyclina	<i>A. fumigatus</i> <i>A. niger</i>	Vogt <i>et al.</i> (2005) Meyer <i>et al.</i> (2011)
<i>thiA</i>	<i>gfp</i>	Proteína verde fluorescente	Tiamina	Ausencia de tiamina	<i>A. nidulans</i> <i>A. oryzae</i>	Shoji <i>et al.</i> (2005) Shoji <i>et al.</i> (2005)
<i>vvd</i>	<i>gfp</i>	Proteína verde fluorescente	Luz	Ausencia de luz	<i>N. crassa</i>	Hurley <i>et al.</i> (2012)
	<i>gh5-1</i>	Celulosa				
	<i>wc-1</i>	White collar 1				
<i>zear</i>	<i>gfp</i>	Proteína verde fluorescente	Zearalenona	Elevadas concentraciones de zearalenona	<i>Gibberella zeae</i>	Lee <i>et al.</i> (2010)

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Bleichrodt, R., Vinck, A., Krijgsheld, P., Van Leeuwen, M. R., Dijksterhuis, J. & Wösten, H. A. B. (2012).** Cytosolic streaming in vegetative mycelium and aerial structures of *Aspergillus niger*. *Studies in Mycology* **74**, 31–46.
- 2. Cheng, P., Yang, Y. & Liu, Y. (2001).** Interlocked feedback loops contribute to the robustness of the *Neurospora* circadian clock. *PNAS* **98**, 7408-7413.
- 3. Froehlich, A. C., Chen-Hui, C., Belden, W. J., Madeti, C., Roenneberg, T., Mellow, M., Loros, J. J. & Dunlap, J. C. (2010).** Genetic and molecular characterization of a cryptochrome from the filamentous fungus *Neurospora crassa*. *Eukaryot Cell* **9**, 738-750.
- 4. Hurley, J. M., Chen, C., Loros, J. J. & Dunlap, J. C. (2012).** Light-Inducible System for Tunable Protein Expression in *Neurospora crassa*. *G3* **2**, 1207-1212.
- 5. Meyer, V., Wanka, F., Van Gent, J., Arentshorst, M., Van den Honde, C. A. M. J. J. & Ram, A. F. J. (2011).** Fungal Gene Expression on Demand: an Inducible, Tunable, and Metabolism-Independent Expression System for *Aspergillus niger*. *Appl Environ Microbiol* **77**, 2975-2983.
- 6. Shoji, J., Maruyama, J., Arioka, M. & Kitamoto, K. (2005).** Development of *Aspergillus oryzae* *thiA* promoter as a tool for molecular biological studies. *FEMS Microbiol Lett* **244**, 41-46.
- 7. Nikolaev, I., Mathieu, M., Van de vondervoort, P. J. I., Visser, J. & Felenbok, B. (2002).** Heterologous expression of the *Aspergillus nidulans* alcR-alcA system in *Aspergillus niger*. *Fungal Genet Biol* **37**, 89–97.
- 8. Temporini, E. D., Alvarez, M. E., Mautino, M. R., Folco, H. D. & Rosa, A. L. (2004).** The *Neurospora crassa* *cfp* promoter drives a carbon source-dependent expression of transgenes in filamentous fungi. *J Appl Microbiol* **96**, 1256-1264.
- 9. Peebles, C. A., Gibson, S. I., Shanks, J. V. & San, K.Y. (2007).** Characterization of an ethanol-inducible promoter system in *Catharanthus roseus* hairy roots. *Biotechnol Prog* **23**, 1258–1260.
- 10. Vogt, K., Bhabhra, R., Rhodes, J. C. & Askew, D. S. (2005).** Doxycycline regulated gene expression in the opportunistic fungal pathogen *Aspergillus fumigatus*. *BMC Microbiol* **5**, 1-11
- 11. Xing-gang, L., Yong-jun, Z., Yan-hua, Fan., Jin-cheng, M., Yong-hong, Z., Dan, J. & Yan, P. (2009).** An ethanol inducible *alc* system for regulating gene expression in *Beauveria bassiana*. *World J Microbiol Biotechnol* **25**, 2065–2069.

EPIDEMIOLOGIA, DIAGNOSTICO, PREVENCION Y CONTROL DE LA BRUCELOSIS CAPRINA Y OVINA

Lucio Domínguez, R.¹; Sesento García L.²; Bedolla Cedeño J. L. C.¹; Sánchez Parra V.M.¹;
Herrera Camacho J.³; Cruz Hernández A. R.¹

¹ Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

² Colegio Primitivo y Nacional de San Nicolás de Hidalgo.³ Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, dr.rlucio@hotmail.com

RESUMEN

La principal causa de la brucelosis caprina y ovina es *Brucella melitensis* (biotipos 1, 2 y 3). Se han observado casos esporádicos causados por *B. abortus*, pero la enfermedad clínica es rara. *Brucella melitensis* es endémica en la región mediterránea, pero la infección está extendida por todo el mundo. Se considera que América del Norte (excepto México) está libre del agente, como ocurre en el norte de Europa, sudeste de Asia, Australia y Nueva Zelanda. Clínicamente, la enfermedad se caracteriza por uno o más de los siguientes síntomas: aborto, retención placentaria, orquitis, epididimitis y, raramente, artritis, con excreción de los microorganismos en descargas uterinas y en la leche. El diagnóstico depende del aislamiento de *Brucella* de material de abortos, de secreciones de la ubre o de tejidos extraídos post-mortem. El diagnóstico preliminar se puede hacer determinando respuestas específicas mediadas por células o respuestas serológicas frente a los antígenos de *Brucella*. *Brucella melitensis* es muy patógena para el hombre y causa una de las zoonosis más graves del mundo. Todos los tejidos infectados, los cultivos y el material potencialmente contaminado, deben manejarse a un alto nivel de contención para biorriesgos.

Palabras clave: Brucelosis, diagnóstico, prevención, control, caprino, ovino.

INTRODUCCIÓN

La brucelosis en ovejas y cabras (no debida a *Brucella ovis*) está causada principalmente por uno de los tres biotipos de *B. melitensis*. Se han observado en cabras y ovejas casos esporádicos debidos a *B. abortus* o *B. suis*, pero los síntomas clínicos son raros. Patológica y epidemiológicamente, la infección de ovejas y cabras por *B. melitensis* es muy similar a la infección del ganado bovino por *B. abortus* (ver Capítulo 2.3.1. Brucelosis bovina). En la mayoría de los casos, la ruta primaria de transmisión de *Brucella* es la placenta, los líquidos fetales y las descargas vaginales expelidas por las ovejas y cabras infectadas cuando abortan o cuando tienen un parto a término. La excreción de *Brucella* es también común en secreciones de la ubre y en el semen y se puede aislar *Brucella* de varios tejidos, como los ganglios linfáticos de la cabeza y los asociados con la reproducción, y también de lesiones artríticas (2). La brucelosis se ha descrito igualmente en el camello de una joroba (*Camelus dromedarius*) y de dos jorobas (*C. bactrianus*) y parece relacionada con contactos con grandes y pequeños rumiantes infectados con *B. abortus* o *B. melitensis*. Además se ha observado brucelosis debida a *B. abortus* en el búfalo doméstico (*Bubalus bubalus*), bisonte americano y europeo (*Bison bison*, *Bison bonasus*), yak (*Bos grunniens*), elk/wapiti (*Cervus elaphus*) y también en el búfalo americano (*Syncerus caffer*) y varias especies de antílopes africanos.

Las manifestaciones de la brucelosis en estos animales son similares a las del ganado bovino u ovejas y cabras. El manual de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de bioseguridad para laboratorios clasifica a *Brucella* (y en particular a *B. melitensis*) en el Grupo de Riesgo III. La brucelosis es muy transmisible al hombre y causa una enfermedad febril aguda -la fiebre ondulante- que puede progresar hasta una forma crónica y producir graves complicaciones que afectan al músculo esquelético, sistema cardiovascular y sistema nervioso central. A menudo la infección se debe a una exposición ocupacional y se adquiere fundamentalmente por vía oral, respiratoria o conjuntival, aunque, para el público en general, la ingestión de productos lácteos constituye el principal riesgo. Los veterinarios y granjeros que manejan animales infectados y fetos abortados o placentas presentan un riesgo ocupacional. La brucelosis es una de las infecciones más fáciles de adquirir en el laboratorio y deben observarse precauciones muy estrictas de seguridad cuando se manejan cultivos y muestras muy infectadas, como los productos del aborto. Se han realizado recomendaciones específicas sobre precauciones de seguridad a observar con materiales contaminados por *Brucella*.

IMPORTANCIA

La brucelosis ovina y caprina causada por la bacteria zoonótica *Brucella melitensis* provoca abortos en los pequeños rumiantes, con pérdidas económicas considerables. Esta infección causa pérdidas significativas debido a la disminución de la productividad y las pérdidas comerciales en muchos países en desarrollo. Se considera a *B. melitensis* como un patógeno reemergente en el Medio Oriente. Aunque ha sido erradicada de algunas naciones, el costo de la vigilancia para permanecer libres de *B. melitensis* es alto. Además, *B. melitensis* constituye un importante patógeno humano. En los humanos, la brucelosis es una enfermedad grave, debilitante y, algunas veces, crónica que puede afectar diversos órganos. Aunque la mayoría de los casos se deben a la exposición ocupacional a animales infectados, las infecciones también pueden ocurrir al ingerir productos lácteos contaminados. Por otra parte, se podría utilizar *B. melitensis* en un ataque bioterrorista.

ETIOLOGÍA

En las ovejas y cabras, la causa principal de la brucelosis es *Brucella melitensis*, un cocobacilo o bacilo corto Gram negativo. Este microorganismo es un patógeno intracelular facultativo. *B. melitensis* posee tres biovariedades (1, 2 y 3). Las tres biovariedades causan enfermedades en los pequeños rumiantes, pero su distribución geográfica varía. Ocasionalmente, se producen infecciones por *Brucella abortus* y *Brucella suis* en pequeños rumiantes, pero la enfermedad clínica parece ser poco frecuente. Las pruebas genéticas e inmunológicas indican que todos los miembros del género *Brucella* están estrechamente relacionados, y algunos microbiólogos han propuesto la reclasificación del género en una especie única (*B. melitensis*), que contenga varios serotipos. Esta propuesta causa controversia, y en la actualidad se utilizan ambos sistemas taxonómicos. En esta ficha técnica, se utiliza la nomenclatura de especies múltiples.

ESPECIES AFECTADAS

La mayoría de las especies de *Brucella* se asocian principalmente con un huésped determinado; no obstante, las infecciones también pueden ocurrir en otras especies, especialmente cuando se las mantiene en contacto estrecho. *Brucella melitensis* afecta principalmente a las ovejas y cabras. La mayoría de las razas caprinas se infectan con facilidad, pero la susceptibilidad de las razas ovinas varía considerablemente. Ocasionalmente, se han informado infecciones por *B. melitensis* en ganado bovino, camellos y perros, y rara vez en caballos y cerdos. Las infecciones en ovejas y cabras se pueden propagar a los rumiantes silvestres; se han informado infecciones por *B. melitensis* en los íbices alpinos de Italia y en los

rebecos de los Alpes franceses. Sin embargo, no existe evidencia de que estos animales actúen como huéspedes reservorio para las ovejas y cabras domésticas. *B. melitensis* es altamente contagiosa para los humanos.

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

B. melitensis es especialmente común en el Mediterráneo. También aparece en el Medio Oriente, en Asia Central, en las cercanías del Golfo Pérsico, y en algunos países de América Central. Se ha informado la presencia de este organismo en África e India, pero no parece ser endémico en el norte de Europa, América del Norte (excepto México), el sudeste de Asia, Australia o Nueva Zelanda. La biovariedad 3 es la que predomina en los países del Mediterráneo y el Medio Oriente, y la biovariedad 1 predomina en América Central. Ocasionalmente, se informan casos esporádicos o brotes en los países declarados libres de *B. melitensis*. En los Estados Unidos, se han informado casos en cabras importadas principalmente, y rara vez en el ganado bovino.

TRANSMISIÓN

En los animales, *B. melitensis* se suele transmitir por contacto con la placenta, el feto, los líquidos fetales y las descargas vaginales de los animales infectados. Los pequeños rumiantes son contagiosos después de un aborto o parto a término. Mientras que las cabras generalmente excretan *B. melitensis* en las descargas vaginales durante al menos 2 o 3 meses, la liberación del organismo suele terminar en un plazo de tres semanas en las ovejas. También se puede encontrar *B. melitensis* en la leche y el semen; la excreción del organismo en la leche y el semen puede ser prolongada o permanente. Los cabritos y corderos que maman de hembras infectadas pueden excretar el organismo en las heces.

La mayoría de los animales se infectan por ingestión o a través de las membranas mucosas de la orofaringe, el tracto respiratorio superior y la conjuntiva, pero las especies de *Brucella* también se pueden transmitir a través de heridas en la piel. Aunque la glándula mamaria es colonizada durante el transcurso de la infección, también se puede infectar por contacto directo, y posteriormente se excreta el organismo en la leche. Se producen infecciones *in utero*. La transmisión durante la reproducción es posible, pero parece ser poco frecuente durante el apareamiento natural. *B. melitensis* puede propagarse por fomites, y ser diseminada de manera mecánica por animales carnívoros que transportan material infectado. En condiciones de alta humedad, bajas temperaturas y ausencia de luz solar, *Brucella* spp. puede permanecer viable durante varios meses en el agua, los fetos abortados, el estiércol, la lana, el heno, el equipo y la ropa. Las especies de *Brucella* pueden soportar el secado, especialmente en la presencia de material orgánico, y pueden sobrevivir en el polvo y el suelo. La supervivencia es mayor con bajas temperaturas, especialmente con temperaturas bajo cero.

PERÍODO DE INCUBACIÓN

El período entre la infección y el aborto u otros síntomas reproductivos varía.

SIGNOS CLÍNICOS

Los síntomas predominantes en las ovejas y las cabras infectadas de manera natural son los abortos, las muertes fetales y el nacimiento de crías débiles. Los animales que abortan pueden retener la placenta. Por lo general, las ovejas y cabras abortan una sola vez, pero en preñeces posteriores se puede producir una nueva invasión del útero con excreción de los microorganismos. Algunos animales infectados pueden tener un parto a término, y aun así

excretar el organismo. Se nota una reducción significativa en la producción de leche de los animales que abortan, y de los animales con ubres infectadas después de una parición normal. Sin embargo los signos clínicos de la mastitis son poco frecuentes.

Se puede producir epididimitis y orquitis aguda en los machos, lo que provoca infertilidad. Ocasionalmente, se observa artritis en ambos sexos. Muchas ovejas y cabras no gestantes permanecen asintomáticas. También se ha asociado a *B. melitensis* con abortos en el ganado bovino, y con abortos, orquitis y epididimitis en los camellos. En los rebecos silvestres, se ha relacionado a este microorganismo con epididimo-orquitis, poliartritis, ceguera y signos neurológicos, pero no se han informado abortos. En los perros, la infección por *B. melitensis* suele ser asintomática, y se ha informado una rápida eliminación de este organismo. La mayoría de los animales se infectan por ingestión o a través de las membranas mucosas de la orofaringe, el tracto respiratorio superior y la conjuntiva, pero las especies de *Brucella* también se pueden transmitir a través de heridas en la piel. Aunque la glándula mamaria es colonizada durante el transcurso de la infección, también se puede infectar por contacto directo, y posteriormente se excreta el organismo en la leche. Se producen infecciones *in utero*. La transmisión durante la reproducción es posible, pero parece ser poco frecuente durante el apareamiento natural. *B. melitensis* puede propagarse por fomites, y ser diseminada de manera mecánica por animales carnívoros que transportan material infectado. En condiciones de alta humedad, bajas temperaturas y ausencia de luz solar, *Brucella* spp. puede permanecer viable durante varios meses en el agua, los fetos abortados, el estiércol, la lana, el heno, el equipo y la ropa. Las especies de *Brucella* pueden soportar el secado, especialmente en la presencia de material orgánico, y pueden sobrevivir en el polvo y el suelo. La supervivencia es mayor con bajas temperaturas, especialmente con temperaturas bajo cero.

BIBLIOGRAFÍA

1. ALTON G.G. (1990). *Brucella melitensis*. In: Animal Brucellosis, Nielsen K.H. & Duncan J.R., eds. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 383–409.
2. ALTON G.G., JONES L.M., ANGUS, R.D. & VERGER J.M. (1988). Techniques for the Brucellosis Laboratory. INRA, Paris, France.
3. BARDENSTEIN S., MANDELBOIM M., FICHT T.A., BAUM M. & BANAI M. (2002). Identification of the *Brucella melitensis* vaccine strain Rev.1 in animals and humans in Israel by PCR analysis of the PstI site polymorphism of its *omp2* gene. *J. Clin. Microbiol.*, **40**, 1475–1480.
4. BLASCO J.M. (1992). Diagnosis of *Brucella melitensis* infection in small ruminants. In: Prevention of Brucellosis in the Mediterranean Countries, Plommet M., ed. Pudoc Scientific, Wageningen, The Netherlands, 272–277.
5. BLASCO J.M. (1997). A review on the use of *B. melitensis* Rev 1 vaccine in adult sheep and goats. *Prev. Vet.Med.*, **31**, 275–283.
6. BLASCO J.M., GARIN-BASTUJI B., MARIN C.M., GERBIER G., FANLO J., JIMENEZ DE BAGUES M.P. & CAU C. (1994). Efficacy of different rose bengal and complement fixation antigens for the diagnosis of *Brucella melitensis* infection in sheep and goats. *Vet. Rec.*, **134**, 415–420. Capítulo 2.4.2. — *Brucelosis caprina y ovina (No debida a Brucella ovis)* 652 *Manual de la OIE sobre animales terrestres* 2004

7. BOSSERAY N. (1991). *Brucella melitensis* Rev.1 attenuated vaccine: Stability of markers, residual virulence and immunogenicity in mice. *Biologicals*, 19, 355–363.
8. BOSSERAY N. (1992). Le vaccin Rev.1: dérive des caractères d'immunogénicité et de virulence indépendante des marqueurs classiques. *In: Prevention of Brucellosis in the Mediterranean Countries*, Plommet M., ed. Pudoc Scientific, Wageningen, The Netherlands, 182–186.
9. BOSSERAY N. (1993). Control methods and thresholds of acceptability for anti-*Brucella* vaccines. *Dev. Biol. Stand.*, 79, 121–128.
10. CLOECKAERT A., BAUCHERON S., VIZCAINO N. & ZYGMUNT M.S. (2001). Use of recombinant BP26 protein in serological diagnosis of *Brucella melitensis* infection in sheep. *Clin. Diag Lab. Immunol.*, 8, 772–775.

RESPUESTA DE LA CALABACITA ZUCCHINI (*Cucurbita pepo* L) ORGÁNICA CON RIEGO POR GOTEO Y ACOLCHADO PLÁSTICO

De Luna Vega Alicia, María Luisa García Sahagún, Eduardo Rodríguez Guzmán, Cecilia Jiménez Plascencia María Milagros Orozco Delgado y Xóchitl Rocío Ávila Dávila.

Centro Universitario de la Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara,
dva20851@cucba.udg.mx

RESUMEN

Introducción. Mediante acolchado con plástico se ha logrado aumentar producción, acelerar maduración de los cultivos, mejorar calidad, además de disminuir mano de obra en diferentes labores, entre ellas el control de maleza y aplicación de riegos. Se realizó un experimento para estudiar la posibilidad de que el cultivo de calabacita se adapte a las condiciones del acolchado y riego por goteo con un manejo orgánico. Se evaluaron 3 tratamientos con cuatro repeticiones con y sin acolchado plástico, aplicando dosis de fertilización NPK al 100% de lo recomendado para el testigo. Se plantea como objetivo, determinar la factibilidad de la producción de calabacita empleando composta, bajo un sistema de producción con acolchado plástico y riego por goteo.

Materiales y métodos. El trabajo se realizó en los terrenos del Campo Experimental CUCBA. Los tratamientos fueron: 1) sin acolchado, sin composta y riego por goteo (testigo). 2) con acolchado, con composta y riego por goteo. 3) con acolchado sin composta y riego por goteo. Se establecieron tres repeticiones de 10 m cada uno, datos fueron analizados con el programa SAS y la prueba de comparación de medias de Tukey.

Resultados. Existe diferencia altamente significativa al 1% de probabilidad entre tratamientos para el factor rendimiento. Al realizar la comparación de medias de Tukey, el tratamiento 2 superó ampliamente al testigo, y al tratamiento 3, y éste supera al testigo.

Conclusión La siembra de calabacita con la aplicación de acolchado plástico, con composta y riego con goteo permitió obtener los mejores rendimientos de la variedad Zucchini,

Palabras claves: composta, acolchado plástico, riego por goteo

INTRODUCCIÓN

El hombre en la búsqueda de mejores alternativas de conservación de los recursos renovables ha probado diferentes técnicas y materiales, entre ellas el acolchado con plástico en suelos; mediante esta técnica se ha logrado aumentar la producción, acelerar la maduración de los cultivos, mejorar la calidad, reducir el número de aplicaciones de agroquímicos y fertilizantes, además de disminuir la mano de obra en diferentes labores entre ellas el control de maleza y aplicación de riegos (Cruz, 2000).

En los últimos años han estado buscadas nuevas opciones que les permitan incrementar sus ingresos, sin alterar las condiciones del suelo para lograr la rentabilidad y sostenibilidad de sus predios, mediante la aplicación de abonos orgánicos y con un uso eficiente del agua de riego y acolchado plástico en cultivos nuevos como son las hortalizas.

La producción orgánica en México se inicia en la década de 1980 en cultivos hortícolas, las cuales han representado una fuente de alimentación a lo largo de la historia de la humanidad; actualmente se les confiere alto valor dietético y por su versatilidad de consumo tanto en fresco como procesado, obtienen gran importancia en su interacción con el hombre. En relación a los abonos orgánicos Ferreira y Santamaría (1997), propone el uso de tecnologías que devuelven al suelo el componente biológico perdido, como son las compostas.

López Gutiérrez (2003) señala que las técnicas de acolchado eran conocidas mucho antes de la llegada de los materiales plásticos y se practicaba usando materia orgánica (pajas) o inorgánica (arena), la introducción de los materiales plásticos la ha revolucionado e impulsado hasta ocupar en la actualidad una superficie cercana a las cinco millones de hectáreas en todo el mundo.

Riego por goteo, este sistema de riego consiste fundamentalmente en llevar agua y los fertilizantes, hasta las raíces de las plantas a través de un sistema de cintas de plástico y hacerlas salir en forma de gotas por medio de dispositivos específicos llamados emisores. De esta manera es posible dar agua a los nutrientes a las plantas debidamente dosificadas en cantidad y tiempo. Se recomienda el riego diario o cada tercer día; también dependiendo del tipo de suelo y los fertilizantes solubles se deben aplicar semanalmente a través de riego (Bravo y García, 2000). El uso de cintilla para riego por goteo es para que sea más eficiente el recurso agua y la aplicación de nutriente, es una alternativa que se está evaluando a nivel productivo de la región.

Uno de los principales factores que limitan la producción del cultivo es la disponibilidad del agua, ya que es escasa, cara y de baja calidad. Otra limitante son los altos costos de producción por los deshierbes manuales y mecánicos para eliminar la maleza, principalmente en las primeras etapas de desarrollo del cultivo; una opción para reducir costos y la cantidad de agua empleada es el uso de acolchado plástico (Mirafuentes, 2000).

OBJETIVO

Con el presente trabajo, se pretende determinar la factibilidad de la producción de calabaza empleando composta orgánica bajo un sistema de producción con acolchado plástico y riego por goteo, y proponer una metodología de producción que permita un ahorro de agua, y una mayor rentabilidad de la inversión a corto y largo plazo

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en los terrenos del Campo Experimenta del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA) de la Universidad de Guadalajara. Se ubica en el predio Las Agujas, municipio de Zapopan, Jalisco, localizado en la región centro del estado, en las coordenadas extremas de 20°25'30" a 20°57'00" de latitud norte y 103°19'30" a 103°39'20" de longitud oeste, a una altura de 1,548 metros sobre el nivel del mar (Los municipios de Jalisco, 2008). I. El trabajo se estableció utilizando un diseño de bloques al azar con cuatro repeticiones. La parcela útil fue de un surco de 1.20 m de ancho por 10 m de largo.

Los tratamientos fueron: 1) Surcos sin acolchado sin composta y riego por goteo (testigo). 2) Surcos con acolchado, con composta y riego por goteo. 3) Surcos con acolchado sin composta y riego por goteo. La semilla utilizada fue semilla comercial de calabaza de la variedad Zucchini, el lomo del surco fue acolchado con plástico plata/negro de 100 micras de espesor perforado para establecer plantas cada 35 cm, por debajo del acolchado se colocó la cintilla con emisores cada 20 cm. colocando ésta al centro del surco. La aplicación de la composta se realizó a la siembra, incorporándola con un paso de rastra.

Los datos fueron analizados mediante el análisis de varianza para el factor rendimiento y la prueba de medias de Tukey por medio de SAS.

RESULTADOS

De acuerdo a los resultados del análisis de varianza, podemos observar que existe diferencia altamente significativa al 1% de probabilidad entre tratamientos para el factor rendimiento en kg ha-1 (Cuadro 1).

Fuentes de variación	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	F de tablas
Boques	3	3.826	1.275	NS	
Tratamientos	2	255.800	127.800	12.240**	9.78
Error experimental	6	93.158	15.520		
Total	11				

Cuadro No. 1 Análisis de varianza para la variable rendimiento de calabacita.

Cuando se realizó la prueba de comparación de medias de Tukey para la variable rendimiento, se observa que el tratamiento 2) surcos con acolchado más aplicación de composta orgánica y riego por goteo, superó ampliamente al testigo surcos sin acolchado y sin composta orgánica y riego por goteo, así mismo al tratamiento 3 surcos con acolchado pero sin composta orgánica y riego por goteo. Así mismo se observa que el tratamiento 3 supera al testigo surcos sin acolchado, ni composta orgánica (Cuadro 2).

Tratamiento	Rendimiento/ha	
Tratamiento 2	22.8	A
Tratamiento 3	19.9	B
Tratamiento 1	11.5	C

Cuadro 2. Prueba de medias de Tukey para rendimiento de calabacita.

Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Ruiz y Torres (1988), donde encontraron que con la aplicación de composta orgánica obtuvieron los mayores rendimientos.

CONCLUSIONES

La siembra de calabacita con la aplicación de acolchado plástico, composta orgánica y riego con goteo permitió obtener los mejores rendimientos de calabacita variedad Zucchini, sin la aplicación de fertilizantes e insecticidas químicos, además de obtenerse un mayor control de maleza, teniendo una menor población de hospedantes, plagas y enfermedades. Así mismo se obtuvo un ahorro significativo de agua con la utilización de cintilla de riego por goteo

Con la aplicación del acolchado plástico se pudo observar un adelanto de la cosecha hasta de 10 días, lo que es una gran ventaja y una mayor rentabilidad a corto y largo plazo, más aplicación de composta orgánica y riego por goteo sobre la agricultura convencional.

BIBLIOGRAFÍA

- Araní C., M. (2005). Influencia de la densidad de plantas y de la aplicación de enmiendas orgánicas al suelo en el cultivo de Cedrón Paraguay (*Lippia citriodora* L.) en el segundo año. San Pedro de Ycuamandyyu: Paraguay.
- Calzada, M. (2003) Tendencias del mercado orgánico mundial. Oportunidades para Latinoamérica, CD Mov. Arg. Prod. orgánica (MAPO). Cámara de Comercio.
- Centro de Comercio Internacional (UNCTAD/OMC) (2001) Los mercados mundiales de frutas y verduras orgánicas. Netherlands. FAO. pp. 4-10.
- Orellana B, F. E. (1997) Efecto de dos abonos orgánicos y tres niveles de fertilización química en el cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). Buenavista: Saltillo Coahuila (México).
- Bravo, L. A. G., J. A. García S. (2000) El acolchado del suelo, un equipo práctico para realizarlo. 500 Tecnologías Llave en Mano. INIFAP, SAGAR. Serie 2000 Tomo II. pp.73
- Brown E. J., W. D. Goff, J. M. Dangler, W. Hogue, M. S. West (1992) Plastic mulch color inconsistently affects yield and earliness of tomato. Hortscience 27(10):1135.
- Cruz, V. A. (2000). Riego por goteo para el cultivo de chile seco en Zacatecas. 500 Tecnologías Llave en Mano. INIFAP, SAGAR. Serie 2000 Tomo II. pp. 170-171.
- Dainello, J. F., S. J. D. Cotner (1991). Cultural practices. Vegetable Grower's Handbook. TAES. USA.
- Delate, K, H. Friedrich, V. Lawson (2003) Organic pepper production systems using compost and cover crops. Biol. Agric. Hortic. 21(2):131-150.
- Delate, K. and C. A. Cambardella. (2004) Agroecosystem Performance during Transition to Certified Organic Grain Production. Agron. J. 96: 1288 - 1298.
- García-Díaz, C. A., R. Chaidez B., S. M. del Campo V., A. Losada V., J. López G., V. Trueba, J. A. Castañeda, J. González G. (2005) El sistema de macrotúneles: Una opción para incrementar la producción y la eficiencia en el uso del agua en chile güero 447 tipo Húngaro. In: Memorias de la Segunda Convención Mundial del Chile, Zacatecas, Zac. México. pp. 139-142.
- García, S. J. A., Nava P. R. (2000). Como evaluar el rendimiento de chile habanero y aprovechar mejor el sistema de riego por cintilla. 500 Tecnología Llave en Mano. INIFAP, SAGAR. Serie 2000 Tomo II. pp. 107
- Kasperbauer, J. M., P. G. Hunt. (1993). US DA researchers study effects of colored mulch on plant growth. Newslines. Product and applications information. LI-COR, INC. Vol. 3 No. 1. Lincoln, Nebraska. USA.
- Madrid, C. M. (2000). Uso de plástico en hortalizas. 500 Tecnologías Llave en Mano. INIFAP, SAGAR. Serie 2000 Tomo II. pp. 86.
- McAndrews, G. M., M. Liebman, C. A. Cambardella, T. L. Richard. (2006) Residual effects of composted and fresh solid swine (*Sus scrofa* L.) manure on soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] growth and yield. Agron. J. 2006 98:873-882.
- Lamont Jr., W. J. (1992). Horticulture and drip irrigation. A modern vegetable production system includes plastic mulching and supply of water and fertilizer drop by drop. Agribusiness Worldwide 14(1):4-10.
- Mirafuentes, H. F. (2000). Control de virosis en chile jalapeño y habanero con acolchado. 500 Tecnologías Llave en Mano. INIFAP, SAGAR. Serie 2000 Tomo II. p. 73
- Ramírez V. J. (1991). El acolchado con plástico y los cultivos hortícolas. Revista Agronomía en Sinaloa. No. 3. Culiacán, Sinaloa. pp. 2-7.
- Rendón, V. D. (1997). Sinaloa. Una versión de futuro. Centro de Estudios Estratégicos. ITESM. Culiacán, México. pp. 171-183.
- Rendón, V. D. (1995). Estudio estratégico del Estado de Sinaloa. Centro de Estudios Estratégicos. ITESM. Culiacán, México. pp. 4-18, 100-115.
- Tejada, M., J. L. Gonzalez. (2007) Application of Different Organic Wastes on Soil Properties and Wheat Yield. Agron J. 99:1597-1606.

Vásquez H. A., V. López G., G. Rodríguez E., A. B. Vargas G., I. Meneses M. (2005) Aplicación del bioabono Bocashi en Chile Jalapeño bajo dos condiciones ambientales de cultivo. In: Memorias de la Segunda Convención Mundial del Chile 2005, Zacatecas.

EVALUACIÓN DE 14 CARACTERÍSTICAS DE MEZQUITE (*Prosopis laevigata*) DEL ESTADO DE GUANAJUATO

Martha P. Sandoval Anguiano ^a, Jaquelina González Castañeda, ^b Juan J. Torres Morales ^c

^aENMS Irapuato - UG.

^bCampus Irapuato –Salamanca -UG.

^cCampus Celaya –Salvatierra -UG.

paty_sa1@yahoo.com.mx

RESUMEN

En virtud de que las especies del género *Prosopis* tienen una gran variabilidad, implica la tarea de caracterizarlas morfológicamente para su mejoramiento, conservación y aprovechamiento sustentable. En este trabajo se evaluaron 50 accesiones de la especie *Prosopis laevigata*, utilizando el método de los componentes principales, por medio del cual se formaron tres grupos diferentes con las 14 características morfológicas que se estudiaron, que explican el 60.977% de la varianza total. El primer componente incluye: no. de ramas principales, número de pinas y altura de árbol; El no. de foliolos por pina, el dosel y el perímetro del tronco contribuyeron a la formación del segundo componente. Para el tercero la longitud de las vainas, el no. de semillas por vaina y número de foliolos ayudaron a integrarlo.

Hay tres distancias genéticas en las que se pueden separar las accesiones de mezquite. 44 Accesiones de mezquite forman el primer grupo formado de las diez localidades, ubicadas a 15 unidades de distancia genética; un segundo conjunto con 3 accesiones procedentes de Dolores Hidalgo una; de Apaseo el Alto dos con 18.26 y un tercero, formado por otras 2 accesiones provenientes de Yuriria y Jaral del progreso respectivamente, mayor a 22.39 unidades de distancia genética.

PALABRAS CLAVE: Diversidad genética, accesiones, distancia genética, mezquite

INTRODUCCIÓN

La clasificación de las especies del género *Prosopis* presenta dificultades de acuerdo a lo establecido por Rzedowsky (1981), taxonómica, debido a la excesiva variabilidad entre plantas individuales y entre individuos dentro de una especie bien delineada y entre los híbridos generados entre diferentes especies. La morfología de la mayoría de las especies de *Prosopis* varía con el área, con los factores genéticos y la interacción de los mismos tiene como consecuencia que se presente una variación genotípica y fenotípica muy grande, que debe ser caracterizada para aumentar la sustentabilidad de la especie.

El objetivo del trabajo fue el estudiar la variabilidad y las relaciones filogenéticas entre las accesiones de la especie de *Prosopis laevigata* Rzedowski (1981).

MATERIALES Y MÉTODOS

Accesiones en estudio

Se evaluaron 50 accesiones de *Prosopis laevigata*, originarias de diez localidades diferentes del Estado de Guanajuato que son: Jaral del Progreso, Dolores Hidalgo, Victoria, Irapuato (dos sitios),

Yuriria, Romita, Silao, y Apaseo el Alto. Todas las accesiones fueron caracterizadas morfológicamente y evaluadas por el programa Statistical Program of Social Science (SPSS 18.0). Las características que se evaluaron para cada accesión son: Perímetro del tronco, altura del fuste, número de ramas principales, altura del árbol, dosel, pares de espinas en 20 cm., longitud media de espina, número de hojas en 20 cm, número de pinas, número de folíolos por pina, longitud de vainas, grosor de vainas, semillas por vaina y número de vainas en 1/20 de dosel

Análisis de datos

Medidas para el análisis de caracterización

Se estudió el arreglo entre las 50 accesiones y las 14 variables para establecer el índice de distancia, por medio de la distancia Euclidiana; así como el coeficiente de correlación. Se llevó a cabo la caracterización morfológica del material por el método de los componentes principales y el análisis de los conglomerados jerárquicos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos de las accesiones fueron analizados con los estadísticos descriptivos de promedio, máximo, mínimo y desviación estándar de cada variable. En la tabla 1 se reporta los resultados.

Tabla 1. Desviación estándar de las catorce características morfológicas de *Prosopis laevigata* de diez localidades del Estado de Guanajuato.

	Yuriria	Romita	Silao	Pénjamo	Apaseo El Alto	Jaral del Progreso	Dolores /Tequisq	Victoria	Irapuato / Sifones	Irapuato/ Lo de Sierra
1	76.45	34.8	36.67	24.26	55.62	36.77	29.4	22.9	10.36	16.83
2	103.1	42.1	9.039	19.72	89.58	19.49	89.3	74	44.93	30.56
3	0.548	0.55	0.837	0	1.304	0.707	0.55	1.1	0	0.507
4	3.701	1.92	3.391	3.286	3.912	63.43	1.34	1.24	2.49	27.38
5	342.1	207	238.7	334.7	356.4	264.6	148	51.8	131	120
6	1.517	0.89	1.304	0.447	5.02	1.673	1.92	2.77	0.548	1.673
7	0.894	1.64	2.915	3.578	4.764	3.507	4.43	4.09	5.608	0.784
8	22.74	12.5	25.13	14.29	8.385	15.68	9.67	10.2	1.14	5.215
9	1.095	0	1.095	0.894	0	1.095	0	0	0	0.49
10	11.28	15.4	11.28	4.336	14.79	7.874	9.81	7.69	5.899	3.412
11	2.864	3.42	3.194	2.168	1.483	3.564	1.73	1.48	4.159	1.279
12	0.894	1.22	1.225	0.894	1.517	2.074	2.28	2.3	0	0.967
13	2.49	1.1	6.124	1.342	0.548	1.517	7.73	7.92	2.646	3.507
14	403.7	498	358.2	205.4	236.9	378.2	652	735	245.9	231.4

Nomenclatura: 1.- Perímetro del tronco. 2.- Altura de fuste. 3.- No. de ramas principales. 4.- Altura de árbol. 5.- Dosel. 6.- Pares de espinas en 20 cm. 7.- Longitud media de espinas. 8.- No. de hojas en 20 cm. 9.- No. de pinas. 10.- No. de folíolos por pina. 11.- Longitud de vainas. 12.- Grosor de vainas. 13.- Semillas por vainas. 14.- No. de vainas en 1/20 cm.

Análisis Morfológicos

Análisis de componentes principales

El análisis de Componentes principales dio como resultado que los cinco primeros, constituyen el 60.977% de la varianza total (Tabla 2). El primero explica un 16.698 %, el segundo un 12.678%, el tercero el 1.748% y el cuarto el 1.421% de la varianza.

Tabla 2. Valores diferencias y proporciones de varianza para los cinco principales componentes entre 50 accesiones de *Prosopis laevigata*

Componente	Total	% de la var	Var Acumulada
1	2.33	16.69	16.69
2	1.77	12.67	29.37
3	1.74	12.48	41.85
4	1.42	10.14	52.00
5	1.25	8.97	60.97

En el Primer componente, las variables que tienen mayor peso son: Número de ramas principales, número de pinas, altura de árbol, dosel con valores mayores a 0.627 y perímetro del tronco con valor de 0.545. (Tabla 3) Para el segundo componente, las variables que más influyen son: número de folíolos por pina, dosel y perímetro del tronco con valores mayores a 0.500, en cambio, correlacionaron de forma inversa la altura del fuste y pares de espinas en 20 cm. Para el tercer componente la longitud de vainas y semillas por vaina fueron mayores a 0.680 y de forma negativa los pares de espinas en 20 cm. con -0.491. En este trabajo, las variables que muestran más contribución a la estructura de follaje fueron: número de ramas principales, número de pinas, altura del árbol, dosel y perímetro del tronco para el primer componente. Por otro lado, para el componente dos, las variables más destacadas fueron número de folíolos por pina, dosel, perímetro del tronco, de forma negativa la altura del fuste y pares de espinas en 20 cm.; Joseua *et al* (2007) encontraron que el número de pinas por hoja tuvieron gran participación en la formación de cinco grupos morfológicos. En cambio, Burghardt *et al.* (2000), determinaron que variables como largo y ancho de pina y longitud de folíolo evaluadas con análisis de componentes principales, fueron adecuadas para diferenciar plántulas de 8 especies de *Prosopis*, cultivadas en condiciones uniformes, en el Chaco semiárido del norte de Córdoba y sur de Santiago del Estero, Argentina.

Tabla 3. Matriz de componentes de la caracterización de Mezquite *Prosopis laevigata* de diez localidades del Estado de Guanajuato

	Componente				
	1	2	3	4	5
Perímetro del tronco cm	.545	.567	-.055	.053	.128
Altura de fuste cm	.150	-.542	.234	-.071	-.042
Número ramas principales cm	.667	-.089	-.121	-.030	.429

Altura de árbol m	.635	-.011	-.128	-.009	-.059
Dosel cm	.627	.607	.010	.137	.095
Pares de espinas en 20 cm	.208	-.518	-.491	.290	.221
Longitud media de espinas mm	-.314	-.142	.131	.725	.122
Número de hojas en 20 cm	.124	.099	.280	.190	.793
Número de pinas	.665	-.064	.337	.038	-.179
Número de folíolos por pina	.061	.659	.367	-.235	.146
Longitud de vainas cm	.061	-.090	.748	-.067	.197
Grosor de vainas mm	.286	.091	-.037	.748	-.061
Semillas por vaina	-.102	.052	.683	.217	-.059
No. de vainas en 1/20 de dosel	-.279	.166	-.213	-.282	.499

El análisis de Componentes principales dio como resultado que los cinco primeros, suman el 60.977% de la varianza total. El primero explica un 16.698 %, el segundo un 12.678 %, el tercero el 12.483 y el cuarto un 10.147. (Tabla 3).

Análisis de la distancia genética entre diversas accesiones

El dendrograma obtenido por el método de vinculación inter- grupos (Figura 1), divide en *tres grupos* a las plantas en estudio. El primero formado por 37 individuos de *Prosopis laevigata*, con un coeficiente de distancia de 15; mientras que para un segundo grupo está formado por 8 individuos ubicados, 1 en Dolores Hidalgo, 4 en Victoria, 1 de Irapuato (Lo de Sierra), 1 de Yuriria y el último procedente de Jaral del Progreso con una distancia de 22.39 y el tercer grupo formado por cuatro individuos, los cuales se encuentran tres en Apaseo el Alto y el cuarto es de Jaral del progreso con una distancia genética de 25, lo cual puede interpretarse como que la variación de *Prosopis laevigata* es intermedia. En cambio Joseau, *et al* (2007) encontraron *cinco grupos* en su estudio hecho en Argentina con *Prosopis chilensis*, *P. flexuosa*, *P. alba* y *P. nigra*, a un nivel del 70%, que es el equivalente a una distancia de 17.5.

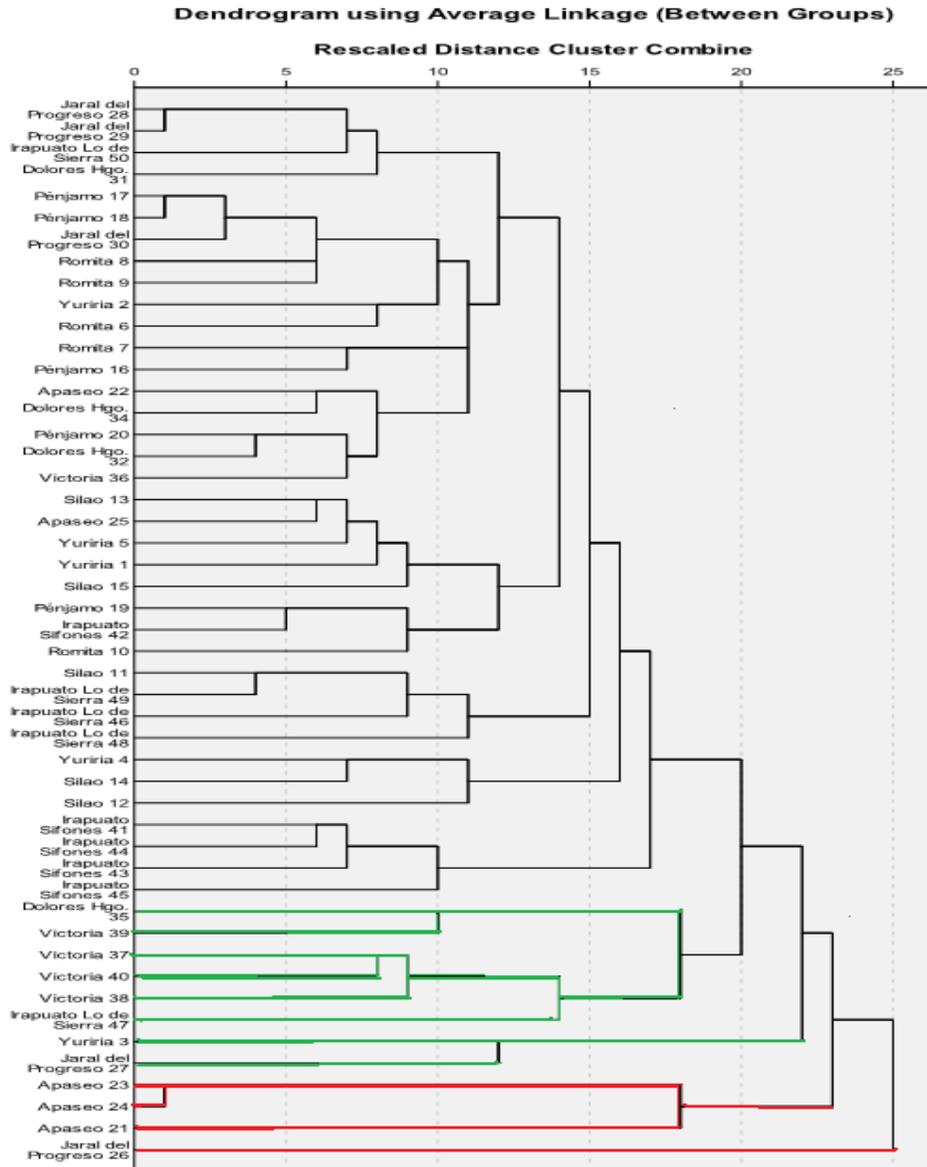


Figura 1. Dendrograma de distancia obtenido a partir de 50 accesiones de *Prosopis laevigata* de diez localidades del Estado de Guanajuato.

La distancia genética entre los diferentes individuos de *Prosopis laevigata* con mayor cercanía fue de 1.08 para el primer subgrupo formado por 3 integrantes (29, 18 y 24), el segundo subgrupo, con 35 individuos, el tercer subgrupo formado por seis individuos los individuos (7, 48, 31, 12, 42 y 27). En donde la variabilidad es media, con 14 unidades de distancia genética. La mayor diversidad se

encuentra en las accesiones de *Prosopis laevigata* procedentes de Yuriria y Jaral del progreso, una probable causa es su procedencia de diferentes puntos geográficos y estados fenológicos, así como a la interacción genotipo-medio ambiente.

CONCLUSIONES

1. La mayor variabilidad fue del Mezquite procedente de Jaral del progreso de entre las diez localidades en estudio (Con una distancia que varía de 1.08 hasta 25 unidades de distancia genética).
2. Las accesiones oriundas de Apaseo el Alto mostraron la segunda mayor variabilidad, con una distancia genética de 1.0 hasta 18.26 unidades de distancia genética.
3. La menor variabilidad genética fue de las accesiones procedentes de Victoria (mostró ser el grupo más compacto, con una distancia que va desde 9.024 hasta 10 unidades de distancia genética).
4. Se requiere continuar los estudios para otras localidades del Estado de Guanajuato
5. Deben hacerse estudios comparativo de plantas madre y su descendencia

BIBLIOGRAFÍA

Burghardt, Alicia D. Brizuela, M.M., Palacios, R. A.. (2000). Variabilidad en plántulas de algunas especies de *Prosopis* L. (Fabaceae). En busca de descriptores morfológicos Multequina [en línea], [fecha de consulta: 5 de julio de 2012] Disponible en:
<<http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=42800904>> ISSN 0327-9375

Franco, T., e Hidalgo, R.,(2003), En Análisis Estadístico de Datos de Caracterización Morfológica de Recursos Fitogenéticos. Boletín Técnico no. 8, Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), Cali, Colombia, 89 pp.

Joseau, M.J. et al (2007). Caracterización morfológica y genética de poblaciones del género *Prosopis* del Chaco semiárido del norte de Córdoba y sur de Santiago del Estero. Ciencia e Investigación Forestal-Instituto Forestal/Chile. Volumen 13, número 3. 2007. 427-448.

IMPLEMENTACION DE UN HUERTO DE PLANTAS MEDICINALES EN EL MUNICIPIO DE TEPATITLAN DE MORELOS, JALISCO, MEXICO

¹Velasco Nuño Raymundo; ²Flores Lopez Hugo Ernesto; ¹Medina Villareal Jorge Humberto;
¹Cordero Jáuregui Rodrigo; ¹Camarena Velázquez Gerardo Ivan;

¹Centro Universitario de los Altos-U de G, Km 7 Carr. Tepatitlán –Yahualica, Jal, Mex. CP 47680;

²Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Km. 8 carr Tepatitlán, Lagos de Moreno, Jal México, floresh@colpos.mx

RESUMEN

El Municipio de Tepatitlán de Morelos Jalisco se ubica en la denominada Región Altos de Jalisco, México, gran parte de las comunidades que integran esta Región, tradicionalmente utilizan las plantas para satisfacer necesidades diversas, con atención especial a aquellas con propiedades medicinales. El conocimiento que tales comunidades tienen sobre las especies vegetales, es un legado cultural que se ha transmitido de una generación a otra; desafortunadamente con registros inexistentes o incompletos. Dado lo anterior, es necesario elaborar un catálogo de plantas medicinales a nivel Regional para conocer el número de plantas medicinales existentes, para así mismo desarrollar esquemas metodológicos para su conservación y/o cultivo, rescatar la información etnobotánica, sobre el uso, formas de empleo y partes empleadas de las plantas, Para ello se realizaron una serie de actividades para incorporar suficiente información al catálogo, estas contemplan cinco etapas: Se revisaron los trabajos de plantas medicinales tanto a nivel Nacional, como Estatal y Regional. Se realizó la colecta-encuesta de ejemplares botánicos en diversas localidades del área de estudio; sus usos, forma de empleo y la parte empleada de la planta. Actualmente se tiene establecido el huerto medicinal orgánico en los terrenos del Centro Universitario de los Altos, de donde se pretende obtener información para elaborar un catálogo de plantas medicinales orgánico.

INTRODUCCION

México tiene el privilegio de poseer en su territorio un universo vegetal de excepcional diversificación y variedad. Desde hace tiempo se sabe que México junto con Centro América, constituyen una de las regiones donde se concentra una gran diversidad de especies y de casi todos los tipos de vegetación que se conocen en nuestro planeta (Rzedowski, 1978.)

En la actualidad se piensa que México posee aproximadamente 30,000 especies de plantas vasculares, teniendo una flora más basta que la de los Estados Unidos de Norteamérica y Canadá juntos y del mismo orden que la de la ex Unión Soviética (Rzedowski, 1991). Para el caso del Estado de Jalisco y específicamente en la Región de los Altos de Jalisco no se conoce con exactitud el número de especies, pero de manera conservadora se cree que existen muchas de estas, las cuales presentan gran variedad de formas en su uso.

Aunque estos trabajos tienen un objetivo en común, que es principalmente difundir información, cada uno tiene un enfoque y estructura de la información distinta. Un manual proporciona un medio sencillo para la identificación de especies vegetales, donde se brinda una breve información sobre las propiedades de las plantas útiles a un público amplio. (Pulido, 1982).

Un catálogo, tiene por objeto dar a conocer el nombre y las características de las plantas más comunes e importantes de una región, así, como su información biológica más relevante, usos y posibilidades de aprovechamiento, con el fin de enriquecer el conocimiento de la flora (Villaseñor, 1998).

Una guía de plantas útiles puede traer grandes beneficios, a nivel regional y local (Nieto, 1985), como es el caso de la cuenca del río Magdalena, que destaca por su biodiversidad, sobresaliendo una gran variedad de especies vegetales que sugieren un valor económico real o potencial (Nava, 2003).

Los trabajos que se han realizado sobre guías de plantas útiles en nuestro país incluyen datos del México prehispánico, los registros más antiguos que se tienen sobre estas guías, son del código De la Cruz Badiano y el código Florentino (Cedillo, 1990).

No obstante, en la actualidad se buscan realizar trabajos etnobotánicos, que resuelvan problemas ecológicos; entre estos destacan el de Arias et al., (2000) quienes realizaron una guía ilustrada de las plantas de Zapotitlán de las Salinas, Puebla, destacando los problemas de manejo de los recursos vegetales, se registraron 57 especies de plantas útiles, de las cuales 27 son comestibles, 13 medicinales, 10 ornamentales.

Valdivia (2006) recopiló trabajos de la flora medicinal, tanto del sureste como de la cuenca del Valle de México, registrando 66 especies de plantas medicinales.}

Torres (2005) elaboró un estudio etnobotánico del parque ecológico Huyamilpas. Para el caso de la delegación Magdalena Contreras, D.F., Tascon (1997), hizo un estudio de la flora medicinal del pueblo de San Nicolás Totoloapan.

El municipio de Tepatitlán de Morelos, Jalisco se encuentra en la denominada Región de los Altos, gran parte de las comunidades que integran esta región, tradicionalmente utilizan las plantas para satisfacer necesidades diversas, con atención especial a aquellas con propiedades medicinales. El conocimiento que tales comunidades tienen sobre las especies vegetales, es un legado cultural que se ha transmitido de una generación a otra; desafortunadamente con registros inexistentes o incompletos, por lo que se desconoce las propiedades y usos que tienen las diferentes especies de plantas de la región.

Dado lo anterior, es necesario elaborar catálogos regionales para conocer el número de plantas medicinales existentes, para así mismo desarrollar esquemas metodológicos para su conservación y/o cultivo. En la actualidad muchas de estas plantas medicinales son cotidianamente utilizadas, de tal manera que el uso excesivo de ellas puede provocar a corto o mediano plazo la disminución de sus poblaciones y su consecuente extinción.

Objetivos

- Establecer un huerto medicinal en el Municipio de Tepatitlán de Morelos Jalisco integrando los aspectos botánicos, agronómicos y químicos de las plantas medicinales de mayor uso en la región
- Elaborar un catálogo regional de las plantas medicinales más importantes del municipio de Tepatitlán de Morelos, Jal.
- Rescatar la información sobre el uso, formas de empleo y partes empleadas de las plantas medicinales

Justificación

Es necesario establecer un huerto medicinal para el municipio de Tepatitlán de Morelos, Jal. para conocer el número de plantas medicinales existentes, para así desarrollar esquemas metodológicos para su conservación y/o cultivo

En la actualidad muchas de estas plantas son utilizadas, de tal manera que su uso excesivo puede provocar a corto o mediano plazo su extinción.

MATERIALES Y METODOS

Para la implementación del huerto medicinal se realizaron una serie de actividades para incorporar la suficiente información al catálogo, estas contemplan cinco etapas:

Revisión bibliográfica

Se revisaron los trabajos de plantas medicinales tanto a nivel nacional, como estatal y regional. Se revisó información sobre aspectos de propagación, ciclo de vida, parte de la planta con mayor concentración de principios activos y su validación experimental y clínica.

Colecta-encuesta

Se realizó la colecta-encuesta de ejemplares botánicos en diversas localidades del área de estudio, con la finalidad de determinar y/o cotejar la identidad taxonómica de las especies de interés; sus usos, forma de empleo y la parte empleada de la planta.

Colecta de germoplasma

Se colectó semillas y material vegetativo (esquejes, estacas, hijuelos) en diversas localidades del municipio de Tepatitlán de Morelos.

Determinación de las formas de propagación

Semilla y Vegetativa

Algunas especies se propagan por semilla y otras vegetativamente con las diferentes modalidades como lo son esquejes, estacas, hijuelos etc.

Semillero y material vegetativo en charolas

Después de realizada la colecta de semillas y material vegetativo (esquejes, estacas, hijuelos) de las especies medicinales, se realizó la siembra en condiciones de vivero. Se utilizaron charolas germinadoras con sustratos a base de turba de musgo (peat moss mix) y/o tierra rica en humus.

CONCLUSIONES

Con la implementación del huerto medicinal y con la obtención de un **Catálogo con** la información generada en los incisos anteriores, que incluyen revisiones, exploraciones al área de estudio, entrevistas, vivero y evaluaciones en las áreas de cultivo, todo ello de manera periódica a partir de 2012 hasta el 2014. Se presenta un catálogo de 55 especies vegetales de uso común en el Municipio de Tepatitlán de Morelos, Jalisco, abarcando diversos tópicos como se muestra a continuación:

- A).- Nombre común (es), nombre científico y familia
- B).- Caracterización botánica de la especie, la cual contempla la descripción botánica, origen, hábitat y distribución geográfica
- C) Datos etnobotánicas, la cual integran el uso tradicional, los usos recomendados, partes que se emplean, formas de empleo y principios activos
- D) Observaciones y recomendaciones

NOMBRE COMUN: Toronjil blanco, Toronjil del país, xukurhi sipieti

NOMBRE CIENTIFICO: *Agastache mexicana* subsp. *xolocotziana* Bye. Linares & Ramamoorthy

FAMILIA: Lamiaceae

BIBLIOGRAFIA

1. Arias A., M. Toledo, V. Valverde y S. Reyes 2000. Las plantas de la región de Zapotitlán Salinas, Puebla. México, D.F. Instituto Nacional de Ecología: Red para el desarrollo sostenible, A. C., UNAM. 80 p.
2. Bello, G.M.A. 1993. Plantas útiles no maderables de la Sierra Purépecha, Michoacán, México, Foll. Tec. Inst. Nac. Invest. For N° 10 Mexico. 11pp.
3. Cedillo, E. 1990. Las plantas útiles del Municipio de Tepoztlán, Morelos. Tesis de maestría en ciencias Biológicas. México D.F. Facultad de ciencias. UNAM.
4. Nava, M. Z. 2006. Carbono almacenado como servicio ecosistémico y criterios de restauración, en el Bosque de *Abies religiosa* de la cuenca del río Magdalena, D.F. Tesis de maestría en ciencias Biológicas. México, D.F. Facultad de ciencias UNAM.
5. Pulido, M. T. 1982. Inventario de la flora y guía ilustrada para identificar las especies en el cerro Tetzcotzincó, Texcoco, Estado de México. Tesis de licenciatura en Biología. México, D.F. Facultad de Ciencias. UNAM.
6. Rzedowski, G. C. de J. Rzedowski y colaboradores, 2001. Flora fanerógama del Valle de México. 2ª. Ed., Instituto de Ecología, A. C. Y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro (Michoacán), 140 p.
7. Rzedowsky, J. 1991. El endemismo en la flora Mexicana. Una apreciación analítica preliminar. Acta Bot. Mex. 15:47-64.
8. Torres, M. S. 2005. Estudio etnobotánico del parque ecológico Huyamilpas. Tesis de licenciatura en Biología. México, D.F. Facultad de Ciencias. UNAM.
9. Valdivia, E. 2006. Recolección de la flora medicinal del sureste del DF, México. Tesis de licenciatura en Biología. México, D.F. Facultad de Ciencias. UNAM.
10. Villaseñor J.L. y F. J. Espinosa 1998. Catálogo de malezas de México. México. Fondo de Cultura Económica. 448 p.

MEJORAMIENTO GENÉTICO DE JITOMATE EN POBLACIONES E HÍBRIDOS PARA RESISTENCIA A *Phytophthora infestans*

Luis Javier Arellano Rodríguez, Eduardo Rodríguez Guzmán, José Miguel Padilla García, Ma. Cruz Arriaga Ruíz, José Sánchez Martínez, Adriana Natividad Avendaño López, Diana Yareli Arellano Zaragoza

Departamento de Producción Agrícola. Centro Universitario de Cs. Biológicas y Agropecuarias. Universidad de Guadalajara, larella@cucba.udg.mx

RESUMEN

El jitomate (*Solanum lycopersicum* Mill.) es una de las hortalizas más cultivadas en el mundo. Las plagas y enfermedades merman la producción y elevan los costos del mismo y una de las enfermedades más importantes la constituye el tizón tardío (*Phytophthora infestans*). En México, es muy poca la información científica que se puede encontrar respecto a generación de variedades resistentes; sin embargo, existe un gran potencial en *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*. El objetivo de esta investigación fue la de identificar fuentes de resistencia a *P. infestans* en 19 poblaciones de *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* colectadas en México, y formar con estas poblaciones líneas e híbridos con alta resistencia al patógeno. Durante el ciclo primavera-verano de los años 2008, 2009 y 2010 se evaluaron 19 poblaciones silvestres y durante los años 2011, 2012 y 2013 se formaron y evaluaron híbridos generados a partir de seis líneas derivadas de poblaciones resistentes. En las poblaciones silvestres, híbridos, progenitores y testigos, se tomaron lecturas visuales del porcentaje de severidad de tizón tardío. Y con el fin de comparar el comportamiento de cada material, con los datos obtenidos se calculó el área bajo la curva de desarrollo de la enfermedad (AUDPC). Destacándose por su resistencia a tizón tardío las poblaciones V115, 319, 327 y 330. En relación a potencial de rendimiento y resistencia a tizón tardío sobresalieron los híbridos **Sel 3-1a x Cherry S.** y **Sel 16 x Cherry S.** en comparación con los híbridos testigos **Monello** y **2193**.

INTRODUCCIÓN

El jitomate (*Solanum lycopersicum* Mill.) es una de las hortalizas más cultivadas en el mundo. En México es la segunda especie hortícola con mayor superficie cultivada y la principal por su producción (FAOSTAST, 2011). Sin embargo, las plagas y enfermedades merman la producción y elevan los costos del mismo y una de la enfermedad más importante la constituye *Phytophthora infestans*. Para su control a nivel mundial anualmente se invierte de uno a tres billones de dólares (Barbosa *et al.*, 2008). Los períodos húmedos y nublados con temperaturas frescas son propicios para el desarrollo de esta enfermedad, la infección por el patógeno es óptima en condiciones de alta humedad (80 a 100%) y bajas temperaturas (18 a 22° C) (Henfling, 1987; Rick y Chetelat, 1995); por lo que se producen graves epifitias en zonas con clima fresco y húmedo, ocasionando pérdidas hasta del 100% (Fontem *et al.*, 2005). El patógeno se reproduce tanto asexual como sexualmente, es un organismo que requiere dos tipos de apareamiento denominados A1 y A2 (Goodwin *et al.*, 1998). La aparición de ambos tipos de apareamiento fuera de México ha contribuido a la rápida dispersión y presencia de razas más virulentas de *P. infestans* en el mundo (Páez *et al.*, 2005). En relación a Jalisco, México, cuando se presentan las condiciones favorables para la expresión del patógeno, impacta fuertemente la producción de jitomate en las principales áreas productoras, dado que el 84% de los productores utiliza el sistema a campo abierto y el 8% bajo invernadero (Cih *et al.*, 2011). Reportes de técnicos y productores señalan que debido a la reducida o nula disponibilidad de variedades resistentes a *P. infestans*, para su control dependen del uso de fungicidas elevando los costos de producción del cultivo, por lo que la resistencia genética en plantas representa una alternativa viable (Brouwer y St. Clair, 2004). En México, es muy poca la información científica que se puede encontrar respecto a generación o descubrimiento

de variedades resistentes de jitomate a tizón tardío. Sin embargo, existe un gran potencial en *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*. Reportes de investigación y publicaciones formales hechas en México señalan que este tomate silvestre se distribuye desde Sinaloa hasta la Península de Yucatán (Chávez *et al.*, 2011).

OBJETIVO

Identificar fuentes de resistencia en condiciones naturales a *P. infestans* en poblaciones de *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* colectadas en México y formar con estas poblaciones variedades e híbridos con alta resistencia al patógeno.

MATERIALES Y MÉTODOS

Durante el ciclo primavera-verano de los años 2008, 2009 y 2010 se evaluaron 19 poblaciones silvestres de *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* colectadas en México, comparándose con dos variedades susceptibles y la accesión LA2533 de la especie *S. pimpinellifolium* con resistencia a *P. infestans* razas 0 y 1, proporcionada por Tomato Genetics Resource Center (TGRC) de la Universidad de California, Davis. Para los años 2011 y 2012 se formaron híbridos con líneas generadas a partir de familias F2 de los cruzamientos entre poblaciones silvestres resistentes a tizón tardío y una variedad mejorada susceptible al patógeno (San Marzano). En este período se llevaron a cabo observaciones de los híbridos y de sus respectivos progenitores. Limitándose a seleccionar solo aquellos que expresaron mayor potencial de rendimiento (seis híbridos), ya que en cuanto a resistencia a tizón tardío se refiere, en estos años no se presentaron las condiciones climáticas óptimas para la expresión del patógeno. Y durante 2013, se llevo a cabo la evaluación de estos híbridos y sus respectivos progenitores, incluyéndose dos testigos comerciales (Monello 2193) y la variedad San Marzano.

No.	Híbridos/progenitores
1	Sel 3-1a x Cherry S.
2	Sel 20 campo x Cherry S.
3	Sel 16 x Cherry S.
4	V115 x Cherry S.
5	Sel 7 Amarillo x Cherry S.
6	Sel 1 x Ch. S.
7	Monello (testigo comercial)
8	2193 (testigo comercial)
9	Sel 3-1a
10	Sel 20 campo
11	Sel 16
12	V115
13	Sel 7 amarillo
14	Sel 1
15	San Marzano (testigo susceptible)

Cuadro 1. Lista de híbridos y progenitores evaluados durante el ciclo P.V. 2013.

En todas las plantas de cada población silvestre, híbridos y progenitores, cada siete días se tomaron lecturas visuales del porcentaje de severidad de tizón tardío de acuerdo a la escala del Centro Internacional de la Papa (Henfling, 1987): 1=0%, 2=0-5%, 3=5-15%, 4=15-35%, 5=45-65%, 6=65-85%, 7=85-95%, 8=95-100%, y 9=100%. Con el fin de comparar el comportamiento de cada material, con los datos obtenidos cada semana se calculó el área bajo la curva de desarrollo de la enfermedad (AUPDC por sus siglas en inglés) utilizando la fórmula propuesta por Shaner y Finney (1977) aplicando el método de integración trapezoidal y usando la ecuación:

$$AUDPC = \sum_{i=1}^n \left[\frac{Y_{i+1} + Y_i}{2} \right] [X_{i+1} - X_i]$$

Dónde: n es el número de mediciones de la enfermedad en el tiempo; el término $(Y_i + Y_{i+1}) / 2$ es el punto medio entre $(Y_i + Y_{i+1})$ que representa la cantidad de enfermedad en un intervalo de tiempo, correspondiente a la altura de cada rectángulo; y el término $(X_{i+1} - X_i)$ representa el tiempo (d) entre dos evaluaciones de la enfermedad e indica la anchura de cada rectángulo.

Ubicación

El proyecto se realizó en el Campo Experimental del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA) de la Universidad de Guadalajara, ubicado en Nextipac, Zapopan, Jalisco, México, a 20° 44' 42.5" LN y 103° 30' 52.5" LO, con una altitud de 1650 m, y con un clima templado semiseco, con temperatura media anual de 23.5°C y una precipitación media anual de 906 mm.

RESULTADOS

En los ciclo 2008, 2009, 2010 y 2013, la alta humedad relativa ($\geq 80\%$) y baja temperatura durante la noche y primeras horas del día (12 a 16 °C) en los meses de septiembre y octubre favorecieron el ataque del patógeno. Se encontraron diferencias significativas ($P < 0.01$) entre poblaciones silvestres sometidos a infecciones naturales de *Phytophthora infestans* en los tres años de evaluación (2008, 2009 y 2010) para las variable AUDPC. Destacándose en estas condiciones por su resistencia a tizón tardío las poblaciones V115, 319, 327 y 330 (Figura 1).

En el ciclo primavera-verano 2013, en cuanto a potencial de rendimiento sobresalieron los híbridos **Sel 3-1a x Cherry S.** y **Sel 16 x Cherry S.** en comparación con los híbridos testigos **Monello** y **2193**. Y los híbridos más resistentes a *P. infestans* fueron **Sel 3-1a x Cherry S.**, seguido de los híbridos **Sel 16 x Cherry S.** y **Sel 20 campo x Cherry S.** Los híbridos testigos presentan porcentajes de severidad a *P. infestans* arriba del 40%. Los progenitores V115, Sel 3-1a y Sel 16 presentaron cero por ciento de severidad al patógeno (Cuadro 2).

Los valores de AUDPC, estimados en las 19 poblaciones silvestres y en los testigos, claramente permiten separar los grupos con resistencia, tolerancia y susceptibilidad. Las colectas V115, 319, 327 y 330, se manifestaron como poblaciones de alta resistencia. Estas poblaciones fueron colectadas en Veracruz y Nayarit; en donde el clima predominante es de tipo cálido húmedo, con condiciones climáticas favorables para que tizón tardío se presente; y en el caso específico de las poblaciones que mostraron mayor susceptibilidad o resistencia baja, el clima predominante en las áreas donde fueron colectadas es de tipo seco y semiseco, lo que posiblemente genere que el patógeno tenga un comportamiento irregular durante los ciclos agrícolas. Al comparar el porcentaje de severidad reflejado en la AUDPC mostrada a través de los tres años de evaluación por el ataque de *P. infestans*, se observó que durante 2008 los genotipos presentaron los valores más altos de severidad por el ataque de tizón tardío (Figura 1).

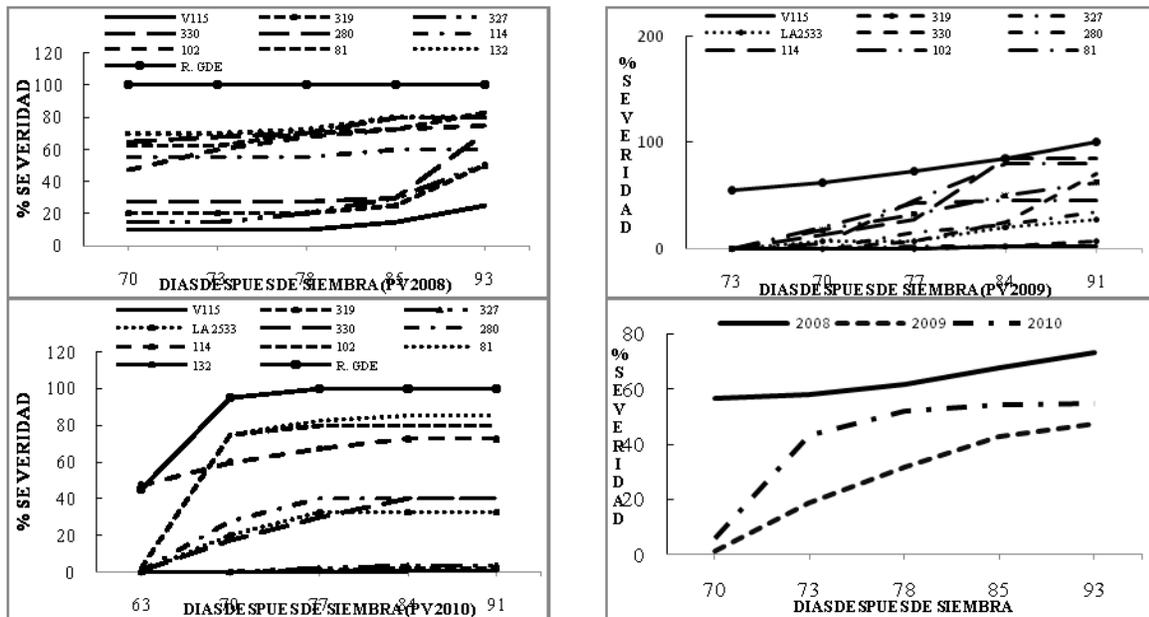


Figura 1. Porcentaje de severidad de algunos genotipos evaluados a diferentes tiempos de muestreo (2008, 2009 y 2010) y comportamiento medio del total de genotipos durante los tres ciclos agrícolas.

Cuadro 2. Porcentaje de severidad a *P. infestans* durante 2013 en los híbridos y progenitores evaluados.

No.	Híbridos/progenitores	% Severidad Tizón tardío
1	Sel 3-1a x Cherry S.	0
2	Sel 20 campo x Cherry S.	5
3	Sel 16 x Cherry S.	15
4	V115 x Cherry S.	25
5	Sel 7 Amarillo x Cherry S.	40
6	Sel 1 x Ch. S.	45
7	Monello (testigo comercial)	50
8	2193 (testigo comercial)	40
9	Sel 3-1a	0
10	Sel 20 campo	25
11	Sel 16	0
12	V115	0
13	Sel 7 amarillo	35
14	Sel 1	35
15	San Marzano (testigo susceptible)	70

En este año la mayoría de genotipos iniciaron con un porcentaje de severidad mayor al 50% en el primer muestreo realizado, y en la última evaluación alcanzaron una severidad promedio de 80%. Mientras que en el 2010 se inició con porcentajes de severidad promedio menores de 10% y mayores al 50%. En 2009 la mayoría de genotipos tuvieron una disminución de la severidad menor del 10% durante el primer muestreo y del 50% en el segundo muestreo; y a partir del tercer muestreo los genotipos susceptibles tuvieron una severidad mayor al 80%. En este año se registraron precipitaciones durante el mes de agosto de 37.4 mm, en septiembre de 159.8 y en octubre de 39.6; mientras que en 2008 en estos mismos meses se tuvieron precipitaciones de 130.2, 226 y 50.2 respectivamente y en 2010, la precipitación fue de 143, 178 y 7.20 mm respectivamente. Por lo que, estas diferencias en cantidad de lluvia, pueden haber influenciado para que en el 2009 la severidad mostrada por los genotipos fueran menores en las primeras fechas de muestreo (Figura 1). En tanto que, en 2008 y 2010, las precipitaciones registradas durante estos meses favorecieron la presencia de mañanas lluviosas y frías, creando un ambiente propicio para el desarrollo de tizón tardío. Y en relación a los híbridos y progenitores, los resultados demuestran que las líneas Sel 3-1a, Sel 16 y Sel 20 campo, tienen el potencial de heredar la resistencia a *P. infestans* en los híbridos F1.

CONCLUSIONES

En el presente estudio se demostró que *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* es una especie que posee una amplia gama de poblaciones con bajo, medio y alto potencial de resistencia a *P. infestans*. En las 19 poblaciones silvestres sometidas a infecciones naturales a *P. infestans*, las poblaciones V115, 319, 327 y 330 obtuvieron los niveles más altos de resistencia comparados con el testigo resistente LA2533. Dichas poblaciones identificadas como resistentes representan nuevas fuentes de resistencia para ser usadas en programas de mejoramiento genético de la especie. Lo que se confirma con la resistencia mostrada con los híbridos Sel 3-1a x Cherry S., Sel 16 x Cherry S., y Sel 20 campo x Cherry S.

BIBLIOGRAFIA

1. Barbosa, A. F., D. J. Henriques da S., C. Damiano, C., and E. S. Gomide, M., 2008. Inheritance of resistance to *Phytophthora infestans* (Peronosporales, Pythiaceae) in a new source of resistance in tomato (*Solanum* sp. (formerly *Lycopersicon* sp.), Solanales, Solanaceae). *Genetics and Molecular Biology*. 31(2): 493-497.

2. Brouwer, D. J. and A. St. Clair, D. 2004. Fine mapping of three quantitative trait loci for late blight resistance in tomato using near isogenic lines (NILs) and sub-NILs. *Theor Appl Genet.* 108:628-638.
3. Cih, D. I. R., J.L. Jaramillo, V., M. A. Tornero, C., y R. Schwentesius, R. 2011. Caracterización de los sistemas de producción de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) en el estado de Jalisco, México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems.* 14(2): 501-512.
4. Chávez, S. J. L., J.C. Carrillo, R., A. M. Vera, G., E. Rodríguez, G., R. Lobato, O. 2011. *Utilización actual y potencial del jitomate silvestre en México.* Subsistema Nacional de Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura (SINAREFI), Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, CIIDIR-Unidad de Oaxaca del Instituto Politécnico Nacional e Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca, Oaxaca, México. 72 p.
5. FAO/STAT. 2011. *Estadísticas de producción de cultivos.* [En línea] <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567> [consulta: 12 mayo de 2012].
6. Fontem, D. A., M. Olanyab, O. R. Tsopmbeng, G., and A. P. Owona, M. 2005. Pathogenicity and metalaxyl sensitivity of *Phytophthora infestans* isolates obtained from garden huckleberry, potato and tomato in Cameroon. *Crop Protection.* 24: 449-456.
7. Goodwin, B. S., D. Smart, C., W. Sandrock, R., L. Deahl, K., K. Punja, Z. and E. Fry, W. 1998. Genetic change within populations of *Phytophthora infestans* in the United States and Canada during 1994 to 1996: Role of migration and recombination. *Phytopathology.* 88:939-949.
8. Henfling, J. W. 1987. *Late Blight of potato: Phytophthora infestans.* Technical Information Bulletin 4. International Potato Center, Lima, Peru. 25 p.
9. Páez, O., R. Valverde, L. Gómez y A Brenes. 2005. Diversidad genética de aislamientos de *Phytophthora infestans* en plantaciones de papa en Costa Rica con el uso de RAPDS. *Agronomía Costarricense.* 29: 41-55.
10. Rick, C. and R. Chetelat. 1995. Utilization of related wild species for tomato improvement. *Acta Hort.* 412:21-38.
11. Shaner, G. and E. Finney, R. 1977. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopathology.* 67:1051-1056.

APROVECHAMIENTO DE LIXIVIADOS MEDIANTE UN SISTEMA DE DIGESTIÓN ANAEROBIA

Marisol Flores Plascencia^a, Dr. Misael Murillo Murillo, Dra. María Leticia Ramírez

^aInstituto Tecnológico de Puebla, Puebla, Universidad Politécnica de Puebla,
Universidad Politécnica de Puebla, premi168@yahoo.com.mx

RESUMEN

Para la realización de este proyecto se utilizó la fracción orgánica de los Residuos Sólidos Municipales (RSM), para obtener lixiviados, y someterlos a digestión anaerobia para producir biogás por medio de un reactor cilíndrico de 10 litros. Las dos corridas experimentales revelaron una fuerte dependencia de la temperatura para la conversión de la materia orgánica en biogás, puesto que en la primera, a temperatura ambiente, de 26 a 20°C y un pH sin regulación que disminuyó de 7 a 5, se produjeron 1800 mL de gas, con un consumo de 50% de la DQO y un olor característico de alcohol y ácidos orgánicos. Durante la segunda corrida, con lixiviados inoculados con estiércol vacuno; a temperatura controlada alrededor de 30°C y un pH que se mantuvo sin regulación alrededor de 8; la producción de gas fue de 1300 mL y mostró olor característico de biogás, cuya composición fue aproximada, al observar que el 25% del gas se disolvió en una solución de KOH. Es decir que al menos el porcentaje restante estaba compuesto por metano y otros compuestos propios de la digestión anaeróbica. Se concluyó que la temperatura en el rango mesófilo es fundamental para digerir lixiviados, lo que representa una posibilidad de degradar estos líquidos contaminantes con producción de energía.

INTRODUCCIÓN

La generación de desechos sólidos municipales (RSM) es un grave problema de las zonas urbanas y en proceso de urbanización; y, aunque una gran fracción de estos es reciclable o reutilizable, su disposición es aun inadecuada e insuficiente. Por ello, una parte se puede encontrar en la vía pública y en vertederos a cielo abierto, convirtiendo estos sitios en focos de infección por la gran cantidad de la fauna nociva, que puede propagar diversas enfermedades.

Así, aun cuando las fracciones aprovechables inorgánicas (plásticos, metales, papel y cartón), son económicamente valorizables; la fracción orgánica no es considerada en la gestión integral debido a los altos costos que implica su aprovechamiento a través de las tecnologías actuales, una logística de manejo más compleja y disponibilidad de grandes áreas para la aplicación de las diferentes formas de degradación o aprovechamiento energético de la fracción orgánica de los residuos.

Con todo, es posible generar biogás, degradando anaerómicamente los lixiviados producidos a partir de esta fracción orgánica, lo que puede constituir una fuente de energía a utilizar en el lugar en donde se generan o se confinan esos materiales, contribuyendo además con el desarrollo sustentable.

De esta forma, se justifica la investigación y aplicación de tecnologías tendientes a simplificar los procesos de aprovechamiento energético de la fracción orgánica de los RSM, en este caso para la metanización de los lixiviados generados durante su descomposición.

Por consiguiente el objetivo de este proyecto es degradar y metanizar los lixiviados provenientes de la fracción orgánica de los residuos sólidos municipales, por medio de un digestor anaerobio a nivel laboratorio, para contribuir a su gestión integral y a reducir el espacio destinado a su confinamiento en los rellenos sanitarios.

TEORÍA

De acuerdo a la Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos, los lixiviados son: “líquidos que se forman por la reacción, arrastre o filtrado de los materiales que constituyen los residuos y que contienen en forma disuelta o en suspensión, sustancias que pueden infiltrarse en los suelos o escurrirse fuera de los sitios en los que se depositan los residuos y que pueden dar lugar a la contaminación del suelo y de cuerpos de agua, provocando su deterioro y representar un riesgo potencial a la salud humana y de los demás organismos vivos”(Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos, 2003).

Este líquido se encuentra comúnmente asociado a rellenos sanitarios, en donde, debido a su filtración a través de los desechos sólidos y de sus reacciones químicas y biológicas, se producen una serie de productos de descomposición disueltos, así como otros compuestos, algunos incluidos en el biogás producido.

Si el relleno sanitario no tiene sistema de recogida de lixiviados, éstos pueden alcanzar las aguas subterráneas y causar, como resultado, problemas medio ambientales o sanitarios (Álvarez, 2006).

Por otra parte, la digestión anaeróbica es el proceso biológico en el que la materia orgánica, en ausencia de oxígeno y mediante la acción de un grupo de bacterias específicas, se descompone en productos gaseosos o biogás (CH_4 , CO_2 , H_2 , H_2S), como componentes mayoritarios, y en un líquido conocido como digestato, que es una mezcla de productos minerales, nitrógeno, fósforo, potasio y calcio, entre otras especies químicas; además de compuestos de difícil degradación.

Las ventajas principales del proceso de digestión anaeróbica son: minimización de emisiones de gases de efecto invernadero, el aprovechamiento energético de los residuos orgánicos y, a su vez, la obtención de un abono orgánico rico en nutrientes y libre de patógenos para el uso directo en la tierra” (Instituto para la Diversificación y Ahorro de Energía, 2007).

La digestión anaeróbica está caracterizada por la existencia de varias fases consecutivas, diferenciadas en el proceso de degradación del sustrato, que es un término genérico para designar, en general, al alimento de los microorganismos. En este proceso intervienen cuatro grandes poblaciones de microorganismos”, como se muestra en la Figura 1.

La acción conjunta de los microorganismos anaerobios hace posible la conversión residuos orgánicos en biogás y otros subproductos, dependiendo de la fracción que se someta a tratamiento.

Asimismo, en el proceso interactúan cinco grandes poblaciones bacterianas, catalizando tres procesos consecutivos: hidrólisis, acidogénesis (formación de ácidos) y metanogénesis (formación de metano), agrupadas en cuatro etapas (ver Figura 1).

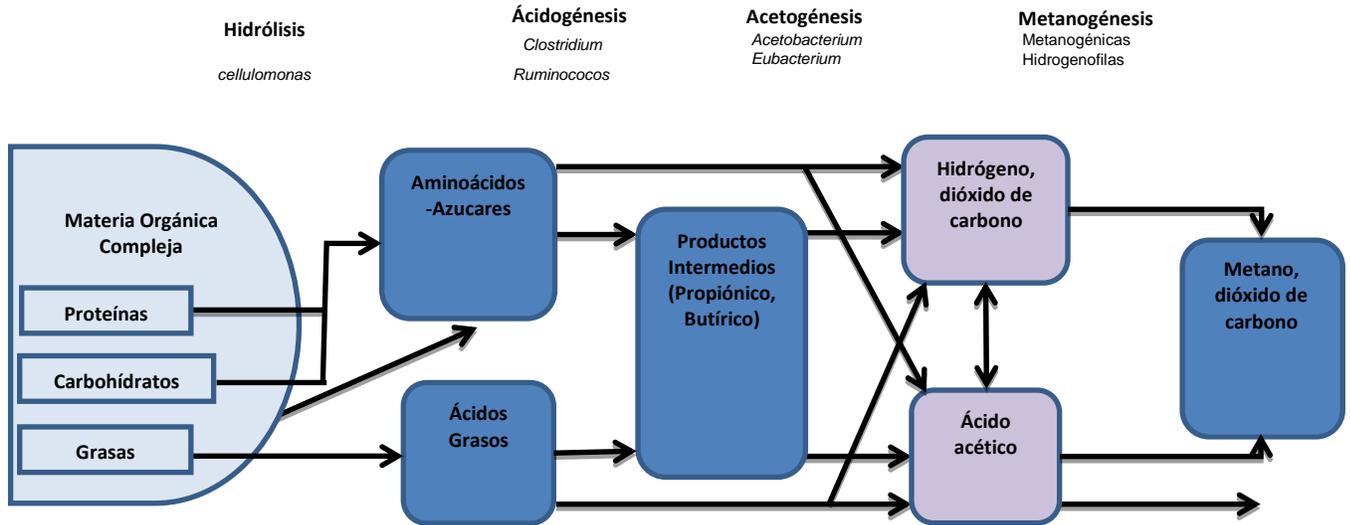
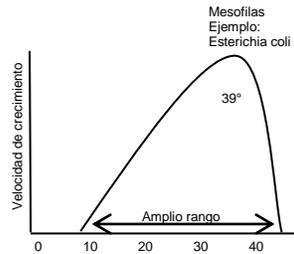


Figura 1 Fases de la digestión anaerobia. Fuente: Nakasima *et al.* (2009)

Lo anterior da una idea de la complejidad del proceso de digestión, al depender de muchas especies bacterianas, cada una con sus propios valores óptimos de actividad metabólica. Esta peculiaridad hace que los procesos anaerobios sean muy sensibles a cambios en las condiciones físico-químicas, como se especifica en la Figura 2.



Tipo de microorganismos de acuerdo con su rango óptimo de pH:
Acidófilos: pH <6
Acidófilos obligados: ≥7.
Alcalófilos: pH >9.

Figura 2. Condiciones físicoquímicas óptimas para las especies bacterianas mesófilas. Fuente: Madigan (2003).

De esta manera, los diferentes tipos de tratamientos para los lixiviados provenientes principalmente de rellenos sanitarios muestran variabilidad en cuanto a rendimientos y condiciones de operación (Tabla 1).

Tabla 1. Tratamientos para lixiviados. Fuente: Noeggerath (2010).

Sistemas para tratamiento de lixiviados	Ventajas	Desventajas
Humedales *	Simplicidad en su operación. Sembrado de plantas acuáticas. Proceso natural para tratamiento de agua.	Variaciones de cargas hidráulicas y orgánicas.
Lagunas de evaporación*	Método simple. La remoción de materia orgánica puede ser aerobia o anaerobia.	No se le da importancia a los olores generados. Se concentra la materia orgánica sobre todo la recalcitrante.
Sistemas de Membranas	Disminución de volumen en tanques del reactor biológico. Se logran cantidades significativas en la cantidad de biomasa.	Los módulos son más complicados de operar. Aumento en los costos de energía.
Lagunas aireadas mecánicamente	Se utiliza la materia orgánica como fuente de energía.	Tiene costos elevados. Mayor consumo de energía eléctrica.
Lagunas aerobias	Reducción de contenido en sólidos y materia orgánica.	No se obtiene un efluente de alta calidad.
Lodos activados	La homogenización de caudales, la sedimentación primaria (en la mayoría de los casos), el tratamiento biológico y la sedimentación secundaria pueden lograrse en un tanque reactor único.	Se deben acondicionar las aguas residuales. Mayor costo. Taponamiento potencial de los dispositivos de aireación durante ciclos operativos específicos dependiendo del sistema de aireación utilizado.
Reactor anaerobio de flujo ascendente (UASB)	Efectiva separación de biogás, desagüe y lodo. Mayor simplicidad del sistema.	Alto contenido de amoníaco y minerales disueltos. Acumulación de material precipitado. Costo elevado.

PARTE EXPERIMENTAL

Este trabajo está dirigido a aplicar la tecnología anaerobia existente; y busca, además, mediante en monitoreo de sistemas a nivel laboratorio, encontrar condiciones que contribuyan a mejorar la metanización de los lixiviados de acuerdo con el objetivo planteado. Las técnicas para el monitoreo del proceso implementado, se enlistan en la Tabla 2.

Tabla 2. Técnicas de recolección de información para el monitoreo del proceso implantado.

DETERMINACIÓN	PRINCIPIO	REFERENCIA
SST, SSV	GRAVIMÉTRICO	NMX-AA-67-SCFI-2001
pH	POTENCIOMETRÍA	NMX-AA-008-SCFI-2000
DQO (demanda química de oxígeno)	DIGESTIÓN Y ESPECTROFOTOMETRÍA	NMX-AA-030-SCFI-2001
DBO (demanda biológica de oxígeno)	CONSUMO DE OXÍGENO POR UNA MICROFLORA EN FRASCOS CERRADOS	NMX-AA-028-SCFI-2001
MEDICIÓN DE PRODUCCIÓN DE BIOGAS	DESPLAZAMIENTO DE VOLUMEN DE AGUA DISOLUCIÓN DE GASES EN SOLUCIONES BÁSICAS	Urieta-Aguado (2010)

Los lixiviados fueron colectados a partir de la fracción orgánica de RSM, colocados en una pecera de acrílico, de tal manera que su descomposición produjera tales líquidos. Se asumió que estos no contenían metales ni sustancias inhibitoras puesto que se produjeron a partir de desechos domésticos, recolectados, después de su separación en una unidad habitacional de la zona metropolitana de Puebla, Pue.

Para el arranque del reactor se colocaron los lixiviados recuperados en un reactor de policarbonato de 10 litros, sellado y con válvulas y ductos para la inyección de material nuevo, salida de gas y toma de muestras digeridas. Para el seguimiento inicial de la digestión de los lixiviados se agitó el contenido del digestor, que se mantuvo a temperatura ambiente y en el que no se ajustó el pH del sustrato. Este reactor se alimentó con 300 mL de lixiviados frescos una vez por semana. Una vez estabilizado, se dejó reposar con el nuevo material y semanalmente se extrajo la misma cantidad de líquido, para realizar las pruebas correspondientes de ST, SSV y DQO (ver Tabla 2).

Las condiciones iniciales de esta corrida experimental se muestran en la Tabla 3.

En la Figura 3 se muestra el acoplamiento de una pecera para la extracción de los lixiviados hacia el digestor y el gasómetro.

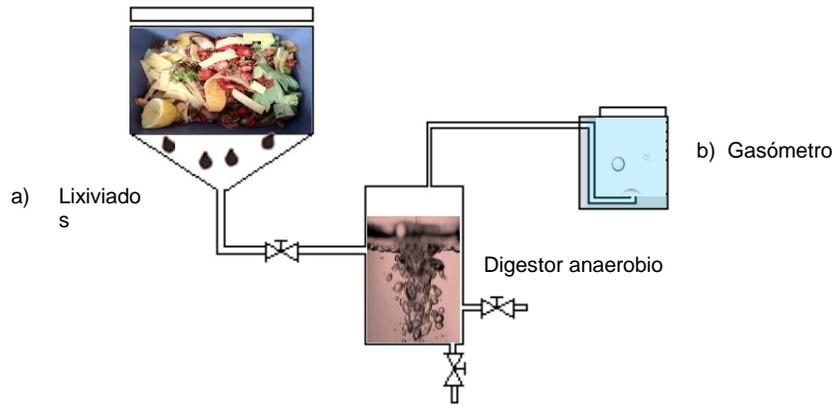


Figura 3. Acoplamiento de la producción con la digestión de los lixiviados. a) Inicio de la recolección de lixiviados, b) detalle del digestor con el gasómetro.

Tabla 3. Datos iniciales para la primera corrida de digestión de lixiviados.

Color	pH	DQO	ST	SSV	T
Amarillo	7.5	20.83 g/L	19.59 g/L	9.67 g/L	26°C

En la Figura 4 se muestra el comparativo de los resultados obtenidos de los SSV y la DQO del reactor analizado inicialmente.

El pH inicial fue de 7-8, posteriormente, al realizar la primera inyección bajó a un valor ubicado entre 6 y 7, aunque con la segunda inyección descendió a 5.5 como se muestra en la Figura 5.

Se presentó una producción acumulada de gas de 1010 mL, considerando el periodo de aclimatación, aunque aún no se tienen evidencias de su composición, es decir se no ha determinado si se llegó a la metanización, por lo que preliminarmente se efectuó la prueba de ignición con el gas almacenado, no obteniendo flama alguna. Esto puede indicar que el porcentaje de metano en el biogás no fue suficiente para inflamarse. Por medio de los valores graficados se puede obtener una relación de producción de 5.23 mL de biogás/gDQO consumido. A este valor habrá que agregarle el 7% que se disuelve en el agua del gasómetro, por lo que en realidad se debe estimar alrededor de 5.59 mL/gDQO consumido.

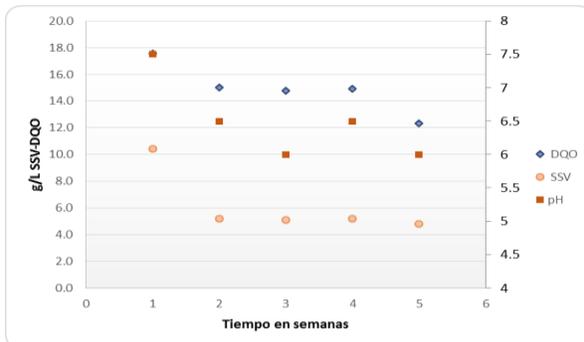


Figura 4. SSV, DQO pH de reactor montado inicialmente

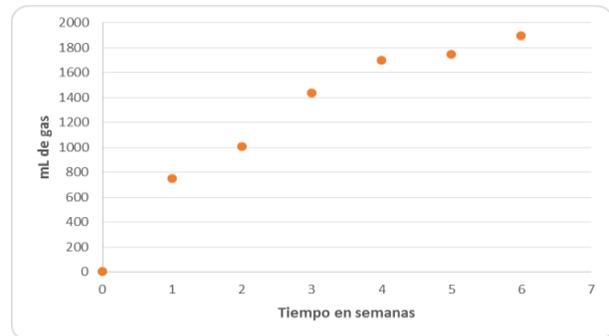


Figura 5. Evolución de gas generado

Posteriormente, se llevó a cabo el montaje de una segunda corrida pero con 10% de inóculo de estiércol, modificando la temperatura de operación. Es decir que el reactor se colocó en una

pecera con agua y se reguló su temperatura. Las nuevas condiciones iniciales del reactor inoculado con estiércol fueron son las mostrada en la Tabla 4.

Color	pH	DQO	ST	SSV	T
Oscuro	8	3.16 g/L	9.2 g/L	4.40 g/L	14°C

Tabla 4. Condiciones de operación iniciales para el reactor inoculado y con temperatura controlada.

Dado que la temperatura osciló entre los 26 y 30°C el pH se mantuvo en 8, y observando la producción de gas y el pH (Figuras 6 y 7), podemos deducir que se dieron las condiciones óptimas para la generación de biogás. En la Figura 6 se puede observar la DQO y los SSV, y en la Figura 7 el comportamiento del pH y la generación de biogás.

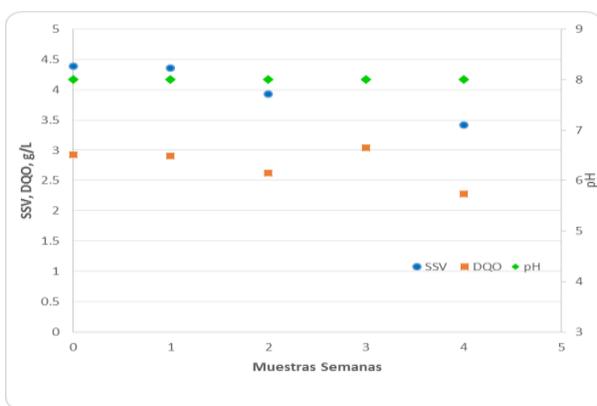


Figura 6. SSV, DQO pH de reactor inoculado

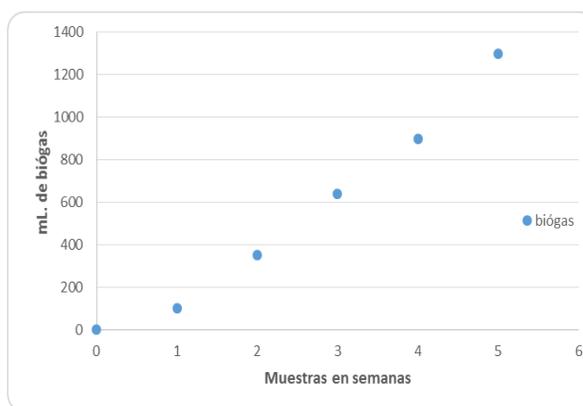


Figura 7. Evolución del Gas generado

Modificando la técnica propuesta por Urieta (2010), se realizó una prueba de dilución de gases utilizando una probeta de 250 mL, llena de una solución de KOH 1 N, para absorber el CO₂ del biogás, burbujeándolo por medio de un difusor de acuario, para obtener el menor tamaño de burbuja posible y por lo tanto mayor contacto con el líquido. Así, se inyectaron con jeringa cinco muestras de 20 ml de gas, obteniéndose un promedio de 16.5 mL de gas recuperado dentro de la probeta, para cada inyección. Esto conduce a suponer una gran concentración de metano y de otros gases producidos durante la digestión, que incluyen al H₂S, nitrógeno, hidrógeno y algunos compuestos volátiles tales como los ácidos orgánicos no convertidos en biogás y que fueron mencionados en la parte teórica. De hecho, de acuerdo con valor del pH registrado a lo largo de toda la segunda digestión, se puede afirmar que el gas obtenido está compuesto mayoritariamente por CH₄, basados en la prueba de ignición realizada adicionalmente a la absorción de gases.

Por otra parte, se obtuvo una producción de 0.034 L de biogás por gr de SSV por día, es un indicador favorable ya que Bureau (2003) obtuvo una producción de 0.038 L de biogás por gr de SSV por día.

CONCLUSIONES

Se pudo probar que los lixiviados provenientes de la fracción orgánica de los RSM pueden digerirse anaeróbicamente produciendo biogás a tasas consistentes con resultados anteriormente obtenidos. El contenido de metano del gas obtenido es alto de acuerdo con la prueba de disolución de gases efectuada. De aquí se sugiere que para obtener buenos resultados se debe controlar la temperatura del digestor, lo cual implica la elaboración de balances de energía, de manera que se

pueda estimar la viabilidad económica de este tipo de procesos a escala industrial, sobre todo pensando en aplicarlo en rellenos sanitarios.

BIBLIOGRAFÍA

Álvarez - Contreras A., Suárez-Gelves J. (2006) Tratamiento biológico de lixiviados generados en un relleno sanitario "El guayabal" de la ciudad San José de Cucuita. Revista Ingeniería y desarrollo, Núm. 20, Julio_ Diciembre 2006 pp 95 _105 Universidad del Norte Colombia.

Secretaría de Servicios Parlamentarios
Ley general para la prevención y gestión integral de los residuos
Nueva Ley publicada en el Diario Oficial de la Federación el 8 de octubre de 2003
TEXTO VIGENTE
Última reforma publicada DOF 07-06-2013

Urieta-Aguado, F. (2010) Diseño y construcción de su sistema Orsat modificado para el análisis de biogás. Proyecto de fin de carrera. Universidad Carlos III de Madrid

Noeggerath-Franco, I. (2011) Análisis comparativo de tecnologías para el tratamiento de lixiviados en rellenos sanitarios. Tesina para obtención de título. Universidad Veracruzana.

Bureau, M.(2003) Acoplamiento del compostaje a la producción de gas en invernadero. Reporte de estancia estudiantil de intercambio México-Francia. Instituto Tecnológico de Puebla.

Madigan, M. (2003) Brock, Biología de los microorganismos. Editorial Pearson Educación.

GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE CHILCUAGUE O RAÍZ AZTECA Y SU USO COMO FUNGICIDA (*HELIOPSIS LONGIPES S.F BLAKE*)

Miguel Ángel Miranda Cerritos¹, Estefana Alvarado-Bárceñas.²

¹Estudiante, ²Investigador del Instituto Tecnológico de Roque Extensión Apaseo el Alto, migue_16_90@hotmail.com

RESUMEN

El chilcuague (*Heliopsis longipes S.F. Blake*) o “Planta de tallo largo que sigue al sol”, es una planta herbácea perenne, tallo largo, alcanza una altura de 40 cm; con flor amarilla de 10 a 12 pétalos, raíces son de 15 a 30 cm de largo por 2 mm de ancho, crece de manera silvestre. El “chilcuague”, es usado como vermífugo, anestésico local, antiviral, tratamiento de aftas bucales, como condimento de alimentos y saborizante de bebidas, y en actividad fúngica sobre hongos fitopatógenos. En sus raíces acumula una sustancia llamada afinina que es la responsable de los principales efectos biológicos. El objetivo del trabajo fue determinar la germinación de semillas de diferentes colectas y la elaboración de un fungicida a base de la raíz. Se realizaron las pruebas de germinación estándar, estratificación y envejecimiento acelerado, en cuatro tratamientos, con cuatro repeticiones de 15 semillas para cada prueba. Para envejecimiento acelerado y escarificación se colocaron a 0, 24, 72 y 100 h de almacenamiento a 40°C, y 2°C respectivamente, para la prueba de germinación estándar la temperatura ambiente de 25°C. En la prueba de estratificación se puede observar que tiene mayor germinación en 72 horas; sin embargo en la prueba de envejecimiento acelerado no existió germinación. Se concluye que la temperatura afecta en la germinación y viabilidad de las semillas. La elaboración del producto fúngico, se realizó moliendo raíz en un molino de dientes y después pasándolas por un tamiz malla® 100, se utilizó dos vehículos inertes para la mezcla y para no generar polvo de raíz, en proporciones de 60% de raíz y 40% de inerte quedando en espera de resultados sobre el control de hongos Fitopatógenos.

INTRODUCCIÓN

Las plantas poseen una variedad de mezclas de compuestos bioactivos como son lípidos, fragancias, pigmentos y sabores que son ampliamente utilizados en la agroindustria. El chilcuague tiene su nombre de origen náhuatl: chilmecatl (de *chili*, chile y *mecatl*, de mecate, aludiendo a las raíces filiformes y al sabor picante de estas) y chilcuán (chile de víbora). El chilcuague (*Heliopsis longipes S.F. Blake*) significa “Planta de tallo largo que sigue al sol”, es una planta herbácea perenne, de tallo largo, que alcanza una altura de 40 cm; con flor amarilla de 10 a 12 pétalos, sus raíces son de 15 a 30 cm de largo por unos 2 mm de ancho. Con corteza que cubre el eje leñoso y amarillento. Esta planta herbácea es conocida en la región de la sierra gorda al norte de Guanajuato, coinciden parte de los estados de San Luis Potosí, Querétaro y Guanajuato, lamentablemente está siendo deforestada y consecuentemente la pérdida de la diversidad de sus recursos naturales de la región.

El chilcuague fue la primera planta en donde se caracterizó la presencia de una alcanida olefinica que representan una clase singular de productos naturales que, desde el punto de vista biogénico, se forman al combinarse dos diferentes rutas metabólicas (Jacobson, 1945), para esto se estudiaron las raíces, excluyendo partes aéreas. Las alcanidas son metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en plantas que comprenden cerca de 200 compuestos relacionados. La estructura general de las alcanidas se origina de la condensación de un ácido graso insaturado y una amina. La mayoría de las alcanidas contienen un doble enlace conjugado al grupo amida sustituido con un grupo Nisobutil. La amida fue denominada afinina ya que en en los primeros

estudios se consideró que se trataba de *Erigeon affinis*; y aunque estudios posteriores demostraron que había un error en el nombre (Jacobson, 1947).

La afinina es la responsable de los principales efectos biológicos observados con el chilcuague. La especie, que crece de forma silvestre únicamente en el norte de Guanajuato, contiene compuestos de potencial farmacéutico. García y Chávez (2004) hicieron un estudio del género *Heliopsis* existentes en México encontrando que las Nisobutil-2E,6Z,8E-triendecamida (afinina), N-(2-metilbutil)-2E, 6Z, 8E-triendecamida, Nisobutil-2Z, 4E-dien-8, 10 diindecamida, y la N-isobutil-2E-en-8, 10-diindecamida son las alcanidas mayoritarias.

El "chilcuague", es usado para distintos usos desde vermífugo, anestésico local, como condimento de alimentos y saborizante de bebidas (Molina y col., 1980). En sus raíces se encuentra acumulada la sustancia llamada afinina; crece de manera silvestre y también se cultiva de forma rústica. Se ha encontrado que además de los usos antes mencionados es utilizado como antiviral, tratamiento de aftas bucales y actividad fúngica sobre hongos Fitopatógenos. En trabajos realizados de los compuestos bioactivos de la raíz se ha observado una importante acción inhibitoria de las alcanidas del chilcuague sobre el desarrollo de cultivos in vitro de *Escherichia coli*, *Pseudomonas solanacearum*, *Bacillus subtilis* y *Sacharomyces Cerevisiae* y algunos hongos fitopatogenos como *Sclerotium cepivorum*, *Sclerotium rolfsii* y *Fusarium oxysporum* (Ramírez-Chávez y col., 2000). Juárez *et al.*, (2001) evaluó la actividad insecticida en hojas, flores y raíces de chilcuague sobre el gorgojo de maíz (*Sitophilus zeamais*), y encontraron que con el 1% de polvo de flores de chilcuague la mortalidad fue de 26%, con el polvo de las hojas del 18% y con el de la raíz se registró la mortalidad del 100% con lo que se concluyó que en la raíz se concentra la actividad insecticida.

El chilcuague se recolecta y comercializa por sus diversos usos, pero en la actualidad su uso implica la destrucción total de la planta, esto conlleva a una disminución de y reducción de la especie; el objetivo del trabajo fue el determinar la germinación de las semillas de diferentes colectas y la elaboración de un fungicida a base de raíz de chilcuague.

METODOLOGÍA

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de usos múltiples que se encuentra dentro de las instalaciones del Instituto Tecnológico de Roque, extensión Apaseo el Alto, Gto. El material biológico se adquirió semilla de la asociación de productores de chilcuague de la Sierra Gorda SPR de RI, ubicados en Xichú, San Luis de la Paz. Se realizaron dos adquisiciones de semillas en octubre del 2013 y Enero del 2014. Se realizaron las pruebas de germinación estándar, estratificación y envejecimiento acelerado, se hicieron cuatro tratamientos en cada una de las pruebas, en cada tratamiento con cuatro repeticiones de 15 semillas, para la prueba de envejecimiento acelerado se colocaron a 24, 72 y 100 horas de almacenamiento a 40°C en recipientes. Para la prueba de estratificación se colocaron semillas a 24, 72 y 100 horas de almacenamiento a 2°C en recipientes. Para la prueba de germinación estándar se pusieron semillas a temperatura ambiente durante la duración del experimento se registró la temperatura máxima del laboratorio dando 25°C la media de temperaturas. Para la germinación de todas las pruebas cumpliendo las horas se pusieron 15 semillas en papel germinador y se humedecieron con Captan® 1mL⁻¹ y se metieron a una cámara de germinación marca CONVIRON® a 20°C. Las pruebas de evaluación se realizaron cada 2 días y se determinó la germinación en porcentaje. La elaboración del producto fúngico, se realizó moliendo raíz en un molino de dientes y después pasándolas por una tamiz malla 100 marca MONTINOX®, se utilizó dos vehículos inertes para la mezcla y sobre todo para no generar polvo de raíz que pudiera inhalar, en proporciones de % en peso (60% de raíz y 40% de inerte) quedando en espera de resultados sobre el control de hongos Fitopatógenos.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Mientras más reciente sea la cosecha de semilla mayor viabilidad tiene, en la germinación estándar se observa una baja germinación a temperatura de 25°C, en la estratificación se puede observar que tiene mayor germinación en 72 h, aunque no difiere mucho de la colecta de octubre del 2013 y enero del 2014; sin embargo en la prueba de envejecimiento acelerado no presento germinación (Cuadro 1).

Cuadro 1. Resultados de la pruebas de germinación.

Año de colecta	Germinación Estándar (días)		Estratificación (h)			Envejecimiento acelerado (h)		
	15	22	24	72	100	24	72	100
Octubre 2013	30	33	56	50	35	0	0	0
Enero 2014	35	38	57	58	45	0	0	0

Se concluye que la temperatura si afecta mucho en la germinación y viabilidad de las semillas. López, *et. al.*, (2007) menciona que la temperatura óptima para la germinación de las semillas es de 18°C como temperatura ideal, con esta temperatura obtuvo el 94% de germinación mientras que con temperatura de 22°C obtuvo el 64% de germinación.

La propagación por semillas es altamente afectada por las temperaturas ya que a mayor temperatura se tiene menor viabilidad de semilla y a menor temperatura se tiene más porcentaje de germinación. Por lo que si se va a hacer un programa de propagación es necesario buscar una alternativa de propagación como lo es por esquejes.

La preparación del fungicida se llevó a cabo con el uso de raíz en un 50%, 5% de Vehículo y 8% de dispersante y CBP 100 de inerte, solo falta probarlo, lo cual se llevará a cabo sobre una semilla de maíz con presencia de gorgojó..

BIBLIOGRAFIA

1. Juárez F., B.I. y Jasso P.; R. Castillo C.; J. Aguirre R. 2001. Actividad del chilcuague *Heliopsis longipes* (Asteraceae) sobre el gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*). Querétaro, Querétaro. México. Pp. 43-48.
2. Ramirez-Chávez, E. Lucas-Valdez, L. Virgen-Calleros, G. Molina-Torres, G. Actividad fúngica de la afinina y del extracto crudo de raíces de *Heliopsis Longipes* en dos especies de *Sclerotium*. *Agrociencia* 34(2000) 207-2015.
3. Jacobson, M. Acree Jr. F. Haller, H.L. Correction of the Source of "Affinin" (N-isobutyl-2,6,8-decatienoamide). *J. Org. Chem.* 10. (1947). 731-732.
4. Jacobson, M. Acree Jr. F. Haller, H.L. An amide Possessing Insecticidal Properties from the Roots of *erigeron Affinis* DC. *J. Org. Chem.* 10. (1945). 236-242.
5. Garcia-Chávez, A. Ramirez-Chávez, E. Molina-Torres, J. El genero *Heliopsis* (Heliantheae; Asteraceae) en Mexico y las alcaloides presentes en sus raíces. *Acta botánica Mexicana* 69 (2004) 115-131.

EVALUACIÓN DE LA PREBIOSIS DE UNA DIETA ESTÁNDAR SUPLEMENTADA CON GRENETINA EN RATAS WISTAR.

Ramos-Ramírez, E. G., Méndez –Castrejón, M.P., Ramos-Tovar, E., Salazar-Montoya, J.A.

Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, CINVESTAV-IPN
Av. IPN 2508 Col. San Pedro Zacatenco, México,D.F. C.P. 07360, eramos@cinvestav.mx

RESUMEN

El intestino es un órgano con la más diversa colonización y con una alta tasa metabólica. La sección del colon contiene más de 1000 especies diferentes de bacterias (10^{14} - 10^{13} UFC/m) (Luckey 1972). La actividad y composición de la microbiota intestinal pueden influenciar la salud del hospedero y es considerada estable en la adultez, sin embargo, el estrés ambiental y la dieta pueden perturbar las comunidades microbianas, influenciando así los estados de salud-enfermedad. Entre los grupos que afectan en mayor proporción la salud se encuentran *Lactobacillus* y *Bifidobacterias*. Dentro de los efectos benéficos mostrados por estos microorganismos se presenta la inhibición del crecimiento de bacterias patógenas, la estimulación de funciones del sistema inmune, la reducción de hipercolesterolemia y la disminución de incidencia de algunos tipos de cáncer, como el de colon. En el presente trabajo se evaluaron los posibles efectos prebióticos de una dieta estándar comercial suplementada con pellets de grenetina, en la microbiota cecal y fecal de ratas Wistar macho. El diseño experimental permitió hacer un seguimiento del perfil de crecimiento y permanencia de la población microbiana estudiada, así como la contribución del contenido dietario.

INTRODUCCIÓN

La microbiota del tracto gastrointestinal está sujeta a factores bióticos y abióticos que pueden alterar sus poblaciones. Entre los factores limitantes, aparte de sus requerimientos nutricionales, son el pH imperante en cada sección del intestino, el estado de salud del hospedero y balance de la microbiota. En el colon, por ejemplo, por su baja tensión de oxígeno y pH ácidos se favorece ampliamente la población de bacterias ácido lácticas, *Bifidobacterias*, *Bacteroides* y otros microorganismos como *Clostridium* y *Stafilococcus*. Estos microorganismos también pueden verse favorecidos en su crecimiento poblacional por factores prebióticos definidos como “sustancias no digeribles que brindan un efecto fisiológico beneficioso al huésped, estimulando selectivamente el crecimiento favorable o la actividad de un número de bacterias autóctonas” (GP-OMEG,2008). Otros factores que puede modificar la microbiota es la presencia de péptidos bioactivos. Donkor et. al. (2007) estudiaron poblaciones de bacterias ácido lácticas (*Lactobacillus* y *Bacteroides*) así como *Salmonella* spp y reportaron actividad proteolítica en las especies estudiadas que tuvo como resultado la liberación de péptidos con efecto hipotensivo (estudios in vitro). La producción de amino peptidasas fue dependiente del tiempo y de la cepa. Dado que los requerimientos de nutrientes como aminoácidos o péptidos son grandes, la actividad proteolítica de estas cepas es un factor determinante como un sistema de autogestión. En diversos estudios se ha usado a la grenetina (derivado del colágeno) como un material de recubrimiento o vehículo para administrar microorganismos probióticos (Lozano et al 2011) y para administrar prebióticos en diversos modelos biológicos (Reyes-Reyes en preparación), sin embargo, la grenetina siendo una proteína tiene la posibilidad de adicionar algún efecto en dietas que han sido suplementadas con esta (Gómez-Guillén et al, 2011), Estudios previos han demostrado tanto in vitro como in vivo que los hidrolizados de grenetina ya sea de fuentes convencionales como son la grenetina de res (Kim et al 2001a) o grenetina de cerdo así como la de pescado y diversos productos marinos (Gómez-Guillén et al 2011; Ramírez-Guerra et al 2013, Kim et al 2001b) pueden tener efecto hipotensivos así como efectos antimicrobianos y estar involucrados en la inmunidad innata de enfermedades infecciosas (Rivas-Santiago et al 2006). En este trabajo se pretende estudiar el efecto de dietas adicionadas con pellets de grenetina de piel de res sobre el crecimiento de ratas Wistar macho y su efecto

sobre la microbiota del colon (en su sección cecal) particularmente de los géneros *Lactobacillus* spp, *Bifidobacterias* spp, *Bacteroides* spp y *Clostridium* spp.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó con ratas Wistar macho de 100 a 120g de peso corporal. Las ratas fueron colocadas en jaulas metabólicas a temperatura ambiente con ciclos de luz/oscuridad de 12 horas. El agua fue proporcionada *ad libitum* y el 10% de su peso en alimento (LabDiet 5008). Todos los animales recibieron el cuidado de acuerdo al Comité de Ética del CINVESTAV y a la NOM-062-ZOO-1999. Los individuos fueron acondicionados a las condiciones experimentales una semana previa a la aplicación del tratamiento. Los animales fueron asignados aleatoriamente a cada uno de dos tratamientos: control (20 animales) que incluyó sólo la administración del alimento comercial; grenetina (20 animales) el cual consistió en la administración diaria vía oral y en ayuno de 12 horas un pellet de un gramo de grenetina de piel de res (Gelita 250 Bloom) previamente gelatinizada (gel al 7%), después de lo cual se administró alimento estándar a ambos grupos de animales.

El registro del peso corporal se llevó a cabo una vez por semana durante siete semanas después de haber registrado su peso inicial. Una vez por semana los individuos fueron colocados en jaulas metabólicas para colecta de heces. En tres individuos seleccionados al azar y bajo anestesia general y en condiciones asépticas se hizo la disección del ciego el cual fue colocado en caja Petri estéril para su posterior tratamiento. Después de lo anterior los animales fueron sacrificados en cámara de CO2 cuidando de mantener el nivel de anestesia durante todo el procedimiento.

Bajo condiciones asépticas, 100 miligramos de cada lote de heces y 100 mg del contenido del ciego de cada individuo fueron homogeneizados en agua peptonada estéril (Bioxon 252606) al 1% y se hicieron diluciones decimales seriales (Camacho et al 2009). Se usaron medios selectivos para el recuento de *Lactobacillus* (MRS, Difco 288130 y 288210) *Bifidobacterias* (BSM agar, Fluka 88517), *Clostridium* (Reinforced clostridial agar, Fluka 91365) y *Bacteroides* (Bile esculin agar, Fluka 48300). Las cajas se incubaron bajo condiciones anaerobias a 37°C por 72 horas. Los resultados se expresaron como unidades formadoras de colonias por gramo de peso (UFC/g).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El incremento en peso (%) (Fig. 1) fue mayor en ratas con dieta estándar aunque sin diferencias significativas respecto a ratas adicionadas con grenetina. La diferencia entre estos fue significativa en la semana 7 de tratamiento cuando las ratas adicionadas con grenetina mostraron un incremento en peso 15% por arriba de las ratas control lo que estaría reflejando una mayor eficiencia de incorporación de masa por unidad de peso inicial.

La administración del pellet previo al suministro del alimento pudo haber contribuido con una menor

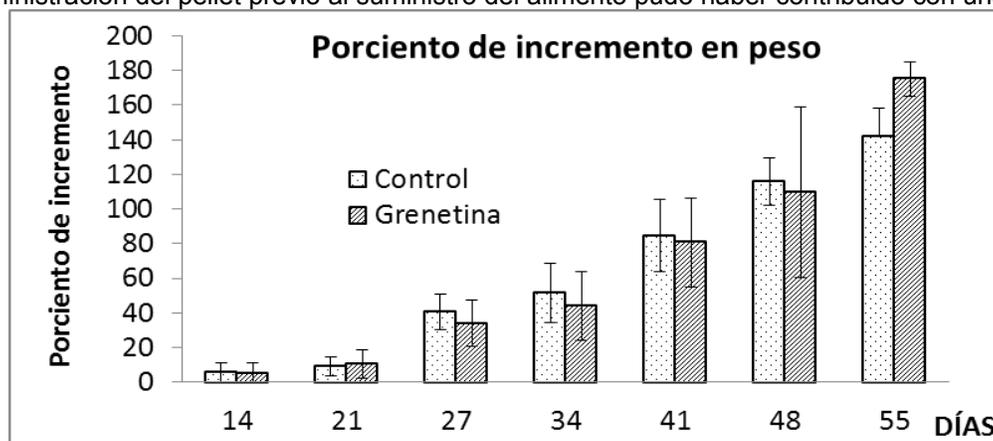


Figura 1. Porcentaje de incremento en peso de ratas Wistar macho alimentadas con dieta comercial (Control) y con dieta comercial adicionada con grenetina (Pellet).

ingesta de alimento sobre todo en las primeras semanas lo que se vió reflejado en el menor porcentaje de incremento en peso durante casi todo el experimento para las ratas adicionadas con pellet de grenetina. El mayor incremento en peso durante la última semana de experimentación sugiere un efecto positivo del pellet. De acuerdo con Rodríguez et al (2013), la microbiota está implicada en la recuperación de energía de la dieta y al parecer de alguna forma la grenetina podría estar siendo utilizada quizá en la obtención de péptidos que podrían favorecer a mediano plazo la ganancia de peso.

La modificación semanal de contenido bacteriano en ciego y en heces de ratas alimentadas con alimento estándar, con y sin suplementación de grenetina se presenta en la figura 2 (a: control y b: grenetina) y Fig 3 (a: control y b: grenetina). Las UFC/g de contenido cecal (Fig. 2) para *Lactobacillus* y *Clostridium* estuvieron entre 4.00×10^9 y 2.00×10^9 (control) y 4.50×10^9 y 1.50×10^9 (grenetina) en las dos primeras semanas de experimentación.

El abatimiento del número de UFC/g de contenido cecal fue mayor al 50% en las semanas 3 a 6 volviendo a incrementar casi a su nivel inicial sólo para *Lactobacillus*, para *Clostridium* la recuperación fue menor. En los individuos a los cuales se les suplementó con pellet de grenetina la recuperación del número de UFC/g de contenido cecal de *Lactobacillus* fue mayor que para todas las demás especies bacterianas estudiadas y mayor en un 20.45% que en las ratas control.

El descenso en las poblaciones bacterianas en las ratas control se dio desde la primera semana de experimentación y en las adicionadas con pellet de grenetina fue a partir de la segunda semana. Las UFC/g de contenido cecal para *Clostridium* fueron menores que en ratas control. Las poblaciones de *Bifidobacterias* y *Bacteroides* se mantuvieron en niveles inferiores a 4.70×10^8 UFC/g durante todo el experimento excepto en *Bifidobacterias* que llegó a 7.62×10^8 UFC/g en la semana 3 en los animales suplementados con grenetina.

La población inicial de *Clostridium* en heces fue similar tanto para animales control como para suplementados con grenetina (2.88×10^9 y 1.98×10^9 UFC/g respectivamente) (Fig. 2 a y Fig 3 a).

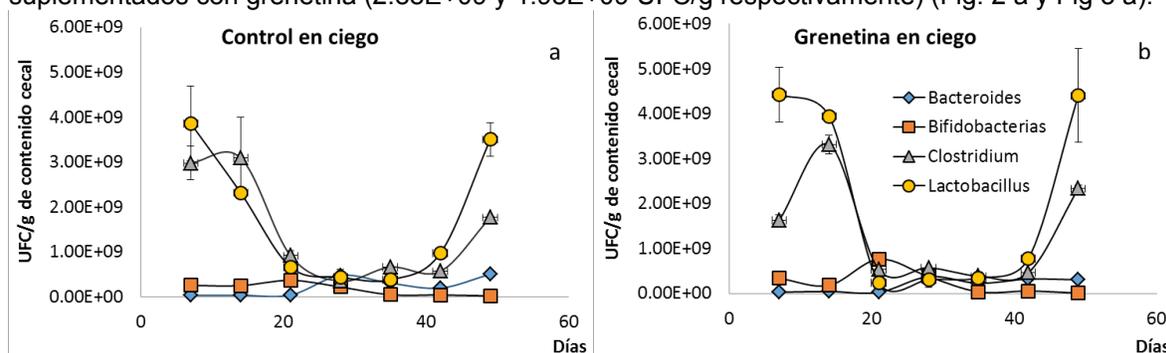


Figura 2. Dinámica poblacional en ciego de ratas alimentadas con alimento comercial (a) y con adición de pellet de grenetina (b).

Hubo un incremento de aprox el 20% de la primera a la segunda semana de experimentación y en ambos grupos pudo notarse que cuando la población de *Lactobacillus* comenzó a incrementar sus UFC/g de heces la de *Clostridium* disminuyó dramáticamente. Las poblaciones de *Bifidobacterias* y *Bacteroides* también estuvieron pobremente representadas en heces con máximos de 4.41×10^7 y 4.09×10^7 UFC/g.

La presencia de *Lactobacillus* en mayor cantidad respecto a *Clostridium* habla de un balance favorable. Aun cuando la presencia de *Bifidobacterias* y *Bacteroides* (bacterias benéficas) es muy baja en el ciego la presencia de *Lactobacillus* habla de un estado saludable de la microbiota ya que de acuerdo a diversas investigaciones las poblaciones de bacterias como *Lactobacillus* condiciona la disminución de microbiota dañina como *Clostridium* (Rodríguez et al 2013).

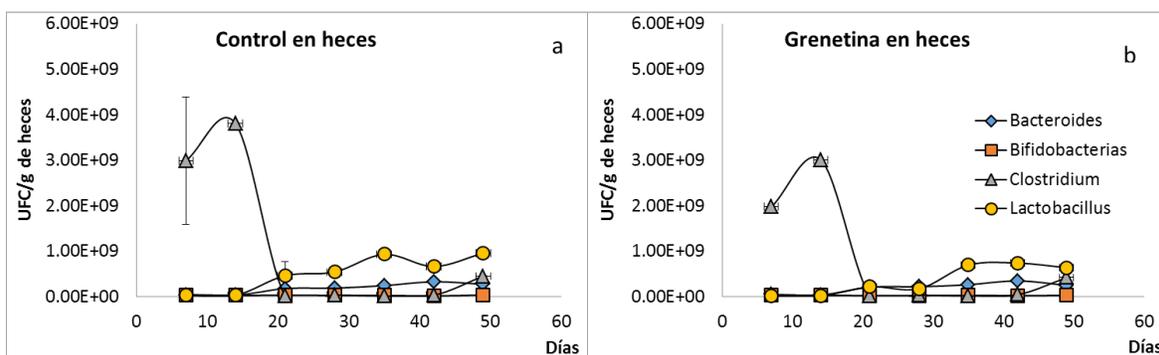


Figura 3. Dinámica poblacional de bacterias en heces de ratas alimentadas con dieta comercial (a) y adicionada con pellets de grenetina (b).

De acuerdo con Delgado (2005) las poblaciones de *Bifidobacterias* normalmente son más importantes en cuanto a su número en infantes y la tendencia normal es a tener poca presencia de este género en la edad adulta lo que coincide con lo encontrado en este trabajo. Se ha reportado a *Bifidobacterias* como negativa a la licuefacción de grenetina (Scardovi, 1986 en Delgado, 2005) lo que pudo determinar la carencia de efecto sobre sus poblaciones. Contrario a lo reportado por Rodríguez et al (2013) y Delgado (2005) el género *Bacteroides* se mantuvo en niveles por debajo de $3.30E+07$ y $3.50E+07$ UFC/g tanto en contenido cecal como en heces.

CONCLUSIONES

La adición de grenetina a la dieta de ratas tuvo un efecto significativo sobre el porcentaje de incremento de masa corporal sólo hasta la semana siete de experimentación lo que sugiere la necesidad de períodos más largos de experimentación para determinar si este efecto es permanente en el tiempo. Así mismo los géneros que mostraron ser más susceptibles a la presencia de grenetina en la dieta fueron *Lactobacillus* y *Clostridium* y en menor grado *Bifidobacterium* y *Bacteroides*. Son necesarias pruebas a más largo plazo y evaluar parámetros como química sanguínea para confirmar si el efecto positivo que se está observando en la ganancia en peso y en la microbiota efectivamente corresponden a una prebiosis de las dietas suplementadas con grenetina. investigación.

BIBLIOGRAFÍA.

- Camacho, A., Giles, M., Ortegón, A., Pala, M., Serrano, B. y Velázquez O. 2009. Técnicas para el análisis Microbiológico de alimentos. "a. Ed. Facultad de Química. UNAM, México.
- Delgado, P.S. 2005. Microbiota intestinal humana: análisis y evolución de poblaciones representativas e identificación de bacterias probióticas. Tesis 178p.
- Donkor, O. N., Henriksson, A., Vasiljevic T., Shah N. P. 2007. Proteolytic activity of dairy lactic acid bacteria and probiotics as determinant of growth and in vitro angiotensin-converting enzyme inhibitory activity in fermented milk. *Le Lait*. 87(1), 21-38. <hal-00895625>.
- Gómez-Guillén, M. C., Giménez B., López-Caballero, M. E. & Montero, M. P. 2011. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: a review. *Food Hydrocolloids*. 25 (8): 1813-1827.
- Guías prácticas de la OMG. Probióticos y Prebióticos. 2008. World Gastr. Organization. 22 p.
- Kim, S.-K., Byun, H-G., Park, P-J., and Shahidi, F. 2001a. Angiotensin I converting Enzyme inhibitory peptides purified from bovine skin gelatin hydrolysate. *J. Agric. Food Chem*, 49, 2992-2997.
- Kim, S-K., Kim, Y-T., Byun, H-G., Nam, K-S., Joo, D-S., and Shaidi. 2001b. Isolation and characterization of antioxidative peptides from gelatin hydrolysate of Alaska Pollack skin. *J. Agric. Food Chem*. 49, 1984-1989.
- Lozano, P.L.M.C. 2011. Estudio de la viabilidad de *Lactobacillus casei Shirota* en una geletina de pitaya (*Stenocereus griseus* H.) 88 p. Tesis.
- Luckey TD. 1972. Introduction to intestinal microecology. *Am J Clin Nutr* 25: 1292-1294.

- Mulero, C. J., Zafrilla, R. P., Martínez-Caché, M. A., Leal, J. M. y Abellán, A. J. 2011. Péptidos Bioactivos. Clin Invest. Arterioscl. 23 (5): 219-227.
- Ramírez-Guerra, H. E., Ramírez-Suárez, J. C., Mazzorra-Manzano, M. A., 2013. Propiedades biológicas de péptidos derivados del colágeno de organismos marinos. Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud. XV (3), 34-45.
- Reyes-Reyes M. 2015. Obtención de oligosacáridos a partir de *Opuntia streptacantha* y su caracterización física química y funcional. En preparación.
- Rivas-Santiago, B., Sada, E., Hernández-Pando, R. Tsutsumi, V. 2006. Péptidos antimicrobianos en la inmunidad innata de enfermedades infecciosas. Salud Pública, 48 (1), 62-71.
- Rodríguez, J. M., Sobrino, O. J., Marcos, A., Collado, M. C., Pérez-Martínez, G., Martínez-Cuesta, M. C., Peláez, C. y Requena, T. 2013. ¿Existe una relación entre la microbiota intestinal, el consumo de probióticos y la modulación del peso corporal?. Nutr. Hosp. 28 (1), 3-12.
- Scardovi V. 1986. Genus Bifidobacterium. En: Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, Holt JG (eds). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Williams and Wilkins, USA. pp 1418-1434
- Delgado P. S. 2005. Microbiota intestinal humana: análisis y evolución de poblaciones representativas e identificación de bacterias probióticas. Tesis de grado PhD.
- Wang, Y. 2009. Prebiotics: Present and future in food science and technology. Food Research International. 42, 8-12.

EFFECTO DE EXTRACTOS DE TORTILLA Y MAÍZ AZUL EN LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIPROLIFERATIVA EN LA LÍNEA CELULAR DE CÁNCER DE PRÓSTATA LNCaP

Mónica Yazmín Herrera Sotero^a, Mauricio Rodríguez Dorantes^b, Hugo Sergio García Galindo^a, José Luis Chávez Servia^c, Rosa Isela Guzmán Gerónimo^d, Rosa María Oliart Ros^a

^aUnidad De Investigación y Desarrollo en Alimentos-Instituto Tecnológico de Veracruz.,
monycpo@hotmail.com

^bInstituto Nacional De Medicina Genómica, México D.F.,

^cCentro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional del Instituto Politécnico Nacional-Unidad Oaxaca,

^dUniversidad Veracruzana-Instituto de Ciencias Básicas, Xalapa, Ver.

RESUMEN

El cáncer de próstata (CaP) es la principal causa de mortalidad por neoplasias de la población masculina en México. Existen tratamientos para el CaP de elevados costos y muchos no son efectivos, ya que se genera resistencia a las diversas terapias provocando diferentes condiciones como la condición hormono independiente, estado en el cual las células prostáticas se tornan resistentes a la muerte celular por alteraciones de mecanismos de señalización molecular. Dentro de la dieta de los mexicanos, la tortilla de maíz azul representa una fuente potencial de antioxidantes naturales, debido a que contiene antocianinas, compuestos polifenólicos con reportadas propiedades benéficas a la salud. Sin embargo, existen escasos estudios acerca de las propiedades biológicas de la tortilla de maíz azul, en particular frente al CaP. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de extractos etanólicos de tortilla y maíz azul sobre la actividad antioxidante y actividad antiproliferativa en cáncer de próstata (LNCaP). 200 g del grano y tortilla de maíz azul fueron extraídos con EtOH/C₆H₈O₇, se concentraron y liofilizaron. La actividad antioxidante fue evaluada por el ensayo TBARS. La acción antiproliferativa de los extractos etanólicos de maíz azul de la raza Mixteco y tortilla se estudió en células de cáncer de próstata (LNCaP) mediante el método MTT. En cuanto a la peroxidación lipídica, se observaron valores similares de inhibición IC₅₀ de 750 y 792 µg/mL. El extracto de tortilla presentó mayores porcentajes de inhibición (66.85 y 91.34%) en la línea celular LNCaP a las 24 y 48 h, a diferencia del extracto de maíz azul (50.21 y 80.39%). La mayor actividad antiproliferativa de la tortilla se atribuye a la modificación en el perfil de antocianinas debido al proceso de nixtamalización. Lo anterior sugiere que el consumo de tortilla de maíz azul podría tener un efecto positivo en la salud.

INTRODUCCIÓN

El cáncer de próstata es una neoplasia maligna que se presenta usualmente en edades avanzadas ya que se encuentra asociado con el envejecimiento y la edad; de cada tres casos que se diagnostican en México, dos son en hombres mayores de 65 años. Se considera una enfermedad multifactorial y los factores de riesgo más estudiados son hormonales, sexuales y reproductivos, así como estilo de vida, ocupación, historia familiar y hábitos dietéticos (Mayora y Arvelo, 2011). En los últimos años se ha intentado clasificar los tumores de próstata en función de la sensibilidad a los andrógenos, por lo que se ha dividido al cáncer de próstata en andrógeno-dependientes, que precisan de los andrógenos para seguir creciendo; andrógeno-sensibles, que son aquellos que al eliminarse los andrógenos disminuyen su crecimiento, pero sus células no mueren; y los andrógeno-independientes, que crecen de forma independiente de la exposición o no a los andrógenos (Rodríguez *et al.*, 2014). El tratamiento de cáncer de próstata dependerá del estadio del cáncer, utilizando tratamientos a base de hormonas, quimioterapia o radioterapia principalmente, sin embargo, estos tratamientos son agresivos y de elevados costos, por lo que la comunidad científica busca alternativas para obtener compuestos de origen natural que tengan actividad antioxidante y antiproliferativa selectiva sin afectar a células sanas. En este sentido, se destaca la presencia de polifenoles y antocianinas presentes en los alimentos, particularmente en cereales como el maíz. El maíz es el cereal más importante en México desde el punto de vista

político, económico y social, a partir de este cereal se elabora la tortilla, alimento básico de la dieta de la población mexicana, pues se estima que es consumida por el 94 % de la población. El consumo per cápita de los mexicanos es de 335 g/día lo que equivale a 122 kg/año (FAO, 2012). Existen más de 59 razas de maíz en México, dentro de los de grano pigmentado, sobresalen los de color amarillo, rojo, morado y azul, siendo estos últimos los que presentan un mayor contenido de antocianinas, pigmentos vegetales que confieren tonalidades que van desde el rojo, morado, azul a violeta intenso. Se ha reportado que las antocianinas presentan actividad antiinflamatoria, antioxidante, antineoplásica, modulación de enzimas relacionadas con estrés oxidativo así como también pueden evitar de forma indirecta mutaciones de genes involucrados en cáncer, como protooncogenes, genes supresores de tumores y genes de reparación del DNA (Kong *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2013). Existen más de 800 diferentes antocianinas en la naturaleza, en donde el perfil y actividad biológica de estos compuestos dependerá naturalmente de la fuente obtenida. En el maíz azul las antocianinas se localizan principalmente en el pericarpio y capa aleurona del grano, éstas se encuentran de forma acilada en un 60 %, mientras que en la tortilla por el proceso de nixtamalización, las antocianinas pueden degradarse así como también sufrir una hidrólisis básica que libera la parte ácida de su estructura, favoreciendo la presencia de antocianinas en las formas monoglicosiladas (Salinas *et al.*, 2003; Escalante *et al.*, 2013), sin embargo, poco se sabe sobre el efecto de la nixtamalización y la actividad biológica de los productos de nixtamalización, específicamente en la tortilla. El maíz azul de la raza Mixteco y la tortilla obtenida a partir de éste representan una fuente potencial importante de polifenoles y antocianinas; sin embargo, existen escasos estudios acerca de las propiedades biológicas de la tortilla y maíz azul en particular frente al CaP. Por lo que siendo la tortilla el alimento básico de la población Mexicana, así como la escasa información sobre el efecto de la nixtamalización en la actividad biológica, el objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de extractos de tortilla y maíz azul en la actividad antioxidante y antiproliferativa en la línea celular de cáncer de próstata LNCaP.

PARTE EXPERIMENTAL

Materia prima

Maíz azul de la raza Mixteco fue proporcionado por el CIIDIR-IPN unidad Oaxaca.

Nixtamalización del grano de maíz azul

Para la nixtamalización se empleó una concentración de hidróxido de calcio al 1.0 %. El tiempo de nixtamalización fue de 35 minutos. Después de un reposo de 16 horas, el nixtamal se enjuagó tres veces con 1 L de agua purificada. Posteriormente, se añadió 40 mL de agua purificada por 200 g de maíz para obtener una masa fresca, y después fue molida en un molino manual (Alarcón *et al.*, 2011).

Elaboración de la tortilla a partir de maíz azul

Para la elaboración de cada tortilla se empleó una prensa doméstica, para obtener tortillas con espesor de 1 ± 0.5 mm, 12 ± 0.5 cm de diámetro y 17.5 ± 0.5 g de peso. Los discos de masa fueron cocidos al calor de una plancha a 240 ± 2 °C durante 30 s por el lado A, seguido de 65 s en lado B, y 30 s nuevamente por el lado A. Las tortillas se evaluaron después de enfriar durante 30 minutos a temperatura ambiente (Alarcon *et al.*, 2011).

Obtención de extractos de maíz azul y tortilla

Para la obtención de extractos se pesaron 200 g de harina de maíz o tortilla, se adicionó EtOH/ $C_6H_8O_7$, para su extracción, las muestras se sonicaron y se dejaron en reposo 24 h a 4°C, posteriormente se centrifugaron las muestras a temperatura de 5 °C para obtener el sobrenadante. Las muestras se concentraron en un rotavapor a 28 °C bajo condiciones de vacío y se liofilizaron para su posterior análisis (Alarcon *et al.*, 2011).

Determinación de polifenoles totales

El contenido de polifenoles totales se evaluó utilizando la técnica de Folin-Ciocalteu, (1927). La concentración de fenoles totales se expresó como mg equivalentes de ácido gálico (EAG) por 100 g de muestra. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

Determinación de antocianinas monoméricas

El contenido de antocianinas monoméricas fue evaluado usando el método diferencial de pH. La absorbancia fue medida en un espectrofotómetro UV-VIS. El contenido de antocianinas monoméricas se expresó como cianidina-3-glucósido, usando el coeficiente de extinción molar de 26,900 L cm⁻¹ mg⁻¹ y un peso molecular de 449.2 g/L (Giusti and Wrolstad, 2001)

Evaluación de la actividad antioxidante por el método TBARS

La evaluación de la peroxidación lipídica se realizó por el método TBARS siguiendo la metodología descrita por Rossato *et al.*, (2002). Para ello, se colocaron 400 µL de homogenizado de cerebro de rata y se adicionaron 50 µL del compuesto, se incubó por 30 min a 37 °C, posteriormente se indujo la peroxidación lipídica con 50 µL de FeSO₄ 100 µM, se incubó 1h a 37 °C, se adicionó 500 µL de reactivo TBA y se midió la absorbancia a 540 nm.

Viabilidad celular MTT

La acción antiproliferativa de los extractos etanólicos de maíz azul de la raza Mixteco y tortilla en cáncer de próstata se estudió en las líneas celulares de carcinoma de próstata humana LNCaP. Para ello, se cultivaron las células en placas de 96 pocillos a una densidad adecuada de 5.5 x10⁵ células por pozo. Posterior a 24 h de la siembra, se añadieron los tratamientos a las 24 y 48 h, realizando 3 réplicas para cada tratamiento. Las células son tratadas con 2.5 mg/mL de MTT e incubadas a 37 °C durante 2 horas. Se adicionó 200 µL de DMSO, la densidad óptica producida por este producto se determinó a una longitud de onda de 595 nm (Lazze *et al.*, 2004).

Análisis estadístico

La evaluación de la información obtenida se realizó mediante el paquete estadístico Statistica 8.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

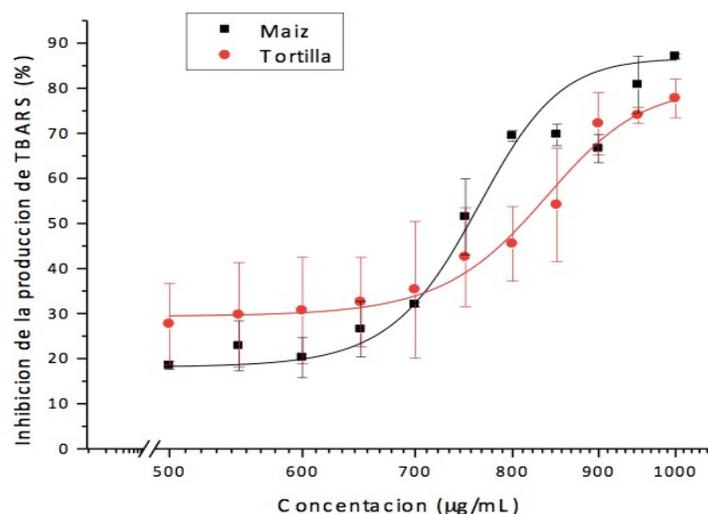
Los resultados obtenidos en cuanto al contenido de polifenoles totales y antocianinas monoméricas se presentan en la Tabla 1. El menor contenido de polifenoles totales y antocianinas monoméricas en la tortilla se atribuye al efecto del proceso térmico-alcalino en la degradación de estos compuestos (Delgado *et al.*, 2000).

Tabla 1. Contenido de polifenoles totales y antocianinas monoméricas en extracto crudo de maíz azul de la raza Mixteco y tortilla.

Muestra	Polifenoles totales mg EAG/100 g	Antocianinas monoméricas mg C3G/100 g
Extracto crudo maíz azul Mixteco	226.6	56.08
Extracto crudo tortilla azul Mixteca	88.6	11.82

Los resultados en cuanto a los porcentajes de inhibición de la peroxidación lipídica en cerebro de rata (TBARS), de extracto crudo de maíz azul de la raza Mixteco y tortilla se presentan en el Cuadro 1. Se presentaron valores similares de inhibición IC₅₀ de 750 y 792 µg/mL para el maíz azul de la raza Mixteco y tortilla, respectivamente.

Cuadro 1. Inhibición de la peroxidación lipídica en cerebro de rata (TBARS), de extracto crudo de maíz azul de la raza Mixteco y tortilla.



El efecto de los extractos etanólicos de maíz azul de la raza Mixteco y tortilla en las células de cáncer de próstata LNCaP (dependiente de andrógenos) se presentan en la Tabla 2. Se observa que la tortilla presentó mayor actividad antiproliferativa a las 24 y 48 h a diferencia del maíz azul de la raza Mixteco, lo cual resulta interesante ya que el maíz azul presenta un mayor contenido de polifenoles y antocianinas que la tortilla (Tabla 1), lo que sugiere que el proceso para la obtención de tortilla modifica el perfil de antocianinas, favoreciendo su actividad biológica, lo anterior concuerda con lo reportado por Escalante *et al.*, (2013).

Tabla 2. Actividad antiproliferativa de extracto crudo de maíz azul de la raza Mixteco y tortilla en células de cáncer de próstata LNCaP.

Muestra	Concentración (µg/mL)	24 H		48 H	
		% Inhibición	% Viabilidad	% Inhibición	% Viabilidad
Extracto crudo maíz azul Mixteco	1000	50.21	49.78	80.39	19.6
	500	ND	≥100	3.946	96.05
	250	ND	≥100	ND	≥100
	125	ND	≥100	ND	≥100
	0	0.0	100	0.0	100
Extracto crudo tortilla azul Mixteca	1000	66.85	33.14	91.34	8.656
	500	ND	≥100	21.89	78.1
	250	ND	≥100	ND	≥100
	125	ND	≥100	ND	≥100
	0	0.0	100	0.0	100

ND. Actividad no detectada

CONCLUSIONES

El presente trabajo demuestra que el maíz azul de la raza Mixteco y la tortilla obtenida representan una fuente potencial de polifenoles y antocianinas. El maíz azul de la raza Mixteco y su tortilla, presentan actividad antioxidante y antiproliferativa en células de cáncer de próstata (LNCaP). La mayor actividad antiproliferativa de la tortilla se atribuye a la modificación en el perfil de antocianinas debido al proceso de nixtamalización. Lo anterior sugiere que el consumo de tortilla de maíz azul podría tener un efecto positivo en la salud.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alarcón Aparicio E., Guzmán Gerónimo R.I., Aquino Bolaños E.N., Chavez-Servia J.L. 2011. Actividad anticancerígena "in vitro" de extractos de maíz y tortilla azul. 3^{er} Congreso Internacional de Biología, Química y Agronomía.
2. Delgado-Vargas F., Jiménez A.R., Paredes-López O. 2000. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains-characteristics, biosynthesis, processing and stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 40:173-289.
3. Escalante-Aburto A., Ramírez-Wong B., Torres-Chávez P.I., Barrón-Hoyos J.M., Figueroa-Cárdenas J., López-Cervantes J. 2013. La nixtamalización y su efecto en el contenido de antocianinas de maíces pigmentados, una revisión. *Revista fitotecnia mexicana* 36:429-437.
4. FAO, Food and Agriculture Organization. 2012. FAOSTAT Base de Datos Estadísticos. <http://faostat.fao.org>. Roma, Italia.
5. Folin C., Ciocalteu V. 1927. Tyrosine and tryptophan determination in proteins. *The Journal of Biological Chemistry* 73:627-650.
6. Giusti M.M., Wrolstad R.E. 2001. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible spectroscopy. Wrolstad R. E. (Ed.) *En Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. New York Wiley Unit F1.2.1-13.
7. Kong J.M., Chiam S.L., Goh N.K., Chia T.F., Broulliar C. 2003. Análisis and biological activities of Anthocyanins. *Phytochemistry* 64:923-933.
8. Lazze C.M., Savio M., Pizzala R., Cazzalini O., Perruca P., Scovassi A.I., Stivala L.A., Bianchi L. 2004. Anthocyanins induce cell cycle perturbations and apoptosis in different human cell lines. *Carcinogénesis* 25:1427-1433.
9. Mayora A., Arvelo F. 2011. Cáncer de prostate y apoptosis. *Investigación Clínica* 52:376-396.
10. Rodríguez-Dorantes M., Salido-Guadarrama A.I., García-Tobilla P. 2014. Prostate cancer detection using a noninvasive method for quantifying miRNAs. *Methods in Molecular Biology* 1165:81-7.
11. Rossato J.I., Ketzer L.A., Centuriao F.B., Silva S.J., Lüdtke D.S., Zeni G., Braga A.L., Rubin M.A., Rocha J.B. 2002. Antioxidant properties of new chalcogenides against lipid peroxidation in rat brain. *Neurochemical Research* 27:297-303.
12. Salinas-Moreno Y., Martínez-Bustos F., Soto-Hernández M., Ortega-Paczka R., Arellano-Vázquez J.L. 2003. Efecto de la nixtamalización sobre las antocianinas de granos pigmentados. *Agrociencia* 37:617-628.
13. Wang L.S., Kuo C.T., Cho S.J., Seguin C., Siddiqui J., Stoner K., Weng Y.I., Huang T.H., Tichelaar J., Yearsley M., Stoner G.D., Huang Y.W. 2013. Black Raspberry-Derived Anthocyanins Demethylate Tumor Suppressor Genes Through the Inhibition of DNMT1 and DNMT3B in Colon Cancer Cells. *Nutrition and Cancer* 65:118-125.

CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE LA SEMILLA DE MANGO (*Mangifera indica* L.) Y LA VALORIZACIÓN DE ALGUNOS DE SUS COMPONENTES

Angela Ramírez-García, Luis Torres-Bustillos, Luis J Corzo-Rios

Instituto Politécnico Nacional, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología,
Departamento de Bioprocesos, Laboratorio de Bioprocesos, ibqangela@hotmail.com

RESUMEN

INTRODUCCIÓN. Al conocer la composición química de la semilla de mango se pueden obtener diferentes productos de interés, como biodiesel, productos floculantes, coagulante e incluso productos alimenticios (Torres y Col., 2012), cambiando así el enfoque de producción lineal por uno cíclico (Cervantes, 2007), proporcionando un valor agregado a la materia prima y evitando el uso excesivo del suelo, agua, energía y otros recursos. **METODOLOGÍA.** Se eliminó la drupa de forma manual para obtener la semilla, la cual fue cortada en láminas y se deshidrató en un secador de charolas a una temperatura de 49 °C durante 24 horas, posteriormente la semilla se pasó por un molino de discos para obtener una harina y se procedió a realizar el análisis químico proximal, el cual fue realizado mediante los métodos recomendados por la AOAC. Los lípidos obtenidos se sometieron a una transesterificación para obtener Biodiesel (BD). Se determinó actividad coagulante floculante mediante Prueba de Jarras, determinando parámetros como color, turbidez, pH, volumen de lodos y DQO. **RESULTADOS.** La harina de semilla de mango presentó una humedad final de 4,15 %, 9.91% de lípidos, 1.9% de proteína, 2.4% de cenizas, 0.12% de fibra y 85.95 de ELN. Los parámetros a los cuales se obtuvieron mayores rendimientos de transesterificación fueron con metanol: lípidos 3:1 Vol/W, un 8% de catalizador, temperatura de 60-65 °C y un tiempo de 3 horas. En la Prueba de Jarras se observó una disminución en los parámetros de turbidez, color, pH y conductividad, un aumento en el de volumen de lodos mientras que en los valores de DQO no se observan cambios significativos. **CONCLUSIONES.** La semilla de mango es una fuente potencial de polisacáridos. Los lípidos de la semilla de mango representan una fuente alterna para la producción de BD. Los carbohidratos presentes en la harina de la semilla de mango presentaron actividad coagulante-floculante la cual podría ser empleada para el tratamiento de aguas residuales.

INTRODUCCIÓN.

El mango es un producto que a nivel mundial, juega un importante papel económico y social para diversas naciones, fundamentalmente países en desarrollo. Es el tercer fruto tropical a nivel mundial, en cuanto a su producción e importación (después del plátano y la piña) y el quinto de todos los frutos que se comercializan a nivel mundial. Para México es, además, una importante fuente de empleo, ingreso y generación de divisas (Plan estatal de Desarrollo, Jalisco, 2001-2006). Actualmente, dentro de las 53 especies frutícolas que se cultivan en nuestro país, el mango ocupa el tercer lugar en superficie cosechada con el 16,5 % del total nacional (detrás de naranja y plátano) y primer lugar durante los dos últimos años en lo que a productos frutícolas de exportación se refiere (apenas detrás del plátano) (Cadena Agroalimentaria del Mango, 2003).

Las zonas productoras de mango las podemos ubicar en las regiones costeras, de tal forma que se considera que el 91 % de la superficie cultivada se localiza en los estados de Veracruz, Sinaloa, Oaxaca, Nayarit, Michoacán, Guerrero, Chiapas, Jalisco y Colima, los que aportan el 94 % de la producción total.

La semilla del mango es un subproducto que las plantas procesadoras de jugos y conservas aprovechan de forma limitada, por lo que generalmente se desecha generando un aumento en el volumen de los residuos orgánicos.

El conocer la composición química de la semilla de mango permitirá plantear posibilidades de aprovechamiento para obtener diferentes productos de interés, como biodiesel, productos con capacidad coagulante-floculantes e incluso productos alimenticios (Torres y Col., 2012), esto es posible aplicando el concepto de biorrefinería donde la materia prima es biomasa que incluye residuos agrícolas, agroindustriales, residuos orgánicos municipales, entre otros (Kamm, 2004) cambiando así el enfoque de producción lineal por uno cíclico (Cervantes, 2007), proporcionando un valor agregado a la materia prima y evitando el uso excesivo del suelo, agua, energía y otros recursos.

Por lo que el objetivo de este trabajo fue conocer la composición química de la semilla de mango y valorizar algunos de sus componentes como aceite para biodiesel y carbohidratos con efecto coagulante-floculante, según el concepto de la biorrefinería.

PARTE EXPERIMENTAL.

Acondicionamiento de la semilla:

Se eliminó la drupa de forma manual para obtener la semilla, la cual fue cortada en láminas y se deshidrató en un secador de charolas a una temperatura de 49 °C durante 24 horas, posteriormente la semilla se pasó por un molino de discos para obtener una harina y se procedió a realizar el análisis químico proximal.

Análisis Químico Proximal

Se realizó extracción de lípidos mediante el método de Soxhlet, determinación de Proteína mediante Kjeldahl, determinación de cenizas totales (calcinación), determinación de fibra y ELN de acuerdo con la AOAC (2005) y la determinación de humedad por el método de secado en Termobalanza de acuerdo al método de Kirk et al, 1996.

Transesterificación de Lípidos

Se colocaron en un matraz balón 30 mL de metanol al 99,5 %, KOH al 8% con relación al aceite, se calentó hasta disolver el catalizador, se agregaron 3 g de aceite, se dejó reaccionar a una temperatura de 62 ± 2 °C a reflujo durante 3 horas y agitación constante.

Determinación de actividad coagulante floculante mediante Prueba de Jarras

Se prepararon seis muestras de un litro de agua residual en vasos de precipitado, se Colocaron los vasos de precipitado en el aparato de Jarras, se vertieron en ellos simultáneamente las dosis crecientes de harina o goma de la semilla de mango la velocidad de rotación de las paletas fue de 100rpm, durante tres minutos; posteriormente la velocidad del aparato se ajustó a 15rpm, durante veinte minutos; finalmente dejó sedimentar durante veinte minutos, al término de la sedimentación se tomaron las muestras para determinar los siguientes parámetros: color, pH, turbiedad y DQO mientras que el resto del líquido se vierte en tubos Imhoff para determinar el volumen de lodos formados.

Resultados

Determinación de la composición química proximal

La harina de semilla de mango se caracterizó por triplicado de acuerdo a la metodología reportada por AOAC (2005). Para la determinación de proteínas, se utilizó el método de Kjeldahl 954.01 utilizando un factor de conversión de 6,25. La fibra cruda se cuantificó de acuerdo con el método 962.09, el contenido de lípidos de acuerdo con el método Soxhlet 920.39. Para el contenido de cenizas, el método 923.03, por diferencias en el peso, se calculó el extracto libre de nitrógeno. En la tabla 1 se muestran los valores reportados por Bustamante y Col. Y los valores experimentales.

Tabla 1. Análisis Químico Proximal de la harina de la semilla de mago (g/100g B.S.).

Componente	Bustamante y Col.	Experimental.
Proteína	5.46	2.2
Grasa	27.82	9.5
Cenizas	2.48	2.21
Fibra	ND	0.14
ELN	62.35	85.95
%H	ND	4.15

Los valores representan la media de tres determinaciones; con una desviación estándar (S)= a:0.007, b: 0.43, c: 0.043, d: 0.042

Transesterificación de los lípidos de la semilla de Mango

En la tabla número 2 se muestran los porcentajes de recuperación durante la transesterificación de los lípidos de la semilla de Mango, a diferencia de Aliseda Montero que reporta una transesterificación del 100% bajo las mismas condiciones en su estudio de la transesterificación de aceite vegetal con metanol, el porcentaje de recuperación para los lípidos del mango fue de 32,3%, aunque en el escalamiento se obtuvieron mayores rendimientos ya que se modificó el tiempo de reacción de transesterificación, prolongándolo a 3 horas.

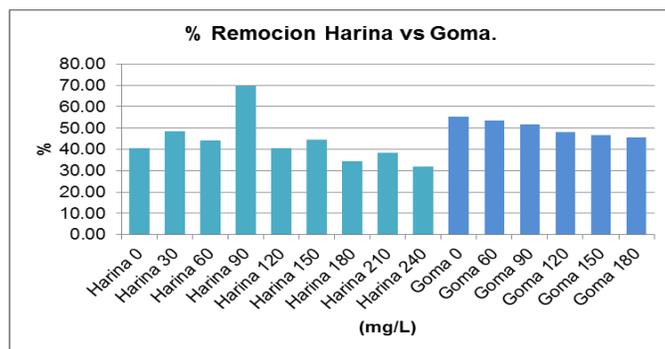
Tabla 2 Determinación del porcentaje de recuperación de Transesterificación de los lípidos del harina de semilla de mango.

Muestra (g)	B.D. (g)	% Recuperación.	% Recuperación Promedio.
3,3177	1,1073	33,37	
3,0504	1,0127	33,19	32,33
2,9825	0,9081	30,44	

Determinación de actividad Coagulante-floculante de la harina y goma de mango

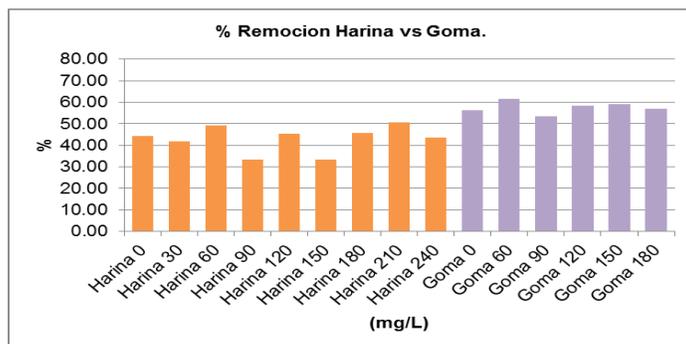
En la figura 1. Se muestran los resultados de remoción de color de la prueba de jarras para determinar la actividad Coagulante –Floculante de la harina y goma de mango realizadas a diferentes concentraciones, se observa que la mayor remoción de color se obtienen empleando Harina a una concentración de 90 mg/mL.

Figura 1. Por ciento de remoción de Color en aguas residuales empleando diferentes concentraciones de harina y goma de semilla de mango.



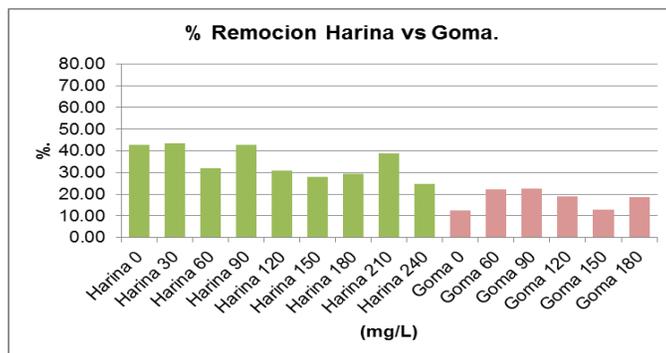
En la figura 2. Se muestran los resultados de remoción de Turbidez para la harina y goma de mango realizadas a diferentes concentraciones, se observa que la mayor remoción de turbidez se obtienen empleando goma a una concentración de 60 mg/mL.

Figura 2. Por ciento de remoción de turbidez en aguas residuales empleando diferentes concentraciones de harina y goma de semilla de mango.



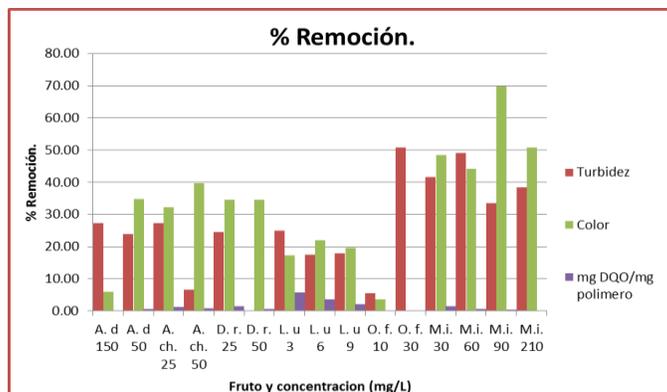
En la figura 3. Se muestran los resultados de remoción de DQO de la harina y goma de mango realizadas a diferentes concentraciones, se observa que la mayor remoción de color se obtienen empleando Harina a una concentración de 30 mg/mL obteniendo un valor de remoción del 43%.

Cuadro3. Porcentaje de Remoción de DQO en aguas residuales empleando diferentes concentraciones de harina y goma de semilla de mango.



En la figura 4. Se muestran valores de algunos frutos empleados como agentes coagulantes-floculantes comparados con la harina de mango, la gráfica muestra que la harina presenta mayor % de remoción de color y turbidez comparada con otros frutos, mientras que la relación mgDQO/ mg de polímero es menor que *Linum mucilage* que es la que presenta el valor mayor de la grafica.

Figura 4. Comparación de por ciento de remoción de color, turbidez y relación mgDQO/ mg de polímero en aguas residuales empleando diferentes productos naturales vs diferentes concentraciones de harina y goma de semilla de mango.



En cuanto al volumen de lodos generados se observaron valores de 7mL para las gomas y 5mL para harina.

CONCLUSIONES

La semilla de mango es una fuente potencial de polisacáridos. Los lípidos de la semilla de mango representan una fuente alterna para la producción de BD. Los carbohidratos presentes en la harina de la harina de semilla de mango presentaron actividad coagulante-floculante la cual podría ser empleada para el tratamiento de aguas residuales.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aliseda Montero y Col, Estudio de la Transesterificación de aceite vegetal con Metanol. Escuela Superior de Ciencias Experimentales y Tecnología. Universidad Rey Juan Carlos, 2002/03.
2. AOAC. Horwitz, W. Official methods of Analysis of AOAC International, 18th edition, Ed. AOAC International. Maryland, USA. 2005.
3. Cadena Agroalimentaria del Mango, Red para el Desarrollo sostenible de México, A.C. Abril 2003.
4. Cervantes, G. (2007) Ecología Industrial. Barcelona: Fundación Pi i Sunyer.
5. KIRK R. S., Sawyer R; Egan, H. Composición y análisis de alimentos de Pearson, segunda edición; Compañía editorial continental SA de CV, México, 1996.
6. Pascual-Bustamante y Col., 2007. Caracterización del Aceite Obtenido de Almendras de Diferentes Variedades de Mango y su Aplicación como Sustituto de Manteca de Cacao en Rellenos y Coberturas de Chocolate. Universidad Nacional Autónoma de México.
7. Plan estatal de Desarrollo, Produccion Nacional de Mango. Jalisco, 2001-2006.
8. Torres L.G., Cadena G., Carpinteyro-Urbán S., Corzo L.J. (2012) New galactomannans and mucilages with coagulant-flocculant activity, for an environment-friendly coagulation-flocculation of wastewaters. Current Advances in Environmental Science. Submitted.

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA LONGITUD DE ONDA Y LA CONCENTRACIÓN DE HIERRO SOBRE EL CRECIMIENTO EN AGUAS RESIDUALES DE LA CEPA MICROALGAL *Chlorella vulgaris*

Claudia Elizabeth Ruiz Dávila, José Antonio Rodríguez de la Garza, Yolanda Garza García, Leopoldo Javier Ríos Gonzales

Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma de Coahuila, Boulevard Venustiano Carranza y José Cárdenas Valdés Colonia república, Saltillo, Coahuila, C.P. 25280, México. ely255_272@hotmail.com

RESUMEN

La remoción de contaminantes en las aguas residuales es un proceso costoso que en algunos casos implica sustancias químicas que ensucian más el vital líquido, además de contaminantes el agua residual contiene cientos de bacterias patógenas, virus y otros microorganismos peligrosos para la salud. Los nutrientes encontrados en el agua la hacen ideal para utilizarse como medio de cultivo y el aprovechamiento de la biomasa para algún proceso de obtención de metabolitos de interés. En este trabajo se utilizó la cepa microalgal *Chlorella vulgaris* la cual se hizo crecer en agua residual proveniente de la planta tratadora de aguas residuales de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), se trabajó con un volumen de trabajo de 900 ml en frascos duran con aireación constante, se inoculó a 1% (9 ml) cada reactor, como fuente de energía se utilizaron focos led de 30 Watts con luz roja, azul y blanca con un fotoperiodo de luz: oscuridad de 12 horas respectivamente, el tiempo de cultivo fue de 10 días, tomado 1 ml de muestra para la determinación del crecimiento por densidad óptica.

INTRODUCCIÓN

El tratamiento de aguas residuales es un proceso complejo que requiere tratamientos físicos, químicos y biológicos; se ha comprobado que el uso de consorcios microalgales o microalga-bacterias puede emplearse como tratamiento secundario o terciario de aguas residuales [1], el uso de microalgas para el tratamiento de aguas residuales presenta una alternativa viable económica y técnicamente ya que la biomasa de estos microorganismos contiene una gran cantidad de metabolitos de interés comercial tales como vitaminas, aminoácidos, lípidos, proteínas, carbohidratos, pigmentos entre otros que pueden ser recuperados por procedimientos secundarios [2]. Esto representa un proceso integral tratamiento de aguas residuales: producción de metabolitos o biocombustibles como el biodiesel o bioetanol.

Se ha reportado también la remoción de metales pesados como cromo, cobre, zinc, hierro, cadmio entre otros por diversas cepas de microalgas libres o inmovilizadas. La gran cantidad de nutrientes en las aguas residuales como N, C, P y S son una fuente ideal para que las

microalgas la utilicen para la formación de nueva biomasa, ya que las microalgas pueden utilizar una gran cantidad de fuentes de carbono reduciendo así la Demanda Química de Oxígeno (DQO) y concentración de contaminantes [3].

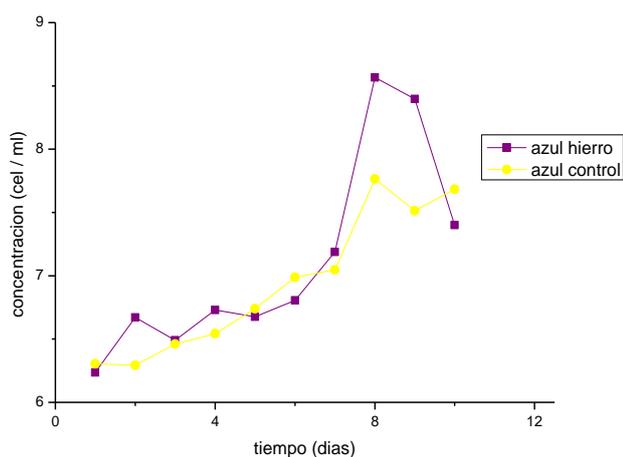
METODOLOGIA

El agua residual utilizada fue obtenida de la planta de tratamiento de la UAAAN, se emplearon frascos duran de 1 litro con un volumen de trabajo fue de 900 ml en frascos duran de 1 litro, se un inoculo cada reactor al 1% (9ml) con la cepa microalgal *Chlorella vulgaris* aclimatada previamente. Todos los reactores se mantuvieron con aireación constante y con un fotoperiodo de luz: oscuridad de 12 horas respectivamente, se utilizaron focos led de 30 watts con luz roja, azul y blanca. Para evitar la interferencia de luz externa los reactores se aislaron en compartimentos de madera totalmente cerrados y la luz fue suministrada mediante focos led un total de 8 focos por compartimento. Los reactores se mantuvieron a una concentración constante inicial de 200 ppm de hierro (FeCl₃). El tiempo de cultivo fue de 10 días tomando muestras diarias. El crecimiento microalgal se determino por densidad óptica y por conteo en cámara de Neubauer.

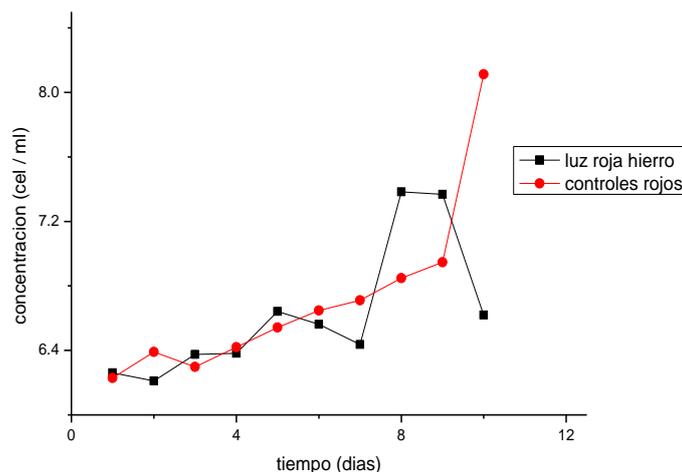
RESULTADOS

Los resultados obtenidos nos muestran que la microalga tuvo un mayor crecimiento con el paso del tiempo alcanzando la fase exponencial más rápido, con luz azul y blanca a diferencia de la luz roja.

efecto sobre el crecimiento bajo luz azul y 200 mg / l de Fe



efecto sobre el crecimiento de la luz roja y 200 mg / l de Fe



efecto sobre el crecimiento bajo luz blanca y 200 mg / l de Fe

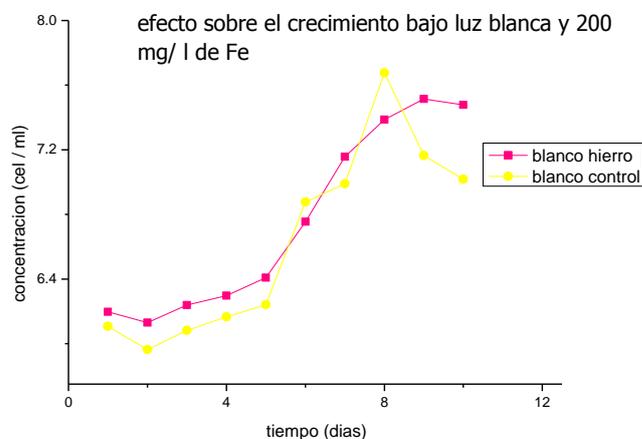


Figura 1. De izquierda a derecha, efecto de la longitud de onda y la concentración de hierro sobre el crecimiento microalgal, 1) luz azul con 200 mg/l Fe, 2) luz roja con 200 mg/l Fe y 3) luz blanca con 200 mg/l Fe

El comportamiento de las microalgas en presencia de hierro como se puede observar en la grafica 1, promueve el crecimiento, este elemento es esencial en este tipo de microorganismos ya que favorece muchas reacciones metabolicas; para el caso de las microalgas que crecieron en presencia de luz roja se observa que el resultado fue el contrario, esto puede deberse a que la longitud de onda en la luz roja presenta un poder energetico menor que ademas al estar en altas concentraciones el hierro pudo causar estrés celular, que llevo a una lenta multiplicacion celular y como se muestra en la grafica, fases de adaptacion del microorganismo al medio..

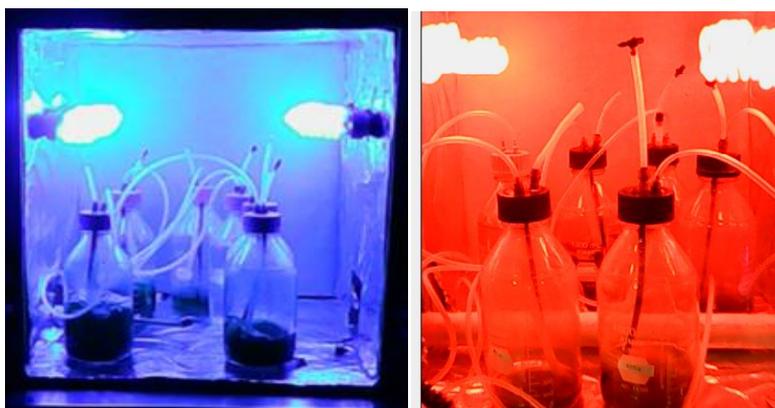


Figura 2. Irradiación de los reactores con luz azul y roja.

Conclusiones

Se aprecia un efecto significativo de la longitud de onda sobre el crecimiento de la cepa, esto puede deberse a que a longitud de onda azul (470 nm) proporciona más energía que la luz blanca y la luz roja, y esto ocasiona que haya una alta excitación en los electrones de la clorofila, los electrones producen hidrólisis del agua lo cual lleva a la síntesis de ATP que es usado para la síntesis de biomoléculas para el crecimiento microalgal. El hierro es un elemento fundamental en el crecimiento microbiano ya que está involucrado en diversos procesos metabólicos como la oxidación-reducción, transporte de electrones entre otros

Los resultados obtenidos son resultados preliminares que servirán para un experimento posterior en el cual se va a evaluar la producción de lípidos.

Bibliografía

1. Sydney E.B, da Silva T.E., Tokarski A., Novak A.C., de Carvalho J.C., Woiciechowski A.L., Larroche C., Soccol C.R., "Screening of microalgae with potential for biodiesel

- production and nutrient removal from treated domestic sewage”, *Applied Energy Elsevier Ltd*, 88 (2011), 3291–3294, 2011.
2. Chen Y., Vaidyanathan S. “Simultaneous assay of pigments, carbohydrates, preteins and lipids in microalgae”, *Analytica Chimica Acta*, 776 (2013), 31-40.
 3. Pittman J.K., Dean A.P., Osundeko O. “The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources”, *Bioresources Technology*, 102 (2011), 17-25.
 4. Pérez Pasos J., Fernández Izquierdo P. “Synthesis of neutral lipids in *Chlorella sp.* under different light and carbonate conditions”, *Ciencia, Tecnología y Futuro*, 4 (2011).

ESTUDIO BIOQUÍMICO Y TOXICOLÓGICO DEL VENENO CRUDO DE *Crotalus aquilus*

Pérez Guzmán Ana Karina^{1*}, Lazcano David², Banda Javier², Morlett Jesús¹, Cepeda Nieto Ana Cecilia³, Garza García Yolanda¹ y Zugasti Cruz Alejandro¹

¹Facultad de Ciencias Químicas, Posgrado en Biotecnología, UAdeC. Saltillo, Coahuila.

C.P. 25280. ²Facultad de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Herpetología, UANL.

Monterrey, Nuevo León. C.P. 64000. ³Facultad de Medicina, Laboratorio de Investigación, UAdeC. Saltillo, Coahuila. C.P. 25000, alex_zugasti@yahoo.com.

RESUMEN

Crotalus aquilus es una serpiente de cascabel que se distribuye en el centro del país, principalmente en la porción sur de la Altiplanicie Mexicana, del noroeste de Veracruz y sur de San Luis Potosí. Su intervalo de altitud se encuentra entre los 2,000 y los 2,900 msnm. *Crotalus aquilus* es endémica del país y se encuentra bajo protección especial. El veneno de *C. aquilus* ha sido muy poco estudiado con respecto a sus propiedades bioquímicas y toxicológicas. En este trabajo se estudió el perfil bioquímico de las proteínas del veneno de *C. aquilus* por SDS-PAGE. Además, se evaluaron las actividades enzimáticas del tipo fosfolipasa A2 (PLP2) y caseinolítica del veneno total mediante ensayos espectrofotométricos. El perfil electroforético de las proteínas del veneno de *C. aquilus* mostró la presencia de proteínas en un intervalo de peso molecular de ~10-120 kDa. Las bandas obtenidas nos permitieron determinar que están presentes las principales familias de enzimas, es decir, las metaloproteasas P-III y P-II, proteasas de serina, PLA2, L-amino oxidasas, lectinas tipo C, entre otras. En relación a la actividad fosfolipasa tipo A2 (0.0265 U/min) del veneno de *C. aquilus*, los resultados fueron similares al veneno de *C.l.lepidus* (0.0253 U/min) y *C.l.klauberi* (0.0262U/min), pero menores que el veneno de *C. atrox* (0.0330 U/min); la actividad caseinolítica mostró una relación similar a la actividad PLP2. Con relación a la actividad proteolítica, evaluada cualitativamente mediante zimograma, se encontró que el veneno de *C. aquilus* presentó una actividad proteolítica en el intervalo de masa molecular de 66 kDa a 97 kDa.

INTRODUCCIÓN

Los venenos de serpiente son mezclas complejas de proteínas que van de 6 a 100 kDa, muchos de los cuales tienen propiedades enzimáticas, por ejemplo, las fosfolipasas (especialmente la fosfolipasa A2), proteasas, colagenasas, hialuronidasas, la acetilcolinesterasa, metaloproteinasas, lactato deshidrogenasa, enzimas similares a la trombina, sustancias Inorgánicas, como el zinc y el magnesio se presentan también y pueden servir como cofactores para las enzimas mencionadas anteriormente (Tibballs et al., 2014).

Existe un amplio interés en la actualidad de conocer la composición de los diferentes venenos de serpientes, para buscar sustancias que pudieran tener un potencial considerable como biomoléculas con finalidades médicas, farmacéuticas o para el mejoramiento de los antivenenos a nivel mundial (Chippaux y Goyffon, 1998). Para lograr este último objetivo, es muy importante conocer las variaciones en la composición bioquímica y actividad biológica de venenos de serpientes de la misma especie o subespecie, como los que han sido reportadas en venenos de algunas serpientes del género *Crotalus* de México (Borja-Jiménez et al., 2013; Martínez-Romero et al., 2013).

METODOLOGIA

El veneno de *C. aquilus* fue separado mediante SDS-PAGE al 12% de primera y segunda dimensión descrito por Laemmli (1970).

La actividad fosfolipasa se determinó según lo propuesto por Seibert et al., (2006).

La actividad caseinolítica cuantitativa se realizó siguiendo las condiciones descritas por Menezes et al. (2006).

PARTE EXPERIMENTAL

- SDS- PAGE

Geles de SDS-PAGE. Los geles fueron elaborados usando el sistema de buffer discontinuo descrito por Laemmli (1970). El gel, realizado bajo condiciones reductoras, reveló la presencia de proteínas con un peso molecular desde los 10 kDa hasta los 120 kDa, aproximadamente (Figura 1).

Figura 1. Gel de SDS-PAGE en condiciones reductoras (12%) del veneno de *C. aquilus*.

MPM: marcador de peso molecular. C.A: bandas del veneno de *C. aquilus*. kDa: masa molecular en kDa.

PRUEBA DE ACTIVIDAD FOSFOLIPASA A2

Se evaluó la actividad fosfolipasa A2 producida por el veneno de *Crotalus aquilus* según lo propuesto por Seibert y colaboradores (2006); los resultados obtenidos en este trabajo mostraron que *Crotalus aquilus* produce actividad enzimática por fosfolipasa PLP2 (0.0265 UA/mg de proteína).

Se realizó un estudio comparativo con respecto a la actividad enzimática de *C. aquilus* con relación a otras serpientes de cascabel de género *Crotalus*; se obtuvieron los siguientes valores (Tabla 1):

ESPECIE	ACTIVIDAD ENZIMATICA (u/min)	REFERENCIA
<i>Crotalus aquilus</i>	0.0265	Este trabajo
<i>Crotalus lepidus lepidus</i>	0.0253	Martinez-Romero2012.
<i>Crotalus lepidus klauberi</i>	0.0262	Martinez-Romero2012.
<i>Crotalus atrox</i>	0.0330	Aguirre-Joya, 2011.

Tabla1. Actividad por enzimas fosfolipasas tipo A2. Se muestran las unidades de actividad calculada en mM de ácido graso liberado por minuto (UA) por miligramo de proteína. El experimento fue realizado por triplicado.

PRUEBA DE ACTIVIDAD CASEINOLÍTICA

La prueba de actividad caseinolítica cuantitativa se basó en la medición, a 280 nm, de la hidrólisis de la caseína producida por diferentes cantidades de veneno (la prueba se realizó por triplicado). La actividad caseinolítica generada por el veneno de *C. aquilus* mostró un patrón similar al obtenido con el veneno de *C. lepidus*, pero una actividad enzimática menor que el veneno de *C. atrox* (Figura 2).

Figura 2. Actividad caseinolítica, medida a 280 nm, para tres diferentes concentraciones de veneno (100, 250 y 400 Og/ml). Los experimentos fueron realizados por triplicado y los promedios graficados para cada muestra de veneno.

Zimograma

Se comparó la actividad capacidad degradativa de los venenos de *C. aquilus* y *C. atrox* en la proteína gelatina. Con relación al veneno de *C. aquilus*, se pudieron identificar 4 bandas con actividad proteolítica con una variación de masas moleculares de 66 kDa hasta 97 kDa (Figura 3).

Por otro lado, el veneno de *C. atrox* causó la formación de tres bandas en el intervalo de 62 a 80 KDa (figura 3).

Figura 3. Zimograma en el sustrato gelatina. Los números en la izquierda indican la movilidad de los marcadores de masa molecular en kilodaltons .

CONCLUSIONES

La actividad fosfolipasa A2 y caseinolítica obtenidas con el veneno de *C. aquilus* fueron similares a la de los venenos de *C. lepidus*, pero menores que el veneno de *C. atrox*. Las similitudes encontradas en los venenos de *C. aquilus* con relación al grupo de *C. lepidus* podría estar relacionado con el tipo de hábitat montañoso y una gran altitud en la que se encuentran las poblaciones de dichas especies; además, ambos grupos están emparentados filogenéticamente; por otro lado, las poblaciones de *C. atrox* generalmente se encuentra ocupando hábitats de baja altura, y no existe parentesco filogenético con los grupos anteriores (es decir, *C. aquilus* y *C. lepidus*).

Por otro lado, el análisis SDS-Page del veneno de *C. aquilus* mostró una gran diversidad tanto en bandas y peso moleculares. Las bandas obtenidas nos permitieron determinar que están presentes las principales familias de enzimas, es decir, las metaloproteasas p-III y P-II, nucleasas, L-amino oxidasas, proteasas de serina, CRiSP, PLA2, lectinas tipo C, miotoxinas y desintegrinas.

Además, la actividad proteolítica fue confirmada mediante el estudio del zimograma, y se observaron bandas de masa molecular de 66.3 kDa hasta 97.4 kDa.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) **Cambell, J.**, Lamar, W. 2004. Venomous reptiles of the western hemisphere. Ithaca, N.Y., Cornell University Press.
- 2) **Chippaux, J.P.**, M. Goyffon. 1998. Venoms, antivenoms and immunotherapy. *Toxicon* 36 (6): 823-846.
- 3) **Borja Jiménez, J.M.** 2013. Estudio comparativo de las propiedades bioquímicas del veneno de la serpiente de cascabel de las rocas tamaulipeca (*Crotalus lepidus morulus*) del noreste de México. Tesis de Maestría en Biotecnología, opción: ciencia y biotecnología de enzimas Universidad Autónoma de Coahuila.
- 4) **Martínez Romero, G.M.** 2013. Caracterización bioquímica y biológica de las enzimas de los venenos de las subespecies *Crotalus lepidus klauberi*, *Crotalus lepidus lepidus* y *Crotalus lepidus morulus* de México. Tesis de Maestría en Biotecnología, opción: ciencia y biotecnología de enzimas Universidad autónoma de Coahuila.
- 5) **Laemmli, U.K.** 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of Bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.
- 6) **Seibert C.S.**, Tanaka M. A., Santoro L. M., Mackessy S., Torqueto R. J., Lebrun, Tanaka S, Sano-Martins Sigueko. 2006. Purification of a phospholipase A₂ from *Lonomia obliqua* Caterpillar bristle extract. *BBRC* 342: 1027-1033
- 7) **Jurado, J.D.**, E. P. Rael, C. S. Lieb, E. Nakayasu, W. K. Hayes, S. P. Bush., Ross J. A.. 2007. Complement inactivating proteins and intraspecies venom variation in *Crotalus oreganus helleri*. *Toxicon* 49: 339-350.
- 8) **Menezes M.C.**, Furtado M.F., Travaglia-Cardoso S.R., Camargo A.C., Serrano, M.T., 2006. Sex-based individual variation of snake venom proteome among eighteen *Bothrops jararaca* sibling. *Toxicon* 47: 304-312.
- 9) **Tibballs J.**, Holstege C.P., Wheeler D.S. 2014. Envenomations. En : **Wheeler D.S. et al. (eds.)**, *Pediatric Critical Care Medicine*, 729. Springer-Verlag London.

PREPARACIÓN Y ESTANDARIZACIÓN DEL EXTRACTO DE COL MORADA

Florencia Salinas, F. López, J. Valencia y G. Cerón

Universidad Tecnológica de Tecámac, Estado de México, biotlofencia@yahoo.com

RESUMEN

En la literatura se reportan diferentes métodos para obtener extractos de col morada y lograr mantener sus propiedades de manera segura ya que tiene un perfil fitoquímico a base de flavonoides entre las que destacan las antocianinas, cuyos componentes más abundantes son la cianidina y la quercetina identificadas con actividad antioxidante y quimioprotectora. El objetivo de este trabajo es obtener el extracto de col morada hasta su estandarización para recuperar sus flavonoides. Como etapa previa para la extracción de antocianinas se preparó col picada y se prepararon los extractos utilizando como agente extractante cuatro ácidos diferentes (dos ácidos orgánicos y dos ácidos inorgánicos) que fueron H₃PO₄ Y HCl en cuatro concentraciones 0,05M, 0.1M, 0.2M y 0.4M, como ácidos orgánicos CH₃COOH y C₃H₈O₇ con una concentración adicional 1M, todas por triplicado dejando en reposo por 24 horas, se midió el pH antes y después de la extracción con etapas posteriores de filtración y dos pasos de dilución (H₂O y buffer pH1 respectivamente); ya realizada las soluciones se llevó la muestra preparada al espectrofotómetro determinando la absorbancia a 520 y 620 nm y se calculó como absorbancia normalizada para medir la concentración aparente de antocianinas. Los resultados reportados indican que el HCl le lleva ventaja de absorbancia al H₃PO₄ por presentar mayor concentración de antocianinas debido a que el extracto con HCL con las cuatro concentraciones trabajadas presenta un pH muy cercano a 1 y en el momento de realizar el ajuste de pH, hubo un menor cambio y la estabilidad de las antocianinas fue menos alterada en comparación del H₃PO₄ y por consiguiente mayor absorbancia para la presencia de antocianinas; en cuanto a los ácidos orgánicos al realizar el ajuste de pH.

INTRODUCCIÓN

En la literatura existen diferentes métodos para obtener el extracto de col morada rico en antocianinas, las cuales por su naturaleza química pierden estabilidad dependiendo de factores como pH, oxígeno ,temperatura .Debido a ello es importante encontrar un método de extracción que mantenga sus propiedades fitoquímicas y mejorar el rendimiento . Lograr un extracto de estos compuestos bioactivos y llevarlos a una estandarización facilita el poder mantener las propiedades de manera segura y en mayor cantidad. La col morada contiene flavonoides, entre los que destacan ocho antocianinas, cuyo componente más abundante es la cianidina que confiere el color morado a la lombarda, y la quercetina.

Las antocianinas proveen importantes beneficios como colorante de alimentos, también por su efecto antioxidante y quimioprotector. Para mantener las propiedades de la col se ha realizado un proceso químico para su extracción mediante ácidos orgánicos e inorgánicos, realizando además una serie de pruebas como es pH, el porcentaje de sólidos que están presentes por cada mililitro de extracto, la eficiencia de la extracción basada en un contenido de antocianinas que asegure que se tiene lo que se desea logrando así una estandarización del método más adecuado para obtener el extracto.

Objetivo General

Obtener el extracto de col morada llegando hasta su estandarización para obtener flavonoides (antocianinas) presentes en la col morada.

Objetivos específicos

*Preparar la extracción de la col morada para obtener flavonoides (antocianinas).

*Estandarizar la metodología con mejor resultado en la obtención de flavonoides (antocianina).

TEORÍA

La col morada es una planta herbácea anual de la familia de las crucíferas. Su nombre científico es *Brassica oleracea var. capitata*, nombre vulgar col lombarda, col morada, col roja. Químicamente la col contiene 92% de agua, fibra, pocas calorías e hidratos de carbono

- Vitaminas: A, C, E y B.
- Minerales: rico en Azufre y Potasio, Fósforo, Aluminio, Calcio, Flúor, Bario, Magnesio, Bromo.
- Otros: Ácido fólico, Niacina, Biotina, Mucílagos, Quercetina, Tirosina, Leucina, Cistina, ácido glutamínico, Arginina, Amoníaco, Nitratos.
- Antocianinas como cianidina.-3-sofóro-5-glucósido. cianidina-3-(diferulil)soforósido-5-glucósido ,quercitina, entre otros. (Geza Hrazdina et al.,1977).

Desde el punto de vista químico, las antocianinas pertenecen al grupo de los flavonoides y son glicósidos de las antocianidinas, están constituidas por una molécula de antocianidina, que es la aglicona, a la que se le une un azúcar por medio de un enlace glucosídico. La estabilidad de las antocianinas está determinada por el grado de oxidación, la temperatura, acidez, fuerza iónica e interacción con otras moléculas (Garzon, 2008).

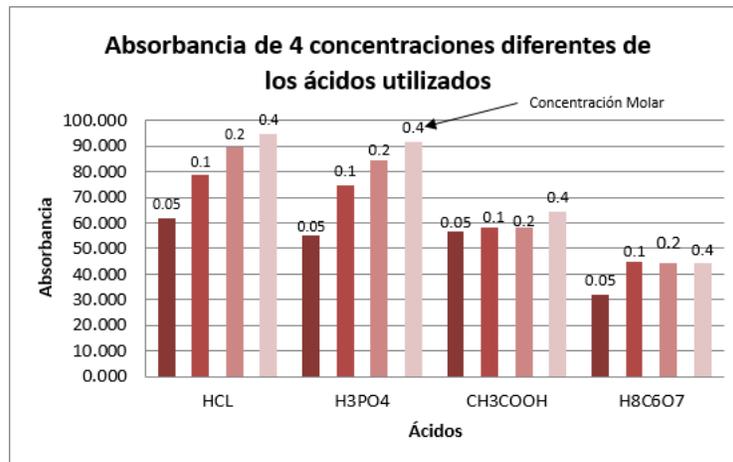
El científico alemán Richard Willstätter (1872-1942) fue el primero en describir el cambio de color de las antocianinas, moléculas en las que se produce el efecto batocrómico, que consiste en que al cambiar la acidez, es decir el pH, se pasa del rojo anaranjado en condiciones ácidas, como el de la pelargonidina, al rojo intenso-violeta de la cianidina en condiciones neutras, y al rojo púrpura-azul de la delphinidina, en condiciones alcalinas. El pH tiene efecto en la estructura y la estabilidad de las antocianinas. La acidez tiene un efecto protector sobre la molécula.(Aoki et al., 2002)

PARTE EXPERIMENTAL

Se seleccionó col morada fresca, se almacenó y se embolsó manteniendo en refrigeración a 4 °C. Se prepararon soluciones de HCl, H₃PO₄ (0.05M,0.1M ,0.2M,0.4),CH₃ COOH y C₆H₈O₇ (con concentración adicional 1M).Se realizó la extracción de antocianinas dejando en contacto 80 g de col morada con cada uno de los agentes extractantes por triplicado ,se filtró después de este tiempo, los sólidos retenidos se guardaron en refrigeración, a los cuales se determinó % de sólidos en termobalanza .Se preparó ajustador ácido a pH 1(mezcla de 50 ml de KCl 0.02N y 134 ml HCl0.2M), Posteriormente se realizaron dos diluciones, la primera en relación 1:10, la segunda se realizó empleando 9 ml de la solución buffer pH1 obteniendo una dilución 1:100.La determinación de antocianinas se realizó mediante espectrofotometría a 520nm.

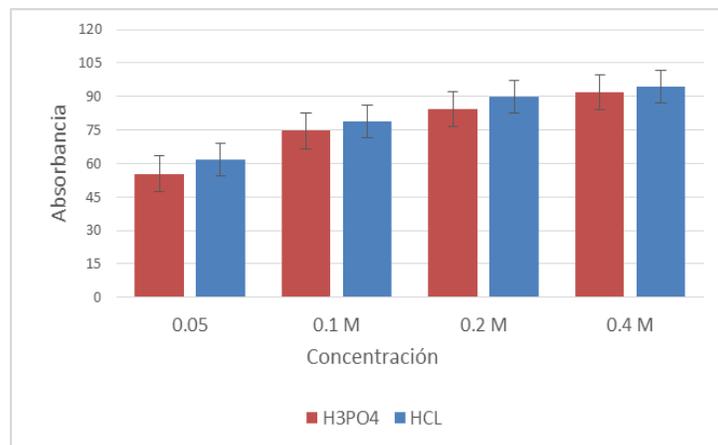
RESULTADOS

En la gráfica 1 se muestran las absorbancias obtenidas para la presencia de antocianinas con los ácidos orgánicos e inorgánicos utilizados, donde se puede observar que para la concentración 0.05 M en el ácido clorhídrico, fosfórico y acético las absorbancias obtenidas son cercanas (61.6, 55.3, 56.4) entre si mientras que en el ácido cítrico se presentan en una absorbancia menor (32.1)



Gráfica 1: Absorbancia de cuatro concentraciones diferentes de los ácidos utilizados

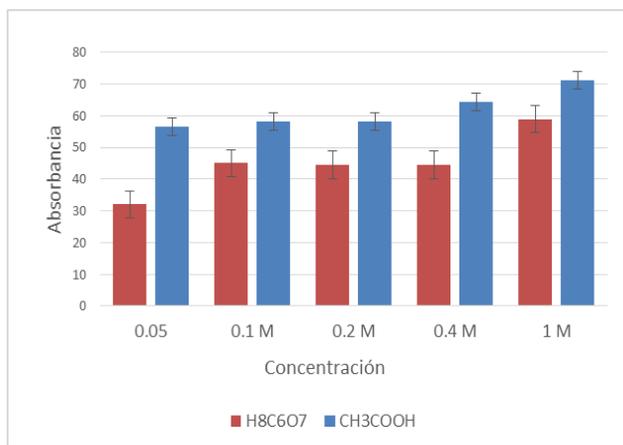
En el ácido clorhídrico y fosfórico hay un aumento de antocianinas favorable lo cual indica que es el mejor medio de estabilidad de las antocianinas, indicando así que en éstos entre mayor es la concentración, mayor será la absorbancia debido a que cambia su forma a catión favilio.



Gráfica 2: Comparación de absorbancia normalizada de los ácidos inorgánicos.

En la gráfica 2 se observa que el ácido clorhídrico presenta mayor absorbancia que el ácido fosfórico debido a que el extracto realizado las concentraciones trabajadas presentan un pH muy cercano a 1 y en el momento de realizar el ajuste de pH (pH 1) hubo un menor cambio de pH's y la estabilidad de las antocianinas fue menos alterada en comparación del H₃PO₄. La comparación se

hizo en base a absorbancia normalizada que se calcula considerando a la absorbancia multiplicada por el factor de dilución y se obtuvo por la diferencia aritmética a dos longitudes de onda 520nm y 600nm y pH's (1 y 4.5)



Gráfica 3: Comparación de absorbancia normalizada de los ácidos orgánicos.

En la gráfica 3 podemos observar que el ácido cítrico se muestra más inestable al ajuste de pH 1 dando mejor resultado el uso de ácido acético como agente extractante.

CONCLUSIONES

Durante el proceso de la extracción de flavonoides (antocianinas) se buscó el mayor rendimiento para la extracción de antocianinas empleando diferentes concentraciones de ácidos. Se encontró que el mejor ácido para la extracción de flavonoides a partir de la col morada es el ácido clorhídrico ya que bajo las mismas condiciones y con las mismas concentraciones es el que presenta mayor absorbancia.

Los resultados obtenidos permitieron la estandarización de la técnica de extracción de antocianinas a partir de col morada.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aoki, P.W. *Physikalische Chemie*, VCH, Weinheim, 2002.
2. Garzon, G. 2008. Anthocyanins As Natural Colorants And Bioactive Compounds: A Review. *Acta Biol. Colomb.* 13, no.3, p.27-36. ISSN 0120-548X.
3. Geza Hrazdina, Henry Iredale y Leonard R. Mattick. 1977. Anthocyanin composition of *Brassica oleracea* cv. Red Danish. *Phytochemistry* 16: 297-299.

ELABORACIÓN DE UN ALIMENTO PARA AVES DOMÉSTICAS A PARTIR DE *Tenebrio molitor*

Florencia Salinas, A. Corona, E. Llanillo, B. Olvera

Universidad Tecnológica de Tecámac, Estado de México, biotlofencia@yahoo.com.mx, fuegoymar.cofa@gmail.com, tollyllanillo@hotmail.com, berolco_815@yahoo.com.mx

RESUMEN

La alimentación de las aves domésticas hoy día enfrenta problemas de contar con fuentes alimenticias sanas y nutritivas, de manera indiscriminada se les proporciona cualquier alimento como desechos de comida, granos y semillas defectuosos, hormonas para crecimiento rápido. Como una alternativa a esta problemática se formuló un alimento para aves (pollos de 5 a 8 semanas) a base de *Tenebrio molitor* en fase larvaria, de alto valor proteico, incorporando granos de maíz y sorgo, logrando un alimento formulado y caracterizado de acuerdo a las normas. La metodología consistió en el desarrollo de larvas de *Tenebrio molitor* bajo condiciones controladas de temperatura $27\pm 2^{\circ}\text{C}$ y alimentación a base de salvado de trigo, selección de larvas y secado en estufa a 50°C , maceración en molino para separar en tamiz de 25 mallas, los residuos retenidos en la malla se recircularon al macerado. En cuanto a las semillas de maíz y sorgo se realizó selección maceración y tamizado, con las materias primas preparadas y pesadas se procedió al mezclado en batidora hasta obtener una mezcla homogénea y se peletizó. En el formulado y materias primas se realizaron análisis bromatológicos y fisicoquímicos los cuales consistieron en proteína (NMX-F-068-S-1980), grasa (NMX-Y-103-SCFI-2004), humedad (NMX-Y-098-SCFI-2012), fibra cruda (NMX-F-613-NORMEX-2003) (Anónimo (1996 Y 2000)). y extracto libre de nitrógeno obtenido por cálculo que representa los carbohidratos solubles. El producto formulado tiene 12.5% de humedad, 18% de proteína, 4% de fibra cruda, 6% de grasas y 55% de extracto libre de nitrógeno. El formulado obtenido se distingue por su porcentaje proteico de 22%, el cual puede aumentar si se modifica la formulación duplicando la cantidad, es decir adicionar un 44% de *Tenebrio molitor* (los pollo de 5-8 semanas requieren 32% de proteína), fibra cruda 4%, valor que se considera adecuado para favorecer la absorción nutrimental en esta etapa de la vida de los pollos.

INTRODUCCIÓN

La crianza de aves, es conocida en el país desde tiempos muy antiguos. Las aves crecen y se multiplican muy fácilmente, sí se les compara con otras especies de animales. Su crianza no demanda grandes costos de inversión y representa una buena alternativa para la alimentación humana, proporcionando huevo y carne.

Para que se puedan obtener todos los beneficios que las aves ofrecen, se les debe proporcionar cuidados en la alimentación, sanidad y alojamiento. Sin embargo, la crianza tradicional de aves a nivel doméstico, es de baja calidad, debido a esto se vio la necesidad de mejorar protéicamente el alimento para las aves, por medio del *Tenebrio molitor*.

El gusano de harina como se conoce al *Tenebrio molitor* o Escarabajo Molinero, es una opción ideal en particular en la fase larvaria para usarse como suplemento alimenticio para el crecimiento de pollos de 5-8 semanas, y fertilidad por su alto contenido proteico.

Los insectos tienen un ciclo biológico de cuatro fases: huevo, larva, crisálida y adulto. En vida silvestre este ciclo varía de 6 a 12 meses, dependiendo de condiciones físicas y ambientales.

En la etapa larvaria se observa una cutícula blanda que cambia a medida que la larva crece y cambia de estado fisiológico. El tamaño puede alcanzar los 3 cm de largo por 2 mm de grosor y tener unos 0,35 g de peso antes de convertirse en crisálidas. Las larvas sufren una metamorfosis, acumulando grasa para superar este proceso; por tal motivo el proyecto pretende utilizar larva del *Tenebrio molitor* como fuente de proteína, pues la larva es una excelente fuente dietética para todo tipo de animales insectívoros, porque contiene un elevado valor nutricional que está constituido por: 20% de proteína, 16% de lípidos, 57.4 ppm de calcio y 0.3 ppm de fósforo (Balcázar,C.(2003)).

Objetivo General

Desarrollar un alimento nutritivo a partir de *Tenebrio molitor* complementado con semillas, para un desarrollo superior en el crecimiento de los pollos.

Objetivo Específico

Caracterizar el alimento formulado para pollos de acuerdo a las técnicas establecidas en normas mexicanas para los análisis físico-químicos y bromatológicos.

TEORÍA

La cantidad y calidad de la base de la alimentación de las aves de corral son muy variables, dependiendo de la temporada, pero también de las precipitaciones y de las actividades agrícolas. El suministro de proteínas, minerales y vitaminas es a menudo elevado durante la estación de las lluvias debido a la abundancia de insectos y materia verde fresca, pero llega a ser crítico durante la estación seca.

Los insectos pueden utilizarse para producir proteínas más baratas de animales no destinados a la alimentación. Los insectos son parte de la dieta natural de las aves de corral, estos consumen una amplia variedad, entre ellos saltamontes, grillos, termitas, pulgones, cochinillas, escarabajos, orugas, crisálidas, moscas, pulgas, abejas, avispas y hormigas. Los insectos son ricos en proteínas, con un alto contenido que van del 40 al 75 por ciento (Araujo G.G. (2001)).

La cría de las larvas del *Tenebrio molitor* es una de las maneras más sencillas, higiénicas y económicas de obtener proteínas vivas. Se pueden usar las larvas y las ninfas que proporcionan una abundante cantidad de alimento durante todo el año.

Estos insectos son muy resistentes, y proporcionándoles una temperatura adecuada, se reproducen en abundancia ya que la hembra pone alrededor de 200 a 300 huevos. Para conseguir un nivel adecuado de multiplicación a una velocidad suficiente, la temperatura debe oscilar aproximadamente entre 20° C y no más de 30° C y se les agrega pan duro, cáscara de fruta, papas, harina de carne o alimento de perros triturado (en una bandeja para que no ensucie el sustrato) y esperar el ciclo (Tabla 1.). La comida se transformará en excrementos en forma de un polvito color café, que resulta un excelente abono orgánico.

Tabla 1 Etapas del *Tenebrio Molitor*

Etapa	Información	Figura
Huevos	10 días la incubación	N/A
Larvas	2 a 3 meses el periodo larval, creciendo hasta la madurez y cambiando de piel	
Pupas	20 días el estado de ninfa endurecida, de forma triangular, curvada y prácticamente inmóvil	
Escarabajos	Viven aproximadamente de 2 a 3 meses, nacen color marfil y a los 2-3 días se convierten en un color negro-marrón. Son sexualmente maduros a los 10-12 días y la ovoposición empieza a los 10 días. Lo que da un total de 4 a 5 meses para completarse un ciclo de vida	

Las aves para crecer sanas, vigorosas y productivas, necesitan cuatro tipos de nutrientes: Las proteínas, que forman los músculos; los carbohidratos y grasas que producen energía para las funciones vitales y el agua para aprovechar los alimentos.

PARTE EXPERIMENTAL

Para llevar a cabo la obtención del alimento se emplearon los procesos siguientes:

La alimentación de las larvas consistió en una mezcla homogénea a base de salvado de trigo; se sometieron a una temperatura de 50°C para realizar el secado y eliminar la humedad. Las materias primas (larvas, maíz y sorgo) fueron trituradas y posteriormente pasadas por un tamiz de malla 25 para obtener una mezcla homogénea, la concentración final fue: sorgo 48%, maíz 30%, *Tenebrio molitor* 22%. La mezcla se llevó a un peletizador.

Al producto se le realizaron análisis químicos para la determinación de humedad, proteína, cenizas, fibras y carbohidratos, de acuerdo a las normas establecidas.

La humedad se determinó de acuerdo a la norma NMX-Y-098-SCFI-2012, las proteínas por el método Kjeldhal, utilizando la norma NMX-F-068-S-1980. El extracto etéreo se realizó bajo la norma NMX-Y-103-SCFI-2004 con éter de petróleo en un extractor Goldfish, evaporación y secado a peso constante. Por último las cenizas se realizaron bajo la norma NMX-F-066-S-1978 por

carbonización y posterior calcinación de las muestras en mufla a 550°C hasta peso constante. (Fig1)

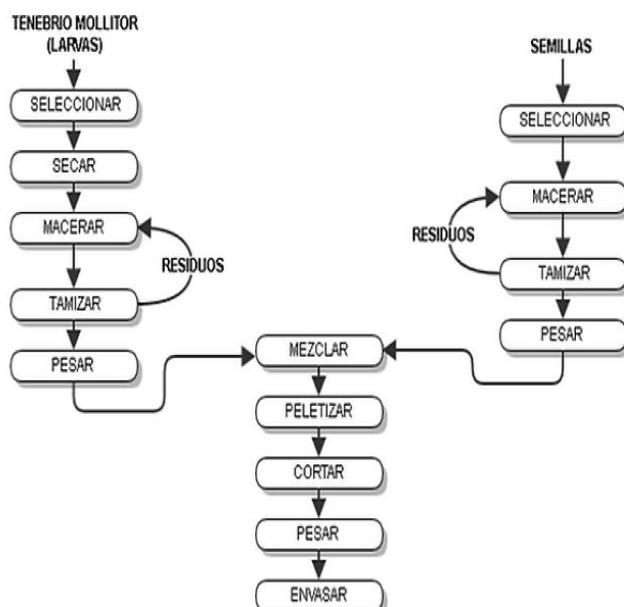


Figura 1. Etapas del proceso de la Formulación con *Tenebrio molitor*

RESULTADOS

Tabla 2. Resultados físico-químicos de larva de *Tenebrio molitor*.

PARÁMETRO	RESULTADOS %
Proteína	45.15
Grasa	7.89
Humedad	21.90
Cenizas	4.96
Fibra cruda	8.85

Tabla 3. Resultados físico-químicos y bromatológicos de semillas

PRODUCTO	PROTEÍNA	GRASAS	HUMEDAD	CENIZAS
SORGO	7,68	3	11,12	1,22
MAIZ AMARILLO	8,38	2,42	10,36	1,26

Se puede observar que las materias primas cuyos resultados se muestran en las Tablas 1 y 2 cuentan con un porcentaje nutrimental adecuado que favorece el desarrollo de formulaciones para las aves de engorda. Los valores obtenidos permitieron formular un alimento para pollos de engorda aprovechando la aportación de energía por carbohidratos y grasas al metabolismo; proteína para construir tejidos blandos, estructurales y de protección.

Resultados	Formulación
Humedad	10.01
Proteína	13.45
Fibra cruda	2.25
Grasas	3.87
E.L.N	68.70

Tabla 3. Resultados bromatológicos finales en alimento con *Tenebrio molitor*.

En la Tabla 3 se presentan los resultados bromatológicos de la formulación con *Tenebrio molitor*. El valor valores de humedad es menor lo cual es benéfico ya que evita el crecimiento de microorganismos que alteren directamente el contenido nutrimental del producto y formar metabolitos secundarios que afecten la salud de las aves y afecten la vida de anaquel.

Otro valor obtenido fue la fibra cruda, que representa la porción no digerible de los alimentos y, por consiguiente, mientras mayor sea su concentración, menor será su valor alimenticio, aunque es importante establecer que los procesos en el tracto digestivo para aves en esta etapa el valor está entre 4-5 % para el buen funcionamiento del intestino. El valor de fibra cruda es medio lo que indica que favorece los procesos de absorción en el tracto digestivo.

El alimento presenta 68.70% de Extracto Libre de Nitrógeno (E.L.N.), el cual está constituido por carbohidratos digeribles y vitaminas que no se han identificado.

CONCLUSIONES

La formulación obtenida contiene los valores nutricionales que benefician al crecimiento de las aves de engorda. En base a los resultados obtenidos se observó un porcentaje proteico bajo el cual puede aumentar su valor si se modifica la formulación duplicando la cantidad, es decir adicionar a la formulación un 44% de *Tenebrio molitor*. Por otra parte el porcentaje de fibra cruda se considera adecuado para favorecer la absorción de las fracciones nutrimentales de aves de engorda.

BIBLIOGRAFÍA

1. Araujo G.G. (2001). Los insectos una materia prima promisorio contra la hambruna.
2. Balcázar, C. (2003). Caracterización química y nutricional del insecto *Tenebrio molitor* en estado larval. México. Universidad de Sonora.
3. Anónimo (1996). Diario Oficial de la Federación. En NOM-022-ZOO-1995 (pág. 4). México. D.F.
4. Anónimo (2000). Diario Oficial de la Federación. En NOM-061-ZOO-1998. (pág. 8). México. D.F.

IDENTIFICACIÓN DE ANTIGENOS INMUNODOMINANTES PARA EL DIAGNOSTICO DE LA TUBERCULOSIS BOVINA.

Susana Flores-Villalva^a, E. Rodríguez^a, Y. Rubio^b, F. Milián^b, G. Canto^b.

^aCENID Fisiología, INIFAP. Ajuchitlán, Colón, Qro., flores.susana@inifap.gob.mx,

^bFacultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro, Qro.

RESUMEN

La tuberculosis bovina es una enfermedad infecto-contagiosa caracterizada por la formación de lesiones granulomatosas y que tiene como agente etiológico a *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*). Esta es una de las enfermedades más importantes a nivel mundial, al ocasionar graves pérdidas económicas y representar una barrera para la comercialización del ganado; además de constituir una amenaza para la salud humana. El control de la tuberculosis por *M. bovis* en el humano se basa en el control de la enfermedad en los animales, es por eso que se realiza una intensiva campaña para su erradicación. Sin embargo, el PPD actualmente utilizado contiene una mezcla de proteínas pobremente definida, muchas de las cuales se encuentran presentes en micobacterias ambientales, por lo que en algunos casos no permite una diferenciación entre animales infectados con *M. bovis* y animales sensibilizados por micobacterias ambientales, es por esto que es necesario la identificación de antígenos inmunodominantes que permitan un diagnóstico diferencial de la tuberculosis bovina. Las herramientas proteómicas y genómicas han permitido identificar a los antígenos ESAT-6 y CFP-10, se encuentran presentes en todas las cepas del complejo *M. tuberculosis* y están ausentes en todas las subcepas de *M. bovis* BCG, en el complejo *M. avium* y en la mayoría de las cepas ambientales. A través del análisis comparativo del transcriptoma se definió otro grupo de antígenos idóneos para el diagnóstico diferencial, dentro del cual se encuentra la proteína Rv3615c, este último antígeno identifica animales infectados que no responden al cóctel proteico ESAT-6 - CFP10, por lo que esta proteína complementa el cóctel proteico e incrementa la sensibilidad del mismo, sin afectar la especificidad. En este trabajo de revisión bibliográfica analizaremos los métodos y herramientas biotecnológicas que han permitido la identificación de antígenos inmunodominantes y describiremos a los principales candidatos para reemplazar el uso del PPD.

INTRODUCCIÓN

La tuberculosis bovina es una enfermedad infecto-contagiosa caracterizada por la formación de lesiones granulomatosas y que tiene como agente etiológico a *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*). Esta es una de las enfermedades más importantes de la industria pecuaria además de constituir una amenaza para la salud humana. Para el control de la enfermedad se realiza una intensiva campaña para su erradicación y evitar a la población humana el riesgo de contraer la enfermedad, mejorar la productividad de los bovinos y evitar pérdidas económicas por el decomiso de canales o partes de los mismos por la presencia de lesiones; así como para evitar restricciones a la movilización de los animales, tanto nacional como internacionalmente. La infección en el ganado es usualmente crónica y los animales infectados pueden eliminar al bacilo mucho antes de exhibir

algún signo clínico, por lo que es importante detectar al ganado infectado en etapas tempranas de la infección (1).

No obstante; la tuberculosis bovina sigue manifestándose como un problema en el ganado debido a diversos factores, entre ellos las limitaciones en la especificidad y sensibilidad del derivado proteico purificado (PPD, *por sus siglas en inglés*) y la incapacidad de detectar todos los animales infectados con *M. bovis* lo que contribuye significativamente a la persistencia de la enfermedad (2). Así mismo, en algunos países la presencia de reservorios de vida silvestre contribuye significativamente a la re-infección del ganado; por lo que la vacunación contra la infección por *M. bovis* representa una opción para reducir la incidencia de la tuberculosis bovina (3). Las estrategias de vacunación en el ganado contra la tuberculosis bovina se basan en el uso de la cepa *M. bovis* BCG; sin embargo, el uso de esta cepa vacunal limita el diagnóstico de la enfermedad ya que una gran proporción de animales vacunados desarrollan reactividad hacia el PPD bovino usado en las pruebas diagnósticas, por lo que es necesario la identificación de antígenos que permitan una clara diferenciación entre animales enfermos, sanos o vacunados.

DIAGNÓSTICO DE LA TUBERCULOSIS BOVINA

La identificación y eliminación temprana de los animales enfermos es la base de los programas de erradicación de la tuberculosis alrededor del mundo. La tuberculinización es la prueba ante-mortem autorizada por la Organización Mundial en Sanidad Animal; sin embargo, debido a la variabilidad en la sensibilidad y especificidad de la prueba de la tuberculina se ha propuesto la utilización de pruebas alternativas o complementarias, una de ellas es la prueba de IFN- γ que fue desarrollada en Australia (4) y es comercializada bajo el nombre de Bovigam® (Prionics, Switzerland). Esta prueba está autorizada para su uso en la Unión Europea, Estados Unidos y Australia (2, 5). La prueba de IFN- γ presenta una sensibilidad y especificidad superior a la prueba de la tuberculina (87.7% y 99.2%, respectivamente) (6); además, el uso de ambas pruebas en paralelo mejora sustancialmente la sensibilidad (95.2%) (7). Tiene la ventaja que el criterio para definir a un animal como positivo puede ser ajustado para mejorar la sensibilidad o especificidad de la prueba. Pero sobre todo, detecta a una importante proporción de animales que escapan a la detección con la prueba intradérmica porque permite la identificación temprana de animales infectados desde los 14 días (8). Esta prueba ha sido evaluada en muchos países, apoyando la idea que puede ser considerada como una prueba diagnóstica complementaria a la prueba de la tuberculina. Sin embargo, debido a su alto costo, comparado con la prueba de la tuberculina, la necesidad de personal y equipo especializado, y a las limitaciones logísticas es difícil su aplicabilidad. Además, una de las principales desventajas del PPD actualmente utilizado es que muchos de los antígenos son encontrados en especies micobacterianas ambientales, lo que ocasiona problemas con la especificidad de las pruebas (9) por lo que no siempre es posible discriminar entre el ganado con tuberculosis y ganado expuesto a micobacterias ambientales, lo que representa un serio problema en lugares donde es común la co-infección con *M. avium* subsp. *paratuberculosis* ya que en algunos animales, la respuesta hacia el PPD aviar puede ser igual o mayor que hacia el PPD bovino (10).

IDENTIFICACIÓN DE ANTÍGENOS INMUNODOMINANTES

Los antígenos de secreción presentes en los filtrados de cultivo de *M. tuberculosis* y *M. bovis* han sido el objetivo de varios estudios ya que estas proteínas son consideradas altamente antigénicas debido a que están fácilmente disponibles para el procesamiento por las células presentadoras de antígenos y su presentación a las células T (11,12). Las principales contribuciones al estudio de las proteínas de secreción se logró con una variante de *M. tuberculosis* H37Rv que no sufre el proceso normal de autólisis por lo que los filtrados de cultivo de esta cepa están enriquecidos en proteínas de secreción y tienen solamente pequeñas cantidades de proteínas intracelulares, haciéndola ideal para el estudio y caracterización de este importante grupo de proteínas (13). De esta forma, fue

posible identificar a las proteínas del complejo antígeno 85 (Ag85A, Ag85B, Ag85C y MPT51 o Ag85D), MPT63, MPT64, MPT32, MTC28, MPT53 DnaK, PstS1, LpqI, α -cristalina, ESAT-6, CFP10 y otras proteínas miembros de la familia ESAT-6 como los principales componentes del filtrado de cultivo (11,14). A continuación, se sintetizaron las proteínas recombinantes de las fracciones con proteínas de bajo peso molecular (6-10 kDa) y del complejo antígeno 85 (Ag85), estas fueron evaluadas en células de pacientes con tuberculosis, donde se observó que las proteínas Ag85 y ESAT-6 fueron los principales estimuladores de las células T en ensayos de proliferación y producción de IFN- γ (15).

Posteriormente, con el objetivo de identificar diferencias genéticas entre *M. bovis*, *M. tuberculosis* y *M. bovis* BCG se realizaron análisis de hibridación genómica substractiva, lo cual permitió identificar tres regiones de diferencia RD1, RD2 y RD3, que están eliminadas en *M. bovis* BCG (16). La región RD1 tiene una longitud de 9.5 kilobases y abarca 9 genes Rv3871- Rv3879c, se encuentra presente en todas las cepas del complejo *M. tuberculosis* y está ausente en todas las subcepas del BCG, en el complejo *M. avium* y en la mayoría de las cepas ambientales, por lo que es considerada la región más importante descrita por Mahairas *et al.* (16) para el desarrollo de nuevas vacunas y reactivos para el diagnóstico de la tuberculosis (Andersen *et al.* 2000) (17). La falta de esta región es uno de los motivos de la atenuación de *M. bovis* BCG, ya que forma parte de un sistema de secreción especializado llamado ESX-1 o sistema de secreción VII (18), cuya función es la de permitir la secreción de las proteínas de bajo peso molecular llamadas ESAT-6 ó esxA (por su nombre en inglés, early secreted antigenic target of 6 kDa) y CFP-10 (por su nombre en inglés, culture filtrate protein of 10-kDa), también conocida como esxB ó MTS-10. De la misma forma este sistema es necesario para la secreción de las proteínas EspA (Rv3616c), EspB (Rv3881) y EspR (Rv3849) (19).

Diversos estudios indican que la utilización de estas proteínas recombinantes o péptidos sintéticos de las mismas en la prueba de IFN- γ , mejoran la especificidad de la prueba, y permiten la diferenciación entre animales infectados con *M. bovis* o sensibilizados a la exposición por otras micobacterias como *M. avium* subsp. *paratuberculosis* o animales vacunados con *M. bovis* BCG (20). El mayor beneficio se observa en áreas de baja prevalencia, donde el uso de los PPDs en la prueba de IFN- γ ha demostrado tener una pobre especificidad (21).

El primer reporte del uso de ESAT-6 intradérmicamente en bovinos menciona que con 400 μ g de proteína es posible diferenciar entre animales infectados con *M. bovis* o sensibilizados por la exposición a micobacterias ambientales (22). Posteriormente, se reportó que con el uso de un lipopéptido sintético era posible inducir reacciones intradérmicas con 100 μ g de esta proteína (23). Sin embargo, actualmente se sabe que el uso de las proteínas ESAT-6 y CFP-10 en forma de un cóctel proteico son capaces de inducir respuestas intradérmicas en animales naturalmente infectados con *M. bovis* con 10 μ g de proteína (24).

A través del análisis comparativo del transcriptoma, se analizó si la variación en la expresión génica entre *M. bovis* BCG y *M. bovis* pudiera definir otro grupo de antígenos idóneos para el diagnóstico diferencial, enumerando genes que se expresaran en *M. bovis* pero no, o solo marginalmente, en *M. bovis* BCG. Ejemplos de estos antígenos incluyen a MPB70 y MPB83, ambos son expresados constitutivamente en altos niveles en *M. bovis*, pero son expresados a muy bajos niveles en cepas *M. bovis* BCG que han perdido la región RD2 como la cepa BCG Pasteur y Danesa (25).

Este análisis mostró 133 genes que fueron altamente expresados en *M. tuberculosis* y en *M. bovis*, se examinaron aquellos genes que tuvieran una alta homología (>98%) entre *M. tuberculosis* y los ortólogos en *M. bovis* y que tuvieran una identidad menor al 30% con genes de *M. avium*. De este grupo de genes se eliminaron aquellos que hubieran sido previamente estudiados y así finalmente se evaluaron 14 genes en las pruebas inmunológicas. De estos candidatos, 7 fallaron en inducir una producción de IFN- γ en animales infectados, 4 estimularon respuestas en animales sanos sugiriendo una reactividad cruzada con micobacterias ambientales. De los restantes 3 candidatos,

solo la proteína Rv3615c fue reconocida por una mayor proporción de animales infectados y no indujo respuestas en animales sanos o vacunados con *M. bovis* BCG. Además, la proteína Rv3615c identifica animales infectados que no responden al cóctel proteico ESAT-6 - CFP10, por lo que esta proteína complementa el cóctel proteico e incrementa la sensibilidad del mismo, sin afectar la especificidad (26). La adición de Rv3615c al cóctel proteico formado por las proteínas ESAT-6, CFP10 y MPB83 mejora la respuesta intradérmica en animales infectados y no induce respuestas en animales vacunados con *M. bovis* BCG (27). El gen Rv3615c está localizado en un operon que contiene 5 genes (Rv3616c-Rv3612c) Los componentes de este operon forman parte del sistema de secreción tipo VII en las micobacterias, la secreción de Rv3615c es dependiente de la presencia intacta de la región ESX-1 codificada en la región RD1 por lo que la falla en la respuesta en animales vacunados con *M. bovis* BCG no se debe a una diversidad en la secuencia como ocurre con las proteínas ESAT-6 y CFP10, sino por una pérdida de función asociada a la eliminación de la región RD1 (28).

El análisis in silico del secretoma de *M. tuberculosis* permitió identificar proteínas que potencialmente son activamente secretadas por la micobacteria y que inducen respuestas inmunes en el bovino. La evaluación de los péptidos de 119 proteínas permitió la identificación de un grupo de proteínas que no son reconocidas por animales vacunados con BCG. La inclusión del antígeno Rv3020c al cóctel proteico formado por las proteínas ESAT-6, CFP-10 y Rv3615c mejora la sensibilidad del mismo sin afectar la especificidad en animales vacunados con *M. bovis* BCG (Jones et al. 2012) (29).

CONCLUSIONES

La búsqueda de antígenos que permitan un diagnóstico diferencial de la infección por *M. bovis* continúa. El uso de herramientas biotecnológicas como las aquí descritas ha permitido la identificación de las proteínas ESAT-6, CFP-10, Rv3615c y Rv3020c, las cuales son los principales candidatos para reemplazar el uso del PPD en el diagnóstico de la tuberculosis bovina.

BIBLIOGRAFÍA

1. Pollock JM, McNair J, Bassett H, Cassidy JP, Costello E, Aggerbeck H, Rosenkrands I, Andersen P. 2003. Specific delayed-type hypersensitivity responses to ESAT-6 identify tuberculosis-infected cattle. *J Clin Microbiol.* 41:1856–60.
2. Gormley E, Doyle MB, Fitzsimons T, McGill K, Collins JD. 2006. Diagnosis of *Mycobacterium bovis* infection in cattle by use of the gamma-interferon (Bovigam®) assay. *Vet Microbiol.* 112:171–179
3. Waters WR, Palmer M V, Buddle BM, Vordermeier HM. 2012. Bovine tuberculosis vaccine research : Historical perspectives and recent advances. *Vaccine.* 30:2611– 2622.
4. Rothel JS, Jones SL, Corner LA, Cox JC, Wood PR. 1990. A sandwich enzyme immunoassay for bovine interferon-gamma and its use for the detection of tuberculosis in cattle. *Aust Vet J.* 67:134–137.
5. De la Rúa-Domenech R, Goodchild a T, Vordermeier HM, Hewinson RG, Christiansen KH, Clifton-Hadley RS. 2006. Ante mortem diagnosis of tuberculosis in cattle: a review of the tuberculin tests, gamma-interferon assay and other ancillary diagnostic techniques. *Res Vet Sci.* 81:190–210.
6. Schiller I, Vordermeier MH, Waters WR, Whelan AO, Coad M, Gormley E, Buddle BM, Palmer M, Thacker T, McNair J, et al. 2010. Bovine tuberculosis: Effect of the tuberculin skin test on in vitro interferon gamma responses. *Vet Immunol Immunopathol.* 136:1–11.
7. Monaghan M, Quinn PJ, Kelly AP, McGill K, McMurray C, O’Crowley K, Bassett HF, Costello E, Quigley F, Rothel JS, et al. 1997. A pilot trial to evaluate the γ - interferon assay

- for the detection of *Mycobacterium bovis* infected cattle under Irish conditions. *Ir Vet J.* 50:229–232
8. Neill SD, Cassidy J, Hanna J, Mackie DP, Pollock M, Clements A, Walton E, Bryson DG. 1994. Detection of *Mycobacterium bovis* infection in skin test-negative cattle with an assay for bovine interferon-gamma. *Vet Rec.* 135:134–135.
 9. Yang H, Kruh-Garcia NA, Dobos KM. 2012. Purified Protein Derivatives of Tuberculin - Past, Present, and Future. *fe.* 66:273–280.
 10. Aagaard C, Govaerts M, Meikle V, Gutiérrez-Pabello JA, McNair J, Andersen P, Suárez-Güemes F, Pollock J, Espitia C, Cataldi A. 2010. Detection of bovine tuberculosis in herds with different disease prevalence and influence of paratuberculosis infection on PPDB and ESAT-6/CFP10 specificity. *Prev Vet Med.* 96:161–9.
 11. Målen H, Berven FS, Fladmark KE, Wiker HG. 2007. Comprehensive analysis of exported proteins from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Proteomics.* 7:1702– 18.
 12. Zheng J, Ren X, Wei C, Yang J, Hu Y, Liu L, Xu X, Wang J, Jin Q. 2013. Analysis of the secretome and identification of novel constituents from culture filtrate of bacillus Calmette-Guerin using high-resolution mass spectrometry. *Mol Cell Proteomics.* 12:2081–95.
 13. Fukui Y, Hirai T, Uchida T, Yoneda M. 1965. Extracellular proteins of tubercle bacilli. IV. Alpha and beta antigens as major extracellular protein products and as cellular components of a strain (H37Rv) of *Mycobacterium tuberculosis*. *Biken J.* 8:189–199.
 14. Nagai S, Wiker HG, Harboe M, Kinomoto M. 1991. Isolation and partial characterization of major protein antigens in the culture fluid of *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun.* 59:372–382.
 15. Mustafa AS, Amoudy HA, Wiker HG, Abal AT, Ravn P, Oftung F, Andersen P. 1998. Comparison of antigen-specific T-cell responses of tuberculosis patients using complex or single antigens of *Mycobacterium tuberculosis*. *Scand J Immunol.* 48:535–43.
 16. Mahairas GG, Sabo PJ, Hickey MJ, Singh DC, Stover CK. 1996. Molecular analysis of genetic differences between *Mycobacterium bovis* BCG and virulent *M. bovis*. *J Bacteriol.* 178:1274–82.
 17. Andersen P, Munk ME, Pollock JM, Doherty TM. 2000. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. *356:1099–1104.*
 18. Simeone R, Bottal D, Brosch R. 2009. ESX/type VII secretion systems and their role in host-pathogen interaction. *Curr Opin Microbiol.* 12:4–10.
 19. Garces A, Atmakuri K, Chase MR, Woodworth JS, Krastins B, Rothchild AC, Ramsdell TL, Lopez MF, Behar SM, Sarracino DA, Fortune SM. 2010. EspA acts as a critical mediator of ESX1-dependent virulence in *Mycobacterium tuberculosis* by affecting bacterial cell wall integrity. *PLoS Pathog.* 6:e1000957.
 20. Aagaard C, Govaerts M, Meikle V, Vallecillo AJ, McNair J, Cataldi A, Espitia C, Andersen P, Pollock JM. 2006. Optimizing Antigen Cocktails for Detection of *Mycobacterium bovis* in Herds with Different Prevalences of Bovine Tuberculosis : ESAT6-CFP10 Mixture Shows Optimal Sensitivity and Specificity. *J Clin Microbiol.* 44:4326–4335.
 21. Palmer M V, Waters WR. 2006. Advances in bovine tuberculosis diagnosis and pathogenesis : What policy makers need to know. *Vet Microbiol.* 112:181–190.
 22. Pollock JM, McNair J, Bassett H, Cassidy JP, Costello E, Aggerbeck H, Rosenkrands I, Andersen P. 2003. Specific delayed-type hypersensitivity responses to ESAT-6 identify tuberculosis-infected cattle. *J Clin Microbiol.* 41:1856–60.
 23. Whelan AO, Hope JC, Howard CJ, Clifford D, Hewinson RG, Vordermeier HM. 2003. Modulation of the bovine delayed-type hypersensitivity responses to defined mycobacterial antigens by a synthetic bacterial lipopeptide. *Infect Immun.* 71:6420–5.}
 24. Flores-Villalva S, Suárez-Güemes F, Espitia C, Whelan a O, Vordermeier M, Gutiérrez-Pabello J a. 2012. Specificity of the tuberculin skin test is modified by use of a protein

- cocktail containing ESAT-6 and CFP-10 in cattle naturally infected with *Mycobacterium bovis*. Clin Vaccine Immunol. 19:797–803.
25. Sidders B, Withers M, Kendall SL, Bacon J, Waddell SJ, Hinds J, Golby P, Movahedzadeh F, Cox RA, Frita R, et al. 2007. Quantification of global transcription patterns in prokaryotes using spotted microarrays. Genome Biol. 8:R265.
 26. Sidders B, Pirson C, Hogarth PJ, Hewinson RG, Stoker NG, Vordermeier HM, Ewer K. 2008. Screening of highly expressed mycobacterial genes identifies Rv3615c as a useful differential diagnostic antigen for the *Mycobacterium tuberculosis* complex. Infect Immun. 76:3932–9.
 27. Whelan AO, Clifford D, Upadhyay B, Breadon EL, McNair J, Hewinson GR, Vordermeier MH. 2010. Development of a skin test for bovine tuberculosis for differentiating infected from vaccinated animals. J Clin Microbiol. 48:3176–81.
 28. Abdallah AM, Gey van Pittius NC, Champion P a D, Cox J, Luirink J, Vandenbroucke-Grauls CMJE, Appelmelk BJ, Bitter W. 2007. Type VII secretion-- mycobacteria show the way. Nat Rev Microbiol. 5:883–91.
 29. Jones GJ, Whelan A, Clifford D, Coad M, Vordermeier HM. 2012. Improved skin test for differential diagnosis of bovine tuberculosis by the addition of Rv3020c- derived peptides. Clin Vaccine Immunol. 19:620–2.

EFFECTO DE LA COCCIÓN TÉRMICO-ALCALINA SOBRE LA OXIDACIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS EN LA TORTILLA DE MAÍZ

María Rosario Yuliana Negrete ¹, Berenice Yahuaca Juárez ¹, Consuelo de Jesús Cortés Penagos¹

¹ Facultad de Químico Farmacobiología, UMSNH, ynegrete_hdez@outlook.com

RESUMEN

La tortilla se obtiene a través de la nixtamalización del maíz, que consiste en una cocción térmico-alcalina, seguida de un reposo y finalmente la molienda del nixtamal para la obtención de masa, a partir de la cual se troquelan las tortillas y se cuecen a 230°C. Las condiciones de nixtamalización, particularmente la concentración de hidróxido de calcio y el tiempo de reposo, así como la temperatura para la cocción de la tortilla, pueden alterar compuestos nutricionales del maíz, como los ácidos grasos poliinsaturados, modificando su estabilidad oxidativa. El objetivo fue determinar el grado de oxidación del aceite de tortilla de maíz nixtamalizado. El material de estudio fue maíz variedad Sinaloa. El maíz se nixtamalizó utilizando una concentración de Ca(OH)₂ al 1 %, con un reposo de 12 horas, el nixtamal se molió para la obtención de masa y elaboración de tortillas. A las tortillas deshidratadas y molidas se les extrajo el aceite con Hexano por extracción directa. Al aceite se le determinó el índice de peróxidos e índice de yodo. El índice de yodo que se refiere a la presencia de dobles ligaduras asociadas a los ácidos grasos poliinsaturados refiere un valor de 98.982 g yodo/ 100g aceite, valor comparable al aceite control (98.47g yodo/100g aceite). Lo anterior, sugiere que la nixtamalización a dichas condiciones no afecta la estabilidad oxidativa del aceite, sin embargo el índice de peróxidos del aceite de tortilla fue de 36.4 meq O₂/kg de aceite, lo que representa un incremento en la formación de peróxidos con respecto al aceite control (16.4 meq O₂/kg aceite). Por lo anterior, se concluye que la temperatura de cocción de la tortilla altera la estabilidad oxidativa del aceite dando hasta esta etapa del proceso inicio a la oxidación de los ácidos grasos insaturados.

INTRODUCCIÓN

El maíz en México, es consumido principalmente en tortillas y considerado como un alimento básico en la dieta diaria, siendo recomendado en una dieta equilibrada por su aporte de entre 25 y 35 % de materia grasa entre otros nutrientes. Por tanto, debido a su alto consumo puede ser un vehículo de ingesta que contribuya con un porcentaje de Ácidos Grasos Esenciales, particularmente Acido linoleico (omega 6). La tecnología para producir tortilla de maíz nixtamalizado (según el proceso tradicional) es muy antigua, dicho proceso involucra como primera etapa un cocimiento térmico-alcalino del maíz denominado Nixtamalización. La nixtamalización se inicia con el cocimiento alcalino de los granos de maíz, seguido de la molienda del grano cocido (nixtamal) el cual es molido en un molino de piedras para posterior obtención de la masa. La técnica de cocimiento alcalino, tienen como finalidad suavizar el grano de maíz además de que mejora la calidad nutricional en masa con respecto al grano crudo, esto siendo resultado de los cambios químicos ocurridos en los nutrientes, los cuales a su vez son resultado de pérdidas de ciertas estructuras físicas del grano así como también de compuestos químicos inducidos por factores que influyen en el proceso de nixtamalización como son el tiempo y temperatura de cocimiento. Los principales cambios que

ocurren durante la nixtamalización del maíz se dan en la región del pericarpio, endospermo y germen. En el presente trabajo se destacan los cambios que ocurren respecto al contenido lipídico. Estudios sobre la disminución del contenido de Ácidos Grasos por efecto de la nixtamalización se han concentrado en la pérdida de estos, ya sea por la deposición de las partes físicas del grano de maíz (germen) en el nejayote o por emulsificación de los lípidos. Sin embargo, otro factor importante radica en la pérdida por oxidación de los Ácidos Grasos alterando no solo la cantidad sino la calidad nutricional. Además de tomar en cuenta la elaboración de tortilla, la cual es expuesta a una temperatura de 230-270°C la cual tiene participación en dicho proceso oxidativo. La oxidación lipídica es un proceso sumamente complejo que implica numerosas reacciones que dan a lugar a una gran variedad de cambios físicos y químicos. La naturaleza y extensión de estos cambios se ven influenciadas por un gran número de variables como luz, temperatura, aire, pH, etc. Dicho proceso conocido como auto-oxidación es resultado de la exposición al oxígeno que genera en las grasas compuestos desagradables desde el punto de vista sensorial e incluso tóxicos. Por tanto, es un proceso irreversible de oxidación de los Ácidos Grasos Insaturados, el cual es realizado en tres etapas conocidas como: iniciación, propagación y terminación. Por otro lado la estabilidad oxidativa puede definirse como la resistencia que presentan los lípidos a la oxidación. Por lo anterior, el objetivo fue determinar el grado de oxidación del aceite de tortilla de maíz nixtamalizado.

PARTE EXPERIMENTAL

En el estudio se empleó el uso del maíz variedad Sinaloa, de endospermo duro. Se le efectuó una caracterización al grano como químico proximal, peso hectolítrico siguiendo la técnica 55-10 de la AACC (1983) y tamaño de grano. La elaboración del nixtamal se realizó tradicionalmente con una cocción en solución alcalina de 1% de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ en una proporción de agua 2:1 con respecto al maíz. La cocción se realizó a 95°C por 45 min en base a la dureza mencionada del endospermo, el reposo utilizado fue por 12 horas y una serie de lavados posteriores para retirar el pericarpio. La molienda se efectuó en un molino de piedra para obtención de la masa, la cual fue utilizada en la elaboración de tortilla de la forma tradicional, tan solo con especificaciones de peso para la estandarización de resultados, el cual fue 28 g de masa por tortilla con una cocción en comal a 230°C con cocción de 17 seg en la capa delgada, 55 s para capa gruesa y 17 s para correcto inflado. La tortilla una vez elaborada se llevó a secado solar y posterior molienda. En cuanto a la extracción del aceite, se efectuó por método directo en frío con el solvente utilizado en este caso Hexano, la cual duro 24 horas para una posterior filtración y recuperación del solvente por medio de un Rota vapor. Obtenido el aceite, se le midieron; el índice de yodo por el Método de Hanus (AOAC, 1990), el índice de acidez Método oficial de la AOAC (1990) y el índice de peróxidos Método oficial de la AOAC (1990).

RESULTADOS

Como resultados de la caracterización del grano, respecto al peso hectolitro, el resultado fue 74.60g/ml el cual es un indicador de la dureza del grano de maíz y de la composición del endospermo, indicando un grano funcional para elaboración de tortilla. El tamaño del grano si bien es una variable definida por el genotipo y medio ambiente, con ciertos niveles de tamaño máximo y mínimo dentro de cada raza en función de ello el resultado obtenido fue Ancho= 3mm, Largo= 12mm, Espesor= 9mm, lo cual indica un maíz apto para elaboración de tortilla. Con relación al índice de acidez, fue de 0,03 % comparados con un aceite control obtenido de un maíz sin procesar de 0,015 lo que indica un aumento en los ácidos grasos libres presentes en la tortilla, como resultado de la hidrólisis del enlace éster de los triacilglicéridos siendo liberados así ácidos grasos los cuales presentan mayor sensibilidad a la auto-oxidación que la molécula enlazada en su forma esterificada. El índice de yodo obtenido de la muestra lipídica fue de 98,982 g yodo/100g de grasa comparado con un aceite control de 98,47 g yodo/100g, lo cual indica un cambio irrelevante en las instauraciones

presentes en la muestra, ya que el índice de yodo es una medida del grado de instauración de los componentes de una grasa.

El índice de peróxidos resultado fue de 36,4 meq O₂/Kg aceite con respecto al aceite control de 16,4 meq O₂/Kg, lo cual indica un aumento importante en la presencia de peróxidos en la muestra, y siendo estos intermediarios de las reacciones de oxidación dará como resultado un aumento progresivo de la degradación de los peróxidos con lo que el índice descenderá.

CONCLUSIÓN

La estabilidad oxidativa de las tortillas analizadas se encuentran en una etapa primaria del proceso de oxidación de sus ácidos grasos principalmente los insaturados demostrado ello a través de la alta presencia de peróxidos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Carmona, I. M. (Mayo de 2011). Implementación, evaluación y aplicación de metodos analíticos para el análisis de lipidos en el ladiser de quimica organica de la FCQ. Orizaba, Veracruz, México.
2. CastilloV.K.C., O. M. (2009). Efecto de la concentración de hidróxido de calcio y tiempo de coccion del grano de maiz (*Zea mays L.*) nixtamalizado, sobre las características fisicoquímicas y reologicas del nixtamal. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, vol. 59.
3. Dergal, S. B. (1999). *Quimica de los alimentos*. México: Perason Educación.
4. Juárez, B. Y. (Diciembre de 2012). Optimización del proceso térmico alcalino en función de las transformaciones inducidas en los lípidos del maiz evaluadas con técnias ópticas y fisicoquímicas. Santiago de Querétaro, Querétaro, México.

ADICIÓN DE VERMICOMPOSTA Y SU EFECTO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA RADICULAR, VEGETATIVA Y DE GRANO EN MAÍZ

J. C. González Cortés.¹, A. Ávila Bautista¹, M. Alcalá de Jesús.¹, C. A. Ramírez Mandujano.¹, M. E. Granados García.²

¹Facultad de biología Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo,
jcgonzalezcortes@yahoo.com.mx,

²INIRENA- Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

RESUMEN

La agricultura convencional no considera la conservación del recurso suelo y ha provocado una disminución de la fertilidad del mismo. El uso de agroquímicos provoca contaminación, acidificación y eliminación de la biota edáfica, incidiendo en el desequilibrio de los agroecosistemas. Existe la necesidad de adoptar alternativas que mantengan la capacidad productiva de la tierra. La vermicomposta, contiene material orgánico que libera compuestos nutritivos y estimulantes para el crecimiento radicular que puede a su vez mejorar el desarrollo vegetativo.

El objetivo fue evaluar el efecto de la vermicomposta sobre el crecimiento de la raíz y su efecto en la producción de biomasa de tallo, hojas y producción de grano en el cultivo del maíz de temporal. El proyecto se realizó en la zona agrícola de la comunidad de Joyas de la Huerta con un diseño de bloques al azar con 6 tratamientos y 6 repeticiones. Los tratamientos fueron: Tratamiento absoluto, Tratamiento convencional (fertilización química), Vermicomposta con 4, 8, 16 y 32 ton/ha combinada con dosis reducidas de fertilizante químico. Se tomaron 3 plantas por cuadrante para evaluar la biomasa seca de raíz, partes aéreas y del grano. Los resultados obtenidos mostraron diferencias significativas entre los tratamientos respecto al control absoluto para: crecimiento radical, tallos, hojas, mazorca y grano de maíz. Los tratamientos de vermicomposta mostraron un mayor incremento en biomasa seca en comparación con el tratamiento químico, siendo más notable en el tratamiento con 32 ton/ha de vermicomposta.

En base a los resultados obtenidos se sugiere, que la vermicomposta mejora las condiciones del suelo permitiendo un mayor crecimiento radical que a su vez se refleja en un incremento en la producción de biomasa en maíz, tanto de grano para el consumo humano como de la parte vegetativa para alimento de ganado en época seca.

INTRODUCCIÓN

El suelo es un elemento muy indispensable para la vida; en la actualidad es lamentable que aun no se le dé la importancia que amerita y nos mostramos indiferentes ante su degradación física y/o química. Siendo todo esto una gran amenaza para la humanidad, los Edafólogos se enfrentan al desafío que conlleva el preservar e incrementar la calidad del suelo.

El suelo de nuestro planeta está formado por componentes bióticos y abióticos, tan importante como el aire y el agua. Gracias a sus propiedades físicas, químicas y biológicas, propicia la productividad y el equilibrio ambiental en términos de sostenibilidad. Un suelo productivo proporciona los elementos nutritivos en las formas y cantidades necesarias para lograr un buen crecimiento y rendimiento de las plantas. En este sentido es importante promover el desarrollo vegetal a través del uso de microelementos, micorrizas o abonos orgánicos que mejoren la fertilidad potencial y la fertilidad activa del suelo. Así, el suelo es uno de los recursos naturales más

importantes para el ser humano, de ahí que conservarlo y mejorar su productividad se ha convertido en una necesidad urgente, para que a través de él y de prácticas agrícolas adecuadas se establezca un equilibrio entre la producción de alimentos y el acelerado crecimiento demográfico (Porta *et al.*, 1994).

ANTECEDENTES

Los beneficios de la fertilización orgánica han sido demostrados en algunos estudios controlados superando a la fertilización inorgánica al lograr mayor contenido de nutrientes en la planta. En repollo, lechuga, espinaca y zanahoria fertilizados con composta se obtuvieron niveles significativamente altos de ácido ascórbico, β -caroteno y niveles bajos de nitratos (Lester, 2006).

Astudillo (2011) determinó que las fuentes de materia orgánica mejoran la estructura y fertilidad de las semillas, capacidad de retención de agua y circulación del aire en el suelo, favoreciendo el crecimiento y desarrollo de las plantas y el rendimiento. Los tratamientos con Bocashi 2000 Kg/ha; Humus 2000 Kg/ha y Biabor 1000 Kg/ha, mostraron incrementos en las variables altura de planta, inserción de mazorcas; floración masculina, días a la cosecha; longitud de mazorcas; peso de 100 gramos y rendimiento de grano; difiriendo estadísticamente con los tratamientos químicos carentes de materia orgánica; en cultivo del maíz híbrido 'Trueno NB – 7473'. Lo anterior se atribuye a que el material orgánico tiene la capacidad de mejorar la fertilidad y estructura del suelo, activar su capacidad biológica y mejorar la productividad de los cultivos. El mayor el rendimiento de grano se obtuvo con el tratamiento Bocashi 2000 Kg/ha con un incremento de 3.81% respecto al testigo químico. Así mismo, los tratamientos humus 2000 Kg/ha y Biabor 1000 Kg/ha mostraron incrementos menores con 1.71% y 1.38% respectivamente.

González (2013) realizó un estudio sobre el efecto de la vermicomposta en el crecimiento y producción del maíz de temporal utilizando tres dosis de vermicomposta: 4, 8 y 16 ton/ha. Menciona que la producción de biomasa en hoja y tallo fue más favorecida por la aplicación de vermicomposta en comparación con el convencional. Encontró que la producción de biomasa de fruto (mazorca) fue mayor con el tratamiento convencional obteniendo 153.61 g/tratamiento.

MATERIALES Y METODOS

Área de estudio

El área de estudio se ubica en la localidad de Joya de la Huerta del municipio de Morelia, en el cuadrante 101° 19' 13.86" y 101° 18' 17.15" longitud Oeste y entre los paralelos 19° 37' 18.83" y 19° 37' 20.42" de latitud Norte, con una altitud de 2115 msnm. (INEGI, 2007). La parcela de 30x30 m, es representativo de la zona agrícola. Se delimitó con rafia y se dividió en 36 cuadrantes 5X5 m. El diseño experimental fue el de bloques al azar con 6 repeticiones. Los tratamientos fueron: tratamiento absoluto (TA), tratamiento químico (TC), vermicomposta con dosificaciones de 4, 8, 16 y 32 ton/ha. Se realizó un muestreo de suelo antes de la siembra de cultivo para la determinación de propiedades físicas y químicas.

Trabajo de campo

El corte de las plantas se realizó a los 4 meses y medio después de la siembra del maíz (noviembre). En cada cuadrante se cortaron 3 plantas para determinar la biomasa en cada una de sus partes, el corte del tallo se realizó a nivel del suelo, para después separar hojas y fruto. Al momento que se iban desprendiendo cada una de sus partes, se depositaban en bolsas de papel y se pesaron con una balanza granataria. Finalmente se hizo la extracción de las raíces con la ayuda de una pala, eliminando suelo adherido a las mismas y depositadas en pequeñas bolsas de plástico.

Trabajo de laboratorio

Las muestras vegetales se trasladaron al Laboratorio de Edafología de la Facultad de Biología. Las raíces se lavaron para limpiar la mayor cantidad de suelo que contenía y se pesaron de nuevo. Las Muestras vegetales se colocaron en una secadora botánica a 40 ± 1 °C. El tiempo de secado de cada una de estas partes de la planta varió de acuerdo a la cantidad de humedad que contenían.

Análisis estadísticos

Se obtuvieron las medias para cada tratamiento y su varianza para la elaboración de los gráficos correspondientes.

RESULTADOS

Biomasa de las hojas

Se observaron mayores cantidades de biomasa en todos los tratamientos en comparación con el tratamiento absoluto (TA), los tratamientos de vermicomposta TV16 y TV32 compitieron con el tratamiento convencional (TC), donde obtuvo una media de 26.97 g/planta. De los 4 tratamientos con vermicomposta el TV-32 es el que produjo la mayor cantidad de biomasa con un promedio de 33.94 g/planta. (Figura 1)

Biomasa de tallos

Para los tallos la producción de biomasa fue mayor en todos los tratamientos en relación con el tratamiento absoluto (TA). El tratamiento Absoluto (TA) obtuvo una media de 80.63 g/planta quedado por debajo de todos los tratamientos de vermicomposta donde TV32 produjo mayor cantidad de biomasa con promedio de 131.07 g/planta. (Figura 2).

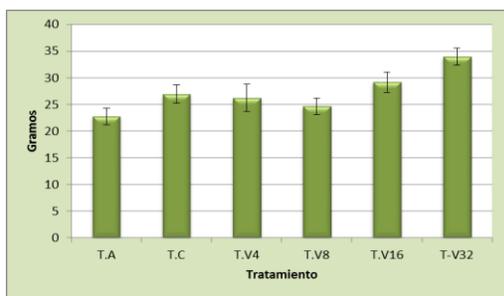


Figura 1. Biomasa de las hojas

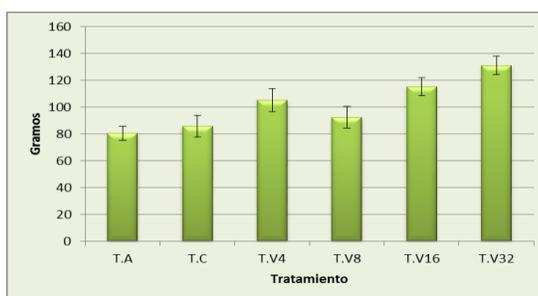


Figura 2. Biomasa de tallos.

Biomasa de grano

Para la variable de la producción de grano, los tratamientos TA y TV4, fueron los más bajos en producción con promedios de producción de 113.92 y 112.39 g/mazorca. Mientras que los tratamientos TV16 y TV32 tuvieron una mayor producción de grano con un valor de 152.42 g/mazorca y 152.74 g/mazorca respectivamente.

Biomasa de la raíz

En el caso de la producción de biomasa de raíz todos los tratamientos fueron superiores al tratamiento absoluto (TA) se obtuvo una media de 21.22 g/planta pero TV32 obtuvo 33.48 g/planta, así superando a los 3 tratamientos de vermicomposta y dejando abajo a TC y TA. (Figura. 4).

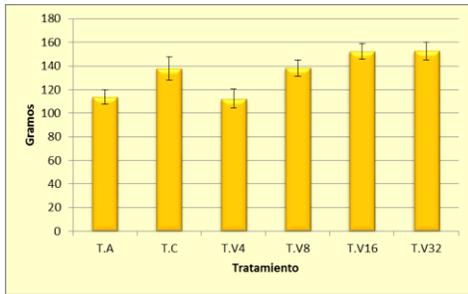


Figura 3. Biomasa de grano.

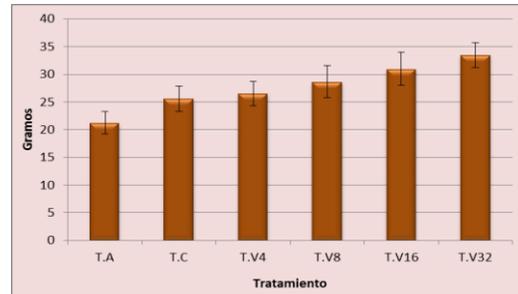


Figura 4. Biomasa de la raíz.

Biomasa de mazorca

Con respecto a la producción de biomasa de mazorca (incluyó granos de maíz, olote y hoja). Todos los tratamientos superaron al tratamiento absoluto (TA), en el caso de los cuatro tratamientos de vermicomposta, el TV4 fue inferior a los demás tratamientos de vermicomposta obteniendo una media de 122.37 gramos por planta, donde el tratamiento TV16 obtuvo una media de 171.53 gramos por mazorca, superando a TV8 y TC. Sin embargo TV32 fue superior a todos los tratamientos ya que tuvo una producción de 171.78 gramos por mazorca. (Figura 5).

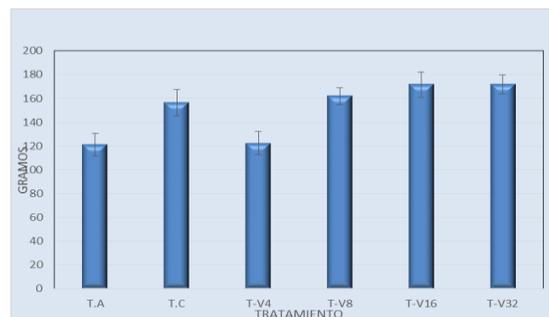


Figura 5. Biomasa de mazorca.

CONCLUSIONES

Los datos estadísticos nos demuestran que la incorporación de vermicomposta es factible ya que los tratamientos favorecieron la producción de biomasa en comparación del tratamiento convencional (TC). Para la mayoría de los casos se observa que el tratamiento TC fue superado por el tratamiento TV32 y los demás compitiendo con el TC, siendo siempre menor el tratamiento absoluto (TA); excepto para el caso del grano de maíz en el que se observa que el tratamiento TV4 tiene una media por debajo del tratamiento TA. Es claro que el tratamiento orgánico mejoró la producción de biomasa. Por tanto, es viable reducir el uso de fertilizantes químicos e incrementar el uso de los fertilizantes orgánicos.

BIBLIOGRAFIA

1. Astudillo C. D. R. 2011. Efectos de la incorporación de materia orgánica al suelo, sobre el comportamiento agronómico del cultivo de maíz (*Zea mays L.*), en la zona de Babahoyo". Tesis de Grado. Facultad de Ciencias Agropecuarias.UTB. Babahoyo - Los Ríos- Ecuador. 61 pp.
2. González R. F. 2013. Efecto de la vermicomposta sobre el crecimiento y producción del cultivo de maíz de temporal Tesis de licenciatura. Fac. De Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán, México. 75 pp.
3. INEGI-CONAGUA. 2007. Mapa de la Red Hidrográfica Digital de México, Escala 1:250 000. México.
4. Lester, G.E. 2006. Environmental regulation of human health nutrients (ascorbic acid, β -carotene, and folic acid) in fruits and vegetables. *Hort Science* 41:59-64
5. Porta C.J., López A. R. M. y Roquero C.1994. Edafología para la Agricultura y el Medio Ambiente. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. 807 pp.

CARACTERIZACIÓN DE HIDROXIAPATITA A PARTIR DE MATERIALES SINTÉTICOS CON APLICACIONES ÓSEAS

Karen Cantero^a, Joel Gutiérrez^a, Claudia Nuño^a, M.T. Fuentes^b.

^aUniversidad Tecnológica Fidel Velázquez, México., monsekio@outlook.com

^bCentro de Investigación e Innovación Tecnológica -IPN

RESUMEN

Un biomaterial es aquel material que ha sido diseñado para actuar con sistemas biológicos con el fin de reemplazar un tejido, órgano o función del cuerpo. Los biomateriales se dividen según su origen: biológicos (tejidos blandos y duros), sintéticos (poliméricos, cerámicos y compositos) y según su respuesta biológica. El hueso como tejido está constituido, en parte, por sustancia inorgánica (fosfato cálcico cristalizado, hidroxiapatita). esta última es la que obtuvo sintéticamente con una morfología que nos ayude a recubrir mayor superficie, a menor coste y mayor asequibilidad. la hidroxiapatita es un biocristal, que pertenece a la familia de las apatitas, con gran importancia actual, debida a su excelente biocompatibilidad. Está formada por sales calcio, fosforo e hidrógeno. Su fórmula $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$.

En el presente estudio se caracterizó la síntesis química de hidroxiapatita (HA); y de manera específica, del efecto de diferentes rutas de síntesis en las características estructurales, morfología y tamaño de partícula. Esta caracterización se llevó a cabo empleando las técnicas de difracción de Rayos X (DRX), espectroscopia infrarroja (IR) y microscopia electrónica de barrido (MEB).

El tamaño de la cristalita fue calculado mediante la ecuación de Scherrer tomando el ancho medio (FWHM) las reflexiones (002), (300) y (222), Espectroscopia de rayos infrarrojos (FTIR) (medición de tamaño), Espectrómetro Bruker Equinox 55 rango 4000 a 400 cm^{-1} , la morfología de las partículas obtenidas tienen formas irregulares con tamaños en el orden nanométrico, con estos tamaños pueden ser empleados en sustitutos óseos, sin embargo en el presente estudio solo se obtuvo la caracterización del material base.

INTRODUCCIÓN

La hidroxiapatita puede ser sintetizada de diversas formas, siendo el método más frecuente el de precipitación, con el que se obtienen cantidades apreciables del material de forma económica y fácilmente reproducible. Sin embargo, se deben controlar el pH, la temperatura de reacción, el tiempo de la reacción, la atmósfera de tratamiento y la relación Ca/P de los reactivos, para impedir la aparición de otras fases como los orto fosfatos, Se ha reportado que dichas partículas de HAp en escala nanométrica pueden ser sintéticamente estables en fluidos biológicos y que las geometrías esféricas evitan procesos inflamatorios así como una mejor integración ósea.

La estructura y la composición química de las apatitas pueden presentar numerosas sustituciones incluyendo cationes metálicos tales como K^+ , Na^+ , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} y Zn^{2+} entre otros en la posición del Ca^{2+} y complejos aniónicos como AsO_4^{3-} , SO_4^{2-} , CO_3^{2-} o SiO_4^{4-} reemplazando al PO_4^{3-} en la red cristalina. Dependiendo del método de síntesis (síntesis en fase sólida, por vía de sol-gel, por procesos hidrotérmicos, con irradiación de microondas, o fusión de precursores sólidos a altas temperaturas, etc.) utilizado para la elaboración de HAp sintética se generaran distintos tipos de vacancias y tamaño de cristal.

En el sistema del fosfato de calcio la HAp es un excelente material bioactivo conveniente para el prótesis duro del tejido fino.

En el presente trabajo se elaboraron varias muestras a partir de distintas síntesis para diferir en los resultados finales y comprobar cual nos ayudará a conseguir una vía más económica y rápida en su elaboración y posterior aplicación en cirugías del cuerpo humano.

TEORÍA

La hidroxiapatita es un biocristal perteneciente a la familia de las apatitas de gran importancia actual debido a su excelente biocompatibilidad. Está formada por sales calcio, fosfatos e hidróxidos. Su fórmula es $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$. La podemos encontrar en el cuerpo humano (fig. 1) en dientes y huesos; en naturaleza, las apatitas las podemos encontrar como rocas sedimentarias y metamórficas. Presenta una estructura hexagonal, con el grupo espacial P63/m. Las apatitas sintéticas presentan una resistencia mecánica pobre.

El mineral apatita ($Ca_{10}(PO_4)_6 X_2$ donde X puede ser F-,OH- o Cl-), es el fosfato de calcio natural más abundante en la superficie terrestre y la principal fuente de fósforo por lo que es de gran importancia en distintos campos de investigación así como en la industria.

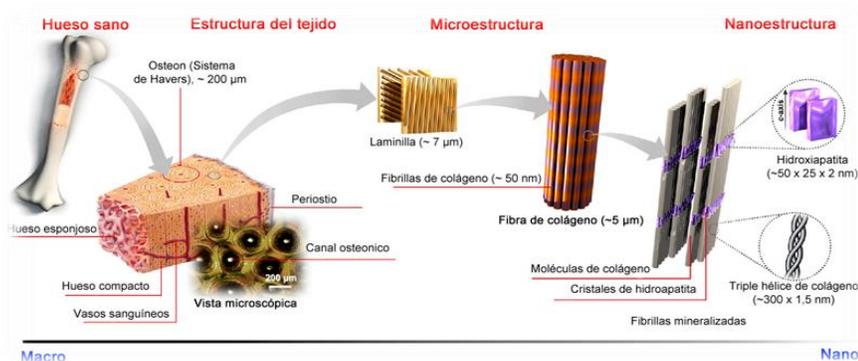


Figura 1. Visualización de la HAp a diferentes escalas

La HAP de diferentes orígenes (bovina, porcina, sintética, coralina, etc.) no se puede utilizar en todo tipo de restauración, ni en las diferentes edades, ya que cambia la respuesta fisiológica ante la dinámica de respuesta en los diferentes sujetos.

Composición química

La composición de la HAp depende del tipo de síntesis con la que se obtenga. Esta sustancia contiene aproximadamente 1% de la proteína del colágeno y 4% de aminoácidos (como hidroxipolina, glicina y ácido glutámico), el calcio abarca un 35% de la matriz.

ELEMENTO	MUESTRA 650°C		MUESTRA 1050°C	
	%PESO DESPUÉS	%PESO ATÓMICO	%PESO DESPUÉS	%PESO ATÓMICO
O	56.95	75.10	27.22	68.27
P	14.52	9.89	9.36	11.97
CA	28.53	15.02	19.97	19.77

Tabla 1. La mayoría de resultados en síntesis citadas muestran este tipo de porcentajes en composición química de las muestras.

Estructura cristalina: Hexagonal, Con el grupo espacial P63/m

CELDA	A=.36 Å	B=9.36Å	C=6.86Å
-------	---------	---------	---------

Tabla 2. Se muestran los grados y tamaños de la celda unitaria de la HAp.

En la tabla 1 se exhibe el modelo de Pauling. Mostrándose las propiedades de la estructura cristalina, mediante el software.

Propiedades físicas y químicas

Los fosfatos de Ca tienen gran resistencia a la compresión. Es indicada para rellenos (fig. 2) óseos debido a que son muy frágiles a la flexión, torsión, tensión y cizallamiento.



Figura 2. Relleno en hueso con HAp

La hidroxiapatita es un compuesto cristalino (integrado por tres moléculas de fosfato de calcio y por una molécula de hidróxido de calcio) proveniente de la apatita. Este fosfato cristaliza en el sistema hexagonal, y su carácter iónico la convierte en una cerámica dura, con un punto de fusión mayor a 1500 °C. La relación ideal Ca/P es 10:6 y sus propiedades mecánicas varían de acuerdo con el proceso de manufactura.

La estructura osteoconductiva que permite ser invadida por el tejido conectivo proveniente del hueso circundante, su uso es frecuente en el desarrollo de materiales biomédicos para la implantación de prótesis e injertos óseos.

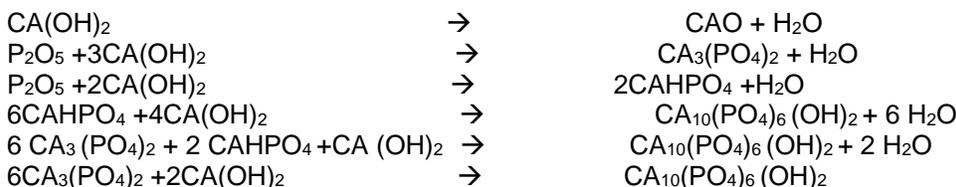


Tabla 3. Formulas y procesos químicos típicos en síntesis de HAp
Aplicación tecnológica.

La aplicación de las nanopartículas de hidroxiapatita, al ser un elemento natural del diente, su alta integración con el esmalte dental y sus características nano, remineraliza la superficie de la dentina y reduce progresivamente el número de túbulos permeables. Se integran y restauran la densidad mineral de la superficie del esmalte desmineralizado, proporcionando una superficie más lisa y brillante y, en consecuencia, unos dientes más blancos.

Las nanopartículas de hidroxiapatita resultan muy eficaces en el tratamiento de la hipersensibilidad y el blanqueamiento dental.

La HAP es un cristal biocompatible que ha incursionado en la biomedicina como restaurador, se utiliza en ortopedia, odontología (fig. 3) y en oftalmología. En ortopedia ha dado excelentes resultados la hidroxiapatita bovina, porcina, y humana.

La HAP coralina es útil en oftalmología. También da buenos resultados en prótesis oculares con movimientos conjugados.



Figura 3. Implante de HAp

Se debe tomar en cuenta la extensión de la reparación, ya que en huesos como la cabeza del fémur da mejores resultados en la reparación con metales como el acero o el titanio.

MÉTODOS DE CARACTERIZACIÓN

- Difracción de rayos X (Esta técnica de caracterización que se va utilizar ayudara a observar la estructura cristalina que se obtenga de la síntesis, ya que se debe de obtener una forma cristalina hexagonal). El tamaño de la cristalita ah sido, en trabajos ajenos a éste escrito, calculado mediante la ecuación de Scherrer tomando el ancho medio (FWHM) las reflexiones (002), (300) y (222).
- Espectroscopia de rayos infrarrojos (FTIR). Esta técnica nos brindara información de los grupos funcionales presentes en el compuesto.
- Espectrómetro Bruker Equinox 55 rango 4000 a 400 cm^{-1}
- Microanálisis ED. Para determinar los elementos contenidos en los materiales.
- Microscopia electrónica de barrido (SEM). Esta técnica nos brindara el tamaño de los poros en la hidroxiapatita.
Morfología de las partículas: microscopio de barrido Cambrige- Leica 440
- Microscopía electrónica de transmisión (MET)

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales

Matraz Erlenmeyer
 Vidrios de reloj
 Espátula
 Bolsas Zip
 Crisoles de porcelana
 Piseta con agua destilada
 Vasos de precipitados
 Pipetas desechables

Equipo

Estufa
 Mufla
 Cuba ultrasónica
 Balanza analítica

Reactivos

P_2O_5
 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
 NaOH
 H_3PO_4

Obtención 1

Se lleva a cabo a partir de soluciones de nitrato de calcio y ácido fosfórico, ajustando el pH entre 8.5-9, con una relación Ca/P de 3 a 1. Muestra una ventaja hacia el método convencional gracias a la sonicación.

Se preparó una mezcla de 20g de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ en 100ml de H_2O destilada con H_3PO_4 en 56ml de H_2O destilada. Se mantiene cuidado en la relación 3/1

Se filtró la solución en bomba de vacío y se lavó la muestra antes del tratamiento térmico en la estufa a 85°C durante 24h y en la mufla a 200°C por 10h.

- En la síntesis 1 se agita mecánicamente con calor

Se añade NaOH para cuidar un pH de 8~9

- En la síntesis 2 se emplea asistencia ultrasónica por 1h

Se añade NH_4OH para cuidar un pH de 8~9

Obtención 2

Se lleva a cabo mediante la técnica de coprecipitación a partir de dos soluciones 0.5M de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ y 0.5M de P_2O_5 en agua destilada, manteniendo la temperatura constante a $80 \pm 2^\circ\text{C}$, agitación continua y manteniendo el pH de la solución entre 8 y 9 mediante la adición de una solución de NH_4OH . Los polvos obtenidos se filtran, lavados y secados a 85°C por 24 hrs. En esta ruta, la agitación se lleva a cabo mecánicamente a 400 rpm para una primera síntesis y agitación ultrasónica para una segunda síntesis. En lo que respecta a la cristalización hidrotérmica: El proceso se llevó a cabo en un horno mufla a 175°C por 15 horas.

Para el caso de la síntesis de sol-gel los precursores de Ca y P fueron disueltos en una solución de agua-etanol en una proporción de uno a uno en volumen, se agitó mecánicamente durante 20 hrs a una temperatura de 80°C y atmósfera inerte. El gel obtenido se calcina a 650°C durante 4 hrs. En cada una de las síntesis mantener relación estequiométrica de $\text{Ca}/\text{P} = 1.67 \text{ mol}$.

- En la síntesis 1 se agita mecánicamente con calor

Se añade NaOH para cuidar un pH de 8~9

- En la síntesis 2 se emplea asistencia ultrasónica por 1h

Se añade NH_4OH para cuidar un pH de 8~9

Finalmente las muestras se muelen en un mortero ágata y se colocan en un vial para su posterior caracterización.

MÉTODOS DE EMPLEADOS PARA CARACTERIZAR LAS MUESTRAS DE POLVO

- Difracción de rayos X
- Espectroscopia infrarroja (IR)
- Microscopia electrónica de barrido (MEB).

3. CONCLUSIONES

Hasta el momento se obtuvieron polvos blancos en las síntesis por precipitación, las síntesis por sol-gel obtuvieron un tono grisáceo, se piensa que se quemó la muestra.

Las diferentes morfologías pueden atribuirse a los diversos fenómenos involucrados durante las diferentes etapas en las rutas de síntesis.

Después de realizar la caracterización mediante la técnica de difracción de rayos X, los resultados mostrados confirman la síntesis de hidroxiapatita (HA). Los resultados presentados muestran las difracciones correspondientes a planos cristalográficos de la estructura hexagonal, formando como resultado una mezcla de fases de los compuestos Ca, PO₄ y (OH)₂,

El método de síntesis resulto ser un proceso novedoso y poco económico en comparación a otros tipos de síntesis.

Cada muestra a caracterizada a tardado 2 horas en el difractómetro de rayos x.

Los resultados muestran que el tratamiento fue insuficiente para lograr una transformación total tanto del hidróxido de calcio como del óxido, se cree que la temperatura no fue suficientemente alta y que el tiempo de combustión o el tiempo de sonicación no fue suficiente en el caso de las muestras que se trataron con ultrasonido.

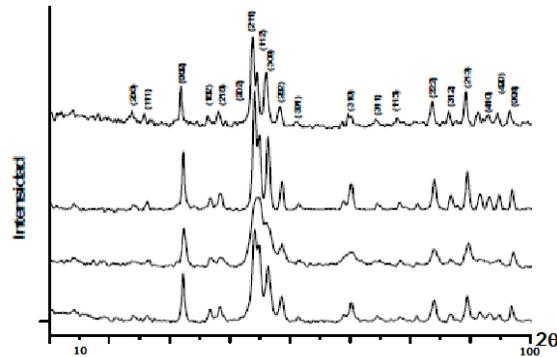


Figura 4. Picos característicos de la HAp

Las imágenes obtenidas por microscopía electrónica de barrido se presentan a continuación.

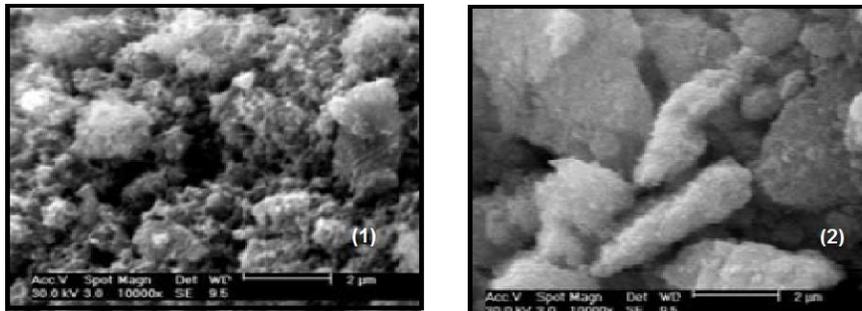


Figura 5. imágenes obtenidas por microscopia electrónica de barrido, muestra con poco cuidado térmico (1) y muestra asistida con ultrasonido (2).

Podemos observar que las morfologías difieren gracias a la síntesis que se llevo a cabo (ejemplo: los materiales obtenidos por precipitación con agitación mecánica y precipitación con agitación ultrasónica se constituyen agregados irregulares de partículas o cristales), notándose la diferencia obtenida en los materiales cristalizados hidrotérmicamente y sintetizados por sol-gel.

Los autores expresamos nuestra gratitud a la Maestra en Ciencias Adriana Tejada Cruz y al Ingeniero Carlos Novelo por su valiosa ayuda en el análisis de DRX y TEM, respectivamente.

Bibliografía

1. Oliva, F. (2007). *Modificación de superficies de óxido de titanio con hidroxiapatita e hidroxiapatitas sustituidas. Ponencia presentada en el Congreso Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Córdoba Argentina.*
2. Juan, V. N. (s.f.). SINTESIS DE HIDROXIAPATITA POR COMBUSTION A PARTIR DE CARBONATO DE CALCIO OBTENIDO DE CASCARAS DE HUEVO DE GALLINA. *Revista Colombiana de Materiales* , 97-102.
3. Luis-Ortega, N.-V. (s.f.). *Visualización cristalográfica de la hidroxiapatita*. Recuperado el 05 de febrero de 2015
4. Maria Elena, H. L. *Disco de poco espesor de hidroxiapatita cuba sinterizada como sistema de liberación de fármacos*. Brasil.
5. Martinez-Valencia, E.-P. (diciembre de 2008). *Caracterización estructural y morfológica d la hidroxiapatita nanoestructurada, estudio comparativo de diferentes métodos de síntesis*. Recuperado el 29 de enero de 2015, de Sociedad Mexicana de Ciencia y Tecnología de Superficies y Materiales.
6. Méndez, J. F. (2011). V Latin American Congress on Biomedical Engineering. Habana, Cuba: Springer.
7. Minguez, J. P. (2008). *ESTUDIO NANOMÉTRICO DE BIOCOMPATIBILIDAD Y ADHESIVIDAD CELULAR A BIOMATERIALES UTILIZADOS EN CIRUGÍA ORTOPÉDICA*. USC.
8. Pérez, O. S. (2005). *Implante óseo de la espuma de hidroxiapatita 09 Estudio experimental en conejos*. Recuperado el 28 de diciembre de 2014, de Potología.
9. Rodríguez Merchán, O. A. (2000). *Recambios protésicos de cadera*. Madrid, España: EDITORIAL MÉDICA PANAMERICANA.

USO DE RAYOS X EN EL ANÁLISIS DE CALIDAD DE SEMILLA DE PINOS

Nadia Isabel Galarza-López, Avendaño López A.N. Montes Ortega, R.N. y Maria Cruz Arriaga Ruíz

Universidad de Guadalajara.

Centro Universitario de la Ciencias Biológicas y Agropecuarias Universidad de Guadalajara,
aavedan@cucba.udg.mx

RESUMEN

La creciente necesidad de contar con semillas forestales en calidad y en cantidad suficientes, obliga a realizar estudios que nos acerquen al conocimiento productivo de semillas de especies forestales de interés. Muchas veces los problemas en los Bancos de Germoplasma Forestal es la poca cantidad de semillas con la que se cuenta para realizar los análisis correspondientes, por lo que la utilización de la técnica de Rayos X al ser una prueba no destructiva se puede dar una clara idea de la calidad de la semilla aunque la muestra sea poca.

Los Bancos de Germoplasma Forestal (BGF) son una estrategia de rescate, conservación, restauración y manejo forestal, cuentan con personal técnico y los equipos necesarios para realizar recolección, beneficio, almacenamiento y conservación de semilla forestal, al igual que los análisis de sus características físicas y biológicas; son operados y supervisados por la (Comisión Nacional Forestal (CONAFOR). Una de las tareas de un BGF es la inspección y custodia de la calidad de la semilla durante su almacenamiento. El uso de los rayos X (imágenes radiográficas digitalizadas) es un método no destructivo para la semilla.. El objetivo del trabajo fue definir variables morfológicas de semilla de *Pinus devoniana* y *Pinus douglasiana* que correlacionan con calidad de semilla. Utilizando cuatro de 100 semillas, se trabajó con lotes de semilla depositados en el Banco de Germoplasma de la CONAFOR. Analizadas en un equipo de rayos X FAXITRON MX-20. Se cuantificó radio y espesor de semilla y embrión, llenado de cavidad embrionaria y presencia de daño físico. Realizando análisis de germinación y vigor. El análisis de correlación de Pearson determinó una correlación altamente significativa (.80), entre el porcentaje de llenado y la germinación; así como en el análisis de viabilidad con tetrazolio, se encontró además una relación directa entre el tamaño de la semilla y el vigor de la misma. Conclusiones: Este estudio es la base para la obtención de un modelo que basado en las características morfológicas estime su potencial fisiológico de la semilla. Evitando en lo posible técnicas destructivas y merma de semilla. Además permite una mejor selección de las semillas, que serán almacenadas en los bancos de germoplasma.

INTRODUCCIÓN

La creciente necesidad de contar con semillas forestales en calidad y en cantidad suficientes, obliga a realizar estudios que nos acerquen al conocimiento productivo de semillas de especies

forestales de interés. Muchas veces los problemas en los Bancos de Germoplasma Forestal es la poca cantidad de semillas con la que se cuenta para realizar los análisis correspondientes, por lo que la utilización de la técnica de Rayos X al ser una prueba no destructiva se puede dar una clara idea de la calidad de la semilla aunque la muestra sea poca.

TEORÍA

La evaluación de la calidad de semilla comercial de especies forestales es de gran utilidad, puesto que permite tomar decisiones importantes respecto a la estimación del costo de la semilla, época y densidad de siembra así como predicción del establecimiento de plántulas en campo. Conocer el estado físico y fisiológico de la semilla puede tener un impacto significativo en el manejo de la misma durante el almacenamiento pero también consideraciones económicas importantes, tanto para el comprador como para el productor de semillas (McDonald, 1994).

Dentro de los ensayos de laboratorio para evaluar la calidad de semilla, la prueba estándar de germinación realizada bajo condiciones controladas ha sido el criterio de calidad rutinariamente utilizado. Sin embargo, en algunos casos la información obtenida en dicha prueba resulta de poca utilidad con relación al potencial, ya que aún cuando es una medida directa de la condición fisiológica, no es lo suficientemente informativa (FAO, 1983).

PARTE EXPERIMENTAL

El trabajo se realizó en el laboratorio de análisis de semillas del Banco de Germoplasma “El Centinela” de la Comisión Nacional Forestal (CONAFOR). De igual manera en el Laboratorio de Análisis de Semillas del Instituto de Ciencia y Tecnología (INCITES) del departamento de Producción Agrícola del CUCBA.

Se utilizó una muestra de un lote de semillas de *Pinus devoniana* Lindl que se encuentra almacenada en el Banco de Germoplasma de la CONAFOR, procedente de los rodales de producción de Atemajac de Brizuela, Jalisco, cosechado en el año 2011.



Figura 1. Ensayo de germinación entre papel

Fue necesaria la realización de pruebas con diferente número de semillas para establecer la calibración adecuada del equipo y el tamaño óptimo de muestra; En pruebas posteriores de placas radiográficas se determinó tiempo de exposición y distancia entre el tubo emisor de rayos X y la semilla con una calibración automática que varía entre 1.3 a 2.7 permitió una visualización más nítida de las estructuras internas de la semilla, como puede observarse en la figura 9. De este modo se estableció que de acuerdo a las características del equipo utilizado, el tamaño de muestra por placa o imagen es de 10 semillas.

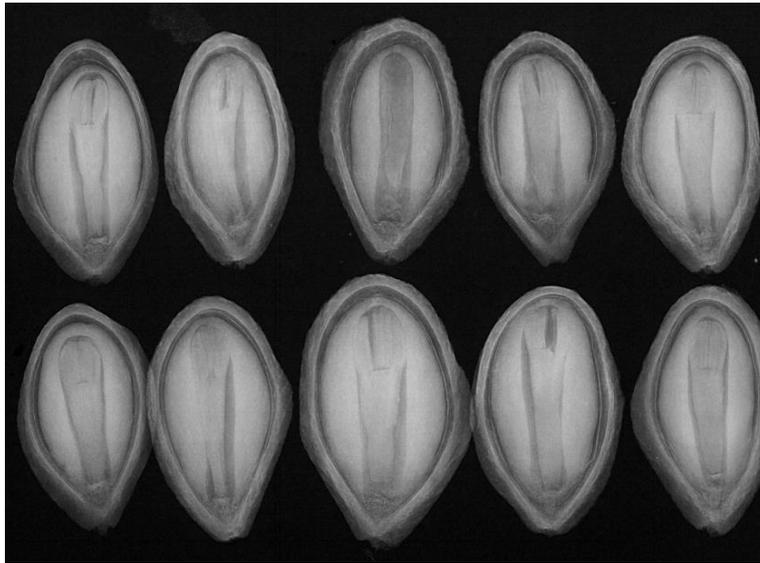


Figura 2. Imagen de placa de rayos X de semilla de *Pinus devoniana* Lidl utilizando una muestra de 10 semillas y a una distancia de y velocidad de 20 segundos.

De acuerdo a ISTA (1996), la regulación del equipo de rayos-X depende de varios factores como la espesura, la densidad, y composición de la semilla. Cicero, Van der Heijden, Van der Burg y Bino (1998), trabajando con semillas de maíz del cultivar AG510, utilizaron el equipo FAXITRON A modelo 43805 N, encontrando que el tiempo de 5 minutos y la intensidad de radiación de 15 kvp, eran las ideales para visualizar daños internos. Van der Burg et al. (1994) y Oliveira (2000)

encontraron respectivamente para tomate (*Lycopersicon esculentum* L.) y cañanfístula (*Peltophorum dubium* (Sprengel) Tamberl.) intensidades de 10 kvp por 5 minutos y 25 kvp por 60 segundos como tiempos más indicados para la verificación de la estructura interna de las semillas.

Ensayo de análisis de viabilidad con Tetrazolio.

La prueba de viabilidad es una determinación que permite conocer de manera relativamente rápida el potencial de germinación que puede contener un lote de

semillas, considerándose en:

Semillas vivas, aquellas semillas teñidas de rojo carmín en todas sus estructuras a) Endospermo, b) Embrión, formado por c) Hojas cotiledonarias, d) Hipocotilo y e) Radícula (figura 5).

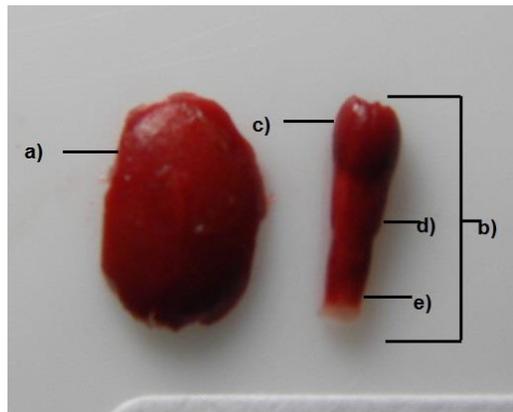


Figura 3. Semilla teñida de rojo carmín totalmente en todas sus estructuras.

Semillas dudosas, aquellas teñidas parcialmente en más del 75%, y las que se logran teñir débilmente (figura 6).



Figura 4. Semilla teñida solo en un 75% tanto en endospermo como embrión.

Semillas infértiles, no viables o muertas, aquellas semillas que presentan sus embriones o endospermos blancos, teñidas en no más de 75%, aquellas que presentan su radícula blanca, o que presentan bandas (figura 7).

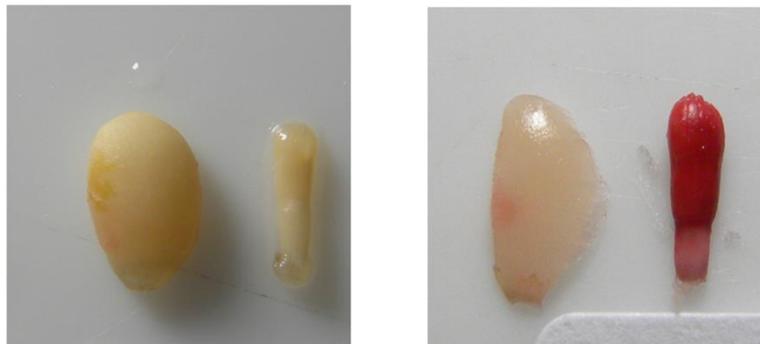


Figura 5. Semillas muertas, donde nos muestran estructuras sin teñir completamente o solamente una de ellas pero con tonalidades débiles.

Clasificación de semillas basada en imágenes de Rayos –X.

	<p>Semilla visualmente sana, con estructuras internas definidas. Cubierta sin daño o fisuras Endospermo íntegro no presenta zonas oscuras, vítreas o fisuras Cavidad embrionaria con más del 90% llena por el eje embrionario Embrión adherido la zona basal del endospermo, sin fisuras o alteraciones. Hojas cotiledonarias visibles, sin fisuras, no presentan zonas oscuras o vítreas.</p> <p>Desarrolla Plántula normal Semilla viable en análisis con tetrazolio</p>
	<p>Semilla con estructuras internas superficialmente visibles. Endospermo con zonas oscuras, opacas vítreas o fisuras Embrión adherido la zona basal del endospermo, sin fisuras o alteraciones, sin embargo el eje cotiledonario es vítreo. Hojas cotiledonarias pueden o no ser legibles presentan zonas oscuras o vítreas.</p> <p>Desarrolla plántulas anormales o de bajo vigor Semilla No viable en análisis con tetrazolio</p>
	<p>Semilla sin daño externo</p> <p>Endospermo con zonas oscuras, opacas vítreas o fisuras Embrión vítreo, con zonas oscuras, sin estructuras de eje embrionario definidas Hojas cotiledonarias ilegibles presentan zonas oscuras o vítreas. Visible deterioro por daño físico</p> <p>No germina Semilla No viable en análisis con tetrazolio</p>
	<p>Semilla con daño externo difícilmente visible Barrenada por plaga</p> <p>Semilla vana</p>

CONCLUSIONES

Es posible la evaluación de la calidad de semilla *Pinus devoniana* y *Pinus douglasiana* ya que fue posible establecer un patrón de variables que correlacionan con calidad de semilla

BIBLIOGRAFÍA

Aníbal Niembro R. 1986, Mecanismos de reproducción sexual en pinos. Editorial Limosa S.A. de C.V. Balderas 95 México D.F.

Moreno S. R. et al. 1994. Semillas forestales. CENID-COMEF. Viveros de Coyoacán México D.F. pág. 59- 60- 61

D. A. Perry, 1981. Manual de métodos de ensayos de vigor. Instituto Nacional De Semillas y Plantas De Vivero, José Abascal, 56-28003, MADRID, ESPAÑA.

Red mexicana de Germoplasma Forestal, 1999. Recolección de frutos y semillas forestales, SEMARNAP, PRONARE; pág. 7- 9-10- 11.

Stephen H. S. Burton V. B. 1980. Ecología Forestal, Primera edición en español A.G.T Editor S.A Progreso 2022 planta alta México D.F. pág. 342- 343- 347- 348- 349- 350.

EFFECTO INSECTICIDA DE ENZIMAS HIDROLÍTICAS DE *Beauveria bassiana* OBTENIDAS DE FMS SOBRE *Cyclocephala lunulata* Burm. BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO

Lluvia de Carolina Sánchez Pérez¹ Silvia Rodríguez Navarro², Juan Esteban Barranco Florido³, Victor Hugo Marín Cruz⁴ y Constanza Abigail Almeida Alcántara⁵

¹Doctorado en Ciencias Agropecuarias, ² Departamento de Producción Agrícola y Animal, ³ Depto. de Sistemas Biológicos, ⁴ Doctorado en Ciencias Agropecuarias y ⁵ Departamento de Producción Agrícola y Animal, UAM-Xochimilco. abbigail_12@hotmail.com

RESUMEN

Para control biológico de plagas; las enzimas hidrolíticas producidas por los hongos entomopatógenos son importantes, ya que facilitan la degradación del tegumento del insecto; llegar al hemocele y establecer la infección. La FMS permite la producción industrial de enzimas a gran escala, con altas concentraciones de productos. Se evaluó el efecto del extracto enzimático producido en fermentación sólida para el control de *C. lunulata*. La FMS consistió en medio mineral, caparazón de camarón y bagazo de caña; se inoculó con 1×10^7 esporas/mL de *Beauveria bassiana*. Los conidios y extracto enzimático se obtuvieron de 15 y 5 días de respectivamente, los extractos fueron analizados para determinar la actividad enzimática de: lipasas, proteasas, endo y exo quitinasas. Las larvas de *Cyclocephala lunulata* se aclimataron a 25 ± 2 °C; 50 % de HR. Se evaluó: mortalidad (%) y tiempo de muerte (días de muerte); mediante seis tratamientos con un diseño completo al azar, cada larva fue inyectada con 10 μ l, las evaluaciones cada 24 hrs. por 10 días. En el extracto enzimático se observó la actividad de lipasas, proteasas (Pr1) y (Pr2), endo y exo quitinasas. Los resultados comprueban la actividad insecticida de las enzimas con una diferencia significativa de ($P < 0.05$). El extracto enzimático y extracto más conidios con 100% de mortalidad en 1.2 días; control positivo con extracto con 100% de mortalidad en 1.7 días. Conidios con 100% en 2.8, control positivo 60% en 8.8 días. Se demostró la actividad insecticida del extracto enzimático solo y en conjunto con conidios en poblaciones de *C. lunulata*.

INTRODUCCIÓN

Las enzimas hidrolíticas: proteasas, quitinasas y lipasas son producidas por los hongos entomopatógenos (HE), degradan el tegumento del insecto, poseen un elevado potencial para el biocontrol de plagas, (1). La virulencia está en función del equipamiento enzimático que el hongo posea (2). El sistema de fermentación sólida permite la producción industrial de enzimas a gran

escala (3), con altas concentraciones de productos (4). Las enzimas son consideradas una de las alternativas más eficientes y de bajo impacto ambiental; por lo cual el objetivo de este trabajo fue evaluar la reducción del tiempo de muerte de *Cyclocephala lunulata* plaga de importancia económica en pastos.

MÉTODOS

Se utilizó el aislado 11 de *Beauveria bassiana*, creció en agar dextrosa sabourand durante 15 días. La FMS consistió en medio mínimo y caparazón de camarón, se le inoculó 1×10^7 esporas/mL. Para obtener conidios: 15 días y extracto enzimático 5 días. Con el extracto enzimático se determinaron las actividades de lipasas (5); 2. subtilisina (Pr1) y tripsina (Pr2) (5), 3. Endoquitinasas y exoquitinasa. (6). Insectos: 100 larvas colectadas en el área deportiva de la UAM-X (agosto, 2013). Se colocaron individualmente en vasos de plástico transparente de ocho onzas, con 200 g de suelo del lugar de colecta. Bioensayo: A cada larva se le inyectaron 10 μ l de cada tratamiento atrás de la capsula cefálica. Los insectos se conservaron en la cámara bioclimática a 25 ± 2 °C; 50 % de HR. Diseño experimental: completamente al azar, con seis tratamientos y diez repeticiones.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos, señalan que existe diferencia significativa de ($P < 0.05$), al evaluar el % de mortalidad. El tratamiento A (Tween 80 al 0.05%) con 0% de mortalidad; en los tratamientos B, C y D la mortalidad fue de 100%. En los tratamientos E y F la mortalidad fue de 60 y 90 % respectivamente (Tabla 2). En la evaluación del tiempo de muerte hay diferencia significativa ($P < 0.05$); los tratamientos B y C el tiempo de muerte fue de 1.2 días. El tratamiento F tuvo 1.7 días, con una diferencia evidente con respecto a los tratamientos D y E con 2.8 y 8.8 días de muerte (Tabla 2). El extracto enzimático solo y en conjunto con los conidios redujo el tiempo de muerte, causado probablemente un efecto tóxico de las enzimas. En el extracto obtenido de FMS de cinco días, se observó la actividad de las principales enzimas que degradan de la cutícula de insectos. (Tabla 1)

Tabla 1. Valores de porcentajes de mortalidad y medias del tiempo de muerte de larvas de *C. lunulata* evaluados en días. A, B y C letras iguales, medias iguales acuerdo a Tukey. N=10

Tratamiento	Mortalidad (%)	Mortalidad (días)
(A) Control negativo		
(B) Extracto enzimático	100 ^A	1.2 \pm 0.40 ^{B,C}
(C) Extracto enzimático + Conidios 1×10^8	100 ^A	1.2 \pm 0.40 ^{B,C}
(D) Conidios 1×10^8	100 ^A	2.8 \pm 0.40 ^B
(E) Control positivo (Bea Tron ®) 5×10^8	60 ^B	8.8 \pm 0.057 ^A
(F) Control positivo + Extracto enzimático	90 ^A	1.7 \pm 0.421 ^B

Tabla 2. Determinaciones de las actividades enzimáticas del extracto obtenido de *B. bassiana*

Enzima	Actividad Enzimática
Lipasas	820.83 U
Subtilisina Pr1	0.422 ± 0.07 U
Tripsina Pr2	0.095 ± 0.02 U
Endoquitinasas	3.23 ± 0.38 U
Exoquitinasas	0.00241 ± 7.30675E-05 U

CONCLUSIONES

En el bioensayo de laboratorio los extractos enzimáticos disminuyen el tiempo de muerte de *Cyclocephala lunulata*, debido a que al utilizar en el sistema de FMS el caparazón de camarón como inductor, se favorece la síntesis de enzimas degradadoras de la cutícula: lipasas, proteasas Pr1 y Pr2 y de endoquitinasas y exoquitinasas.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 Kaur, G and V. Padmaja. 2009. Relationships among activities of extracelular enzyme production and virulence against *Helicoverpa armigera* in *Beauveria bassiana*. *J. of Basic Microbiol* 49: 1845-1852.
2. Yang, J., B. Tian, L. Liang, K.Q. Zhang. 2007. Extracellular enzymes and the pathogenesis of nematophagous fungi. *Applied Microbiol and Biotech* 75: 21-31.
3. Oberoi, H. S., Y. Chavan, S. Bansai and G. S. Dhillon. 2010. Production of cellulases through solid state fermentation using kinnow pulp as a mayor substrate. *Food Bioproc Technol* 3: 528-536.
4. Singhanía, R. R, K. A. Patel, R. C. Soccol, A. Pandey. 2009. Recent advances in solid –state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*.
5. Ali, Shaukat., Z. Huang., S. Ren. 2010. Production of cuticle degrading enzymes by *Isaria fumosorosea* and their evaluation as a biocontrol agent against diamondback moth. *J. Pest Science* 83: 361–370.
6. Coudron, T. A., M. J. Kroha and C. M. Ignoffo. 1984. Levels of chitinolytic activity during development of three entomopathogenic fungi, comprehensive. *Biochemistry and Physiology* 79 B: 339-348.

PRODUCCIÓN DE UN BIOFERTILIZANTE Y OBTENCIÓN DE ALGINATO COMO METABOLITO SECUNDARIO A PARTIR DE *Azotobacter vinelandii*

Miguel Ángel Martínez Arias, Eduardo Rodríguez Cuevas, Dulce Jazmín Hernández Melchor
Jesús Alarcón Bonilla, José Luis García Fuentes.

División de Biotecnología, Universidad Tecnológica de Tecámac, Carretera Federal México-Pachuca km 37.5, Colonia Sierra Hermosa, Tecámac Estado de México CP. 55740, México. jgarciat@uttecamac.edu.mx

RESUMEN

Atendiendo una problemáticas a las que se enfrenta la agricultura actualmente, se realizó el presente trabajo para proponer la formulación de un biofertilizante, el cual al estar constituido por células vivas del género *Azotobacter*, que promoverá el incremento del nitrógeno disponible en el suelo, sin la contaminación que generan los fertilizantes químicos.

En el presente se empleó la cepa de *Azotobacter vinelandii* CDBB-B-992 evaluando para ello tres medios de cultivo para verificar el rendimiento de biomasa y de alginato (metabolito secundario de interés industrial) los medios evaluados fueron: Burk, Burk con extracto de levadura (BEL) y Medio vegetativo ATCC 14.

De cada medio se realizaron cinéticas de Biomasa, Alginato y consumo de sustrato, empleando técnicas como: conteo en cámara de Neubauer, Gravimetría y azúcares reductores por DNS respectivamente.

Observando que la mayor producción de biomasa fue utilizando el medio BEL, con un máximo de 1.7×10^8 células/25h, mientras que en el medio Burk y ATCC 14 los máximos valores encontrados fueron 6.5×10^7 células/30h y 1.045 células/25h respectivamente. Se realizando una segunda fermentación utilizando el medio BEL cambiando de sacarosa a glucosa. Observándose una correspondencia inversa entre la biomasa y el consumo de sustrato, indicando un rendimiento $Y(x/s)$ de 0.8443 notándose el incremento proporcional entre biomasa y la producción de alginato obteniendo un $Y(p/x)$ de 0.1891. Finalmente la relación entre sustrato y producto fue de $Y(p/s)$ de 0.1597.

Con los datos anteriores se demostró que la producción de alginato no se limita a la etapa estacionaria sino que se comporta como metabolito primario, así como metabolito secundario por mostrar un segundo incremento en la etapa estacionaria. Dichos rendimientos y comportamientos indican la viabilidad para emplear a *Azotobacter vinelandii* en la generación de biofertilizante y alginato.

INTRODUCCIÓN

La fijación biológica del N_2 es un proceso de reducción que convierte el nitrógeno molecular en amoníaco (asimilable por las plantas). (Lizett, 2004). El incremento de este nutriente en los cultivos agrícolas puede reducir la necesidad del uso de fertilizantes químicos, de los cuales se ha puesto en duda su utilización debido a que del total del fertilizante aplicado en los cultivos sólo se aprovecha del 50 al 60% y una parte importante de éste se lixivia, con la consecuente contaminación de aguas subterráneas, lagos y ríos. Además, los gases tóxicos que se desprenden en la producción de los fertilizantes químicos, como óxidos de nitrógeno, dañan la capa de ozono (Lara, 2007). Por lo anterior, se han buscado nuevas alternativas para mejorar la fertilidad del suelo como lo es la biofertilización, que consiste en incrementar la población de los microorganismos benéficos, a partir de su inoculación a las plantas, semillas o suelo (Díaz, 2009). La aplicación de este tipo de biofertilizantes, mejora las características del suelo y reduce el uso de fertilizantes químicos, disminuyendo a su vez costos de producción y la contaminación. *Azotobacter vinelandii* es una bacteria de vida libre capaz de producir hormonas vegetales y enzimas que favorecen el crecimiento de las plantas. Otra ventaja del género *Azotobacter* es la alta viabilidad por años en el medio ambiente; reproduciéndose en el suelo y potenciando la regeneración de los mismos de manera gradual (Martinko, 2005). Además, *Azotobacter* tiene la capacidad de producir alginatos que son polisacáridos empleados como espesantes, gelificantes y estabilizantes en la industria textil, farmacéutica y alimentaria (Fink, 2009).

La importancia de los alginatos radica en su capacidad para modificar las propiedades reológicas de los sistemas acuosos. Dada la diversidad de la composición de los alginatos el empleo de *Azotobacter vinelandii* es una

fuente alternativa de obtención (Alvarez, 2008). Por esta razón en el presente trabajo se propone el uso de este microorganismo para mejorar la fertilidad del suelo y obtener metabolitos secundarios de importancia industrial como lo es el alginato.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales y Métodos

Para la realización del presente trabajo se emplea la cepa *Azotobacter vinelandii* CDBB-B-992. Se evaluó la producción de biomasa en 3 diferentes medios: Burk, Burk con extracto de levadura (BEL) y medio vegetativo ATCC 14. Las fermentaciones se llevaron a cabo en matraces de 500 ml con un volumen de trabajo de 250 ml, incubándose a 29 °C por 34 horas en agitación (180 rpm manteniéndose en un agitador Shaker).

Se realizó una Cinética prueba en medio BEL según resultados de paso anterior

Incubando los matraces durante 15 minutos a 29 °C con una velocidad de agitación de 180 rpm, una vez transcurridos los 15 minutos se tomaron 100µl de muestra los 3 matraces, con micropipeta utilizando puntas estériles. Los 100 µl se colocaron en tubos eppendorf con capacidad de 1 ml, todo esto se realiza en condiciones de esterilidad. Posteriormente se toman 10 µl de muestra de cada tubo eppendorf y se colocan en la cámara de Neubauer para poder realizar el conteo directo de células, este procedimiento se realiza por separado. El conteo en cámara de Neubauer se realiza observando a microscopio a 40 X, y se realizó cada 5 horas durante un periodo de 34 horas. Posteriormente y de acuerdo a los resultados obtenidos del paso anterior, se realizó una fermentación en el medio BEL, al cual se le cambio la fuente de carbono de sacarosa a glucosa. Dicha fermentación se realizó durante 34 h a 37°C; se tomaron muestras cada hora para determinar biomasa y azúcares reductores, mediante las técnicas de Conteo por cámara de Neubauer y DNS respectivamente [5]. Aunado a esto se realizó la determinación del peso unitario bacteriano para determinación de rendimientos y producción de alginato con ayuda de la técnica de peso seco.

Resultados y Discusión

Fase 1. Coeficiente de variación y desviación del Conteo por Cámara de Neubauer

El análisis estadístico se realizó para verificar la eficacia de aplicar este método en la determinación de biomasa debido a que el Alginato presento interferencia en las lecturas por turbidimetria y en peso seco.

Los datos obtenidos de los análisis estadísticos de las 20 lecturas se presentan en la Tabla 1, en donde podemos observar que el coeficiente de variación es de 0.1677 y según (Sánchez, 2012), cuanto más pequeño es el CV más precisa es la serie de medidas. Según (Lara, 2007), para confirmar los resultados anteriores, se tomaran 5 datos de la serie original de manera aleatoria, realizando el mismo análisis estadístico con el fin de comparar y corroborar los datos. En la Tabla 2 podemos observar que el coeficiente de variación es 0.1787 en comparación con el CV anterior 0.1677, se observa que los valores son próximos por otro lado la desviación estándar arroja valores de 2.86 y 3.36 respectivamente observando la proximidad de los datos, lo que indica que la técnica es representativa.

Tabla 1 Coeficiente de variación y Desviación estándar de Serie original

PARÁMETRO	VALOR
Numero de observación (n)	20
Desviación media (d)	2.288
Desviación estándar (σ)	2.86
Coeficiente de variación (CV)	0.16774194

Tabla 2 Coeficiente de variación y Desviación estándar de datos aleatorios

PARÁMETRO	VALOR
Numero de observaciones (n)	5
Desviación media (d)	3.36
Desviación estándar (σ)	3.36
Coeficiente de variación (CV)	0.1787234

Fase 2. Selección del medio ideal

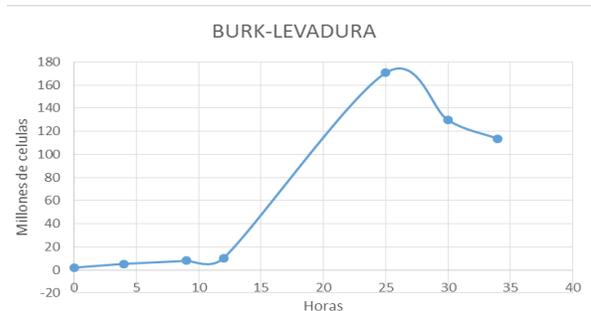
En la Gráfica 1 se muestra la cinética de crecimiento de *Azotobacter vinelandii* en el medio Burk modificado

adicionado con extracto de levadura, obteniendo una concentración máxima a las 25 de 170 millones de células por mililitro.

Como se observa en la Gráfica 2 la fermentación llevada a cabo en el medio Burk sin extracto de levadura, su mayor rendimiento de biomasa es a las 30 horas de cultivo, con un máximo de 69.5 millones de celular por mililitro, para este caso periodo de incubación es mayor al de la fermentación con extracto de levadura (Grafico 1), y el rendimiento de biomasa es menor en el presente medio.

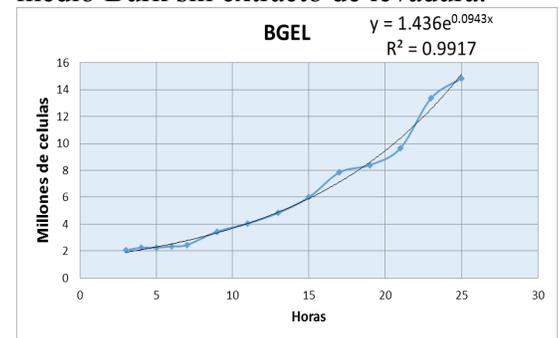
En la Gráfica 3 se expresa la cinética e crecimiento en el medio vegetativo ATCC 14, en el cual se obtuvo a las 25 horas de fermentación la cantidad de 104.5 millones de bacterias por cada mililitro de medio, dicha cinética corresponde en cuanto al tiempo con la cinética del medio Burk con extracto de levadura (Grafico 1). Sin embargo la actual cinética presenta un rendimiento sensiblemente menor a la del medio anteriormente citado y mayor a la del medio Burk sin extracto de levadura.

Con los resultados obtenidos se determina que el medio que presenta las mejores condiciones es el medio Burk modificado adicionado con extracto de levadura resultados contrarios a los reportados por (Diaz, 2009) donde se expresa que el medio es Burk.

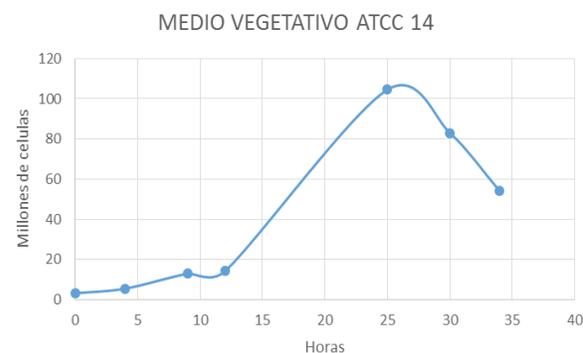


GRÁFICA 1 Datos experimentales de la cinética de *Azotobacter vinelandii* en medio Burk con extracto de levadura.

GRÁFICA 3 Datos experimentales de la cinética de *Azotobacter vinelandii* en medio Burk sin extracto de levadura.



GRÁFICA 4 Determinación de μ_{max} y coeficiente de correlación



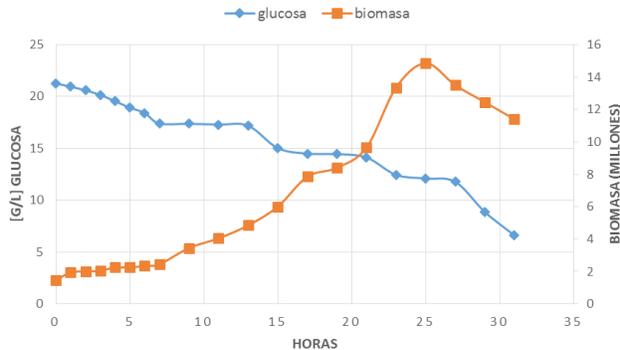
GRÁFICA 2 Datos experimentales de la cinética de *Azotobacter vinelandii* en medio vegetativo ATCC



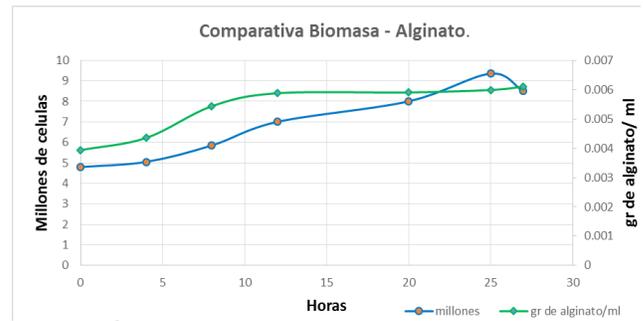
Fase 3. Cinética hora por hora de sustrato y biomasa de *Azotobacter vinelandii* en medio Burk con extracto de levadura.

Para realizar la cinética de este punto se modificó la composición original del medio (Lizett, 2009), sustituyendo la fuente de carbono de sacarosa a glucosa (llamando a este medio BGEL), esto con el fin de facilitar la detección de azúcares reductores por la técnica de DNS.

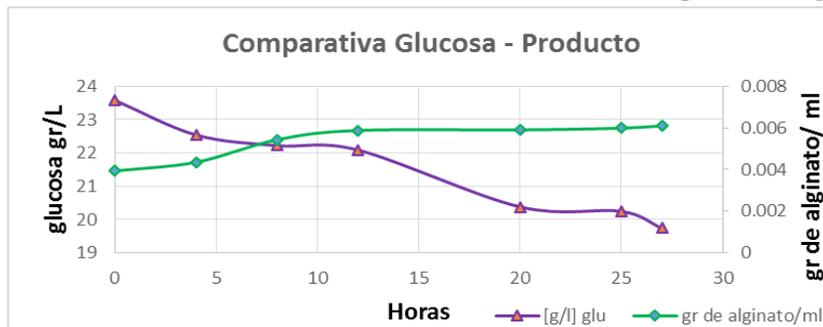
Tomando en cuenta la gráfica anterior se determinó la velocidad máxima de crecimiento utilizando solo los puntos de las 3 a las 25 horas ya que en estos es donde se expresa un crecimiento exponencial dándonos como resultado una μ_{max} de 0.0943 h^{-1} con un coeficiente de correlación (R^2) de 0.9917 como se muestra en el Grafico 4. A la par que se realizó la cinética de biomasa, se llevó a cabo la cinética de sustrato mediante la técnica de DNS realizando curva tipo, para verificar el consumo de glucosa con respecto al tiempo y al crecimiento bacteriano, dicho comportamiento se expresa en la Grafica 5.



GRÁFICA 5 Cinética de sustrato y biomasa con respecto al tiempo.



GRÁFICA 6 Comportamiento de la Biomasa con respecto a Alginato.



GRÁFICA 7 Comportamiento del Producto con respecto al Sustrato.

Fase 4. Cinética de sustrato y biomasa y alginato de *Azotobacter vinelandii* en medio BGEL

En la gráfica 6 y 7 se muestra una comparación entre biomasa–producto, y sustrato–alginato respectivamente. Observando que hay una relación entre el incremento de biomasa y el aumento de los gr/ml de alginato (Grafica 6), así como un ligero aumento de producción de alginato durante la etapa estacionaria-muerte lo que nos podría indicar que el alginato se produce durante etapas de estrés del microorganismo dato que coincide con lo expresado por (Fink, 2009), el cual mediante lo observado se podría atribuir al consumo-carencia de sustrato (fuente de carbono).

Como se muestra en la Gráfica 7 al comparar el sustrato con respecto al alginato se observa un comportamiento inverso entre el consumo de glucosa y producción de alginato, notando que durante la etapa de final del consumo de glucosa (después de 25 horas), correspondiente a la etapa de decaimiento de las células (ver Grafica 5) se nota un ligero incremento en la producción de alginato lo que corrobora que dicho producto se genera durante etapas de estrés del microorganismo, al tiempo que nos permite determinar la relación que existe entre el consumo de glucosa y producción de alginato. De acuerdo a la literatura consultada (Alvarez, 2008) el mejor medio para la obtención de biomasa es el medio Burk sin extracto de levadura, lo que contradice nuestros resultados para apoyar esto y con el fin de verificar la eficacia del medio modificado durante los experimentos (BGEL) se realizó una cinética de Biomasa, Consumo de sustrato y Producción de alginato en el medio Burk sin

Extracto de levadura para validar mediante comparación de los resultados que el empleo del medio BGEL en los experimentos tendrá mayores rendimientos, dichos resultados se resumen en la Tabla 3, indicándonos lo favorable del empleo del medio BGEL.

Tabla 3 Cinéticas comparativas en medio BEL y Burk sin extracto.

Medio	Millones de células	Consumo de sustrato (gr)	Alginato (gr/ml)	Tiempo de fermentación (horas)
BEL	10	6	0.0029	27
Burk sin extracto	8	4	0.0024	32

Determinación de peso unitario bacteriano y rendimientos.

Mediante la técnica de peso seco se terminó el peso unitario bacteriano, los datos obtenidos fueron un porcentaje de materia seca de 2.15% lo que representa 0.0215 gr/ml.

peso unitario bacteriano = 1.1025×10^{-9} gr /bacteria

Los resultados para los rendimientos a partir de las cinéticas realizadas se presentan en la Tabla 4, comparando los rendimientos arrojados durante la fermentación del medio Burk Extracto de levadura Glucosa con y sin agitación. Determinando que el medio BGEL sin agitación estimula los rendimientos ya que como se muestra en los rendimientos de biomasa(x)/sustrato(s) por cada gramo de sustrato se obtienen 1.30g de biomasa, por otro lado los rendimientos de producto(p)/biomasa(x) por cada gramo de biomasa se obtienen 0.599g de alginato, y finalmente los rendimientos de producto(p)/sustrato(s) indican que por cada gramo de sustrato consumido se genera 0.72g de producto. Estos datos permiten hacer las consideraciones para generar un escalamiento y diseño del biofertilizante debido a que según (Fink, 2009), los biofertilizantes comerciales están compuestos por un 1 millón de células por cada gramo de bioinoculante, lo que da pauta a la formulación del fertilizante a base de *Azotobacter vinelandii*.

Tabla 4 Tabla de rendimientos en fermentación con BGEL agitado y no agitado.

Parámetro	Cinética con agitación	Cinética sin agitación
x/s	0.8443	1.3068
p/x	0.1891	0.5998
p/s	0.1597	0.7215

CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos a lo largo de las evaluaciones con los diferentes medios de cultivo se lograron determinar las condiciones óptimas para la producción de biomasa de *A. vinelandii* CDBB-B-992, así como de alginato; a partir de los cuales se formulará un biofertilizante en el que se requieren 1 millón de células por gramo y se podrá potencializar el uso del polisacárido en la industria.

BIBLIOGRAFÍA

1. Martinko, John, " *Biología de los microorganismos*" vol. 10, 2005.
2. Lizett, " *Cofactor FeMco*", 2004.
3. Lara, Cecilia, " *Evaluación de bacterias nativas de la zona de córdoba, con capacidad fijadora de nitrógeno*", 2007.
4. Álvarez, " *Estrategias de cultivo en la producción de alginatos por Azotobacter vinelandii*", 2008.
5. Diaz, Alvarado, " *Producción de alginato por Azotobacter vinelandii en cultivo continuo*", 2009.
6. Finck, A. " *Fertilizantes y Fertilización* ". España: Reverte. 2009.

DETERMINACIÓN DE LA DOSIS EFECTIVA MEDIA DE FUNGICIDAS SOBRE CEPAS DE *Phytophthora cinnamomi* Rands *in vitro*

Ma. Blanca Nieves Lara-chávez¹, Margarita Vargas-Sandoval¹, Salvador Aguirre-Paleo¹, Martha Elena Pedraza-Santos¹ y Maribel Gutiérrez-Contreras¹

¹Facultad de Agrobiología "Presidente Juárez" Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Paseo Lázaro Cárdenas Esquina Con Berlín s/n, Uruapan, Michoacán, México. Tel. 01 452 52 3 27 01 cel. 044 452 52 5 07 58. chavez12001@yahoo.com.mx

Resumen

Palabras clave. Químicos, fungicidas *Phytophthora cinnamomi* y sensibilidad

En el estado de Michoacán se cultiva la mayor extensión de aguacate del país y del mundo con 94,045.28 ha, con una producción de 820,224 t; sin embargo, una de las principales limitantes para su producción son las enfermedades radiculares, entre las que se encuentra la tristeza del aguacatero causada por *Phytophthora cinnamomi* Rands, se encuentra distribuido en toda la franja aguacatera ocasionando severas pérdidas en la producción. Por lo anterior el objetivo fue determinar la dosis efectiva media de tres fungicidas químicos sobre cinco cepas de *Phytophthora cinnamomi* Rands *in vitro*, colectadas en la franja aguacatera del estado de Michoacán, México. Los Fungicidas químicos probados fueron el Ridomil Gold 4E, Busan® AWB y Proplant® 720. En la evaluación de la sensibilidad se utilizó la técnica de transferencia en papel filtro. La respuesta de las cepas de *Phytophthora cinnamomi* Rands a la aplicación de los tres fungicidas presentó una gran variabilidad en la sensibilidad *in vitro*. El Busan® AWB en sus cuatro dosis tuvo la más alta sensibilidad, mientras que el Proplant® 720 presentó la menor sensibilidad, en cambio el Ridomil Gold 4E tuvo una sensibilidad intermedia sobre el micelio de las cinco cepas de *Phytophthora cinnamomi* Rands.

INTRODUCCIÓN

El aguacate es en la actualidad uno de los cultivos más importantes en México, no solo por la cantidad de toneladas producidas que lo ubica como el productor más importante a nivel mundial, sino también porque es un cultivo que genera miles de empleos directos e indirectos y permite una entrada importante de divisas por la exportación de su fruta. El consumo *per capita* de aguacate en México es el más alto del mundo por la enorme cultura que se tiene en su consumo con cerca de 10 kg por habitante (Sánchez, 2007).

En el estado de Michoacán el valor de la producción en el año 2012 fue de 14.8 millones de pesos, con una superficie sembrada de 112,673.34 ha, y cosechada 105,512.74 ha y una producción de 1'117,388.49 ton., generando 42,800 empleos permanentes y 31,670 eventuales (equivalente a 9.5 millones de jornales anuales), por otro lado se reportan 230 empacadoras para el mercado nacional y 62 de exportación que generan alrededor de 6,700 empleos directos e indirectos, (SIAP-SAGARPA, 2012; Sánchez, 2007; Ochoa y Ortega, 2002).

Las condiciones agroecológicas donde se encuentra establecido el cultivo del aguacate en el estado de Michoacán, han provocado que plagas y enfermedades fungosas, de diversa índole estén íntimamente asociadas al desarrollo comercial del cultivo, destacando entre ellas la llamada tristeza del aguacatero ocasionada por el Oomycete *Phytophthora cinnamomi* Rands que ocasiona grandes pérdidas económicas a los productores (Sánchez, 2007). Esta enfermedad ha sido un factor económicamente limitante para la producción en Australia, México, Sudáfrica, los E.U.A. y otros setenta países (Pegg *et al.*, 2002).

En México, el *P. cinnamomi* se ha detectado en las regiones productoras de aguacate de Michoacán, Puebla, Chiapas, Veracruz, Nayarit, y Morelos. En Querétaro, Qro y en Comonfort, Guanajuato, causó la desaparición casi completa del cultivo. En Morelos y Puebla la incidencia es del 45% al 90% (Téliz, 2000). En Michoacán, en el año 1979 se habían reportado 13 mil árboles enfermos y para 1994, se reportó que unos 100 mil árboles estaban afectados por el *P. cinnamomi* en los principales siete municipios productores, lo que ha significado pérdidas económicas acumuladas de alrededor de 640 millones de pesos para los productores (Vidales y Alcántar, 1999), Lara (2008) reporta a *P. cinnamomi* distribuido en toda la franja aguacatera del estado de Michoacán.

El control de este patógeno ha requerido de una combinación de varias prácticas de manejo, diseñadas para reducir su actividad e incrementar la tolerancia del hospedero durante los períodos críticos de infección. Las prácticas complementarias de manejo incluyen la prevención, el control químico y biológico y el uso de portainjertos resistentes (Coffey y Guillemet, 1987; Erwin y Ribeiro, 1996). El control más efectivo, se realiza cuando todas esas estrategias se usan en un sistema de manejo integrado. De acuerdo a lo anterior se plantea en siguiente objetivo: Determinar la dosis efectiva media de tres fungicidas químicos, aplicados a cinco cepas de *Phytophthora cinnamomi* Rands cultivadas *in vitro*, colectadas en la franja aguacatera del estado de Michoacán.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cepas de *Phytophthora cinnamomi* Rands

Las cepas de *Phytophthora cinnamomi* Rands utilizadas en el presente trabajo de investigación fueron proporcionadas por el cepario del Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Agrobiología "Presidente Juárez", de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, las cuales se aislaron de árboles de aguacate que presentaban los síntomas característicos de la enfermedad, y fueron colectadas en diferentes municipios del estado de Michoacán (Taretan, Uruapan, Tancitaro y Apatzingán), por Lara (2008) quien las caracterizó y clasificó de acuerdo al origen de colecta asignándoles una clave para su identificación en el cepario. En este trabajo se usaron 5 de las 60 cepas de la colección. El criterio que se siguió para seleccionarlas fue que presentaran diferentes características morfológicas y culturales, así como agroecológicas, Tablas 1y 2.

Tabla 1. Características agroecológicas de los sitios de colecta de las cepas de *P. cinnamomi* Rands, utilizadas en la investigación.

Clave cepario	de	Clima	Temperatura	Granizadas	Heladas	Precipitación	Suelo
TAN5		(A)C(w ₂)(w)	20 °C	1,4	10	1200 mm	Andosol
UAN1		A w ₁ (w)	22 °C	1	0	1000 mm	Andosol
TRO20		C(W ₁)(W)	16, 18 °C	1	20	1000 mm	Andosol
TRO31		A W ₁ (W)	20 °C	1	10	800 mm	Andosol
AAN39		A W ₀ (W)	24 °C	1	5	800 mm	Andosol

Tabla 2. Características morfológicas y tasa de crecimiento de cepas de *P. cinnamomi* Rands

Clave de cepario	Morfología	Color de la Colonia		Tasa de crecimiento mm/día
		Anverso	Reverso	
TAN5	Tipo camelia	Blanca	Blanca	66.800
UAN15	Estrella tipo camelia	Blanca	Blanca	63.000
TRO20	Arrosetada	Blanca	Blanca	61.600
TRO31	Concéntrica	Blanca	Blanca	56.800
TRO31	Estrella tipo camelia	Blanca	Blanca	53.500

Fungicidas empleados

Busan® 30 AWB. Su ingrediente activo es TCMTB:2-(Ticianometiltio) Benzotiazol fungicida de contacto y con cierta acción fungistática (gas), La dosis recomendada es de 3 a 6 L/ha, en 200 a 400 L/ha agua (Rosenstein, 2006)

Ridomil GOLD 4E. Su ingrediente activo es Metalaxil-M: Metil-(R)-2-(2,6-dimetilfenil) metoxiacetil]] propionato. Es un fungicida sistémico, dosis de 0-750 a 1.25 L/ha, (Rosenstein, 2006).

Proplant 720®. Su ingrediente activo es Propamocarb clorhidrato:propil 3-(dimetilamino)propilcarbamato de monoclorhidrato, La dosis recomendada es de 2 L/ha usando un volumen de agua de 200 a 400 mL/ha. (Rosenstein, 2006).

Bioensayo de evaluación de la sensibilidad a fungicidas de cepas *P. cinnamomi* Rands Multiplicación de las cepas

Cada una de las cepas se multiplicó transfiriendo un disco de 10 mm de diámetro de cultivo puro, a una caja de petri con el medio V8A (Jugo de verduras agar), se prepararon dos cajas por cepa bajo condiciones estériles en una campana de flujo laminar, se incubaron posteriormente a 28 °C durante 5 días.

Bioensayo de sensibilidad

Las dosis usadas de los fungicidas fueron calculadas con base en la dosis recomendada por el fabricante (Rosenstein, 2006), siendo esta el 100 %, de la cual se bajaron tres dosis, (100 %, 75 %, 50 % y 25 %), obteniendo así las cuatro dosis para cada fungicida. Para la preparación de los fungicidas se utilizó una micropipeta al momento de preparar las soluciones. Se prepararon 100 mL de solución para cada tratamiento, estas se hicieron bajo condiciones estériles. En el Tabla 3, se describe cada uno de los tratamientos probados en esta investigación.

Tabla 3. Descripción de los tratamientos probados para la evaluación de la sensibilidad de cepas *Phytophthora cinnamomi*

EXPERIMENTO	TRATAMIENTO	NOMBRE COMERCIAL	INGREDIENTE ACTIVO	DOSIS/100 mL DE AGUA
I	1	Busan® 30 AWB	Tiocianometiltio	1500 µl
	2	Busan® 30 AWB	Tiocianometiltio	1125 µl
	3	Busan® 30 AWB	Tiocianometiltio	750 µl
	4	Busan® 30 AWB	Tiocianometiltio	375 µl
	5	Testigo	Agua estéril	0
II	1	Ridomil GOLD 4E	Metalaxil	312 µl
	2	Ridomil GOLD 4E	Metalaxil	234 µl
	3	Ridomil GOLD 4E	Metalaxil	156 µl
	4	Ridomil GOLD 4E	Metalaxil	078 µl
	5	Testigo	Agua estéril	0
III	1	Proplant® 720	Promocarb	1000 µl
	2	Proplant® 720	Promocarb	750 µl
	3	Proplant® 720	Promocarb	500 µl
	4	Proplant® 720	Promocarb	250 µl
	5	Testigo	Agua estéril	0

Establecimiento del experimento

Se usaron discos de papel filtro Whatman no 4 de 12 mm de diámetro previamente esterilizados, se impregnaron con 50 μ L de la solución del fungicida correspondiente de cada uno de los tratamientos, dejándose secar por espacio de 3 minutos (Dhingra y Sinclair, 1995), empleando una micropipeta calibrada y cambiando la punta para cada fungicida, en cada dosis y para cada cepa. Se tomaron cuatro discos con la dosis del fungicida correspondiente y se colocaron en forma equidistante en una caja Petri que contenía 20 mL de medio nutritivo PDA (Bioxon®), los cuales corresponden a las cuatro repeticiones, enseguida se colocó en el centro de la caja Petri un disco de *P. cinnamomi* de 10 mm de diámetro, tomado del margen de la colonia. Esto se repitió para cada uno de los tratamientos y para cada una de las cepas. El testigo se colocó en otra caja Petri, y los discos de papel filtro fueron impregnados con 50 μ L de agua destilada estéril dejándose secar el tiempo indicado con anterioridad, a continuación se incubaron en oscuridad total a 28 °C.

Variable respuesta

Después de 24 h de establecido el experimento, se iniciaron las mediciones del diámetro de crecimiento del micelio de las cepas, posteriormente, las mediciones se realizaron cada 12 h. Con la finalidad de obtener el diámetro de crecimiento. En cada una de las repeticiones se tomaron dos medidas del diámetro en dos puntos de crecimiento diferente y se sacó un promedio para obtener el crecimiento real diario. Las mediciones se hicieron con una regla de plástico graduada en cm, se dejó de medir cuando el micelio del fitopatógeno en el tratamiento testigo llegó al espacio de los discos de papel filtro. Los datos diarios obtenidos se registraron en un formato especial, también se tomaron fotos para llevar un mejor control.

Diseño experimental

Se empleó un diseño experimental completamente al azar, se evaluó la sensibilidad de cinco cepas de *P. cinnamomi* a tres fungicidas, a cuatro dosis y con un testigo absoluto para cada cepa. En total se evaluaron 13 tratamientos con cuatro repeticiones cada uno (Tabla 3).

Análisis de datos

Con los datos obtenidos para determinar la variable sensibilidad de las cepas de *P. cinnamomi* a los fungicidas, así como a las dosis empleadas, se obtuvo un promedio final en % del crecimiento diario, y el cual se transformó al arcoseno (**PFarc**) y posteriormente fueron analizados mediante un análisis de varianza mediante el PROC ANOVA del paquete computacional de estadística SAS V 9. Para la comparación de medias se utilizó la prueba de Tukey ($\alpha= 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del presente trabajo se presentan de forma independiente para cada uno de los fungicidas empleados, con sus cuatro dosis correspondientes, con base a la variación de sensibilidad de las cinco cepas de *P. cinnamomi* Rands empleadas.

Sensibilidad de las cepas a Proplant® 720

El comportamiento de sensibilidad *in vitro* de las cinco cepas de *P. cinnamomi*, al fungicida Proplant® 720 con sus cuatro dosis empleadas, presentó diferente respuesta. En el análisis de varianza practicado, se obtuvo que en la cepa AAN39 presentó diferencia significativa, para las cuatro dosis, indica la formación de dos grupos; donde las dosis 1000 μ l y 500 μ l afectaron estadísticamente de manera similar a la cepa. Por otra parte la dosis 750 μ l, con una media (PFarc) de 32.8 causó la mayor sensibilidad en la cepa; mientras que con la dosis 250 μ l presentó la menor sensibilidad a este fungicida. De acuerdo con estos resultados la dosis efectiva media donde se observó una inhibición intermedia del micelio de *Phytophthora cinnamomi* en la cepa AAN39 fue la de 500 μ l, Figura 1 y 2.

En la cepa TRO31 su sensibilidad confrontada con el Proplant® 720, los resultados indicaron que hubo alta significancia ($P > 0.0001$), la menor sensibilidad se obtuvo con la dosis 250 μl y la mayor con 500 μl . Sin embargo, las dosis 250 μl , 750 μl y 1000 μl , afectaron estadísticamente igual. Con base en estos resultados, la dosis que presentó una sensibilidad intermedia, representada por la inhibición del crecimiento del micelio de *P. cinnamomi* fue 750 μl Figura 1 y 2.

A diferencia de las cepas anteriores, la cepa TAN5 al ser confrontada con el fungicida Proplant® 720, no presentó diferencia significativa en su sensibilidad en las cuatro dosis (1000, 500, 750 y 250 μl) del fungicida, Por lo tanto la dosis efectiva media considerada fue la de 750 μl con una media (**PFarc**) de sensibilidad de 12.4 mm.

En cuanto a la sensibilidad *in vitro* de la cepa UAN15 de *P. cinnamomi* en presencia del Proplant® 720, los resultados obtenidos del análisis de varianza indican que las dosis empleadas mostraron diferente respuesta ($P > 0.0336$), sobresaliendo por su mayor efectividad la dosis 1000 μl y la menor sensibilidad se presentó con la dosis 250 μl con medias (**PFarc**) 33.5 y 18.3 mm, respectivamente. De acuerdo con estos resultados la dosis efectiva media para esta cepa se presentó con la dosis de 500 μl con una media (**PFarc**) de sensibilidad de 24.1 mm, en el crecimiento del micelio con respecto a las otras tres dosis.

En la cepa TRO20, los resultados del análisis de varianza, indican que no se presentó diferencia estadística entre las dosis ($P > 0.1865$), de acuerdo con las medias obtenidas en el **PFarc**. Sin embargo, el mayor efecto lo causó la dosis 250 μl , y en contraste con la dosis de 500 μl se manifestó la menor sensibilidad. De acuerdo con estos resultados la dosis efectiva media fue la de 750 μl con una media (**PFarc**) de sensibilidad de 33.3 mm, presentando un crecimiento intermedio del micelio con relación a las otras tres dosis a que fue expuesta la cepa TRO20 de *Phytophthora cinnamomi* Figura 1 y 2.

Sensibilidad de las cepas a Busan® 30 AWB

Las cinco cepas de *Phytophthora cinnamomi* Rands incluidas en el presente trabajo de investigación presentaron diferente respuesta en presencia del Busan® 30 AWB, los promedios (**PFarc**) de crecimiento del micelio, indicaron una alta sensibilidad a este fungicida. En la cepa AAN 39 el análisis de varianza practicado indicó que no presentó diferencia significativa ($P > F 0.9416$), en las cuatro dosis usadas, siendo estadísticamente iguales; sin embargo, de acuerdo a los promedios (**PFarc**) de crecimiento del micelio, se notó un alto grado de sensibilidad en todas las dosis del fungicida,. La dosis que causó un efecto intermedio en relación con las otras tres en la sensibilidad del crecimiento del micelio de *Phytophthora cinnamomi* fue la de 375 μl con una media de 67.3 mm, Figura 1 y 2.

Así mismo la cepa TRO31, tampoco presentó diferencia significativa ($P > 0.3205$) en su sensibilidad a la aplicación de este fungicida, presentado medias de sensibilidad (**PFarc**) de 71.5, 70.5, 65.1 y 55.9 con sus dosis (1500, 750, 375 y 1125 μl) respectivas. Donde se observa en general una alta sensibilidad a este fungicida. De acuerdo a las medias de crecimiento de las cuatro dosis empleadas, la dosis 375 μl indica una sensibilidad intermedia, Figura 1 y 2.

De igual manera los resultados obtenidos del análisis de varianza para determinar la sensibilidad *in vitro* al fungicida Busan® 30 AWB de la cepa UAN15 de *P. cinnamomi*, indicaron que no hubo diferencia significativa, en las diferentes dosis empleadas, presentando medias de 74.1, 72.7, 64.1 y 58.1 mm (1125, 1500, 375 y 750 μl) respectivamente, observándose que las cuatro dosis ejercieron un buen control sobre el crecimiento del micelio de *P. cinnamomi*. De acuerdo a estos resultados se considera la dosis de 375 μl , con una media (**PFarc**) de 64.1 mm como la dosis efectiva media para esta cepa, Figura 1 y 2.

La cepa TRO20 al igual que las anteriores (AAN39, TRO3, UAN15) no mostro diferencia estadística ($P > 0.0942$) en su sensibilidad *in vitro* al fungicida Busan® 30 AWB. Habiendo una alta sensibilidad en el control del crecimiento del micelio. Siendo la dosis efectiva media 1500 μl , con un promedio (**PFarc**) de 86.1 mm, Figura 1 y 2.

Contrario a los resultados de la sensibilidad de las cepas anteriores, la cepa TAN5 en presencia del Busan® 30 WB, si mostró diferencia significativa ($P > 0.0325$) en su sensibilidad a este fungicida, indicando la formación de dos grupos; donde, la dosis 1125 μl , causó el mayor efecto en la sensibilidad del crecimiento del micelio de esta cepa; sin embargo las dosis 1500 μl y 750 μl afectaron estadísticamente de manera similar, por otra parte la dosis 375 μl causó el menor efecto en la sensibilidad (**PFarc**) del crecimiento del micelio. De acuerdo a estos resultados la dosis efectiva media fue la de 750 μl con una media de sensibilidad (**PFarc**) de 69.73 mm, Figura 1 y 2.

Sensibilidad de las cepas a Ridomil Gold 4E

En relación a la sensibilidad *in vitro* de las cinco cepas de *Phytophthora cinnamomi* al Ridomil Gold 4E, y de acuerdo al **PFarc**, mostraron diferente respuesta, presentando alta sensibilidad a este fungicida como se indica a continuación para cada una de las cepas bajo estudio.

Los resultados obtenidos del análisis de varianza para la sensibilidad *in vitro* de la cepa AAN39 en presencia del Ridomil Gold 4E, indicó diferencia altamente significativa ($P > 0.0001$) a este fungicida, sobresaliendo por su mayor efecto en sensibilidad de la cepa, la dosis 234 μl contrariamente a la dosis 78 μl , la cual provocó la menor sensibilidad. Siendo la dosis efectiva media (**PFarc**) la 156 μl por presentar una sensibilidad intermedia del crecimiento del micelio en relación con las otras tres, Figura 1 y 2.

La cepa TRO31 de *P. cinnamomi*, en presencia del Ridomil Gold 4E, indicó diferencia significativa ($P > 0.0012$), para las cuatro dosis evaluadas; observándose la formación de dos grupos; las dosis 234 μl , 312 μl y 156 μl afectaron estadísticamente de manera similar. Por otra parte la dosis 78 μl provocó una menor sensibilidad en el crecimiento del micelio. Por lo tanto y de acuerdo con los resultados obtenidos de las cuatro dosis usadas, la dosis efectiva media fue la de 156 μl , debido a que provocó en el crecimiento del micelio una sensibilidad intermedia en relación con las otras tres dosis, Figura 1 y 2.

Para la sensibilidad *in vitro* de la cepa TAN5 de *P. cinnamomi*, en presencia del Ridomil Gold 4E, los resultados obtenidos del análisis de varianza, indicaron que las dosis mostraron diferencia significativa ($P > 0.0352$), para las cuatro dosis de Ridomil Gold 4E, donde la dosis 156 μl , causó el mayor efecto, no siendo así con la dosis 78 μl , la cual presentó la menor sensibilidad. De acuerdo con estos resultados la dosis efectiva media fue 234 μl con una media (**PFarc**) de 56.8 mm, Figura 1 y 2.

De igual forma que las cepas anteriores la cepa UAN15, indicaron diferente respuesta a las cuatro dosis del fungicida utilizadas, obteniéndose una diferencia altamente significativa ($P > 0.0062$), a este fungicida, donde la dosis de 312 μl , presentó la mayor sensibilidad en el crecimiento del micelio, por el contrario la dosis que presentó la menor sensibilidad fue la 78 μl , de acuerdo con estos resultados la dosis efectiva media determinada fue la de 156 μl (**PFarc** 55.3). Para la cepa TRO20 también se obtuvo diferencia altamente significativa ($P > 0.0002$) en su respuesta de sensibilidad a las cuatro dosis del fungicida, la dosis que indujo la menor sensibilidad (**Farc**) fue la 78 μl y la dosis efectiva media fue 234 μl , con una media (**PFarc**) de 61.2 mm, Figura 1 y 2

Los fungicidas evaluados *in vitro*, en el presente trabajo de investigación, presentaron una marcada diferencia en su efecto sobre el crecimiento del micelio de las cepas de *Phytophthora cinnamomi*, resultando más efectivos el Busan® 30 AWB, seguido del Ridomil Gold 4E, mientras que el Proplant® 720 tuvo un efecto menor, presentando un mínimo control sobre el crecimiento del micelio en las cepas. Mónaco *et al.*, (2001) obtuvieron resultados similares *in vitro*, empleando los fungicidas Dithane® y Daconil® sobre hongos de la microflora del tomate, en la determinación de la dosis efectiva media, encontrando variación entre las dosis y los productos fungicidas empleados. Pérez *et al.*, (2004) probaron los mismos fungicidas empleados en el presente trabajo (Busan® 30 AWB, Proplant® 720 y Ridomil Gold 4E), en 14 cepas *Phytophthora capsici*, donde determinaron la sensibilidad *in vitro*, y concluyeron que existe variabilidad en cuanto a la reacción de los diferentes fungicidas en las

diferentes cepas. Erwin, (1983) y Tlalpal *et al.*, (1985) Pegg *et al.*, (2007), indican que cuando se comparan las características morfológicas, fisiológicas, patogénicas y de sensibilidad a fungicidas de diferentes aislamientos de *P. cinnamomi* existe una gran gama de comportamientos, en correspondencia a lo observado en el presente estudio.

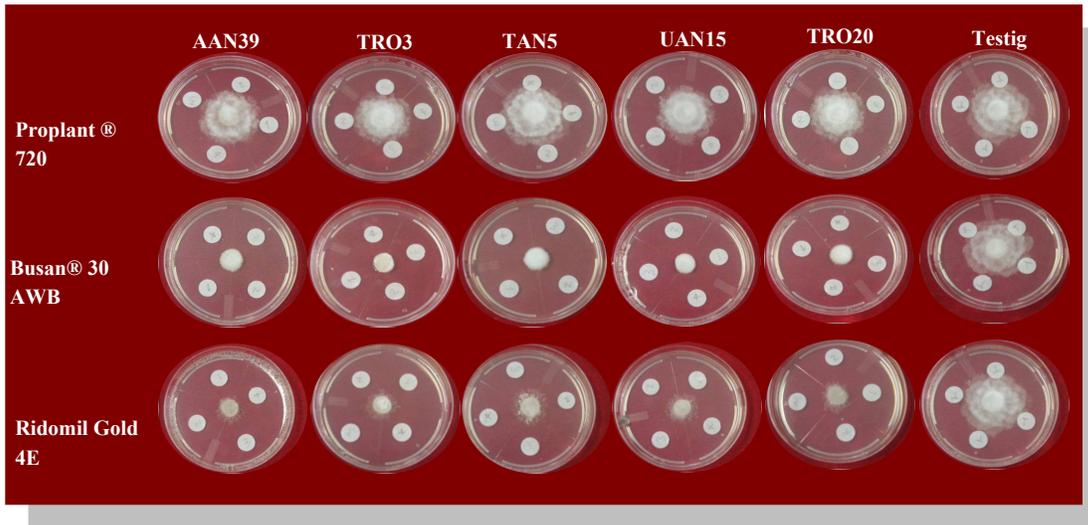
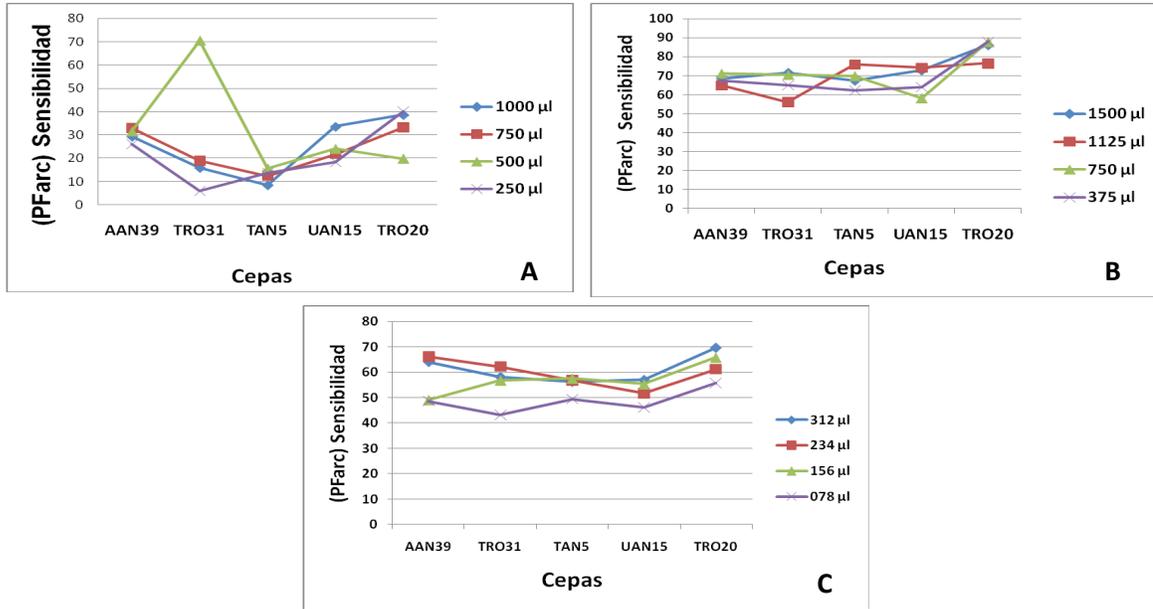


Figura 2. Respuesta de sensibilidad *in vitro* a fungicidas de cinco cepas de *P. cinnamomi* Rands, colectadas en la franja aguacatera de Michoacán.

CONCLUSIONES

El Busan® 30 AWB fue el más efectivo en la sensibilidad *in vitro* en sus cuatro dosis usadas. En las cepas AAN39, TRO31 y UAN15 la dosis efectiva media fue la de 375 µl y en las cepas TAN5 y TRO20, la dosis efectiva media fue de 1500 µl.

El fungicida Proplant® 720 tuvo el menor efecto en la sensibilidad *in vitro* en sus cuatro dosis usadas. En las cepas AAN39 y UAN15 la dosis efectiva media fue 500 µl, en las cepas TRO31, TAN5 y TRO20, la dosis efectiva media fue la de 750 µl.

El Ridomil Gold 4E presentó una sensibilidad *in vitro* intermedia en las cinco cepas de *Phytophthora cinnamomi* en sus cuatro dosis usadas. La dosis efectiva media en las cepas AAN39, TRO31 y UAN15 fue la de 156 µl y en las cepas TAN5 y TRO20 fue 234 µl

2.6 Agradecimientos

*Financiado por Proyecto **P/PROFOCIE-2014-16MSU0014T-04** Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

BIBLIOGRAFÍA

1. Coffey, M.D. & F.B. Guillemet. (1987). Avocado rootstocks. Calif. Avocado Soc. Yearbook 71,173-179.
2. Dhingra, O.D. & Sinclair, J.B. (1995). Fungicide Evaluation. Charper 7. In: Dhingra, O. D. and Sinclair, J. B. 1995. Bsdic Plant pathology methods. Second edition. Crc Lewis Pubishers. 267- 285.
3. Erwin, C.D. & Ribeiro, K.O. (1996). Phytophthora Diseases Worldwide. APS PRESS. The American Phytopathological Society St. Paul, Minnesota. 562.
4. Erwin, D. C. (1983). Variability within and among species of Phytothora. In: D. C. Erwin, S. Bartnicki-Garcia and P. H. Tsao (eds). Phytophthora. Its Biology, Taxonomy, Ecology and Pathology. APS Press, St. Paul, Minessota, USA. 392 p.
5. Lara, Ch. M. B. N. (2008). Variabilidad Fenotípica y Patogénica de *Phytophthora cinnamomi* Rands en la Franja Aguacatera de Michoacán, México. Tesis de Doctorado. Xalisco, Nayarit, México, 120.
6. Mónaco, C., Nico, A., Rollán, M., y Urrutia, M. (2001). Efecto in vitro de dos fungicidas sobre la micoflora antagonista al tizón temprano del tomate. Invest. Agr. Prod. Veg. 16, 225-232.
7. Ochoa, B.R. y Ortega, R.C. (2002). El aguacate mexicano frente a la apertura del mercado norteamericano. Claridades Agropecuarias. 110, 3-20.
8. Pegg, K.G., Coates, L.M. Korsten & Harding.R.M. (2002). Foliar, fruit and soilborne diseases. In: Whiley, A.W., Schaffer, B. and Wolstenholme B. N. (eds.), Avocado: Botany, Production and Uses. CABI Publishing, 299-338.
9. Pérez-Moreno, L., Durán-Ortiz, L.J., Ramírez-Malagón, R., Sánchez-Pale, J.R. y Olande-Portugal, V. (2004). Sensibilidad in vitro de aislados del hongo *Phytophthora capsici* a fungicidas. Pest Management. 144-150.
10. Rosenstein, S.E. (2006). Diccionario de especialidades agroquímicas. Thomson PML. Edición México16.
11. SAGARPASIAP, (2012). Competitividad. www.sagarpa.gobo.mx/subagri/info/sp/aguac/rpt-aguacate06.swf.

12. Sánchez, P.J.L. (2007). Identificación de marcadores asociados a la resistencia del aguacate raza mexicana (*Persea americana* Mill var. *Drymifolia*) al oomiceto *Phytophthora cinnamomi* Rands. Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas en la opción de Biología experimental. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán, México ,225.
13. Sánchez, R.G. (2007). El clúster del aguacate de Michoacán, Desarrollo Regional para el Liderazgo Global. FUNDACIÓN PRODUCE DE MICHOACÁN. 241 p.
14. Téliz, O.D. y Mora, a. (2007). Enfermedades del aguacate. En El aguacate y su Manejo Integrado. 2ª. Edición. MP. 321.
15. Tlapal, B.B., Osaka, K.S., González, C.F., y Mendoza, Z.C. (1995). Comportamiento fisiológico de 30 aislamientos de *Phytophthora capsici* Leo. Revista Mexicana de Fitopatología. 13, 41-51.
16. Vidales-Fernández, J.A. y Alcántar-Rocillo. J.J. (1999). Acción de la solarización y de la materia orgánica en el control de la tristeza (*Phytophthora cinnamomi* Rands), del aguacate (*Persea americana* Mill cv Hass). Revista Chapingo Serie Horticultura. Volumen V. 255-259.

EFFECTO DE LAS VARIEDAD DEL MAÍZ BLANCO Y AZUL Y DE SUS PRODUCTOS NIXTAMALIZADOS EN EL PERFIL AROMÁTICO

Liliana García. P A Vásquez. Berenice Yahuaca

Facultad Químico Farmacobiología, Morelia, Mich, qfblli.garcia@gmail.com
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, yajuabe@yahoo.com.mx

RESUMEN

En este proyecto de investigación se trabajó con una variedad de maíz blanco y pigmentado de endospermo duro apto para nixtamalización. El aroma constituye uno de los atributos sensoriales de mayor relevancia en los productos alimenticios. En la nixtamalización, el aroma es el resultado de una compleja combinación de compuestos volátiles que originalmente se encuentran en el maíz o son producidos durante el proceso. Algunos metabolitos que aportan el aroma y sabor a los alimentos son los fenoles que son compuestos que poseen anillos aromáticos. Los ácidos grasos aportan aroma al perfil aromático dado a sus productos de oxidación en el proceso de nixtamalización como son aldehídos y acetonas. Otros componentes que aportan un olor dulce a los productos nixtamalizados son las dextrinas, estos son azúcares reductores. Los compuestos volátiles mayoritarios que forman parte del perfil aromático están directamente relacionados con los atributos sensoriales procedentes de maíz blanco y maíz pigmentado. Cuando se lleva a cabo la nixtamalización bajo las mismas condiciones de proceso pero con diferentes variedades de grano de Maíz se obtendrán diferentes perfiles aromáticos. De tal forma que el aroma resultante puede variar de acuerdo a la composición química del grano de maíz y las condiciones de nixtamalización. Se realizaron estudios de caracterización físico- química del maíz, así como una caracterización física de los productos nixtamalizados como masa, harina y tortilla.

INTRODUCCIÓN

México es el cuarto productor de maíz en el mundo con un 3 % de la producción total. El primer lugar lo ocupa Estados Unidos (40 %), seguido por China (19 %) y Brasil (6 %). El consumo per cápita de maíz en México oscila en 349 g/día (Campo Mexicano, 2011), superado sólo por Lesotho y Malawi (FAO, 2009). El maíz (*Zea mays* L.) representa el cultivo agrícola más importante en México desde el punto de vista alimentario, industrial, social y político (González-Rojas y col., 2011). Estructuralmente, el grano de maíz está formado de cuatro partes principales: pericarpio, endospermo, germen y pedicelo. El peso total del grano corresponde a un 5 % de pericarpio, 83 % de endospermo (con un alto porcentaje de almidón), 11 % de germen, donde se concentra la grasa cruda (33 %) (FAO, 1993). El pedicelo o capa terminal es la continuación del pericarpio y permite la unión del grano con el olote; representa menos del 0.5 % del grano (Paredes-López y col., 2009). Las partes estructurales del grano, la distribución de su composición química y valor nutritivo, tienen relevancia cuando el maíz se procesa para consumo; a este respecto, y desde la perspectiva sensorial, el aroma juega un papel fundamental.

Componente químico	Pericarpio	Endospermo	Germen
Proteínas	3.7	8.0	18.4
Extracto etéreo	1.0	0.8	33.2
Fibra cruda	86.7	2.7	8.8
Cenizas	0.8	0.3	10.5
Almidón	7.3	87.6	8.3
Azúcar	0.34	0.62	10.8

Tabla 1 Composición del grano de maíz (FAO 1993)

Producción de maíz por variedad

En México se cultivan las siguientes variedades: blanco y amarillo o forrajero y pigmentado. El maíz blanco y pigmentado son exclusivos para alimentación humana, en virtud de su alto contenido nutricional; en tanto que el maíz amarillo se destina al procesamiento industrial y a la alimentación animal (Campo Mexicano, 2011).

Los tipos de granos de maíz cristalinos, semicristalinos, dentados y semidentados poseen características agronómicas que pueden tener una función importante en el uso de variedades, la industria para nixtamalización prefiere granos con endospermo duro (granos cristalinos) (Martínez-Herrera y Lachance, 2006; y Méndez-Montealvo y col., 2005).

TEORIA

Compuestos Fenólicos

Los fenoles son compuestos que poseen anillos aromáticos, con grupos sustituyentes hidroxilo, éster, glucósido, etc., son metabolitos secundarios que constituyen el aroma y el sabor de los alimentos. Son esenciales en el crecimiento y la reproducción del maíz, otorgan resistencia al estrés ocasionado por condiciones ambientales, así como a los daños por plagas (Su y Chen, 2007).

La familia de los fenólicos es grande, existen diversas clasificaciones de estos compuestos. Según su estructura química existen dos grandes grupos: no flavonoides y flavonoides. Los no flavonoides son ácidos fenólicos, así como de más moléculas complejas como los estilbenos y galotaninos. (Seeram et al., 2008)

Se han encontrado ocho ácidos fenólicos mayoritarios en el maíz azul. El Ácido hidroxibenzoico, Ácido vanílico, Ácido cafeico, Ácido sinápico, Ácido p-cumárico, Ácido o-cumárico. El Ácido felúrico es el ácido Fenólico más importante en todos los tipos de maíz. Los ácidos o-cumáricos y p-cumárico también se encuentran en concentraciones considerables. Por tanto las diferentes variedades de maíz tienen contenidos distintos de ácidos fenólicos (White, 2007).

Compuestos Volátiles que le dan el flavor a la tortilla

Los compuestos orgánicos volátiles (COV) son todos aquellos compuestos que se presentan en estado gaseoso a la temperatura ambiente normal o se convierte fácilmente en vapores o gases. Se han identificado compuestos que comprenden el flavor en la tortilla compuestos como el, 3-hydroxy-2-butanona, hexanal, 2-aminoacetofenona, 4-vinilguaiacol, hexanal penatanol, 2-aminoacetona. Estudios indican que compuestos con gran probabilidad de contribución en el aroma de la tortilla incluyen 2-aminoacetato-fenona, β -inona, 3-metilbutanol, 4-vinilguaiacol, hexanal. (Ron G y C. Ling, 1995)

Color en grano del maíz

Dentro de las tonalidades de los granos del maíz son producidas por pigmentos, en el caso del maíz amarillo está relacionado con la biosíntesis de carotenoides, en cambio el color rojo cereza, el azul y negro-púrpura, con sus tonalidades intermedias, son producidos por las antocianinas, que son compuestos flavonoides. En cambio en el maíz blanco lo que sucede es la ausencia de pigmentos. (Ford, 2000)

Usos del maíz en México

El maíz en México es utilizado principalmente en el proceso de nixtamalización para producir harina nixtamalizada y productos tradicionales como tortilla.

Nixtamalización

La nixtamalización inicia con el cocimiento alcalino de los granos de maíz, seguido de la molienda del grano cocido (nixtamal) y la obtención de la masa que es deshidratada, cernida, clasificada y envasada. La técnica se basa en el cocimiento de los granos de maíz (1 Kg) en agua (2-3 litros) con álcali, preferentemente Ca(OH)_2 (1-2 % p/p) durante 10-40 min a 85-100 °C. El grano se deja reposar entre 8-24 h en la solución de cocción (nejayote), posteriormente se lava de 2 a 4 veces con agua para eliminar el nejayote constituido por cal y componentes del grano (5.11 % proteína,

19.29 % fibra cruda, 52.45 % extracto libre de nitrógeno, y 23.15 % de cenizas del cual el calcio representa el 56.4 %); finalmente es obtenido el maíz nixtamalizado o nixtamal que llega a tener hasta un 45 % de humedad. El nixtamal es molido en un molino de piedras para obtener masa, el proceso de molienda requiere, para llevarse a cabo con buen término, la adición de agua llegando a tener la masa de 48 a 55 % de humedad (Ruiz-Gutiérrez y col., 2010; Valderrama-Bravo y col., 2010; Nogueira-Terrones y col., 2004; Sefa-Dedeh y col., 2004; y Paredes-López y col., 2009). La masa que resulta de la molienda, consiste en segmentos de germen, residuos de pericarpio y endospermo unidos por el almidón parcialmente gelatinizado, y por proteínas y lípidos emulsificados.

Factores que influyen en el proceso de nixtamalización

Los factores que influyen en el proceso de nixtamalización son tiempo y temperatura de cocimiento, tipo y concentración de cal, características físicas y químicas del maíz como tipo de endospermo, estructura del grano, dureza, homogeneidad en tamaño, porcentaje de grano dañado, relación amilosa-amilopectina, frecuencia de agitación durante el cocimiento, así como procedimientos de lavado y reposo (Plascencia-González, 1998; Castillo y col., 2009; FAO, 1993).

Cambios durante la nixtamalización

Los principales cambios que ocurren durante la nixtamalización del maíz se dan en la región del pericarpio, endospermo y en el germen. Dentro de estos cambios se distinguen: cambios en la estructura del grano, en su composición química, en sus propiedades de funcionalidad y valor nutritivo.

Papel del hidróxido de calcio y tiempo de reposo

La difusión del calcio al interior de los granos de maíz se define como un proceso dependiente de la temperatura y del tiempo de permanencia. La absorción de agua y calcio, producto de la interacción de la solución alcalina con los componentes del grano de maíz, trae como resultado el ablandamiento y suavización del pericarpio (Ruiz-Gutiérrez y col., 2010).

METODOLOGÍA

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico.

Se utilizaron 1 variedad de granos de maíz blanco y 1 variedad de maíz azul de calidad nixtamalera, ambos de endospermo duro. Se adquirió maíz blanco mejorado AS900 del estado de Durango de la empresa Aspros y Maíz azul criollo Tziransa en el municipio de Paracho, Michoacán.

Caracterización del material biológico.

El maíz será caracterizado mediante un análisis químico proximal, además de la determinación del tamaño del grano, color por el método de triestimulo de Hunter, índice de flotación, dureza y peso hectolítrico conforme a lo dispuesto en la NMX-FF-034/1-SCFI-2002.

Proceso de Nixtamalización

La cocción del maíz se realizará en una solución alcalina en una relación 1:3 (maíz/agua), a 94 °C por 45 min. Con una concentración de hidróxido de Sodio al 1% y un tiempo de reposo de 12 horas. El nixtamal se lavará a chorro de agua por 5 min, para eliminar los residuos de nejayote. Posteriormente, el nixtamal se molerá en un molino de piedra (marca FUMASA) para la obtención de masa. La masa se secará en un secador tipo "flash dryer", a una temperatura de 260 °C por 3 a 4 seg. Para la obtención de harina de maíz nixtamalizado. La masa será moldeada para formar la tortilla y será cocida a ≈250 °C.

Caracterización fisicoquímica. Masa, harina nixtamalizada y tortilla

Se llevará a cabo el análisis químico proximal de los tres productos derivados de la nixtamalización. A cada producto se le realizarán las siguientes pruebas de caracterización:

Masa. La masa será caracterizada por fuerza de adhesión y cohesión, consistencia, color y humedad.

Harina. Las características a evaluar en harina de maíz nixtamalizado serán: índice de tamaño de partícula, densidad aparente, color, capacidad de absorción de agua, pH, índice de absorción de agua.

Tortilla. En tortilla se determinará capacidad de enrollamiento, color, grado de inflado y pérdida de peso durante la cocción.

RESULTADOS

- a) Caracterización del maíz
 a. Caracterización Física del maíz

	Maíz Blanco AS 900	Maíz Azul Tziransa
Tamaño de grano	Largo: 1.38 cm \pm 0.20 Ancho: 0.812 cm \pm 0.97 Espesor: 0.4066 cm \pm 0.97	Largo: 1.108 cm \pm 0.20 Ancho: 0.9146 cm \pm 0.8 Espesor: 0.528 cm \pm 0.8
Peso de 100 granos	36.5554g \pm 0.001	36.7166g \pm 0.7522
Peso hectolitrico volumen de 1000 ml	0.7729g/ml \pm 0.06	0.6855g/ml \pm 0.0004
Dureza	4525.68g, 0.6356s 0.289mm	1415.66g 0.56s 0.279 mm
Color	DL: 57.08 \pm 0.05 Da: 1.481 \pm 0.07 Db: 16.898 \pm 0.07 Croma: 1.4833 \pm 0.06	DL: 37.968 \pm 0.05 Da: 0.654 \pm 0.06 Db: 4.919 \pm 0.06 Croma: 1.565 \pm 0.08
Índice de flotación	2/100 45 min de cocción Granos muy duros	87/100 30 min de cocción Granos suaves

Tabla 2 Propiedades físicas del maíz

En las propiedades físicas del maíz se determinó el tamaño del grano, siendo más largo el maíz blanco pero más ancho y espeso el maíz azul. En la dureza el maíz blanco se observó que presenta mayor dureza que el maíz azul, estos resultados son constatados con el índice de flotación al obtenerse un tiempo de cocción de 45 min para granos duros y 30 min para granos suaves como el maíz azul. Los valores obtenidos en el colorímetro de hunter son correspondientes a los citados en la literatura para maíz blanco y maíz azul.

- b. Caracterización Químico-Proximal del grano de maíz

Determinación/ muestra	Azul	Blanco
humedad g %	10.75	10.75
materia seca g %	89.25	89.25
extracto etéreo (grasa) g %	4.55	4.59
fibra cruda g %	11.31	11.15
proteina cruda g %	7.44	10.06
cenizas (minerales) g %	1.43	1.64
carbohidratos g %	75.27	72.56

Tabla 3 Caracterización químico proximal del maíz

En las propiedades químicas del maíz se observa que si hay una diferencia en el extracto etéreo y carbohidratos por lo cual se espera diferentes perfiles aromáticos en los granos de maíz dado que a las grasas y los carbohidratos contribuyen al perfil aromático

b) Estandarización del proceso de nixtamalización

CONDICIÓN		
Concentración Ca(OH) ₂		1%
Proporción Maíz-agua		1:3
Tiempo de reposo		12 hrs
Lavado de nejayote a chorro de agua		5 min
Molido		Molino de piedra

Tabla 4 Estandarización del proceso de nixtamalización

Se estandarizó el proceso de nixtamalización a una concentración de 1% con una proporción de 1:3 debido a que el agua del nejayote se reducía y no permitía el reposo adecuado del maíz.

c) Caracterización física de los productos nixtamalizados

MASA		
PRUEBA	BLANCO	AZUL
CONSISTENCIA	BUENA	BUENA
ADHESIÓN Y COHESIÓN	92,56g	92,1g
TORTILLA		
ROLABILIDAD	1	1
GRADO DE INFALDO	1	1
PERDIDA DE COCCIÓN	28,78%	20,95%
COLOR	DL -3,02 Da 0,72 Db 1,08	DL -0,29 Da -0,07 Db -0,47
	Hue° 56,30 °	Hue° 261°
HARINA		
DENSIDAD APARENTE	1,659 g/ml	1,582g
COLOR	DL -0,01 Da 0,01 Db -0,01	DL -0,01 Da -0,02 Db 0,01
	Hue° 45°	Hue° 15343°
CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE AGUA	0,76ml/g	0,66ml/g
PH	6,97	5,61
INDICE DE ABSORCIÓN DE AGUA	0,96g de gel/g muestra	0,906g de gel/ g muestra

Tabla 5 Caracterización física de los productos nixtamalizados

Se realizaron las pruebas físicas a los productos nixtamalizados de los cuales se obtuvieron que para la masa en las tuvieron buenas propiedades en tanto a consistencia como adhesión y cohesión, en las tortillas se realizaron pruebas de calidad a tortilla como lo son la rolabilidad con parámetros de 1 para nulo rompimiento, 2 para 25% de rompimiento, 3 para 50%, 4 para 75% de rompimiento y 5 para completo rompimiento, también se midió el grado de inflado con criterios también de 1 para 75-100% de inflado, 2 para 75-25% y 3 para 0-25%, además de la pérdida de cocción. De los resultados obtenidos se demostró que se tiene una tortilla de buena calidad,

descrito por los parámetros de Mendez y col. 2004. También se realizaron pruebas a la harina de las cuales también se pueden observar buenas características reológicas.

CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos de las caracterizaciones físico- químicas del maíz y físicas de los productos nixtamalizados, se observa que presentan diferentes características tanto el maíz como en sus productos, bajo las mismas condiciones de nixtamalización, por lo cual las características físicas y químicas del maíz de las variedades del maíz darán diferentes perfiles aromáticos.

BIBLIOGRAFÍA

1. AOAC, 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. Ed. by Association of the Official Analytical Chemistry. Arlington, USA
2. Campo Mexicano, 2011. Situación actual y perspectivas del maíz en México 1996 – 2012. Consulta: noviembre 2011.
http://www.campomexicano.gob.mx/portal_siap/Integracion/EstadisticaDerivada/ComercioExterior/Estudios/Perspectivas/maiz96-12.pdf
3. Castillo V.K.C., Ochoa M.L.A., Figueroa C.J.D., Delgado L.E., Gallegos I.J.A., Morales C.J., 2009. Efecto de la concentración de hidróxido de calcio y tiempo de cocción del grano de maíz (*Zea mays* L.) nixtamalizado, sobre las características fisicoquímicas y reológicas del nixtamal. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 59(4):425-432.
4. FAO, 1993. El maíz en la nutrición humana. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Colección FAO: Alimentación y nutrición, N°25) <http://www.fao.org/docrep/T0395S/T0395S00.htm#Contents> ISBN 92-5-303013-5. Consulta: diciembre 2011
5. Fernández-Muñoz J.L., Rodríguez M.E., Pless R.C., Martínez-Flores H.E., Leal M., Martínez J.L., and Bolaños L., 2002. Changes in Nixtamalized Corn Flour Dependent on Postcooking Steeping Time. Cereal Chemistry, 79(1):162-166.
6. Flores-Farías R., Martínez-Bustos F., Salinas-Moreno Y., Ríos E., 2002. Caracterización de harinas comerciales de maíz nixtamalizado. Agrociencia, 36:557-567.
7. García-Méndez S., 2004. Estudio nutricional comparativo y evaluación biológica de tortillas de maíz elaboradas por diferentes métodos de procesamiento. Tesis Maestría en Ciencias en Tecnología Avanzada. Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada, IPN; Querétaro, México.
8. Gómez Mh, McDonough CM, Rooney LW, Waniska RD. 1989. Changes in corn and sorghum during nixtamalization and tortilla baking. Journal of Food Science, 54:330-336.
9. González-Rojas K., García-Salazar J.A., Matus-Gardea J.A., Martínez-Saldaña T., 2011. Vulnerabilidad del mercado nacional de maíz (*Zea mays* L.) ante cambios exógenos internacionales. Agrociencia, 45:733-744.
10. JoeMin L., Dong-Hawn K., Pahn-Shick Ch., JaeHwan L., 2007. Headspace-solid phase microextraction (HS-SPME) analysis of oxidized volatiles from free fatty acids (FFA) and application for measuring hydrogen donating antioxidant activity. Food Chemistry, 105:414-420.
11. Laria J., Meza E., Peña J.L., 2007. Water and calcium uptake by corn kernel during alkaline treatment with different temperature profiles. Journal of Food Engineering, 78:288-295
12. Martínez-Bustos, F, Martínez-Flores, HE, Sanmartín-Martínez, E, Sánchez-Sinencio, F, Chang YK, Barrera-Arellano, D, Rios, E. 2001. Effect of the components of maize on the quality of masa and tortillas during the traditional nixtamalisation process. Journal of Science. Food Agriculture, 81:1455-1462.

13. Martínez-Flores H.E., Martínez-Bustos, F., Figueroa, J.D.C., Gonzalez-Hernandez, J. 2002. Nutritional studies and biological assays in corn tortillas made from fresh masa prepared by extrusion and nixtamalization proceses. *Journal of Food Science*, 67:1196-1199.
14. NMX-FF-034/1-SCFI-2002. Productos alimenticios no industrializados para consumo humano –cereales- parte I: Maíz blanco para proceso alcalino para tortillas de maíz y productos de maíz nixtamalizado –Especificaciones y métodos de prueba.
15. Palacios-Fonseca A.J., Vázquez-Ramos C., Rodríguez-García M.E., 2009. Physicochemical characterizing of industrial and traditional nixtamalized corn flours. *Journal of Food Engineering*, 93:45-51.
16. Ramírez-Wong B., y Ortega F., 1994. Evaluación de las propiedades reológicas y texturales de masa y tortilla de maíz comercial. *Revista de Ciencias Alimentarias*, 2(1):1-8.
17. Rodríguez-García M.E., Serna-Saldívar S.O., Sánchez-Sinencio F., 2008. Nixtamalización, del maíz a la tortilla. Aspectos nutrimentales y toxicológicos. Editorial Universidad Autónoma de Querétaro. México.
18. Seeran, N. 2008. Comparison of antioxidant potency or commonly consumed polyphenol rich beverages in the United States. *Journal of Agricultural and food Chemistry*. 56(4):1415-1422
19. Su, M. y Chien, P. 2007. Antioxidant activity, anthocyanins and phenolies of blue corn (*Zea Mayz L.*). *Food Chemistry*. 104:181-187
20. White, P. 2007. High amylose corn exhibits better antioxidant activity tha typical and waxy genotypes; *Journal of Agricultural and food Chemistry*. 55:291-298

BONDADES DE UNA PEQUEÑA GRANJA DOMÉSTICA URBANA DE GALLINAS DE POSTURA.

Ambriz García Demetrio^a

Navarro Maldonado María del Carmen^a, Alfredo Trejo Córdoba^a

^aDepartamento de Biología de la Reproducción. Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa, deme@xanum.uam.mx, dbr@xanum.uam.mx, atrejo109@hotmail.com

RESUMEN

Las condiciones de las grandes urbes ofrecen singulares beneficios, de modo tal que atraen incluso a las personas de la periferia y de zonas rurales, las cuales mueven junto con ellas su historia, tradiciones y cultura, sin embargo la ciudad también presenta algunos problemas importantes como por ejemplo el hacinamiento, presiones psicológicas, generación de desechos y otros. Las pequeñas unidades de producción animal dentro de un medio urbano pueden ser una alternativa importante para resolver algunos de los problemas mencionados, así como generar otro tipo de bondades. El presente trabajo describe la experiencia con una pequeña granja de gallinas de postura en un medio urbano-residencial. El diseño de esta granja permite ser amigable con el entorno, en un respeto estricto al vecindario, al ambiente y al bienestar animal. La granja resultó ser una terapia ocupacional de gran valor, además permitió el aprovechamiento de todos los desechos orgánicos derivados de la cocina así como ofreció día a día, durante dos años, huevo fresco y de alta calidad a bajo costo para el consumo familiar. Se concluye que es ampliamente deseable aprovechar las bondades de este sistema de producción en beneficio de nuestra salud física y emocional.

INTRODUCCION

Las aves han sido de las especies que el ser humano ha aprovechado desde su propio origen. El huevo, producto de la ovulación de estas especies animales, ha sido utilizado de variadas maneras por las diferentes culturas culinarias del orbe, siendo en la actualidad el principal producto de origen animal que se consume debido a la versatilidad de su preparación y en especial a su alto valor nutrimental y bajo costo económico. La FAO (2013) contempla de manera prioritaria la producción de aves como alternativa para paliar el hambre en el mundo a través de su crianza y aprovechamiento por personas especialmente residentes en áreas rurales y también en medios urbanos. Las gallináceas requieren de espacio y cuidados sencillos que pueden ser brindados por niños, mujeres o personas de edad avanzada, de manera que contribuyan activamente para satisfacer las necesidades prioritarias de su hogar (Lozada et al., 1998). Por otro lado, ha sido declarado por la OMS, que el problema principal de salud que aqueja a la población humana en el orbe está relacionado con el estilo de vida, enfatizando los problemas de ansiedad, depresión, angustia y estrés como prioritarios y derivados de ellos toda una gama de patologías. Además se ha mencionado que el cuidado de plantas y animales tiene beneficios importantes para las personas, es decir, que al momento de atenderlas, procurarles los cuidados y atenciones, se reducen los problemas de ansiedad, depresión, angustia y estrés de la persona involucrada. Lo que destaca que el cuidado de otros organismos trae beneficios para la salud humana y además, en caso de ser una especie animal productiva, permite el aprovechamiento del recurso para beneficio de la alimentación y de la economía familiar.

La gallinas son animales pequeños, rústicos y de necesidades modestas en cuanto a espacio y alimentación se refiere. Es recomendable comprar las pollas cuando ya estén fuera de "fuente de calor" es decir, que hayan sido criadas de manera cuidadosa en recintos específicos y cuenten con una cobertura adecuada de plumaje. Cabe recordar que cuando eclosionan del huevo, el cuerpo de las pollas está cubierto por un plumón que poco a poco van cambiando por plumaje. El plumón y la corta edad de las aves son proclives a problemas de termorregulación, por lo que la crianza a edad temprana es delicada. En los centros de crianza especializados o granjas avícolas, además aplican las vacunas necesarias para el mantenimiento de la salud en esa delicada etapa inicial. La

venta al público de pollas ya emplumadas es hacia las 3 semanas de edad, a un costo promedio de 16 pesos por unidad (un dólar). Además para ese momento ya se aprecian signos de dimorfismo sexual, por ejemplo en el macho en las plumas de la cola, las cuales son más abundantes y erguidas, así como la aparición de la cresta, de manera que es más accesible comprar preferentemente hembras para este fin., Es importante recordar que la postura del huevo no depende de la presencia del macho, de manera que si se prefiere tan solo se pueden comprar hembras. En caso de considerarlo conveniente (producción de huevo fértil, empollar y generar nuevos pollos o tan solo por conservación de estructura social) se pueden elegir también los gallos necesarios.

La postura se iniciará cuando las gallinas tengan 20 semanas y se continuará durante dos años más. Durante el primer año la postura es mayor y en la segunda decrece considerablemente. La postura de huevo se recomienda evaluarla a través de considerar el huevo producido por día (uno por gallina) entre el total de las aves de la granja y multiplicado por 100, De tal modo, que si se cuenta con 100 gallinas y se recogen 50 huevos se estará obteniendo un 50% de postura. En este sentido la postura durante el primer año es mayor del 60% en promedio y durante el segundo menor del 40%. Esto implica que los costos de producción en el segundo año son mayores y el beneficio económico puede verse reducido.

Los modelos de una granja pequeña dependerán de la condición del medio urbano de que se trate, ya que éste es considerablemente variable. Pero en todos ellos debe haber un estricto respeto al vecindario, considerando problemas que pudieran originarse con las aves, tales como ruido, pluma, moscas, roedores y otros, así como también es de vital importancia considerar los principios de bienestar animal con los espacios y cuidados necesarios para las gallinas.

El presente trabajo propone un modelo pequeño de granja de gallinas en un medio urbano residencial con la aplicación de los elementos anteriormente planteados.

MATERIAL Y METODOS

Se construyó un corral para cinco gallinas (Raza Rhode Island Red) en la azotea de la casa ubicada en una zona residencial (Iztapalapa). El corral tuvo una superficie de 2.5m x 2.0m (5m²) y una altura de 2 m. Se realizó de herrería con malla ciclónica y techado con lámina translúcida. Dicho corral comparte otros 50m² de la azotea, donde las gallinas también tuvieron acceso aunque de manera controlada. Los comederos y bebederos fueron botes de plástico con capacidad para 4 litros sujetos firmemente a las paredes del corral. Las condiciones ambiente de iluminación, ventilación, humedad y temperatura fueron las naturales. Para su alimentación se utilizó un alimento balanceado comercial para gallinas en postura (marca Campi), al cual se le agregó 50% de maíz quebrado. En la zona urbana referida es complejo conseguir todos los ingredientes necesarios para la preparación de una dieta pero a cambio si existe en la zona un proveedor de alimentos para animales. Dado que como parte de la dieta se incluyeron de manera relevante los desechos del hogar, tales como cáscaras de frutas y verduras, pequeñas porciones de sopa y otros, se decidió también incluir un 50% de maíz quebrado al alimento balanceado comercial dado que este último se contaba en abundancia en el lugar donde se tuvieron las gallinas.,

Se colocó una percha a 30 cm del piso para descanso de las aves. El bote con agua, diariamente se lavó y el agua resultado de esto se aprovechó para la producción de forraje verde, el cual consistió en germinar en pequeños botes de cartón de leche semillas de maíz. Una vez emergidas las plántulas (7 días) se colocaron en microinvernaderos hechos con bidones (envases de plástico con capacidad de 20 litros) al cabo de 2 semanas más (21 días en total) las plántulas de maíz tuvieron una talla de 30 cm. Se removió la tierra y las raíces fueron lavadas. Plantas y raíces fueron proporcionadas regularmente a las gallinas.

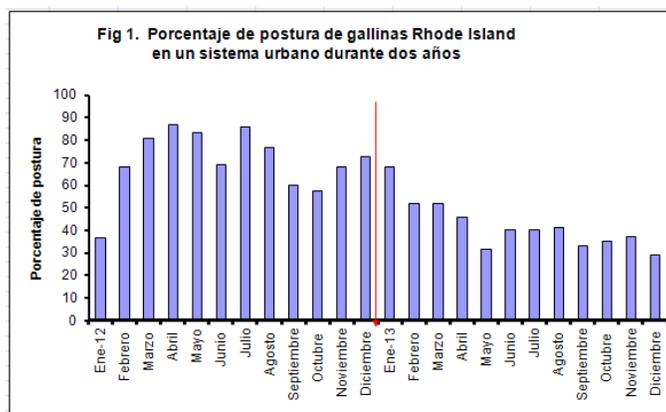
Se colocó un nido fabricado en caja de madera (contenedor de fruta o huacal) al cual se le colocó en la base un costal de plástico. El nido y el costal se lavaron y desinfectaron en cloro (2 ppm) cada dos semanas para evitar la proliferación de corucos.

Cada tercer día se hizo la limpieza del corral levantando las excretas, mismas que fueron guardadas en un costal para utilizarlas como gallinaza en la alimentación de borregos en otro sitio. Las gallinas salieron del corral cada mañana y tarde, 30 minutos por ocasión. Las pollas fueron alimentadas a libertad con la dieta señalada de las 3 a las 20 semanas momento en que inició la postura y a partir de este momento se proporcionaron 120 gr de alimento-maíz por ave, más los residuos vegetales y las plántulas. El huevo se recogió diariamente y se registró su número. Dado

que en la zona no hay población de gallinas no se aplicaron vacunas y dada la condición de salud prevalente no se utilizaron antibióticos.

RESULTADOS

Como era lo esperado, la postura fue mayor del 60% durante el primer año, disminuyendo hacia el 40% en el segundo año. Los mejores porcentajes de postura fueron alcanzados en los meses de mayor insolación (primavera-verano), durante el primer año, puesto que en el segundo el declive en la curva de postura fue constante conforme transcurrieron los meses, hasta llegar al 30% en diciembre del segundo año. Algunos avicultores recomiendan solo dejar las gallinas de postura durante el primer año, puesto que inevitablemente durante el segundo la puesta disminuye, y de ahí hasta alcanzar durante toda la vida de las gallinas, una cantidad cercana a los 500 huevos por animal. En el presente trabajo, con las condiciones señaladas, la postura en dos años fue de 384 huevos por gallina, con un promedio total de producción de 5 gallinas de 70 huevos al mes durante el primer año y de 42 para el segundo.



Las bondades de este pequeño sistema de producción de huevo en un medio urbano no solo competen a la obtención del producto sino además la utilización y conversión de los residuos de la cocina o del jardín, y en especial la terapia ocupacional para los involucrados de manera directa y pudiendo incluso verse beneficiados con esta actividad otras personas del vecindario que gusten de dicho sistema de producción.

CONCLUSION

Es posible en pequeño sistema de producción de huevo de gallina en el medio urbano oobtener satisfactores tales como el huevo para plato y una importante terapia ocupacional en beneficio de la salud humana y en estricto respeto al vecindario y a los principios de bienestar animal.

BIBLIOGRAFÍA

1. Hernández, L., 2006 La agricultura urbana y caracterización de sus sistemas productivos y sociales como vía para la seguridad alimentaria en nuestras ciudades. Cultivos Tropicales 27 (2): 13-25.
2. FAO. 2013, Agricultura urbana y periurbana pp 166.
3. Lozada, H, Martinez H., Vieyra J, Pealing L., Zavala y Cortés J., 1998, Agricultura urbana en la zona metropolitana de la Ciudad de Mexico. Enviroment and Urbanization 10:(2) 37-54.

FORMULACION, EVALUACION NUTRIMENTAL Y MICROBIOLOGICA EN CARNE DE CONEJO PARA HAMBURGUESA

Leticia Rodríguez Serrano¹. Estéfana Alvarado Bárcenas²

¹Estudiante de Ingeniería en Industrias Alimentarias, ²Docente del Instituto Tecnológico de Roque Extensión Apaseo el Ato, Gto. Lety2789@hotmail.com

RESUMEN

La producción de carne de conejo es una opción para el desarrollo de ciertas regiones rurales y suburbanas, principalmente en aquellas donde existen altas densidades de población, se puede considerar como un sistema alternativo de producción, además es una especie que presenta una considerable aceptación y/o consumo de esta carne. Las razas más populares para la producción de carne son las razas Neozelandés y Californiano, sin embargo, no se utilizan en la producción de carne en forma "raza pura", sino generalmente como cruce de progenitores, por lo que obtienen animales "híbridos" con alto potencial de conversión (*Oryctolagus cuniculus*). La carne de conejo posee características importantes que lo convierten en una opción viable para poder incrementar rápidamente la disponibilidad de proteína animal y bajo contenido en grasa (5%). El objetivo de este trabajo fue la elaboración de carne para hamburguesa a base de carne de conejo y su respectivo análisis sensorial, mediante una prueba hedónica, los resultados se analizaron por medio de una prueba de estadística descriptiva. La carne en fresco se realizó un análisis proximal un análisis microbiológico utilizando todo el conejo de forma integral debido a su tamaño, por triplicados y mediante las técnicas estandarizadas del AOAC (2012). Los resultados que se obtuvieron en la carne de conejo fresca sus características fisicoquímicas, se encontraron dentro de los parámetros establecidos; mientras las propiedades nutrimentales demostraron una buena CRA y un bajo CE, en el análisis sensorial obtuvo una buena aceptabilidad al igual que los análisis microbiológicos que se encuentra dentro de la normatividad vigente.

Clave: híbrido (Oryctolagus cuniculus), carne para hamburguesa, conejo, sensorial.

INTRODUCCION

Los hábitos alimentarios se configuran fundamentalmente, en la infancia y se desarrollan y asientan a lo largo de la vida del sujeto. La sociedad moderna presenta diversas características la relación social, el ritmo de vida, la mujer en el mercado de trabajo, la introducción de nuevas culturas culinarias, que no favorecen los hábitos alimentarios saludables y que deben ser tomados en cuenta en el momento de establecer un plan de intervención educacional. La carne de conejo está considerada como un alimento sano, habitual en una buena dieta, y que forma parte de gran variedad de menús a lo largo de nuestra geografía. Se engloba perfectamente dentro de una alimentación saludable y es un alimento adecuado para todo tipo de edades: niños, adolescentes, adultos y ancianos (Hernández, 2008). Más de 90 por ciento de la carne que se consume en el mundo es de cerdo, res y aves, sólo 0.5 corresponde a la de conejo. Mientras que en Italia, la demanda per cápita es de 5.3 kilos al año, en México sólo llega a alrededor de 40 gramos (Gamboa, 2001). El conejo (*Oryctolagus cuniculus*) es una de las especies animales con mayor eficacia biológica, estimándose que una hembra puede producir al año entre 16 y 18 veces su peso en gazapos. En estas características económicas relacionadas con la producción del animal hay que añadir las características de su carne en cuanto a su composición, calidad, su textura y su digestibilidad (Usda, 1986). En los conejos sucede que en las razas puras son delicadas y poco productivas, sin embargo, con el cruzamiento de dos razas puras aparece un nuevo ordenamiento genético denominado "vigor híbrido". Nace un nuevo tipo de animal que es superior a sus padres y por supuesto, más productivo (Gamboa, 2001). Es más resistente, tiene más fertilidad y lo más interesante: una increíble velocidad de crecimiento (Mendoza, 2001). La producción de carne de conejo y sus derivados es una de las cadenas productivas más dinámicas, con un crecimiento acelerado y con gran importancia social debido a que el 90% de los productores pertenecen a pequeños productores los cuales mejoran su ingreso y su alimentación al dedicarse a esta actividad (Ortiz, 2001). La carne de conejo es un alimento magro, es decir, con un bajo

contenido en grasa, bajo contenido en colesterol y sodio, tiene un alto contenido en vitaminas del grupo B, vitamina E y minerales, Sus proteínas de alto valor biológico son necesarias en todos los periodos de la vida, fácil digestibilidad por ser tierna, pobre en colágeno (Ramírez, 2004). Las exigencias de la sociedad en la calidad de los productos cárnico obligada a estar a la vanguardia de los estándares de calidad definida como “aquello que el público prefiere y está dispuesto a pagar un precio superior (Hernández, 1997). Las propiedades sensoriales por las cuales los consumidores juzgan la calidad de la carne principalmente son su apariencia, textura, así como su aroma. El sabor involucra la percepción de cuatro sensoriales básicas: salado, dulce, ácido, amargo atribuida por las papilas gustativas de la lengua. El aroma se detecta por numerosos materiales volátiles que estimulan las terminales nerviosas en los pasajes nasales. Los músculos más utilizados en la vida del animal tienen un sabor más pronunciado por que presentan más derivados de compuestos fosfóricos que almacenan energía. El sabor y el aroma que hace diferenciar de una especie de otra, produce de materiales que se desprenden de la grasa al cocinar la carne (Judge, 1989).

La calidad de la carne tradicionalmente está determinada por aspectos sensoriales (apariencia, textura, aroma y sabor). Actualmente otros factores como el valor nutritivo y la seguridad alimentaria han cobrado gran importancia. La estrecha relación entre la dieta y la salud ha conducido a cambios en los hábitos del consumidor, exigiendo productos que respondan a sus preferencias alimentarias y nutricionales. En este contexto, la carne de conejo es muy valorada por sus propiedades nutricionales y dietéticas, es una carne magra, con un bajo contenido de grasa y con menor contenido en ácidos grasos saturados y colesterol que otras carnes. Además es una carne blanca, fácil de cocinar, de buen sabor y adaptable a todas las dietas, adecuada para el consumo en niños, ancianos y enfermos, llegando incluso como carne deshuesada a ser industrializada como alimento para bebés (Hernández, 2008).

MATERIALES Y METODOS

El trabajo se desarrolló en el laboratorio del Instituto Tecnológico de Roque Extensión Apaseo el Alto, Gto. Km. 12 de la carretera Apaseo el Alto – Jerecuaro. El material biológico utilizado fue carne de conejo la cual fue procesada y distribuida en tres tratamientos de la misma forma con la finalidad de preparar una carne para hamburguesa y realizar sus respectivos análisis fisicoquímicas y microbiológicos, para la elaboración de la carne para hamburguesa fueron agregados los siguientes ingredientes: pan molido 50g, cátsup 10ml, mostaza 10ml, huevo 1pza, cilantro al gusto, cebolla al gusto). Para procesar la carne fue utilizada una multi procesadora®, durante 10 seg, hasta obtener una mezcla parcialmente homogénea, se realizaron las carnes para hamburguesa y se realizó una prueba hedónica. Para la evaluación fisicoquímica se tomó en cuenta los siguientes parámetros:

ANALISIS	METODOS
Humedad y extracto seco	AOAC 930.15/95
pH	AOAC 981.12/90
Proteína	AOAC 24.027/95
Materia grasa	AOAC 24.005/95

Y para el análisis microbiológico se realizó un lavado de la carne de conejo con agua de peptona bacteriológica 0.1%. Se realizaron siembras por triplicado para determinar los recuentos de *salmonella* en placas de agar “verde brillante” incubando a 35°C por 48hr

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El resultado de la caracterización fisicoquímica de la carne de conejo se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Análisis fisicoquímicos de la carne de conejo

PARAMETRO	VALOR PROMEDIO POR REPETICIONES	DESVIACIÓN ESTANDAR
-----------	---------------------------------	---------------------

Humedad	75.56%	± 0,0260
Extracto seco	22.89%	± 0,0100
pH	6.22%	± 0,0100
Proteína	20.91%	± 0,0045
Grasa	12.6%	± 0,0001

Fueron evaluadas cuatro propiedades funcionales descritas a continuación:

Capacidad de retención de agua (CRA): Se realizó utilizando el método a presión en papel filtro para análisis cuantitativo de 110 mm de diámetro. Se calculó la capacidad de retención de agua como porcentaje de agua expedida (González, 2007).

Capacidad emulsionante (CE): Se empleó la técnica descrita por Webb et al. (1970).

La CE se calculó en ml de aceite gastado por g de carne utilizada.

Figura 1. Prueba hedónica la aceptación de la H. de conejo.

De acuerdo a los resultados realizados en el análisis nutricional muestran valores similares, en cuanto al contenido de agua, carbohidratos y cenizas y muestra bajo contenido en lípidos cuadro 2.

Cuadro 2. Contenido de valores de análisis proximal de carne de conejo

Contenido	Conejo (%)
Agua	75
Proteína bruta	20
Lípidos	3
Carbohidratos	1
Cenizas	1

En la cuenta de bacterias el resultado obtenido, en conteo de bacterias de *salmonella*, se encuentra dentro de los niveles aceptables de acuerdo a la norma NOM-034-SSA1-1993.

CONCLUSION

En los resultados podemos demostrar la aceptación de la carne para hamburguesa a base de conejo ya que la mayoría de nosotros estamos acostumbrados a comer carnes (cerdo, res o pollo). En cambio es una buena oferta para tener en nuestra dieta el conejo. Por lo regular las personas no acostumbran la carne de conejo por simple cultura, y es una buena oportunidad para que comiencen su consumo. La carne de conejo es un alimento adecuado para incluir en una dieta equilibrada, completa y sana, porque: a) Es una carne magra, b) Es fuente de proteínas de alto valor biológico, c) Tiene un alto contenido en fósforo, es fuente de selenio y potasio, d) Tiene un alto contenido en vitaminas del grupo B (B12, B6 y B3), e) Es una carne muy digestiva por su bajo contenido en colágeno, f) Tiene una gran versatilidad gastronómica, ya que admite una amplia variedad de formas de preparación y cocinado y g) Es una carne sabrosa.

BIBLIOGRAFIA

Hernández, P. 2008. La carne de conejo como alimento funcional. Instituto de Ciencia y Tecnología Animal. Universidad Politécnica de Valencia, España.

Gamboa, C. 2001. Estudio de Mercado de la Carne de Conejo en el Municipio de Texcoco. Tesis en maestría Instituto de Recursos Genéticos y Productividad, Especialidad en Ganadería, Colegio de Postgraduados, Texcoco, Edo. de México.

USDA. 1986. Nutrition and your health: dietary guidelines for Americans., 2 ed, Home Vol. No. 232. Graden Bull, Washington, D.C.

Hernández, P. 1997. Calidad de la carne de conejo. Lagomorpha, pp. 13-19

Mendoza, A. 2001. Situación de la cunicultura en México. Boletín de cunicultura. pp. 60-68

Ortiz, H. 2001. Evaluación del rendimiento y calidad de canales de conejos de aptitudes cárnicas y aptitudes peleteras. UNAM., México, D.F.

Ramírez, TJA. 2004. Características bioquímicas del musculo, calidad de la carne y de la grasa de los conejos seleccionados por velocidades de crecimiento. Universidad Autónoma de Barcelona, España.

Hernández, P. 2008. *La carne de conejo como alimento funcional. Instituto de Ciencia y Tecnología Animal.* Universidad Politécnica de Valencia. Valencia 46022.

González, P. 2007. Capacidad de retención de agua y pH de la carne de conejos de monte procedentes de caza. Congreso Ibérico de Cunicultura.

APLICACIÓN DE LA ELECTROFORESIS CAPILAR PARA LA CARACTERIZACIÓN FÍSICA DE NANOPARTÍCULAS DE AU.

María Esther Bautista Ramírez^a, Yolanda Gomez y Gómez^a, Alejandro Cruz^b, José Abraham Balderas López^b

^aDepartamento de Bioprocesos, ^bDepartamento de Ciencias Básicas, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, Instituto Politécnico Nacional, México D.F. maestherbr@gmail.com, mbautistar@ipn.mx

RESUMEN

Introducción: Las nanopartículas se definen como partículas cuyo tamaño es menor a 100nm, las nanopartículas metálicas se identifican por exhibir excelentes propiedades físicas, químicas y biológicas que les confieren diversas aplicaciones que son totalmente dependientes a su tamaño nanométrico por lo que es importante realizar la caracterización de tamaño de las mismas. Actualmente existe una gran variedad de técnicas microscópicas para caracterizar físicamente nanopartículas que se identifican por ser técnicas costosas y muy complejas, por ello se propuso utilizar otra técnica alternativa para caracterizar nanopartículas, como es la electroforesis capilar, que en comparación a las técnicas microscópicas, se identifica por ser una técnica sencilla, de bajo costo y más accesible.

Metodología: se utilizaron estándares de nanopartículas metálicas de oro de 5, 50, 100, 200, y 300 nm obtenidas de Sigma®. Para la preparación de los buffers se utilizó ácido 3-ciclohexamino-1-1-propanosulfónico (CAPS) proveniente de Sigma®, dodecilsulfato sódico (SDS) procedente de Promega Corporation. Las separaciones se realizaron usando el sistema de Electroforesis Capilar Beckman Coulter Modelo: P/AC MDQ, se utilizó un capilar de sílice fundida (diámetro interno: 75µm y longitud total 33.4 cm).

Resultados y discusión: Se variaron condiciones como tipo y concentración de buffer, concentración de surfactante y voltaje, obteniendo mejores resultados utilizando buffer CAPS 10mM, SDS 70mM con un Voltaje de 30 Kv y un tiempo de inyección de 60 s a una longitud de onda de 532 nm donde se obtuvieron los tiempos de migración para las diferentes nanopartículas de Au 5nm(0.36 min), 50nm (0.44 min), 100nm(0.51min), 200nm(0.61min) y 300 nm (0.74 min) fig1. **Conclusiones:** Se logró implementar un métodos para la caracterización de nanopartículas de oro mediante la técnica de electroforesis capilar, obteniendo una curva de calibración con una $R^2=0.99$ con la cual pueden caracterizarse nanopartículas en un intervalo de 5-300nm, utilizando buffer CAPS 10 mM, SDS 70 mM.

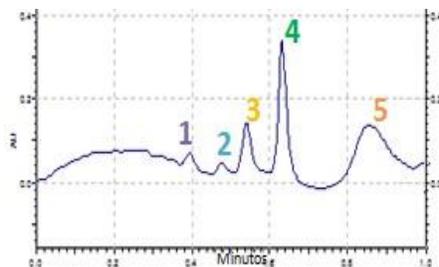


Figura 1. Electroferograma mezcla de nanopartículas de AU

(1) 5nm, (2) 50nm, (3) 100nm, (4) 200nm y (5)

INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años los términos nanociencia y nanotecnología han originado gran relevancia en el ámbito científico, esto se debe a que la nanotecnología junto con otras ciencias se ha convertido en áreas prioritarias en el desarrollo científico y tecnológico actual. La nanociencia estudia todos aquellos fenómenos físicos o químicos que ocurren a una escala nanométrica en la que las propiedades de los materiales difieren significativamente de las que se pueden observar a gran escala, por su parte la nanotecnología se encarga de diseñar, conformar, sintetizar dispositivos o materiales a un nivel nano para usarse de forma práctica.

Nanociencia y nanotecnología, ciencia básica y ciencia aplicada respectivamente, tienen su fundamento en el estudio de los fenómenos ocurridos a escala nanométrica y en los llamados nanomaterial y constituyen un nuevo dominio científico que ha surgido para el diseño, manipulación, fabricación y aplicación de nuevas estructuras y materiales. A través de ellas se puede comprender la relación que se tienen entre las propiedades físicas y/o químicas de los materiales y las dimensiones de los mismos (Domínguez S.2011). Para comprender y tener una visión del mundo a escala nanométrica podemos visualizar la Figura 1.

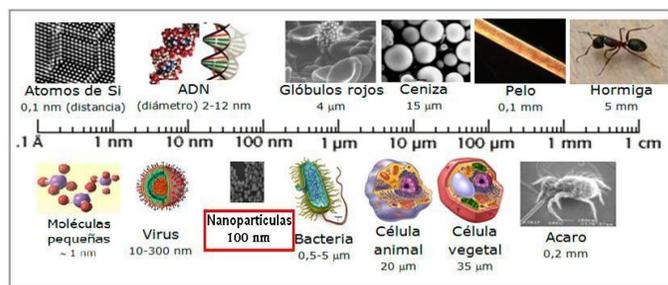


Fig.1. Escala nanométrica (www.quimicaviva.qb)

Hablar de nanómetros, es hablar de tamaños de moléculas muy pequeñas, a escala del tamaño de virus o del tamaño del ADN, donde también encontramos las llamadas nanopartículas.

Las nanopartículas metálicas han fascinado al mundo científico durante más de un siglo, en nuestros días son muy utilizadas en las ciencias biomédicas y la ingeniería. Son de gran interés debido a su enorme potencial en la nanotecnología. Actualmente las nanopartículas metálicas pueden ser sintetizadas y modificadas con diversos grupos funcionales químicos que les permiten ser conjugados con anticuerpos, ligandos y fármacos de interés, abriendo así una amplia gama de potenciales aplicaciones en la biotecnología y medicina, sobre todo en el diagnóstico de enfermedades. Las nanopartículas metálicas se caracterizan por exhibir excelentes propiedades físicas, químicas y biológicas, que son totalmente dependientes a su tamaño nanométrico. Metales como oro, plata, paladio, hierro, titanio, bismuto, cobre entre otros, han sido empleados para fabricar nanopartículas de diversas formas y tamaños (Garduño M.

2011).

Las nanopartículas metálicas de oro presentan un extraordinario potencial como agente fototerapéutico en el tratamiento del cáncer, la elaboración de nanoestructuras, componentes electrónicos, vectorización de fármacos y moléculas terapéuticas, así como también se emplean en terapia génica como vehículos de plásmidos, DNA, RNA etc. El uso de oro con fines terapéuticos se remota a la antigüedad desde el manejo de oro coloidal en China en 2500 A.C., en el siglo XVI fue utilizado para tratar epilepsia y en el siglo XIX se utilizó para tratar la sífilis. Robert Koch descubrió su efecto como bacteriostático (Alqadi S., Remuñan C. 2009)

Las nanopartículas de oro pueden ser fácilmente funcionalizadas con amplios ligandos

anticuerpos, polímeros, sondas de diagnóstico, fármacos, material genético, etc. (Figura 2), y producidas con distintos tamaños y formas, una de las ventajas que tiene sobre las demás partículas, es que pueden ser fácilmente preparadas y se pueden obtener diferentes tamaños entre 1 nm y 150 nm.

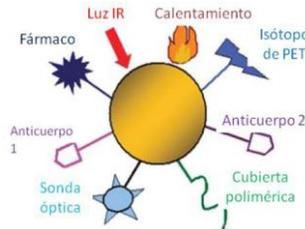


Fig. 2. Nanopartícula de oro funcionalizada

Caracterización de nanopartículas

Se pueden caracterizar diversas propiedades de las nanopartículas: Propiedades químicas, propiedades superficiales y tamaño y morfología.

Caracterización microscópica de nanopartículas

Como se ha mencionado, una de las características principales de las nanopartículas es su tamaño ya que muchas otras propiedades físico-químicas son dependientes del mismo, dichas propiedades pueden conferir a las nanopartículas diversas aplicaciones, como las que se han mencionado anteriormente, por ello es de suma importancia realizar una caracterización física de tamaño puesto que con base a su tamaño se definen sus aplicaciones, actualmente existe una gran variedad de técnicas microscópicas para la caracterización de nanopartículas, entre las cuales se encuentran la microscopia electrónica de transmisión (TEM), la microscopia de barrido túnel (SEM), microscopia de fuerza atómica (AFM), cada una de estas técnicas presenta ventajas y desventajas respectivamente, pero tienen en común ser técnicas altamente costosas y muy complejas.

Electroforesis Capilar

La electroforesis capilar EC es una técnica utilizada para separar moléculas, permitiendo identificarlas y cuantificarlas. El principio de esta técnica, está basado en el desplazamiento de sustancias cargadas bajo un campo eléctrico por lo que la EC se puede definir como un método de separación de especies eléctricamente cargadas en solución, bajo la influencia de un campo eléctrico. En EC es importante el flujo electroosmótico que se origina por la presencia del campo eléctrico en una solución iónica cuando entra en contacto un electrolito con una superficie sólida y cargada como son los capilares de sílice. El equipo de electroforesis capilar es relativamente sencillo y versátil (Fig. 3).

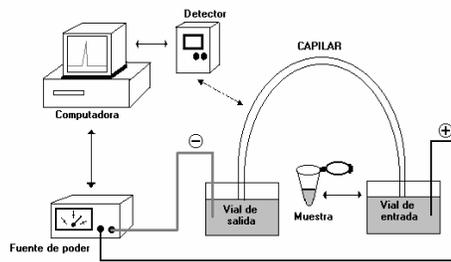


Fig. 3 Sistema general de electroforesis capilar

En EC la computadora controla la fuente de poder y la señal del detector. La muestra se introduce al capilar, generalmente por presión. La entrada y salida del capilar deben estar inmersas en el buffer que realiza la separación. Los electrodos, que están conectados a la fuente de poder, se encuentran en cada extremo del capilar. La corriente se establece de cátodo a ánodo. Cuando los analitos migran, pasan a través de una ventana dentro del mismo capilar y la señal se transforma para poder ser interpretada. En años recientes la electroforesis capilar EC ha tenido gran auge debido a las ventajas que presenta como método de separación de mezclas complejas, rapidez de análisis, mínimo uso de muestra y solventes orgánicos. (Castagnino J. 2000 y Ramírez A. 2012)

PARTE EXPERIMENTAL

Se utilizaron estándares de nanopartículas metálicas de oro de 5, 50, 100, 200, y 300 nm obtenidas de Sigma®. Para la preparación de los buffers se utilizó ácido 3- ciclohexamino-1-1-propanosulfónico (CAPS) proveniente de Sigma®, dodecilsulfato sódico (SDS) de Promega Corporation, buffers de boratos y fosfatos así como las ciclodextrina α y γ . Para preparar los buffers se utilizó agua desionizada. Todos los buffers que se utilizaron fueron preparados y filtrados con una membrana de 0.2 μm el día que se utilizaron. Todas las separaciones se realizaron usando el sistema de Electroforesis Capilar Beckman Coulter Modelo: P/AC MDQ, un capilar de sílice fundida recubierto de polimida (diámetro interno: 75 μm , longitud: 33.4 cm). Antes de ser utilizado, el capilar se trató con un lavado secuencial de 3 min por cada una de las soluciones siguientes, Agua desionizada, NaOH 1M, NaOH 0.1M y buffer de corrida, el capilar también se enjuaga con agua durante 3 min entre cada solución. Los experimentos de electroforesis capilar se realizaron a una temperatura de 25°C en un modo directo, utilizando diferentes métodos, (Tabla 1) en los cuales se variaron las condiciones de separación como buffer, voltaje, tiempo de inyección y longitud de onda. Antes de realizar la separación, las nanopartículas de oro fueron sonicadas durante 10 min utilizando el equipo ultrasónico Auto sciencie® modelo AS3120B.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se muestran los diferentes métodos utilizados para la caracterización de los diferentes tamaños de nanopartículas donde se probaron diferentes buffers como el de fosfatos, boratos y CAPS, a una concentración de 10 mM adicionando SDS 40 y 70 mM donde no se obtuvo una óptima separación (electroferogramas no mostrados). Al utilizar CAPS y diferentes surfactantes SDS, ciclodextrina α y ciclodextrina γ , se obtuvo una mejor separación al utilizar CAPS 10 mM, SDS 70 mM utilizando un voltaje de 30Kv donde se obtuvo el electroferograma de la (fig. 4)

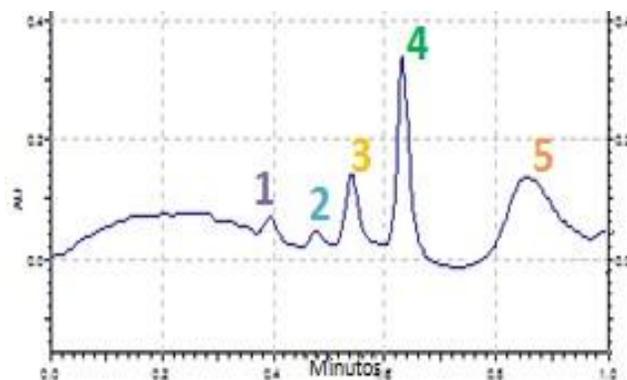


Fig.4. Electroferograma mezcla de nanopartículas de Au estándar de (1) 5nm, (2) 50nm, (3) 100nm, (4) 200nm y (5) 300nm buffer CAPS 10mM / SDS 70 mM (pH 10), a un voltaje de 30 Kv, a 532nm (método 7).

Tabla 1. Diferentes métodos probados

Condiciones De separación	Método 1	Método 2	Método 3	Método 4	Método 5	Método 6	Método 7
Buffer	Fosfatos 10mM SDS 40mM pH 7	Boratos 10mM SDS 40mM pH 9	CAPS 10mM SDS 70mM pH 10	CAPS 10mM SDS 70mM pH 10	CAPS 10mM SDS 70mM pH 10	CAPS 10mM Ciclodextrina α 70mM pH 10	CAPS 10mM Ciclodextrina γ 70mM pH 10
Voltaje	25 Kv	25 Kv	25 Kv	25 Kv	30 Kv	25 Kv	25 Kv
Tiempo de inyección	30 s	30 s	30 s	60 s	60 s	60 s	60 s
Longitud de onda	520 nm	520 nm	530 nm	530 nm	532 nm	530 nm	530 nm
Temperatura	25°C	25°C	25°C	25°C	25°C	25°C	25°C

De acuerdo a los diferentes tiempos de migración para las diferentes nanopartículas de Au 5nm(0.36 min), 50nm (0.44 min), 100nm(0.51min), 200nm(0.61min) y 300 nm (0.74 min) se realizó una regresión lineal donde se tiene una la siguiente ecuación $y=800.41x- 294.82$, donde se pueden caracterizar diferentes nanopartículas que tengan un tamaño entre 5 y 300 nm (fig. 5).

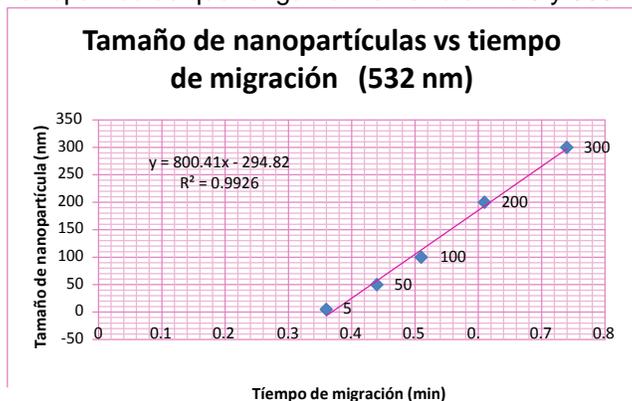


Fig.5. Gráfico del tamaño de nanopartícula vs tiempo de migración

CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo se tienen las siguientes conclusiones: Se logró implementar un método para la caracterización de nanopartículas metálicas de oro mediante la técnica de electroforesis capilar. Utilizando la técnica de EC, se consiguió obtener una curva de calibración de tamaño de nanopartículas metálicas de oro con una $R = 0.99$ con la cual pueden caracterizarse tamaños de nanopartículas en un intervalo de 5-300nm. Se logró observar los efectos que tienen diversas condiciones en los experimentos de EC, obteniendo mejores resultados utilizando buffer CAPS 10 mM, SDS 70 mM, un voltaje de 30 Kv. Se consiguió utilizar la electroforesis capilar como una técnica alternativa para la caracterización de nanopartículas metálicas de oro.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aguilar M. (2009). Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata: Efecto sobre *Colletotrichum gloeosporioides*. Tesis de doctorado, Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada, IPN, México.
2. Alqadi S., Remuñan C. (2009). *Nanopartículas metálicas: oro*. Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Santiago de Compostela.
3. Castagnino J. (2000). Bioquímica y fisicoquímica. *Electroforesis Capilar Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica, A.C. México*. 25, 13-32.
4. Domínguez S. (2011). *Síntesis de nanopartículas metálicas y de zeolitas para catálisis y separación de gases*. Tesis de doctorado. Universidad de Alicante.
5. Garduño Z. (2011). Fabricación de nanopartículas metálicas para aplicaciones fotovoltaicas. Tesis de Maestría, Escuela Superior de Ingeniería Mecánica y Eléctrica, IPN, México.
6. Ramírez A. G. (2012). *Desarrollo de un Método para la Determinación de Antibióticos en leche de Vaca por Electroforesis Capilar*. Tesis de licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. UNAM, México.

PECTINA DE NOPAL (*Opuntia ficus indica*) COMO ADITIVO QUÍMICO EN LA ELABORACIÓN DE PAN BLANCO

Laura Guzmán^a, Rosa García^a, José Rodiles^a.

^aFacultad de Químico Farmacobiología, UMNSH. Tzintzuntzan No. 173 Col. Matamoros C.P. 58234 Morelia, Michoacán, México. rmgarcim@umich.mx

RESUMEN

Las pectinas son polisacáridos vegetales, los cuales están formados por ácidos pectínicos con diferentes grados de esterificación. Su estructura básica está conformada por moléculas de ácido D-galacturónico unidos por enlaces glucosídicos α -D-(1,4). El nopal es endémico del continente americano, existen 258 especies reconocidas, la importancia del nopal es por su gastronomía, composición química y aporte nutrimental. La industria de la panificación busca la forma de potenciar el flavor de los productos por medio de aditivos. La pectina de nopal al poseer características gelificantes, se busca emplear como aditivo y como fuente de fibra soluble en la elaboración de pan. La fibra soluble está asociada con la disminución de glucosa, colesterol y triglicéridos en sangre. Este tipo de compuestos químicos permiten además funciones estructurales importantes tal como la construcción adecuada de redes en el pan contribuyendo a mejorar el esponjado, volumen y humectación por más tiempo y por tanto, alargar la vida de anaquel. Por lo cual, se usó pectina de nopal, como aditivo en la elaboración de pan de trigo. En este trabajo, se realizó la extracción mediante hidrólisis ácida calculándose el rendimiento con un 1.5 g/k de nopal. Las formulaciones base se establecieron de 3, 5 y 10 % de nopal deshidratado. Mediante pruebas sensoriales se encontró que las formulaciones más aceptadas fueron la de 3 y 5%, eligiéndose la formulación del 5% por aporte importante de fibra soluble. A esta, se le realizó el análisis proximal, textura y de capacidad espumante. La textura no se alteró al incorporar el nopal deshidratado a la formulación del pan. En las pruebas de espumado se observó que no hubo modificaciones, pero al alcanzar una concentración de 10 % de nopal ésta impedía la interacción de las proteínas-polisacárido evitando que el volumen del pan no alcanzara su volumen normal.

INTRODUCCIÓN

El pan es un producto alimenticio a nivel mundial. Junto con el trigo, la panificación fue introducida en México durante la conquista de los españoles, desde entonces el pan y sus derivados ocupan un lugar relevante en la dieta del mexicano.

El nopal, *Opuntia ficus indica*, es una cactácea endémica del continente americano y es parte esencial de la cultura mexicana. México posee el 68% de la diversidad de dicha planta. En 2013 se produjeron en México la cantidad de 786,774 ton de nopal para consumo humano y 140,723 ton de nopal para forraje. Michoacán aporta el 1.2% de dicha producción, siendo Morelos, DF y el Estado de México los principales productores.

100 g de nopal aporta a la ingesta diaria recomendada (IDR) cantidades considerablemente de calcio (20%), magnesio (15%), manganeso (15%), potasio (64%) y selenio (14%); además de las vitaminas C (21%), B9 (75%), A (51%), y K (44%).

Además, tiene un alto contenido de fibra, tanto soluble como insoluble; siendo esta última una de las características del nopal que más ha llamado la atención⁽⁴⁾.

En la actualidad la mala alimentación y el deficiente consumo de fibra han provocado un aumento de diversas enfermedades. La fibra como elemento nutricional va mucho más allá de su poder para regular la función intestinal, ya que posee funciones biológicas muy importantes para la prevención de un gran número de enfermedades (colitis, cáncer de colon y recto, constipación, hemorroides, divertículos, diabetes, y trastornos metabólicos como obesidad etc.)⁽³⁾

La fibra está constituida por los componentes estructurales de las paredes celulares de los vegetales entre los que destacan la celulosa, la hemicelulosa, ligninas y las pectinas. La fibra se clasifica en dos tipos: la fibra insoluble (celulosa, hemicelulosa, lignina) y que tiene la capacidad de

hinchamiento al absorber agua lo cual provoca que aumente el volumen de la materia fecal provocando un incremento en los movimientos peristálticos del intestino y facilitando la defecación; y la fibra soluble (pectinas, gomas, mucilagos) que forman soluciones viscosas de gran volumen por lo cual reduce el tiempo de estancia de sustancias dañinas para el cuerpo. ⁽¹⁾

Tabla 1. Valor Nutricional Nopal. 100 g

Kilocalorías	27
Agua	94
Proteínas	1.7
Lípidos	0.3
Carbohidratos	5.6
Cenizas	1.1

TEORÍA

El pan constituye la base de la alimentación a nivel mundial, no se sabe con exactitud cuando surgió el pan, pero se sabe que al principio el pan era una pasta plana, no fermentada, elaborada con una masa de granos machacados y probablemente cocidos sobre piedras calientes.

De acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-147-SSA1-1996 define al pan blanco al producto alimenticio elaborado mediante cocción por horneado de la masa fermentada, elaborada con harina de trigo, agua potable, sal yodada, levadura y otros ingredientes opcionales como grasas y aditivos permitidos.

Existen muchos tipos de pan alrededor del mundo, pero la forma más sencilla para clasificar éste son:

1. PAN COMÚN es de consumo habitual en el día, elaborado con harina de trigo, sal, levadura y agua, al que se le pueden añadir ciertos coadyuvantes tecnológicos y aditivos autorizados. Como Pan bregado, de miga dura.

2. PAN ESPECIAL es aquel que por incorporar algún aditivo o coadyuvante especial, por el tipo de harina, por otros ingredientes especiales (leche, huevos, grasas, cacao, etc.), por no llevar sal, por no haber sido fermentado, o por cualquier otra circunstancia autorizada, no corresponde a la definición básica de pan común como pan integral, pan de cereales, pan de huevo, etc.

El nopal *Opuntia ficus indica* es una cactácea que se desarrolla fácilmente en distintos ambientes desde zonas áridas hasta zonas muy frías, esta especie es la más cultivada en el mundo para la producción de pencas de nopal, sin embargo existen muchas más especies que se cultivan para este mismo fin como los son *O. robusta*, *O. leucotricha* etc.

Las múltiples cualidades del nopal, la disponibilidad de este en cualquier época del año, el bajo costo, la facilidad de desarrollo de la planta etc. Ha hecho que la producción del nopal haya incrementado en los últimos años. La demanda del nopal no solo ha incrementado en el país sino también en el extranjero, México es el principal exportador de nopal.

Los aportes nutricionales del nopal son excepcionales, aportando importantes cantidades de minerales a la dieta además de vitamina C, B₉, A y K. A pesar de que el Nopal es un alimento con un alto grado de humedad, su contenido de fibra dietética es mayor al 20% guardando una relación 30:70 de fibra soluble a insoluble. La fibra son aquellos componentes de los vegetales que no pueden ser degradados por las enzimas digestivas del hombre y que se encuentran fundamentalmente en las paredes celulares. La importancia del consumo de fibra reside por el incremento de las enfermedades relacionadas con la alimentación.

En relación con el agua la fibra se clasifica en dos tipos:

FIBRA SOLUBLE. Por su capacidad de captar agua reducen el tiempo de estancia de sustancias dañinas para el cuerpo. Además de captar agua, es capaz de disminuir la absorción de azúcares y grasas de los alimentos, por lo que el consumo de este tipo de fibra está asociado en la disminución de glucosa, triglicéridos y colesterol en sangre.

FIBRA INSOLUBLE. Se caracterizan por su baja fermentabilidad y por su capacidad de retener agua en el colon por lo que favorece el aumento del tamaño de la materia fecal, incrementando la velocidad del tránsito y la distensión intestinal.

Un problema que tiene nuestro país es el incremento de enfermedades relacionadas con la mala alimentación, y el deficiente consumo de fibra. La obesidad, la diabetes, el estreñimiento, la colitis, hemorroides, diversos canceres entre otras, son algunas de las enfermedades que tanto afectan a los mexicanos. La mala educación nutricional que tenemos en el país, y la poca disponibilidad de alimentos funcionales las elevan. Un alimento funcional es un alimento que le confiere al consumidor una determinada propiedad benéfica para la salud que disminuye el riesgo de contraer ciertas enfermedades además de sus propiedades nutritivas. Son alimentos que se les ha añadido, o incrementado algún componente.

PARTE EXPERIMENTAL

Se elaboraron panes adicionados con diferentes concentraciones de nopal deshidratado, se realizaron algunas pruebas a las diferentes formulaciones (prueba de espumado, prueba de textura y color) con el fin de analizar cambios en las características básicas del pan. También realizó un análisis sensorial para ver la aceptabilidad del pan modificado y en base a este análisis se seleccionó uno de los panes, el más aceptado por los panelistas para realizarle un análisis bromatológico.

La prueba de espumado consiste en medir con un vernier el pan desde la base del molde hasta el volumen final después del horneado. Se realizaron 4 formulaciones de pan (conc. 1%, 3%, 5% y 10%) de adición de nopal deshidratado, y un pan testigo. Esta prueba se realizó para poder observar si el nopal deshidratado modifica su capacidad de expansión del pan. En la tabla 2 se muestran los resultados, podemos observar que el nopal adicionado no afectó hasta cierta concentración; el pan con la concentración más alta (10%) disminuyó significativamente su volumen comparado con el pan testigo.

Tabla 2. Resultados de la prueba de espumado

	Testigo	Conc. 1%	Conc. 3%	Conc. 5%	Conc.10%
	3.7 cm	3.9 cm	3.8 cm	3.7 cm	2.9 cm
	3.8 cm	4.1 cm	3.9 cm	3.6 cm	2.8 cm
Promedio	3.75 cm	4.00 cm	3.85 cm	3.65 cm	2.85 cm

Para la prueba de textura, se utilizó el analizador de textura Texture Analyser modelo TA-XT2t, el análisis se realizó con un plato de compresión de 75 mm, con una distancia de compresión sobre el pan de 4 mm. Este parámetro fue medido como resistencia a la compresión que se ejerció sobre el pan. En la tabla 3 podemos observar que no hay diferencias significativas en los promedios. Los resultados son muy buenos puesto que la adición de nopal deshidratado no afectó esta característica del pan.

Tabla 3. Resultados de textura

	Testigo	Conc. 1%	Conc. 3%	Conc. 5%	Conc.10%
	9.43 N	8.98 N	9.3 N	10.08	9.21 N
	9.49 N	9.5 N	8.95 N	9.03	10.18 N
Promedio	9.46 N	9.26 N	9.13 N	9.56 N	9.70 N

La prueba de color se realizó en un colorímetro de Reflectancia Hunter Lab Marca Color Flex®, para obtener las coordenadas de color Luminosidad, a y b, para evaluar los cambios de colores. Las medidas del color se realizaron de la parte superficial del pan y la parte central. Los resultados obtenidos fueron que a medida que aumenta la adición del nopal, el pan se colorea de un ligero color verde. En el análisis sensorial veremos si esta coloración afecta la aceptación del pan.

Para la evaluación de las características organolépticas como color, olor, sabor y textura se realizaron pruebas panel de degustación y con ello poder evaluar el grado de aceptación del pan

adicionado con nopal deshidratado y seleccionar uno de los panes para realizar un análisis bromatológico. El flavor es el conjunto de las propiedades (color, olor, sabor y textura), en la tabla 4 observamos que el pan con menor concentración es el que tiene mayor aceptación pero el pan con 5% está muy cercano al de mayor aceptación, por lo cual se decidió por el pan de concentración. 5% para el análisis bromatológico.

Tabla 4. Resultados del Flavor

Flavor	
Muestra	% aceptación
Conc. 1%	75.2%
Conc. 3%	72.8%
Conc. 5%	74%
Conc. 10%	64.8%

En lo que respecta al análisis bromatológico, se eligió el pan de concentración al 5% por ser el pan de concentración más alta y más aceptado sensorialmente. En la tabla tenemos los resultados del análisis proximal en comparación con un pan testigo y podemos observar que el pan adicionado con nopal deshidratado nos aporta un extra de minerales (cenizas), de proteína y un aporte de fibra.

	Pan testigo	Pan conc. 5%
Humedad	30.95%	33.82%
Cenizas	1.05%	1.64%
Extracto etéreo	11.86%	8.57%
Proteína	1.24%	1.77%
Fibra cruda	-----	0.74%

CONCLUSIONES

El pan elaborado con nopal deshidratado tiene la finalidad de aprovechar todos los beneficios que aporta el nopal, pudimos demostrar en el análisis proximal que este pan nos aporta fibra, mas minerales y proteína que un pan común; la adición del nopal no afectó las características básicas del pan por lo que es una excelente opción para incluirlo en la dieta diaria, los mexicanos tenemos la mala idea que un alimento adicionado con algún ingrediente, para hacer el alimento nutritivo el sabor de este va ser desagradable, y con el análisis organoléptico que se realizó a este alimento funcional se demostró que la adición de nopal no afecto la aceptabilidad de este pan modificado.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aranceta. J., Gil, A. 2009. Alimentos funcionales. Capítulo 1. Alimentos funcionales y salud en las etapas infantil y juvenil. Editorial medica panamericana.
2. Badui Dergal S. 2006. Hidratos de carbono. Química de los Alimentos. Pearson. 4° edición. Pág. 107, 108.
3. Bautista M., Pineda R., y Camarena E. 2010. El nopal fresco como fuente de fibra y calcio en panques. Acta Universitaria. Vol. 20. Pág. 11 y 12.
4. Escobar L., Guamis B., y Amaya C. 2010. Desarrollo de un producto con nopal de alto contenido de fibra. Tecnología de Alimentos. Pág. 2,3 y 4.
5. Hernández A. Profeco. Nopal sabroso benéfico y barato. Pág. 62, 63 y 64.
6. Mesas J.M. Alegre M.T. 2007. El pan y su proceso de elaboración ciencia y tecnología alimentaria. Redalyc. Volumen 3. Páginas 307,309, 310, 313.
7. Murray, p. g. 2000. El poder curativo del nopal. Editorial Selector. México.

8. NOM-147-SSA1-1996, Bienes y servicios. Cereales y sus productos. Harinas de cereales, sémolas o semolinas. Alimento a base de cereales de semillas comestibles. Productos de panificación.
9. Sáenz, C. 2006. Características y composición química de los nopales. Utilización agroindustrial del nopal. FAO. Roma, Italia. Pág. 7-22.

ELABORACIÓN DE COMPOSTA CON RESIDUOS DE CÍTRICOS

De Luna Vega Alicia. dva20851@cucba.udg.mx García Sahagún María Luisa, Eduardo Rodríguez Díaz, Tule Mendoza Lilibeth Margarita, Colorado García Samuel.

Centro Universitario de la Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara

RESUMEN

Introducción. El composteo es una forma importante de reciclar elementos orgánicos residuales de la agricultura y la ganadería. Una de las principales tecnologías es el uso de composta que el productor puede elaborar en su unidad de producción, utilizando los materiales que dispone localmente. (de Luna y Vázquez, 2009).

Objetivo. La producción de composta elaborada con residuos de cítricos puede cumplir con los requerimientos mínimos de la norma y puede ser utilizada, como fertilizante orgánico en la producción de cultivos.

Materiales y métodos. La elaboración de la composta se realizó, utilizando 50 kg de estiércol de bovino, 50 kg de residuos de cítricos, 500 gr de levadura para pan y 500 gr de azúcar, estos ingredientes se pusieron a fermentar durante 21 días, después se hicieron análisis, tomando los parámetros de pH, nitrógeno, fósforo, potasio y materia orgánica para las variables químicas y para las físicas, capacidad de absorción de agua, capilaridad, densidad aparente e infiltración.

Resultados. los residuos para los parámetros evaluados en porcentaje fueron: Materia orgánica 58.92, pH 6.86, humedad 44.93, nitrógeno 0.51, potasio 0.36, fósforo 0.37. La capacidad de absorción de agua, presento un porcentaje superior al rango recomendado como medio de sustrato. En este mismo sentido, la capilaridad, la velocidad de infiltración, así como la densidad aparente, presentaron valores dentro de los rangos recomendados de las propiedades físicas de la composta.

Conclusiones. con base a los resultados, la composta elaborada con residuos de cítricos, la cantidad de nutrientes no son tan altos, pero cumplen con los requerimientos mínimos de la normativa para ser utilizado en la producción de cultivos.

INTRODUCCIÓN

El composteo es una forma importante de reciclar elementos orgánicos residuales de la agricultura y la ganadería. Una de las principales tecnologías es el uso de composta que el productor puede elaborar en su unidad de producción, utilizando los materiales que dispone localmente. En la práctica, para valorar la calidad de un sustrato no basta con conocer las propiedades generales de sus principales componentes, sino que es necesario determinarlas para cada ingrediente o mezcla particular, ya que las variaciones suelen ser muy importantes. (De Luna y Vázquez, 2009).

En este sentido, Cadahia (2005) menciona que la primera etapa de la aplicación de un sustrato en el cultivo es la caracterización del mismo, con objeto de conocer sus propiedades físicas, químicas y biológicas. Las propiedades de los materiales son factores limitantes, que determinan el manejo posterior del sustrato; es importante que la mezcla o sustrato reúna características tales como:

Las propiedades físicas de los sustratos de cultivo son muy importantes. Una vez que la planta esté creciendo en él, no es posible modificar las características físicas básicas de dicho sustrato. Las propiedades químicas caracterizan las transferencias de materia entre el sustrato y la solución del sustrato; reacciones de disolución e hidrólisis de los constituyentes minerales (química), reacciones de intercambio de iones (físico-química) y reacciones de biodegradación de la materia orgánica (bioquímica). Los abonos orgánicos producen efectos benéficos a los cultivos, dependiendo de la naturaleza del abono, características del suelo, tipo de cultivo, periodicidad de la aplicación y cantidad del abono, entre otros. Por otra parte los fertilizantes químicos solo mejoran las propiedades químicas del suelo, que los coloca en desventaja sobre los orgánicos, desde el punto de vista del mantenimiento de las propiedades físicas del suelo. Para la recuperación de los suelos y la inocuidad de nuestros alimentos, la composta es el mejor abono que el hombre puede hacer y consiste en seguir el ejemplo de la naturaleza: a través de microorganismos (bacterias, virus, hongos, algas) y macroorganismos (hormigas, escarabajos, gusanos, lombrices, etc.), se lograra la revitalización de los residuos orgánicos para convertirlos en composta (Triano *et al.*, 2005).

Objetivo. Evaluar la calidad de la composta como abono orgánico, producido a partir de La producción de composta elaborada con residuos de cítricos puede cumplir con los requerimientos mínimos de la norma y puede ser utilizada, como fertilizante orgánico en la producción de cultivos.

Materiales y métodos. El presente trabajo se realizó en el campo experimental, así como en el laboratorio de Agromicrobiología del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA) de la Universidad de Guadalajara. Se ubica en el predio Las Agujas, municipio de Zapopan, Jalisco, localizado en la región centro del estado, en las coordenadas extremas de 20°25'30" a 20°57'00" de latitud norte y 103°19'30" a 103°39'20" de longitud oeste, a una altura de 1,548 metros sobre el nivel del mar (Los municipios de Jalisco, 2008).

La elaboración de la composta se realizó utilizando 50 kg de estiércol de bovino, 50 kg de residuos de cítricos, 500 g de levadura para pan y 500 g de azúcar, estos ingredientes se pusieron a fermentar durante 21 días, la preparación consistió en construir un "montón" a partir de capas paralelas de cada uno de los materiales, se aplicó el agua y la mezcla de melaza y levadura para humedecer sin provocar escurrimiento.

En los primeros tres días se mezcló el montón por la mañana y por la tarde y a partir del cuarto día, se volteo una sola vez. Finalmente, entre los 12 y 15 días el abono fermentado logró su maduración, su temperatura fue igual a la ambiental, adquiriendo un color gris claro, estaba seco y de consistencia suelta después se hicieron análisis, tomando los parámetros de pH, nitrógeno, fósforo, potasio y materia orgánica para las variables químicas y para las físicas, capacidad de absorción de agua, capilaridad, densidad aparente e infiltración.

Se utilizaron en total dos tratamientos consistentes en la aplicación de una composta en forma de dilución de extracto, granular y un tratamiento testigo con solo agua destilada. Para determinar la calidad como abono orgánico de la composta, se plantearon las variables físicas y químicas. Las variables de la composta se registraron con tres muestras recolectadas cuando la composta terminó su fermentación.

En las variables físicas se determinaron las siguientes mediciones según el manual de Fisher *et al.* (2003): a) Densidad aparente (gr. cm^{-3}), b) Capacidad de absorción de agua (gr. cm^{-3}), c) Capilaridad (gr. cm^{-3}), d) Infiltración (min.).

Variables químicas, pH, nitrógeno, fósforo, potasio y materia orgánica. Las determinaciones físicas, y químicas, así como el pH, conductividad eléctrica y absorbencia fueron efectuadas en el

Laboratorio ambiental y de abonos orgánicos ubicado en el CUCBA, de la Universidad de Guadalajara.

Pruebas físicas; Capacidad de absorción de agua. La determinación de la capacidad de absorción de agua se realizó en una maceta con capacidad de 300 mL y se colocó sobre una palangana. La maceta se rellenó del sustrato hasta la marca (250 mL) dejándola caer varias veces para comprimir y rellenando nuevamente hasta la marca, una vez nivelado el sustrato se pesó (peso seco), se agregó agua a la palangana hasta una altura poco menor a la altura de la maceta, se retiró la maceta una vez que la superficie del sustrato se observaba ligeramente cubierta de agua, se dejó escurrir toda el agua de la maceta y posteriormente se pesó (peso húmedo). Al final para determinar la capacidad de absorción de agua se aplicó la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Abs} = \text{ml agua} / \text{Volumen de la maceta} * 100$$

$$\text{Dónde: ml de agua} = (\text{peso húmedo}) - (\text{peso seco})$$

Capilaridad. Para determinar la capilaridad se utilizó una maceta de 300 ml. y se rellenó la maceta con composta hasta la marca (250 ml.), se dejó caer varias veces y se volvió a rellenar hasta la marca, se registró su peso (peso seco), se agregó agua a la palangana (3 cm.) y se depositó la maceta dentro, se retiró después de 15 min.; se dejó escurrir por 10 min. y se pesó (peso húmedo). Para determinar la capilaridad se empleó la siguiente ecuación:

$$\text{Abs. \% Vol.} = \text{ml. de agua} * 100 / \text{Volumen de la maceta}$$

$$\text{Dónde: ml de agua} = (\text{peso húmedo}) - (\text{peso seco})$$

Densidad aparente. Para la determinación de la densidad (peso/volumen) se utilizó una probeta de 500 ml de capacidad, a la que se le registró el peso. El sustrato se depositó en la probeta hasta los 400 ml y se pesó. Se agitó para disminuir el espacio vacío y nivelar la superficie y leer el volumen compactado. La densidad se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Densidad} = (\text{peso probeta llena} - \text{peso probeta vacía}) (1000) / \text{vol. compactado}$$

Infiltración. Para la prueba de infiltración se utilizó una maceta de plástico de 300 ml de capacidad. El sustrato se colocó en la maceta hasta los 250 ml. En una probeta se midieron 100 ml de agua, la que se agregó a la maceta haciendo movimientos circulares. Se activó el cronometro al momento de la caída del agua y se detuvo hasta que ésta se filtró completamente en el sustrato. Los resultados se registraron como el tiempo de infiltración de los 100 ml.

Pruebas químicas; Absorbencia. Se utilizaron 20g de composta tamizada la que se depositó en un matraz de 500 ml de capacidad; se agregaron 100 ml de agua destilada. El matraz se agitó durante 15 minutos (en el agitador AROS 160). Transcurrido el tiempo de agitación se procedió a realizar el filtrado de las muestras depositando la suspensión en embudos con papel filtro, el filtrado se depositó en tubos de ensayo del que se tomaron 7 ml. Se procedió a centrifugar el filtrado durante 30 minutos a 3000 rpm (centrifuga Ultra 8-V). Transcurrido el tiempo de centrifugado las muestras se pasaron al espectrofotómetro y se tomó la lectura a 640 nm. Una vez realizada la lectura se tomaron 1 ml. de cada una de las muestras y se vació dentro de una caja de Petri con papel filtro para registrar el corrimiento de la mancha. La toma de muestras se realizó semanalmente.

Medición de pH y conductividad eléctrica (CE). Para la determinación de pH y CE se pesó un frasco vacío y sin tapadera, se pesaron 20 gr. de sustrato y se depositaron en el frasco, se midieron 40 ml de agua destilada en una probeta, se vació al recipiente y se cerró el frasco, se agito durante 10 minutos en el agitador (AROS 160). En la suspensión se determinó el pH y la CE con un equipo Hanna (H1-9810).

RESULTADOS

Los resultados para los parámetros evaluados en porcentaje fueron: Materia orgánica 25, pH 7.94, nitrógeno 1.51, potasio 0.798, fósforo 0.76, calcio 1.99. La capacidad de absorción de agua, presento un porcentaje superior al rango recomendado como medio de sustrato. En este mismo sentido, la capilaridad, la velocidad de infiltración, así como la densidad aparente, presentaron valores dentro de los rangos recomendados de las propiedades físicas de la composta.

Pruebas físicas, capacidad de absorción de agua. El ensayo para evaluar la utilización de la composta como medio de cultivo al aumentar la cantidad de agua neta disponible para las plantas y reducir la frecuencia del riego. Una capacidad de absorción de agua con un valor de 41.6% en la composta, siendo este un porcentaje superior al óptimo que oscila entre el 20% y el 30% (Ansorena, 1994; Cadahia, 2005). Capilaridad esta propiedad consiste en que el sustrato tenga la capacidad de absorber agua a través de los microporos y de transportarla en todas las direcciones. Cuando el sustrato no tiene capilaridad, el agua se mueve verticalmente a través del perfil del mismo, llegando rápidamente al drenaje y dejando zonas secas en las cuales no se pueden desarrollar las raíces (Cadahia, 2005). El porcentaje de absorción de agua capilar fue de 9.36. Densidad aparente representa el peso seco del medio con relación al volumen total que ocupa. Conforme aumenta la densidad aparente, las condiciones del drenaje y la porosidad para el aire disminuyen. Es necesario que el compost este formado por partículas de tamaño adecuado a su utilización, como sustratos para macetas sin suelo y otras importantes aplicaciones 556.56 g/l. Infiltración al ser la penetración de agua en el suelo determina la cantidad de agua de escurrimiento superficial y con ello, el peligro de erosión, determinando los tiempos de riego y los volúmenes de agua a utilizar. La velocidad de infiltración de la composta la cual se expresa como el tiempo (en minutos) necesario para que se absorba, a través de la superficie de una muestra de sustrato seco. El nivel óptimo es igual o inferior a 5 minutos (Cadahia, 2005). La de este trabajo 36 segundos.

El contenido de nitrógeno total es la suma de sus formas orgánicas e inorgánicas, por lo tanto, la cantidad del N presente puede ser un buen indicador de la madurez de la composta (Stoffella y Kahn, 2005). El contenido de nitrógeno (N), es lo más importante para el cultivo cuando el compost es aplicado como complemento o sustituto de otras fuentes de nutrientes, el contenido de nitrógeno presente en la composta indica un porcentaje de nitrógeno mayor al valor mínimo requerido según la norma chilena (NCh-2880.Of2004).

Un contenido de humedad presente en las compostas menor del 35% es un indicador de no haber quedado totalmente estabilizado, en el cuadro 1 se presenta el porcentaje de humedad de la composta el cual se encuentra dentro del rango recomendado para su utilización como sustrato según el Compost Council.

En lo que respecta al contenido de materia orgánica esta debe ser mayor o igual al 20% según la norma chilena (NCh-2880.Of2004), el cuadro muestra el contenido de materia orgánica de la composta es de 25% siendo este considerado un valor alto

Solamente una parte del fósforo (P) de una muestra de composta será utilizable por las plantas. Esencialmente, la totalidad del potasio (K) es utilizable por las plantas. (Stoffella y Kahn, 2005). Los valores expresados en porcentajes presentes en la composta se observan en el cuadro 1, según Hoitink y Keener (1993) presenta un porcentaje mínimo de fósforo y potasio (0.37 y 0.36 % respectivamente.

Cuadro 1. Composición química de la composta e indicadores de calidad considerados en la evaluación de las compostas adaptado de la normativa chilena y norteamericana

Parámetros en composta	Parámetros obtenido	Rangos típicos en una composta
Materia orgánica (%)	28	20 - 60
Cenizas (%)	76	60 - 80
Carbono orgánico (%)	16.50	
Relación carbono/nitrógeno (C/N)	28	25 - 30
Nitrógeno total (%)	1.83	1.3
Fósforo (%)	0.70	0.2 - 1
Potasio (%)	0.440	0.2 - 2
Sodio (%)	0.340	0.52
Calcio total (%)	1.98	1 - 6
Magnesio (%)	0.38	0.4 - 1
pH	7.69	7 - 14
Conductividad eléctrica (mmhos/cm)	2.46	1 - 8
Propiedades físicas		
Densidad aparente (gm/ml)	0.85	
Capacidad de absorción (%)	41.6	20 - 30
Velocidad de infiltración segundos	36	Menor a 5 minutos
Humedad (%)	46.29	30 - 60
Tamaño partículas (mm)	13	10 - 25

CONCLUSIONES

Con base a los resultados, la composta elaborada con residuos de cítricos, la cantidad de nutrientes no son tan altos, pero cumplen con los requerimientos mínimos de la normativa para ser utilizado en la producción de cultivos.

La capacidad de absorción de agua, presento un porcentaje superior al rango recomendado como medio de sustrato. En este mismo sentido, la capilaridad, la velocidad de infiltración, así como la densidad aparente, presentaron valores dentro de los rangos recomendados de las propiedades físicas de la composta para fines agrícolas

El valor de la absorbencia es una variable útil en la determinación de la madurez de la composta. Los valores disminuyen conforme la composta avanza en el proceso de maduración.

El pH final de la composta fue de 7.69 (La conductividad eléctrica final se ubicó dentro de norma.

Si bien la cantidad de nutrientes encontrados en la composta no son tan altos, estos cumplen con los requerimientos mínimos de las normativas para ser utilizado como mejorador de suelo y sustrato en aplicaciones hortícolas.

BIBLIOGRAFIA

Alexander, M. 1996. Introduction to soil microbiology. John Wiley and sons. USA. p.p.455.
Ansorena, M.J. 1994. Sustratos. Propiedades y caracterización, Ediciones Mundi-Prensa, España, pp. 172.

Bures, S. 1997. Sustratos, Ediciones Agrotécnicas F.L., Madrid España, pp. 342.
U.S. Composting Council. 2001. Test methods for the examination of composting and compost, USDA-Compost Council.

Dalzel, H.W. 1991. Manejo del suelo. Producción y uso del compost en ambientes tropicales y subtropicales, Boletín de Suelos de la FAO, No. 56, Roma Italia, pp. 18-20.

Instituto Nacional de Normalización. 2005. Norma chilena oficial para el control de la calidad de compostas (NCh-2880.Of2004), Decreto exento no. 89, Chile.

Labrador, M.J. 2002. La materia orgánica en los agroecosistemas, Segunda Edición, Ediciones Mundi-Prensa, Madrid España, pp. 174.

Lampkin, N. 1998. Agricultura ecológica, Gestión de los estiércoles y residuos orgánicos, Ediciones Mundi Prensa, México D.F., pp. 85-104.

De Luna, V.A. y E.A. Vázquez. 2009. Elaboración de abonos orgánicos, Segunda edición, Universidad de Guadalajara, México, pp. 86.

Nieto, G.A. 2002. La composta. Importancia, elaboración y uso agrícola, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz B.C.S., México, pp. 86.

Reyes, C.P. 1999. Diseño de experimentos aplicados, Editorial Trillas, Tercera edición, pp. 122-128

Rosas, R.A. 2007. Agricultura orgánica práctica, Quinta Edición, Grupo Agrovereda, Bogota Colombia, pp. 193-196.

Stoffella, J.P. y A.B. Kahn. 2005. La utilización de compost en los sistemas de cultivo hortícola, Mundi-Prensa, Madrid España, pp. 397.

Valdés, R. 1980. Manual de Microbiología Agrícola, Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Departamento de Microbiología, Laboratorio de Microbiología Agrícola, pp. 69.

Zañudo, H.J., E.B. Pimienta y H.B. Ramírez. 2003. Manual de prácticas de fisiología vegetal, Academia de ecofisiología vegetal, Universidad de Guadalajara, Zapopan Jalisco, México, pp. 86.

ANÁLISIS IN SILICO DE LA RED DE INTERACCIÓN ENTRE PROTEÍNAS ASOCIADAS A LA PORINA VDAC DE *Rhipicephalus microplus*

Elba Rodríguez-Hernández^a, Minerva Camacho Nuez^b, Susana Flores Villalva^a, Juan Mosqueda Gualito^c

^aCentro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal CENIDF y MA-INIFAP, rohe577@hotmail.com, fv.susana@gmail.com. ^bPosgrado en Ciencias Genómicas, UACM, mcamachonuez@yahoo.com.mx., ^cFacultad de Ciencias Naturales, UAQ, joel.mosqueda@uaq.mx.

Resumen

La babesiosis bovina es una enfermedad causada por parásitos del género *Babesia*, que son transmitidos por garrapatas a animales y humanos. Actualmente las alternativas de control de la enfermedad están enfocadas en el estudio de la interface garrapata-*Babesia*, como un esfuerzo para determinar el mecanismo molecular involucrado en la infección. Nosotros previamente identificamos una porina VDAC de la garrapata que interacciona con fases sexuales de *Babesia*, la cual se sobre-expresa en células intestinales de garrapata en respuesta a la infección con el parásito, tanto a nivel de RNAm y proteína; observándose mayor nivel de expresión en intestinos de garrapatas infectadas con *Babesia bigemina* a las 24 horas post-repleción. En este trabajo, nuestro objetivo fue describir la red de interacción proteína-proteína (IPP) tomando como templatado la secuencia que reportamos en la base de datos (No. acceso. ADT82652.1). El análisis se realizó en la base de datos STRING, generamos un modelo para evidenciar la red de proteínas asociadas con la porina; también se realizó un análisis de ontología génica para enriquecer el estudio; con lo que se determinaron los procesos celulares involucrados. El análisis global de grupos reveló que existe asociación de 46 proteínas involucradas en diferentes procesos biológicos como, transporte transmembranal y plegamiento de proteínas. En este trabajo determinamos la red de IPP, relacionada con la porina VDAC, lo que representa una aportación a los esfuerzos por entender la relación funcional de esta proteína, en los procesos celulares naturales y descifrar a futuro cual es el mecanismo de infección, e identificar nuevas moléculas candidatas para bloquear la transmisión de la enfermedad.

Introducción

Las garrapatas son vectores hematófagos, que transmiten una gran variedad de microorganismos patógenos como protozoarios, bacterias y virus. Estas están incluidas en el grupo de vectores de enfermedades más importantes del ganado bovino (Barker et al. 2002). Entre los protozoarios que son transmitidos por las garrapatas se encuentran los parásitos del género *Babesia*, agente causal de la babesiosis bovina. Las fases sexuales de *Babesia* infectan las células del intestino de la garrapata donde se multiplican y maduran para eventualmente salir de la célula e infectar otros órganos, y transmitirse a un nuevo hospedero bovino cuando una garrapata infectada se alimenta (Bock et al 2004). El canal VDAC facilita el intercambio de sustancias a través de la membrana externa mitocondrial; tiene su propio mecanismo de inserción denominado inserción

autodirigida. En general, la permeabilidad de las membranas mitocondriales está regulada principalmente por la formación de un complejo multiproteico, conocido como poro de permeabilidad transitoria mitocondrial (PTPm). Por su importante localización, la porina VDAC se asocia a otras proteínas que se encuentran cercanas o sobre las membranas tanto mitocondrial como celular. Las asociaciones con la proteína VDAC permiten la integración de complejos capaces de formar poros no selectivos en las membranas; estos complejos están formados por la porina VDAC, el translocador de nucleótidos de adenina (ANT) y la ciclofilina (Kroemer et al., 2007, Bayrhuber et al., 2008); también por proteínas con actividad quinasa como la hexoquinasas que juegan un papel importante en la fisiología mitocondrial. La porina VDAC es permeable a solutos de 1.5 kDa, lo que permite el intercambio de NADH/FADH (poder reductor) y el ATP/ADP entre el espacio intermembranal y el citosol que como se sabe son fundamentales para la cadena respiratoria (Mitchell and Moyle 1965); la permeabilidad de la membrana mitocondrial tanto externa como interna puede ser interrumpida de tal forma que al abrirse el canal en la membrana interna, se gasta el gradiente de protones (H⁺) a través de la membrana, lo que resulta en el desacoplamiento de la cadena respiratoria y la expansión de la matriz, provocando la ruptura de la membrana externa permitiendo la salida de las moléculas pro-apoptóticas y por lo tanto la muerte celular (Douce and Neuburger 1999). Utilizando herramientas genómicas y proteómicas identificamos una porina del intestino de la garrapata que se sobreexpresa en respuesta a la infección con *Babesia* a diferentes tiempos pos-repleción. Esta porina fue identificada como un canal de aniones dependiente de voltaje o VDAC (Rodríguez et al., 2012). En este trabajo determinamos la red de asociación de proteínas relacionadas a la porina VDAC. La descripción de la red de proteínas asociadas con la porina permitirá entender mejor la posible función que tiene dentro de los procesos biológicos que se ven modificados en la infección con protozoarios del género *Babesia*, lo que a futuro ayudará a proponer moléculas candidatas de control o bloqueo de la transmisión del parásito.

Material y métodos

Construcción de la red de interacción proteína-proteína (IPP): El diseño y deducción de la red de interacciones de la proteína VDAC de *R. microplus* con otras proteínas, fue realizada con la base de datos de STRING v9.1 (Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes), disponible en: <http://string.db.org/>. Las interacciones predichas en la base de datos se realizan bajo un marco de puntuación y tienen un valor de confianza por predicción. En nuestro estudio, consultamos la base de datos STRING usando la secuencia de la proteína VDAC de *R. microplus* (No. acceso ADT82652.1) como templado, y ampliamos la red para obtener no más de 50 interacciones de proteínas. La calidad de la red se fortaleció con el análisis de las interacciones de proteínas que mostraron un puntaje medio (0.7), lo que indica que la red de predicción es confiable. El análisis integral de la red de proteínas predicha fue realizado mediante la agrupación de las moléculas, las cuales comparten algún grado de similitud en términos de asociación funcional. El análisis por grupos (número de grupos) en la base de datos STRING se realiza mediante dos algoritmos: MCL (Markov clustering) y k-Means Clustering. En este estudio aplicamos el algoritmo k-Means Clustering (MacQueen., 1967) el cual es más rápido computacionalmente.

Análisis gen ontology (GO): La red de interacciones entre proteínas fue enriquecido mediante la base de datos GO (WebGestalt, WEB-based Gene Set AnaLysis Toolkit, disponible en: <http://bioinfo.vanderbilt.edu/webgestalt/>)(Zhang et al., 2005). El método de Benjamin Hochberg fue usado como modelo para corrección del múltiple ensayo, para verificar que no hubiera falsos positivos. El punto de corte fue el valor de p de 0.05.

Resultados experimentales

Red de PPI y análisis GO: La red biológica derivada de la base de datos de STRING usando la secuencia de la proteína VDAC de *R. microplus* como templado, demostró ser una densa red compuesta de 46 interacciones de proteínas. Las interacciones más estrechamente conectadas con VDAC parecen estar situadas en el centro de la red a pesar de que la porina y algunas de sus interacciones se localizaron en la periferia. También analizamos la red de interacción con más alto valor de confianza (interacciones de proteínas con valor a partir de 0.7), en la que se observa que existen proteínas como la hexoquinasa, TOM20, prohibitina y translocasas. Los resultados del análisis GO se presentan en forma de tabla con las condiciones más significantes de la red de señalización. En la tabla 1 se muestran los procesos biológicos estadísticamente más significativos ($p=0.5$) en los que participan las proteínas analizadas en la red, entre las que se encuentran, procesos biológicos en general, transporte y plegamiento de proteínas. El análisis de la ruta KEGG revela que las proteínas están involucradas en rutas importantes como la fosforilación oxidativa y el ciclo del ácido tricarbóxico; estos son procesos metabólicos implicados en la formación de energía, que se llevan a cabo en la mitocondria.

Tabla 1. Análisis GO y KEGG de la red IPP predicha relacionada a la proteína VDAC.

Análisis GO		Análisis KEGG	
Función	nº	Función	nº
Proceso biológico	39	Rutas metabólicas	10
Transportador transmembrana	13	Fosforilación oxidativa	5
Transporte	15	Metabolismo glicoxilato	2
Plegamiento de proteínas	4	Ciclo TCA	2

Análisis de los grupos obtenidos de la red de IPP: La red de IPP fue analizada por grupos para entender mejor las asociaciones y señalar la importancia biológica de su relación; fue dividida en 5 grupos (Figura 1); los cuales están compuestos de conexiones densas de proteínas que comparten similitud en función o incidencia de la misma ruta. El grupo 1 contiene proteínas como aconitasa, citrato sintasa y malato deshidrogenasa; estas proteínas participan en diferentes etapas de las reacciones en el ciclo del ácido tricarbóxico. El grupo 2 contiene proteínas como FOF 1 y ATP sintasa α y β , estas proteínas pueden formar un complejo enzimático ampliamente distribuido en la naturaleza, localizado en la membrana interna mitocondrial, este complejo está encargado de proveer a la célula de energía (síntesis de ATP) necesaria para realizar sus procesos vitales y por otro lado también puede hidrolizar el ATP. El grupo 3 contiene proteínas como complejo IV (Via/cox13), citocromo C y coenzima Q; que están asociadas a procesos metabólicos como la fosforilación oxidativa mediante la cual se sintetiza ATP acoplado al flujo de electrones, y por lo tanto a la cadena respiratoria.

El grupo 4 contiene proteínas como TIM22, TIM23 y chaperoninas, estas moléculas están relacionadas al transporte de proteínas al interior de la mitocondria, y están asociadas en forma de complejos que se intercalan en la membrana. El grupo 5 contiene proteínas como ADP-ATP translocasa (AAT), hexocinasa (HK), ciclofilina B (CYP B), ferredoxina reductasa (FNR) y TOM20. Estas moléculas están implicadas en transporte de proteínas; enzimas transferasas que pueden transferir grupos fosfato pertenecientes a procesos de fosforilación y transporte de electrones.

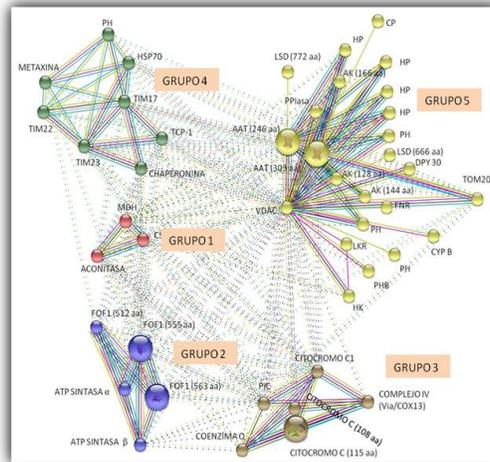


Figura 1. Red de IPP relacionada a la porina VDAC diferenciado en 5 grupos, analizado mediante el algoritmo k-means clustering. Las proteínas marcadas con la letras PH o HP corresponde a la leyenda: proteína hipotética (Hypotetical protein).

Discusión y conclusión

La porina VDAC es una proteína importante en la permeabilidad de la membrana mitocondrial; se ha localizado en diferentes compartimentos celulares aunque no se ha estudiado a detalle si tiene la misma función; un reporte sugiere que concentraciones fisiológicas de NADH afectan la permeabilidad, indicando un posible mecanismo donde la glucólisis podría inhibir la fosforilación oxidativa. La proteína VDAC ha sido identificada como un componente del complejo receptor de Benzodiacepinas el cual está ligado a la biosíntesis de esteroides y también ha sido co-purificado junto con el complejo receptor de ácido γ -aminobutírico subunidad A (McEnery., 1992; Tsujimoto and Shimizu 2007). El mecanismo de señalización reportado en este trabajo muestra asociaciones fuertes de las proteínas, prohibitina, TOM20, hexoquinasa y dos translocasas con la porina VDAC de *R. microplus*, y se integró un grupo formado por la prohibitina y un segundo grupo formado por las cuatro proteínas restantes, las cuales mostraron un alto puntaje de confianza. También, describimos la red de IPP relacionada a la porina VDAC de manera global, involucrando un total de 46 proteínas, que al ser reunidas en 5 grupos de acuerdo a su función, se observó que están implicadas en diversos procesos metabólicos como el transporte, la fosforilación oxidativa, el ciclo TCA, y plegamiento de proteínas.

El conocimiento de las asociaciones funcionales de la proteína VDAC permite contemplar el panorama que podría verse afectado de forma directa, debido a la desregulación de los mecanismos de expresión de la porina. En este estudio observamos que las proteínas asociadas con VDAC interactúan cercanamente con otros grupos de proteínas que podrían verse modificadas o desreguladas en el proceso de infección de *Babesia* hacia las células del intestino de la garrapata, como es el caso de la misma porina VDAC la cual se sobreexpresa en respuesta a la infección con el parásito (Rodríguez et al., 2012). La ruta de señalización intracelular de VDAC es conservada evolutivamente y regula interacciones entre proteínas mitocondriales y el citoplasma. Los estudios de interacción de proteínas a través de biología de redes aportan conocimientos sobre los posibles mecanismos involucrados en las infecciones por patógenos. Las proteínas asociadas a los mecanismos de infección conocidos son importantes para entender la biología de la infección. En este trabajo, observamos que la proteína VDAC tiene estrecha relación con proteínas que guían a procesos metabólicos importantes, por lo que este estudio podría servir a futuro como una aproximación a descubrir y seleccionar candidatos de estudio para proponer un método de bloqueo de la infección y/o transmisión de *Babesia* a su hospedero bovino.

Bibliografía

1. Bock R., Jackson L., De Vos A., Jorgensen W. (2004). Babesiosis of cattle. *Parasitol* 129:s247-s269.
2. Barker, S. C. & Murrell, A. (2002). Phylogeny, evolution and historical zoogeography of ticks: a review of recent progress. *Experimental and Applied Acarology* 28, 55–68.
3. Bayrhuber M., Meins T., Habeck M., Becker S., Giller Karin., Villingner S., Vonnrhein C., Griesinger C., Zweckstetter M., and Zeth K. (2008). Structure of the human voltage-dependent anion channel. *PNAS* 105(40):15370–15375.
4. Douce R, Neuburger M. (1999). Biochemical dissection of photorespiration. *Curr Opin Plant Biol* 2:214–222.
5. Kroemer G, Galluzzi L, Brenner C. (2007). Mitochondrial membrane permeabilization in cell death. *Physiol Rev* 87:99–163.
6. McEnery MW, Snowman AM, Trifiletti RR, and Snyder SH. (1992). Isolation of the mitochondrial benzodiazepine receptor: association with the voltage-dependent anion channel and the adenine nucleotide carrier. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89:3170-3174.
7. MacQueen JB. (1967). Some Methods for classification and Analysis of Multivariate Observations, *Proceeding of 5-th Berkeley Symposium on Mathematical Statistics and Probability*. Berkeley: University of California Press 1:281-297.
8. Mitchell P, Moyle J. (1965). Evidence discriminating between the chemical and the chemiosmotic mechanisms of electron transport phosphorylation. *Nature* 208:1205–1206.
9. Rodríguez-Hernández Elba, Mosqueda Juan, Álvarez-Sánchez María Elizabeth, Falcón Neri Alfonso, Mendoza-Hernández Guillermo, Camacho-Nuez Minerva. (2012). The identification of a VDAC-like protein involved in the interaction of *Babesia bigemina* sexual stages with *Rhipicephalus microplus* midgut cells. *Vet Parasitol* 187(3-4):538-41.
10. Szklarczyk D, Franceschini A, Kuhn M, Simonovic M, Roth A, et al. (2011). The STRING database in 2011: functional interaction networks of proteins, globally integrated and scored. *Nucleic Acids Res* 39(Database issue):D561-568.
11. Zhang B, Kirov SA, Snoddy JR. (2005). WebGestalt: an integrated system for exploring gene sets in various biological contexts. *Nucleic Acid Res* 33(Web Server issue) W741-748.

DISEÑO DE UN MURO VERDE PARA EL ESTABLECIMIENTO DE HORTALIZAS ORGÁNICAS

Verónica Martínez^a, Ma. Socorro Orozco^a

^aUNAM, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. Unidad de Investigación en Ecología Vegetal. Centro de Capacitación en Agricultura Urbana Ecológica. México, D.F., corazon280488@hotmail.com, mariaorozco_2009@hotmail.com

RESUMEN

Los sistemas de naturación urbana a través de muros o paredes verdes, permiten incorporar la naturaleza en nuestra vida cotidiana, en especial en espacios reducidos. En México, el desarrollo de estos sistemas está en un nivel incipiente, los que actualmente se promueven, cultivan principalmente especies ornamentales, además su implementación tiene un alto costo en el mercado; ante esta necesidad se busca generar un sistema de muro vertical de bajo costo y que sea viable para el cultivo de hortalizas, el cual, pueda ser instalado en espacios reducidos. El presente trabajo tuvo como objetivo diseñar un muro con seis hortalizas de hoja que incluyen tres variedades de lechugas (*Lactuca sativa* var. *cortesana*, *starfighter* y *ruby sky*) y tres especies aromáticas (*Ocinum basilicum* “albahaca”, *Petroselinum crispum* “perejil” y *Allium schoenoprasum* “cebollin”), y cultivarlas bajo los principios orgánicos. El muro estuvo constituido por una geomembrana (que evita la humedad en las paredes) y un geotextil confeccionado (que actúa como soporte para las plantas). Los resultados obtenidos, demostraron que para el establecimiento exitoso de las lechugas en el muro, éste debe estar orientado al noroeste para un mejor aprovechamiento de la luz solar; así mismo, otro factor determinante fue el sustrato compuesto por bokashi, estiércol, fibra de coco, tierra, cáscara de huevo, zeolita, jengibre y canela. Por otro lado, las plantas aromáticas intercaladas, controlaron la incidencia de plagas por debajo del umbral económico. El porcentaje de supervivencia de las hortalizas dentro del muro fue del 100%, lo cual hace viable su producción dentro de este sistema. El costo/beneficio de este muro es mayor de 1, por lo que es rentable económicamente. Este sistema además genera otros beneficios como: mejorar el ambiente y la calidad del aire, mejora la salud de las personas, y es de fácil cuidado y mantenimiento.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de áreas verdes en las ciudades muchas veces se ve dificultado por la falta de superficies disponibles, lo que conlleva a la necesidad de implementar modelos que permitan optimizar dichos espacios, y sean una alternativa redituable en la producción de alimentos sanos, libres de químicos y seguros para el consumo humano.

En la actualidad existen diversas formas de naturación urbana que mejoran el entorno, la salud y bienestar de las personas entre ellas: la creación de azoteas verdes, terrazas naturadas, huertos urbanos y jardines verticales (Castillo, 2014).

Los jardines verticales o muros verdes son una ingeniosa propuesta de cultivo de hortalizas, ante la falta de espacio, cada vez más presente en las viviendas mexicanas. Estos muros además de ofrecer una alternativa de producir alimentos sanos y frescos, permite el ahorro de agua para el riego (Bali, 2001).

En México, el desarrollo de muros verdes está en un nivel incipiente, y los pocos trabajos que existen y que se ofertan a la sociedad tienen altos costos de instalación y mantenimiento. Por ello el interés de generar un modelo de **muro verde**, como una propuesta alternativa de producción de hortalizas orgánicas en entornos urbanos (viviendas comunales, edificios residenciales, comedores comunitarios, restaurantes, centros comerciales, deportivos, culturales, educativos, oficinas, inmuebles hoteleros, etc.)

TEORÍA

La idea de muros verdes tiene sus orígenes en los Jardines Colgantes de Babilonia, construidos en el siglo VI a. C. (Urrestarazu y Búres, 2009).

Esta tendencia fue recreada por el biólogo francés Patrick Blanc quién en 1988 creó el primer muro verde en la ciudad de las ciencias y de la industria de París (GAS, 2014). Trabaja para el Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS) donde está especializado en plantas del sotobosque tropical (Savinio, 2012). Este personaje denota una gran sensibilidad para manejar las plantas y su conocimiento sobre ellas en cada uno de sus diseños, combina un manejo de texturas que sobrepasa los límites de la belleza, el contraste de colores y formas que configuran una obra de arte sustentable (Frangos, 2011).

Los muros verdes se definen como una capa vegetal que se instala sobre una superficie hecha y acondicionada por el hombre de forma vertical (Azotea y Muro verde, 2015). Sin embargo actualmente pueden ser de cualquier tamaño, forma o figura, instalarse sobre una superficie plana, redonda o siguiendo cualquier perfil por complejo que sea (Econstrucción para un futuro sustentable, 2015).

Entre los beneficios que genera la implementación de un muro verde están: mejorar el ambiente y la calidad del aire (absorbiendo CO₂, polvo y partículas suspendidas y generando O₂), mejoran el aprovechamiento del agua, generan un aislamiento térmico y acústico, mejoran la salud de las personas, aumentan el valor de la propiedad donde se establece, generan zonas de refugio para diversas especies, son de fácil cuidado y mantenimiento (Jardines Verticales, 2014).

La idea de implementar muros verdes se debe principalmente a su innovadora manera de decorar, cuidar el medio ambiente y por ser una alternativa para optimizar los espacios, además de que puede ser una nueva forma de generar alimentos orgánicos en los que para su producción se excluye el uso de fertilizantes sintéticos, pesticidas, reguladores del crecimiento y aditivos (Durán, 2005).

El interés por los productos orgánicos va en ascenso; en México se cultivan más de 45 productos entre estos hortalizas, que son cultivos de importancia económica, de alta demanda en el mercado, los cuales rinden más por unidad de superficie, además son de corto periodo vegetativo, lo que permite obtener de dos a tres cosechas al año. De ahí la importancia de estas en la alimentación humana, constituyendo una rica fuente de minerales y vitaminas (Rimache, 2011).

PARTE EXPERIMENTAL

El presente estudio se realizó en el Vivero del Centro de Capacitación en Agricultura Urbana Ecológica, de la Unidad en Investigación en Ecología Vegetal, campo II de la FES Zaragoza (UNAM), ubicado en la zona oriente de Distrito Federal, Delegación Iztapalapa.

En dicha instalación, se construyó un sistema de muros verdes de exterior (a cielo abierto), orientado al NW, con una iluminación solar de 6-8 horas diarias de luz continua e indirecta utilizando los siguientes elementos:

- Una **estructura base de metal**, la cual brinda soporte a todos los materiales utilizados.
- Sobre la anterior se colocó **una geomembrana** (cubierta plástica altamente impermeable de 1 m² y 1 mm de grosor), que aísla la humedad para evitar daños a la pared.
- Encima de esta se fijó el **geotextil confeccionado** de 1 m² el cual consta de 25 sacos de 19 x 17 cm y cuya función es sostener a las plantas y contener la humedad de las raíces.

- Para generar una mayor profundidad se optó por colocar botellas de pet forradas de plástico negro.
- Posteriormente se colocó un muro de iguales dimensiones a un costado generando así un sistema de 2 m².
- Una vez instalado el sistema de muros de exterior, se colocó un **plástico blanco** el cual genero un 30% de sombra y una mejor distribución de la luz, ya que está tratado con antioxidantes y protectores UV proporcionando una mayor estabilidad a los cambios de temperatura y evitando la radiación directa sobre las plantas, mejorando así su tasa fotosintética (Cosechando Natural, 2015).
- El **sustrato** utilizado se preparó a base de tierra, bokashi, estiércol, fibra de coco, cáscara de huevo, zeolita, jengibre y canela, relleno posteriormente los sacos con 670 g de esta mezcla.
- Las **especies vegetales** establecidas en cada uno de los muros fueron tres especies aromáticas: albahaca (*Ocinum basilicum* var. italian large leaf), cebollino (*Allium schoenoprasum* var. cojumatlan), perejil chino (*Petroselinum crispum* var. moss curled) y tres variedades de lechuga: francesa (*Lactuca sativa* var. cortesana), italiana de hoja verde (*Lactuca sativa* var. starfighter), italiana de hoja roja (*Lactuca sativa* var. ruby sky).

En el caso de las tres variedades de lechuga, se sembraron por semilla en una cámara de incubación a 28°C; trasplantándose al sistema de muros verdes a los 15 días después de la siembra cuando presentaban de 2 a 3 hojas verdaderas. Las especies aromáticas se propagaron por separación de matas a partir de plantas adquiridas en el mercado de Nativitas. El arreglo espacial fue de manera intercalar colocando en el primer saco una variedad de lechuga seguida de una especie aromática, siguiendo este patrón en todo el muro (Fig. 1).



Figura 1. Sistema de muros verdes con cada una de las partes que lo integran.

La viabilidad económica del proyecto se determinó mediante el índice costo beneficio con base a la siguiente fórmula:

Fórmula 1. Relación Costo/Beneficio = $\frac{\text{Beneficios Totales}}{\text{Costos Totales de Producción}}$

Donde los beneficios son la ganancia total del rendimiento del cultivo y los costos totales son los costos de los insumos invertidos en el proyecto, más los costos de mano de obra.

Los resultados mostraron que el cultivo orgánico en muro de las tres variedades de lechuga bajo estudio, así como de las especies aromáticas, presentaron una tasa alta de supervivencia (100%). Las lechugas alcanzaron un tamaño aceptable para el autoconsumo; pero un tamaño pequeño para la comercialización y las aromáticas presentaron una producción óptima. El costo total de instalación inicial y mantenimiento del muro, fue de \$2, 135.00 y los beneficios de \$925.80, donde el índice costo/beneficio fue de 0.43, lo cual indica que en la primera producción el proyecto no es viable económicamente, sin embargo, una vez instalado el sistema, en las siguientes producciones el índice costo/beneficio se incrementó obteniendo un valor de 2.02, resultando la producción en muro para lechuga, altamente rentable económicamente.

CONCLUSIONES

El establecimiento de hortalizas en muros verticales es una alternativa viable en entornos urbanos o lugares con poco espacio. Tanto las especies aromáticas como las lechugas presentaron una tasa de supervivencia alta (100%), donde las lechugas alcanzaron tamaños un 30% menores a los de las lechugas del mercado convencional, sin presentar diferencia en el tiempo medio de cosecha (90 días); sin embargo el tamaño se compensa con la obtención de un alimento sano lo cual no indica que este tipo de sistemas permiten el adecuado establecimiento de las especies, generando así una alternativa para la producción de alimentos orgánicos sin remanentes de sustancias tóxicas. El muro verde resulto altamente rentable económicamente con un índice costo beneficio de 2.02.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. F. Castillo, "Hidrosiembra para la naturación vertical de zonas urbanas", (UNAM-FES Zaragoza, México D.F., 2014) Tesis de licenciatura, pp. 4.
2. A. Savinio, 2012, "Patrick Blanc: Jardines Verticales". Recuperado de <http://www.aryse.org/patrick-blanc-jardines-verticales/> consultado el 23-Abril-2014.
3. Azotea y muros verde, 2015, "Muros verdes". Recuperado de <http://www.azoteaymuroverde.com/index.html> consultado el 4-Enero-2015.
4. Cosechando Natural, 2012, "Muros verdes". Recuperado de https://www.cosechandonatural.com.mx/plastico_blanco_lechoso_820cm_por_metro_fm10_sfm46_prd279.html consultado el día 22-Febrero-2015.
5. Econstrucción para un futuro sustentable, 2015, "Ventajas de un muro verde". Recuperado de http://www.econstruccion.com.mx/?page_id=187 consultado el 22-Fbrero-2015
6. F. Durán, "Volvamos al campo: Manual de cultivos orgánicos y aleopatía", (Grupo Latino LTDA, Colombia, 2005), pp. 22.
7. GAS (Gamma, Arte, Studio), 2014, "Arquitectura: Muros verdes invaden la ciudad de México". Recuperado de <http://gastv.mx/2013/05/06/muros-verdes-invaden-la-ciudad-de-mexico/> consultado el 14-Abril-2014
8. Jardines Verticales, 2014, "En Generación verde: Naturación integral". Recuperado de <http://generacionverde.mx/> consultado el 14-Abril-2014
9. J. Bali, "Jardinería mexicana", (Editorial CONACULTA y México Desconocido, México D.F., 2001), 2da ed. pp. 156.
10. M. Rimache, "Biohuertos: Agricultura ecológica", (Editorial Ediciones de la U. Madrid, España, 2011), pp. 169.
11. M. Urrestarazu y S. Búres, "Aplicación de cultivos sin suelo en arquitectura", Horticultura Internacional, Vol. 16, 70,2009, pp. 10-15.
12. O. Frangos, 2011, "El nuevo jardín vertical de Patrick Blanc". Recuperado de <http://www.arquine.com/blog/el-nuevo-jardin-vertical-de-patrick-blanc/> consultado el 4-Enero-2015

ENCUESTA SOBRE EL CONOCIMIENTO DE LOS USOS DEL AGAVE EN EL ESTADO DE GUANAJUATO

Martha Patricia Sandoval Anguiano^a,
José Luis Barrera G.^b

^a ENMSI-UG. paty_sal@yahoo.com.mx

^b CAMPUS Irapuato-Salamanca UG. DICIVA . red_agaves@yahoo.com.mx

RESUMEN

En la actualidad se señalan más de 70 formas de empleo del agave, entre los que destacan la producción de fibras donde la especie más explotada es *A. fourcroydes* Lem. (henequén), que se cultiva en Yucatán (México). En el estado de Oaxaca hay otras especies que se han utilizado para la producción de la fibra: *A. angustifolia* Haw y *A. sisalana* (sisal). Sin embargo, una de las aplicaciones más importantes de las especies del agave en México ha sido la elaboración de bebidas alcohólicas como el pulque donde la especie más usada es *A. salmiana*. El Mezcal que es una bebida mexicana muy popular preparada con las siguientes especies de agave: *A. angustifolia* Haw, *A. karwinskii*, *A. potatorum* Zucc, *A. americana*, *A. cupreata*, *A. salmiana* y *A. salmiana sbsp. crassispina*. (García-Mendoza, 1992). Otra bebida alcohólica es el Tequila, licor mexicano famoso alrededor del mundo; el Tequila se obtiene de la destilación del jugo fermentado del *Agave tequilana* Weber var. Azul. (Cedeño, 1995). Este trabajo tiene por objetivo conocer lo que la población sabe acerca de los usos más comunes del agave, en el estado de Guanajuato, como parte de la investigación que se realiza en la red de agaves, con 1000 encuestados, en donde destacan su uso como bebida, el tequila tiene el primer lugar, con un 100%, el segundo como pulque (47.8%) y la tercera posición es el uso medicinal con un 26.9%. El uso como fibra más conocido es el uso como cuerda con el 4.40% y en el apartado de cosmético la aplicación como jabón con el 6.6% fue la más común.

INTRODUCCIÓN

El *Agave tequilana* es parte de la familia *Agavaceae* y endémica de América y; se distribuye en el sur de Canadá, sur de Estados Unidos, México, Centroamérica, norte de Sudamérica e islas del Caribe (García y Galván, 1995, citados por Valenzuela, 1997). Dentro de dicha familia se encuentra el género *Agave* cuyo nombre viene del griego y significa "admirable", fue descrito inicialmente por Linneo en 1753, siendo la primera especie *Agave americana*. (Granados, 1999) Los Agaves son plantas perennes, rizomatosas, de tallos acaules, hojas grandes dispuestas en roseta y suculentas-fibrosas que terminan en una espina; los márgenes de las hojas presentan pequeñas espinas ganchudas o rectas; inflorescencia en espiga o panoja con escapo largo semileñoso; las flores son de color amarillo verdoso, protándricas; con anteras amarillentas; ovario ínfero trilobular, tricarpelar; fruto capsular leñoso alargado, dehiscente con numerosas semillas aplanadas algo triangulares de testa negra (Conzatti 1947 y Gómez Pompa 1963, citados por Granados 1999; Gentry 1982,).

Durante el florecimiento de las culturas de Mesoamérica, el género Agavácea desempeñó un papel importante, proveyendo a los pobladores de alimento, bebida, ropa, calefacción, medicina, objetos religiosos y de forraje, entre otras aplicaciones. De las distintas especies del agave, principalmente de *A. fourcroydes* y de *A. sisalana*, se utilizan sus fibras para fabricar paños, cuerdas, sacos, alfombras y otros utensilios (García-Mendoza, 1992). Así mismo, en Mesoamérica las grandes evoluciones de las variedades y formas de las especies de agave fueron desarrolladas por el hombre, movidas de lugar a lugar con él, e inadvertidamente cruzadas. Como el hombre vivía con estas eventualidades varietales siglo tras siglo, promovió nuevas combinaciones genéticas que pudo analizar empíricamente enfocando sus ventajas a la producción y calidad de fibra, alimento, bebida y otros productos especiales. A medida que se especializó la civilización, también lo hizo el agave, seleccionando características acorde a sus necesidades. Aunque no se conocía de genética, se fomentó en gran medida una explosiva evolución en la diversificación del agave (Muriá, 1999).

Cuando los españoles llegaron a México en el siglo XVI, llamó su atención el uso integral que los indígenas daban a los agaves; no había una sola parte que no rindiera beneficios, y es por ello que los bautizaron como “árbol de las maravillas”. En la actualidad se señalan más de 70 formas de empleo, entre los que destacan como ya se mencionó la producción de fibras donde la especie más explotada es *A. fourcroydes* Lem. (henequén), que se cultiva en Yucatán (México). En el estado de Oaxaca hay otras especies que se han utilizado para la producción de la fibra: *A. angustifolia* Haw y *A. sisalana* (sisal). En los estados de Tamaulipas y de Veracruz, la especie más común es *A. deweyana* y variedades de *angustifolia*. Otras fibras están preparadas de *A. funkiana* (ixtle), *A. lechuguilla* y del *A. carnerosana*. Sin embargo, una de las aplicaciones más importantes de las especies del agave en México ha sido la elaboración de bebidas alcohólicas como el pulque donde la especie más comúnmente usada es *A. salmiana*, aunque otras especies también son utilizadas como *A. americana*, *A. hookeri* y *A. inaequidens*. También se encuentra el Mezcal que es una bebida mexicana muy popular preparada con las siguientes especies de agave: *A. angustifolia* Haw, *A. karwinskii*, *A. potatorum* Zucc, *A. americana*, *A. cupreata*, *A. salmiana* y *A. salmiana* sbsp. *crassispina*. (García-Mendoza, 1992). Otra bebida alcohólica es el Tequila, licor mexicano famoso alrededor del mundo; el Tequila se obtiene de la destilación del jugo fermentado del *Agave tequilana* Weber var. Azul. (Cedeño, 1995)

Metodología.

Participantes

Personas mayores de edad, que saben leer y escribir del Estado de Guanajuato

Encuesta

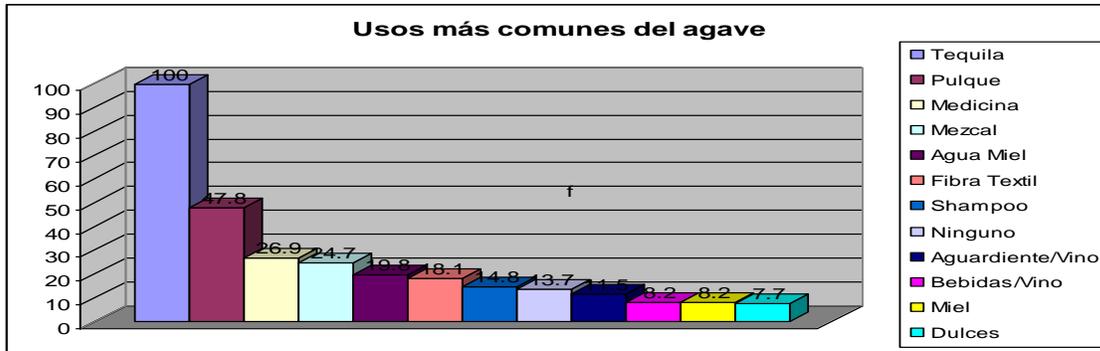
Se elaboraron 900 encuestas sobre los usos del agave y se aplicaron al azar, a personas mayores de edad que saben leer y escribir, cada persona contestó todas las preguntas

Resultados y Discusión

Luego de depurar las encuestas, se capturó la información, luego se procesó, y los resultados son:

Usos más comunes del agave

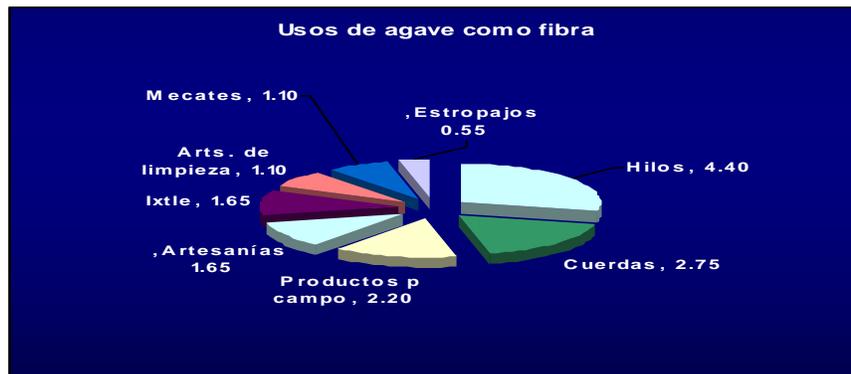
Gráfica 1



El 100% de los encuestados afirma saber que un uso del agave es como tequila (gráfica 1), en segundo lugar está el pulque con el 47.8%, la tercera posición la ocupa el uso como medicina con el 26.9% y muy cercano está el uso como mezcal con el 24.7%. Enseguida la quinta posición está el uso como aguamiel con el 19.6% y como fibra textil con el 18.1%. Como Shampoo y un 14.8% es otro de los usos del agave y como aguardiente con el 11.5%, son el séptimo y octavo lugar. Como miel y dulce son los lugares noveno y décimo con un 8.2 y 7.7%

Usos de agave como Fibra

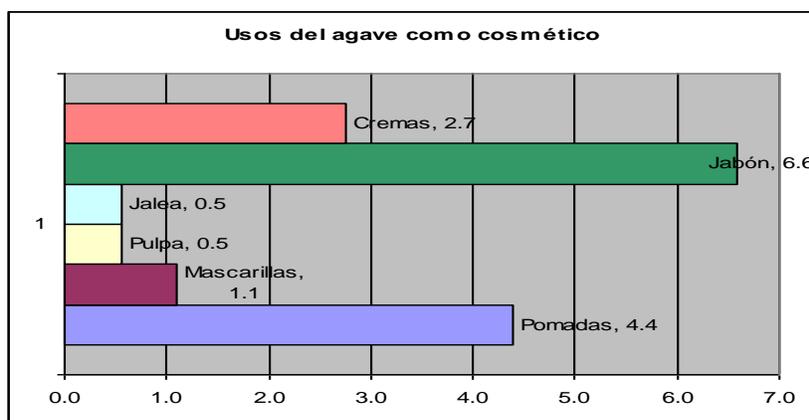
Gráfica 2



En éste apartado, los usos del agave son: Como hilo ocupa la primera posición con un 4.40%, las cuerdas y productos para el campo son la segunda y tercera posición con un 2.75 y 2.20% respectivamente. Empatados en cuarto lugar están los usos como mecate y artículos de limpieza con un 1.10% y como estropajo con un 0.55% es la sexta posición, como lo muestra la gráfica 2

Usos de agave como Cosmético

Gráfica 3



Dentro de los usos del agave en su función de cosmético, los resultados son que en primer lugar está el jabón con un 6.6%, las pomadas con un 4.4% tienen el segundo lugar, el tercer lugar lo ocupa las cremas con un 2.7%; empatadas en cuarta posición están los usos como pulpa y jabón con un 0.5%.

CONCLUSIONES

1. El 100% de la gente encuestada dice que uso más común del agave es como tequila y como pulque el 47.8%.
2. El uso como hilo es la aplicación más generalizada del uso del agave como fibra con 4.40% según los encuestados.
3. En lo referente al uso como cosmético, el primer lugar es el de jabón con un 6.6%.

BIBLIOGRAFÍA

- Flores Mendoza F.J.1998. El cultivo de *Agave azul tequilana* (weber). Memorias del Foro de análisis de la problemática de la cadena productiva Agave-Tequila. Guadalajara México. pp.57-66.
- García-Mendoza A. 1992. Con sabor a Maguey. Guía de la colección nacional de Agaváceas y Nolináceas del jardín botánico, Instituto de Biología-UNAM. México. Pp.3-5. pp. 43-45.
- Gentry Howard S. 1982. Agaves of Continental North America. The University of Arizona. Press Tucson Arizona. pp.61.
- Granados Sánchez D. 1999. Los Agaves en México. Universidad Autónoma Chapingo. México. Pp.99-112
- Muriá R.J.M. et- al. 1999. La producción de agave en los Altos de Jalisco. Sems. México. pp. 230
- Rodríguez Garay B.; Santacruz Ruvalcaba F.; Ruvalcaba-Ruiz D. 1998. Biotecnología vegetal: Avances recientes en *Agave tequilana* Weber var. Azul. Revista mexicana de Fitopatología 16:69.
- Valenzuela Zapata A.G. 1997. El agave tequilero su cultivo e industria. Litteris editores, Monsanto. México.pp. 75-96.

EFFECTO DE ALGAENZIMS Y ALGAROOT EN AGAVE TEQUILANA (Weber Var. Azul) EN IRAPUATO GUANAJUATO

Reyes Ríos D. M.¹; Francia Pérez D.¹; Salazar Solís E.; Canales López B². y Frías Hernández J. T.¹
doramrr@ugto.mx, dora_1579@hotmail.com

(1) División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca. Universidad de Guanajuato.

(2) Palau Bioquim, S.A. de C.V. Saltillo Coahuila.

Resumen.

Los hijuelos de rizoma es la forma de propagación más práctica para una plantación de agaváceas. En esta validación comercial de los productos orgánicos se realizó un estudio y evaluación sobre la aplicación a la base de la piña y al suelo de Algaroot^{MR} más Algaenzims^{MR} en uno y dos litros por ha⁻¹, en *Agave tequilana* Weber var. Azul. Las plantas contaban con una edad de 3 años, doce meses después se realizó la evaluación al experimento. El cultivo está localizado en el predio la Caja, Municipio de Irapuato Gto. La mezcla de los dos productos incrementó el número de hijuelos en más de un 80%, de manera individual el Algaenzims^{MR} generó un 25% más con respecto al control. En esta variable, los análisis de varianza presentan diferencia altamente significativa entre tratamientos con un coeficiente de variación de 18.7%. Las plantas testigo presentaron 2 o 3 hijuelos de mayor tamaño, al igual que el Algaenzims^{MR} aplicado de forma individual fueron registrados 4 o 5 hijuelos. La evaluación de este trabajo fue el efecto de la aplicación de los productos orgánicos en el incremento del número de hijuelos, además las variables físicas diámetro de piña y altura.

Palabras Clave. Agave tequilana, rizoma, hijuelos y sistema radical.

Introducción.

Actualmente se conocen una gran cantidad de productos y subproductos derivados del agave, uno de ellos con alto valor comercial es la producción de bebidas alcohólicas como el Tequila y el Mezcal. Las agaváceas son plantas con características que les permite establecerse en zonas con poca precipitación o carentes de agua.

El tequila es un producto de reconocimiento internacional con un importante crecimiento en el mercado. La producción de Agave tequilana Weber variedad Azul, está regida por la norma internacional llamada Denominación de Origen Tequila (DOT) que desde 1974, esta determina las regiones similares con suelo, clima y cultura, donde se puede producir agave, con la finalidad de proteger el abasto y la calidad del tequila. (Bautista *et al.*, 2001).

Los estados reconocidos con Denominación de Origen Tequila en el país son: Jalisco, Michoacán, Nayarit, Tamaulipas y Guanajuato. En este último están registrados siete municipios que son: Abasolo, Cuerámara, Huanímaro, Manuel Doblado, Pénjamo, Purísima del Rincón y Romita.

A nivel nacional la superficie con agave es de 162,388.89 Ha; sin embargo solo se cosecharon 15,880.20, Ha; en Jalisco, este estado representa el 61.78% con una plantación de 100316.3 Ha, le sigue Guanajuato con 15419.99 ha (9.50%) en tercer lugar esta Oaxaca con 14759 ha (9.09%). (SAGARPA - SIAP, Marzo 2012).

El Agave tequilana W. se puede reproducir de forma sexual (por semilla) y asexual: por hijuelos de rizoma y bulbillos de la inflorescencia o quiote. Otra alternativa es la micropropagación o propagación *in vitro*. (Ramírez y Real. 2007).

La propagación por semilla no es muy utilizada y suprime la floración en el cultivo. Además el agave tequilana tiene un bajo porcentaje de germinación, su crecimiento es lento y las plántulas generadas son muy heterogéneas.

Los hijuelos de rizoma son los más comúnmente usados en el cultivo para el establecimiento de plantaciones, ha sido la única forma de propagación que se ha practicado por mucho tiempo, la ventaja es por la rapidez para obtener plántulas de buen tamaño y la cantidad de éstas producidas por planta. Por otra parte, los bulbillos son hijuelos pequeños que emergen en el quiote, junto a las flores no fecundadas que caen posteriormente sin formar frutos, estos hijuelos no se utilizan en la propagación de material vegetativo para una plantación. (Ramírez y Real. 2007).

El presente trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto mediante la aplicación del Algaroot^{MR} y Algaenzims^{MR} en el desarrollo y crecimiento de hijuelos en plantas de agave tequilana Wever Var. Azul.

Materiales y Métodos

El experimento se estableció en agosto del 2012 y la 1era evaluación se realizó el 15 de junio del 2013.

a). Localidad.

El trabajo se desarrolló en una plantación de *Agave tequilana* Weber var. Azul en el predio “La Caja” propiedad del Ing. Marco Antonio Magdaleno Soto, ubicado en el Municipio de Irapuato Guanajuato. La plantación cuenta con 4 años de edad, la distancia entre hileras es de 3 m y 1.20 m entre plata y planta.

b). Descripción de los Productos empleados.

AlgaEnzims^{MR}. Es un producto biológico a base de macro algas marinas y un complejo de microorganismos que en forma natural viven asociadas, especialmente las microalgas Cyanophytas y microorganismos halófilos.

Entre las funciones del producto es el complejo de elementos que contiene por que actúan como activadores de las acciones de las enzimas que las algas aportan, mismas que se potencian al propagarse los microorganismos vivos. (Villarreal. 2003). En el suelo, es un excelente mejorador de las propiedades físico-químicas, el efecto cementante estimula la formación de microagregados, una buena estabilidad estructural y propicia la formación de espacio poroso. (Reyes R. 1993).

El AlgaRoot^{MR}. Es un regulador de crecimiento natural de aplicación al suelo y foliar, contiene giberelinas, citocininas y auxinas naturales contenidas como parte inherente de los extractos de las algas marinas (*Sargassum* spp.), Gobernadora (*Larrea tridentata*) y Agave (*Agave* spp.), además de elementos nutricionales inorgánicos. Mejora el desarrollo y crecimiento del sistema radical, produciendo raíces más grandes y fibrosas. www.palautbioquim.com.mx

c). Forma de aplicación del producto.

La aplicación de los productos se realizó el 2 de agosto del 2012 de forma manual con una mochila, fue directo a la base de la planta y suelo en una mezcla de 1 L/ha de Algaenzims^{MR} más 1 L/ha de AlgaRoot^{MR}, se seleccionaron al azar plantas mayores de una vara (una vara = 0.84 m); un segundo tratamiento fueron 2 L/ha de Algaenzims^{MR}, la aplicación fue pareja en toda la parcela, también se tomó en cuenta un área testigo o control.

d). Diseño Experimental y tratamientos.

Tratamiento 1. Testigo

Tratamiento 2. Mezcla de 1 L/ha de Algaenzims^{MR} más 1 L/ha de AlgaRoot^{MR}.

Tratamiento 3. 2 L/hectárea de Algaenzims^{MR}.

El diseño experimento fue un boques al azar con 3 tratamientos y 7 repeticiones en una superficie de 1 hectárea. La parcela útil es de 30 m x 67 m (2,010 m²).

La distancia entre plantas es de 1 m y entre hileras de 3 m.

Fecha de aplicación: 2 de agosto del 2012.

e). Agroquímicos.

Los agroquímicos que se han aplicado al cultivo durante los 2 y 3 años son:

Herbicidas: Gifosato 2 L/ha⁻¹, Esteron 1 L/ha⁻¹, Manzate Captan 1 kg/ha⁻¹, Hierbamina 1 L/ha⁻¹.

Insecticidas/Fungicidas: Cal micronizada 2.5 kg/ha⁻¹, Terramicina agrícola 0.5 L/ha⁻¹, bactrimicin agrícola 30X400 gr 6 L/ha⁻¹ha, Brigadier 3% 20 kg/ha⁻¹ha.

Fertilizantes: Urea Foliar 2.5 kg/ha⁻¹, Super Urea foresta 10 L/ha.

f). Análisis de suelo.

Aun no se ha realizado un análisis de suelo, después del periodo de lluvias se realizará un muestreo de suelos y cuantificación del número de hijuelos debido a las precipitaciones empezaron emerger más hijuelos sobre todo donde se aplicó la mezcla de AlgaRoot^{MR} con Algaenzims^{MR}.

Resultados y Discusión.

1. Número de hijuelos generados entre tratamientos. El análisis de varianza generó una diferencia altamente significativa entre tratamientos con un valor de $F = 51.507$, $P > F = 0.000$. En los bloques es para $F = 1.3692$, $P > F = 0.302$, $SC = 8.47625$. El Coeficiente de Variación es de 18.71%. El

CM Error=1.03174, GL del Error=12. La prueba de Medias de DMS con un nivel de significancia de 0.05 se presenta en la tabla 2.

Tratamiento	Media	DMS = 0.05
2	8.5714	A
3	4.2854	B
1	3.4285	B
DMS= 1.1831		

Tabla 2. Prueba de DMS para el número de hijuelos

2. Altura de hijuelos. El análisis de varianza generó una diferencia altamente significativa entre tratamientos con un valor de $F= 3.7958$, $P>F= 0.069$. En los bloques es para $F=0.5089$, $P>F=0.733$, El Coeficiente de Variación es de 19.02%. El CM del Error=79.2929, los GL del Error = 8. La prueba de Medias de DMS con un nivel de significancia de 0.05 se presenta en la tabla 3.

Tratamiento	Media	DMS = 0.05
1	55.0400	A
2	45.7999	AB
3	39.62400	B
DMS= 12.98		

Tabla 3. Prueba de DMS para la altura de hijuelos

3. Diámetro de hijuelos. El análisis de varianza generó una diferencia altamente significativa entre tratamientos con un valor de $F= 1.6330$, $P>F= 0.254$, la $SC=2.24148$. En los bloques es para $F=1.0744$, $P>F=0.430$, $SC=2.9494$. El Coeficiente de Variación es de 16.19%.

Las figuras 1, 2 y 3 presentan la distribución de los tratamientos en campo y los hijuelos generados.



Figura 1. Tratamiento 2: 1 L/ha^{-1} de Algarroot + 1 L/ha^{-1} Algaenzims.



Figura 2. Tratamiento Testigo



Figura 3. Tratamiento 2 L/ha⁻¹ de Algaenzims

Conclusiones.

1. La mezcla de 1 L/ha⁻¹ de Algaroot^{MR} más 1 L/ ha⁻¹ de Algaenzims ^{MR} incremento en más de 80% la cantidad de hijuelos respecto al testigo.
2. La dosis de 2 L/ha⁻¹ de Algaenzims^{MR} generó un 25% más de hijuelos con respecto al control.
3. La mezcla de 1 L/ha⁻¹ de Algaroot^{MR} más 1 L/ ha⁻¹ de Algaenzims ^{MR} incremento la cantidad de hijuelos, más sin embargo, al encontrar mayor población la altura y diámetro de la piña fue mas bajo que el tratamiento 1 y 3.
4. El tratamiento 1 y 3 presentaron un comportamiento similar con respecto al numero de hijuelos de 3 a 5 y más grandes en cuanto a la tura y diámetro de la piña con respecto a la mezcla de los dos productos orgánicos (tratamiento 2).

Recursos.

- Bautista J. M., L. García O., J. E. Barboza C. y L .A. Parra N. 2001. El *Agave tequilana* Weber y la Producción de tequila. Acta Universitaria Vol.11 N°2.
- www.palautbioquim.com.mx
- Ramírez V. I. y Real L. J. I., 2007. Conocimiento y practicas agronómicas para la producción de agave tequilana Wever en la zona de denominación de origen del tequila. INIFAP. Libro técnico N° 4
- Reyes Ríos, D. M., 1993. Efecto de Algas Marinas y Ácidos Húmicos en un Suelo Arcilloso y otro Arenoso. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. UAAAN.
- SAGARPA - SIAP, Marzo 2012. www.siap.gob.mx

- Villarreal S. J. A., 2003. Búsqueda del principio activo del extracto de algas marinas AlgaEnzims^{MR}. Universidad Autónoma de Coahuila. Facultad de Ciencias Químicas.

EFFECTO DE LA INCLUSIÓN DE ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO (CLA) EN LA RACIÓN SOBRE LOS PARÁMETROS PRODUCTIVOS DE BOVINOS DE ENGORDA

José Juan Díaz V.^{1*}, Rodrigo Núñez P.², Juan de Dios Garza F.², María Guadalupe Bernal S.¹, José Armando Partida P.³

¹Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro, Qro., dalia@uaq.mx

²Rancho El 17, Hermosillo, Son., ³CNIDFYMA-INIFAP, Ajuchitlán, Qro.

RESUMEN

Se diseñó una prueba de comportamiento para determinar si la inclusión de CLA en la ración de finalización del ganado de carne afecta su productividad. Se emplearon 200 toretes de tipo comercial, con un peso inicial promedio de 488 ± 1.5 kg distribuidos en bloques al azar entre dos tratamientos: 1) control, 0 g CLA, y 2) 150g de CLA/animal/día. Los toretes se distribuyeron en grupos de 25 animales en ocho corrales, haciendo un total de cuatro repeticiones por tratamiento. Recibieron una ración integral con 13% de proteína cruda, en la cual se incluyó al CLA. Al cabo de 30 días experimentales los animales fueron pesados y sacrificados, registrándose el peso de la canal caliente y a las 24 horas *post mortem* el de la canal fría. Las variables de respuesta evaluadas fueron: peso final, ganancia diaria de peso, consumo diario de materia seca, conversión alimenticia y rendimiento en canal, encontrándose diferencias entre tratamientos ($P < 0.03$) para peso final (control 527 ± 1.2 kg vs. CLA 523 ± 1.2 kg), ganancia diaria de peso (1.3 ± 0.4 kg vs. 1.2 ± 0.4 kg) y conversión alimenticia (7.2 ± 0.2 vs. 8.1 ± 0.2 kg). El consumo diario de materia seca y el rendimiento en canal fueron similares entre tratamientos ($P > 0.1$), con medias (\pm EE) de 8.9 ± 0.14 kg/d, y $60.1 \pm 7.8\%$, respectivamente. Bajo las condiciones del presente estudio, el consumo del CLA durante los últimos 30 días de engorda, redujo la productividad de los bovinos de engorda sin afectar las características de la canal.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad ha aumentado el interés por alimentos que sean benéficos en la salud humana; este es el caso del ácido linoleico conjugado (CLA). El cual se encuentra naturalmente en varios alimentos; fuente principal son los productos lácteos y otros alimentos derivados de animales rumiantes (Bauman et al., 2008; Bauman y Griinari 2001). El CLA es un ácido graso encontrado en grandes proporciones en productos de origen animal con efectos anti-carcinogénicos y anti-lipogénicos, por lo que su consumo es benéfico para la salud humana (Scimeca, 1999). El empleo del ácido linoleico conjugado (CLA) en la alimentación del ganado lechero, se ha evaluado bajo diferentes sistemas de producción, habiéndose demostrando los beneficios sobre la producción y la calidad de la leche, así como su impacto en la nutrición y salud animal (Bauman y Lock, 2012; Harvatine et al., 2009). En animales productores de carne existe información sobre aspectos relacionados con alternativas para tratar de incrementar el contenido del CLA en la carne y sobre los beneficios de su empleo en la producción de carne (Daley et al., 2010; Dhiman et al., 2005; Mir et al, 2003; Beaulieu et al., 2002). Otros estudios han evaluado la influencia del CLA sobre las características de la canal del ganado de carne cuando se emplean diferentes niveles de proteína (Schiavon y Bittante, 2012) o cuando se emplean diferentes razas de ganado ((Schiavon et al., 2010). Sin embargo, bajo condiciones de producción comercial intensiva, todavía no existe suficiente información sobre el efecto de la suplementación del CLA en el comportamiento productivo de los animales.

Por tal motivo, se diseñó el presente estudio para conocer los cambios en productividad y características de la canal del ganado productor de carne recibiendo CLA en la ración durante los últimos 30 días del periodo de engorda.

PARTE EXPERIMENTAL

Fue evaluada la influencia de la inclusión de CLA en la ración de finalización del ganado de carne. El trabajo experimental se llevó a cabo en los corrales de engorda de Rancho El 17, ubicado en Hermosillo, Son. México, y consistió en una prueba de comportamiento evaluando dos tratamientos:

- 1) Control, sin CLA en la ración de finalización.
- 2) Suplementación de 100 g de CLA por animal por día durante los últimos 30 días del periodo de engorda.

Se emplearon un total de 200 toretes tipo comercial con un peso inicial promedio de 488 ± 1.5 kg, 100 animales por tratamiento, los cuales fueron distribuidos en grupos de 25 animales por corral, teniéndose un total de ocho corrales, cuatro corrales por tratamiento. Al inicio del experimento los animales fueron pesados (peso inicial) y posteriormente a los 30 días de prueba (peso final).

Los animales recibieron a libertad una dieta integral de finalización para la engorda, la cual es a base de maíz rolado, granos secos de destilería, rastrojo molido, melaza, aceite vegetal y premezcla minera. Al momento de elaborar la ración, se incluyó el CLA de tal manera que cada animal recibiera 100 g diarios. Diariamente se realizó la lectura de comederos en una escala de 1 a 5, con base a lo cual se hicieron los ajustes diarios de alimento a ofrecer, registrándose el consumo total por corral y calculándose el promedio por animal. La composición química del alimento se describe en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Composición química de las raciones experimentales¹

Componente (% base seca)	Tratamientos	
	Control, 0g CLA	CLA, 100 g/cabeza/d
Materia seca	94.5	94.8
Proteína Cruda	13.5	13.1
Fibra detergente neutro	20.3	19.2
Fibra detergente ácido	8.9	9.3
Energía Bruta, cal/g	323484	292644

¹ MS, PC, y EB (AOAC, 1990); FDN y FDA (Robertson y Van Soest, 1981).

Al final de los 30 días de experimentación, los animales fueron pesados y transportados al rastro Tipo Inspección Federal Planta TIF 118 PEGSON SAPI de CV, en Hermosillo, Son., donde se siguen todas las especificaciones de manejo y sacrificio de los animales conforme a la NORMA Oficial Mexicana NOM-033-ZOO-1995, Sacrificio humanitario de los animales domésticos. Las canales calientes fueron pesadas y se les midió el pH (potenciómetro Hanna con electrodo de gel), para posteriormente colocarlas en cámaras frías durante 24 horas, al cabo de las cuales se volvieron a pesar y a medir su pH. Las variables de respuesta evaluadas fueron:

- ganancia diaria de peso
- consumo diario de materia seca
- conversión alimenticia
- rendimiento en canal
- características físicas de la canal

Análisis estadístico

Los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza para un diseño completamente al azar (Cochran y Cox, 1990) de acuerdo al modelo matemático $Y_{ij} = u + T_i + E_{ij}$. La información fue analizada empleando los procedimientos PROC GLM y lsmeans del paquete estadístico SAS (SAS, 1998).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 2 se muestran las medias mínimas cuadradas (\pm error estándar) de las variables evaluadas. Se puede apreciar que el peso final y la ganancia diaria de peso fueron menores estadísticamente ($P < 0.03$) en los animales recibiendo la dieta con CLA. Las medias de peso final y ganancia diaria de peso correspondientes al grupo control vs. el grupo consumiendo CLA, fueron de 527.0 ± 1.2 kg vs. 523.1 ± 1.2 kg, y de 1.3 ± 0.4 kg vs. 1.2 ± 0.4 kg, respectivamente. La conversión alimenticia fue mejor en los animales del grupo control, con una media de 7.2 ± 0.2 kg vs. 8.1 ± 0.2 kg. Sin embargo, no se encontraron diferencias ($P > 0.1$) para consumo diario de materia seca ni rendimiento en canal, siendo las medias mínimas cuadradas correspondientes de 8.92 ± 0.1 kg y de $60.1 \pm 1.8\%$. Tampoco fueron diferentes ($P > 0.1$) los contenidos de grasa renal, grasa dorsal, madurez ni marmoleo.

Cuadro 2. Respuesta productiva y características de la canal de bovinos recibiendo CLA en la dieta de finalización.

Variable de respuesta	Tratamiento		P
	Control	CLA	
Peso Final, kg	527.0 ± 1.3	523.1 ± 1.3	0.03
Ganancia total de peso, kg	40.5 ± 1.3	36.57 ± 1.3	0.03
Ganancia diaria de peso, kg	1.3 ± 0.04	1.2 ± 0.04	0.03
Consumo diario de materia seca, kg	8.9 ± 0.02	8.9 ± 0.02	0.84
Conversión alimenticia	7.2 ± 0.2	8.2 ± 0.2	0.007
Peso canal caliente, kg	316.8 ± 0.9	316.9 ± 0.9	0.87
Peso canal fría, kg	315.5 ± 0.9	315.6 ± 0.9	0.98
Rendimiento en canal, %	59.9 ± 0.2	60.4 ± 0.2	0.07
Grasa renal, %	2.6 ± 0.04	2.6 ± 0.04	1.0
Grasa dorsal, %	6.6 ± 0.4	6.9 ± 0.4	0.6
Madurez	1.18 ± 0.04	1.16 ± 0.04	0.7
Marmoleo	2.32 ± 0.04	2.28 ± 0.04	0.5

Se agradece al Rancho El 17, Hermosillo, Son., a su personal administrativo y de campo, por permitir el desarrollo del trabajo experimental con sus animales y en sus instalaciones, a BASF Mexicana, S.A. de C.V. por proporcionar el CLA empleado en el estudio y al programa Fondo de Proyectos Especiales de Rectoría (FOPER) de la Universidad Autónoma de Querétaro por el patrocinio del trabajo experimental.

BIBLIOGRAFÍA

1. AOAC, "Association of Official Analytical Chemists", *Official Methods of Analysis*. 15th ed. 1991. Arlington, VA.
2. D.E. Bauman. and A. L. Lock. "Update: Milk fat and human health – separating fact from fiction", *Proc. Cornell Nutr. Conf.* 2012. pp. 66-76.
3. A. D. Beaulieu, J. K. Drackley and N. R. Merchen, "Concentration of conjugated linoleic acid (cis-9, trans-11-octadecadienoic acid) are not increased in tissue lipids of cattle fed a high-concentrate diet supplemented with soybean oil", *J. Anim. Sci.* 2002, Vol. 80 pp.847-861.
4. W. G. Cochran y Gertrude M. Cox. "Diseños experimentales", Segunda edición en español. *Editorial Trillas, S.A. de C.V.* México 1990.
5. C.A. Daley, A. Abbott, P.S. Doyle, G.A. Nader, and S. Larson, "A review of fatty acid profiles and antioxidant content in grass-fed and grain-fed beef", *Nutrition Journal*, 2010, Vol. 9:10. <http://www.nutritionj.com/content/9/1/10>
6. T.R. Dhiman, N. Seung-hee and A. L. Ure. "Factors affecting conjugated linoleic acid content in milk and meat", *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2005, Vol. 45, pp. 463-482.
7. K. J. Harvatine, Y. R. Boisclair, and D. E. Bauman.. Recent advances in the regulation of milk fat synthesis. *Animal*, 2009, Vol. 3, pp. 40-54.
8. P. S. Mir, M. Ivan, M. L. He, B.Pink, E. Okine, L. Goonewardene, T.A. McAlister, R. Weselake, and Z. Mir, "Dietary manipulation to increase conjugated linoleic acids and other desirable fatty acids in beef: A review", *Can. J. Anim. Sci.*, 2003, Vol. 83, pp. 673-685.
9. F. C. Parish Jr., B.R. Wiegand, D.C. Beitz, D.U. Ahn, M. Du, and ,A.H. Trenkle, "Use of dietary CLA to improve composition and quality of animal-derived foods", In: *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*. Jean-Louis Sébédio, William W. Christie and Richard Adlof, eds. (AOCS Press. Champaign, Ill. USA. 2002), Vol. 2, pp. 189-217.
10. J. B. Robertson P. J. Van Soest, "The detergent system of analysis and its application to human foods", In: *The analysis of dietary fiber in food*. W.T. James O. Theander, eds. (Markel Dekker, Inc. N.Y. 1981) pp.123-158.
11. Norma Oficial Mexicana NOM-033-ZOO-1995, Sacrificio Humanitario de los Animales Domésticos y Silvestres.
12. SAS, "SAS User's Guide: Statistics", Version 7 Edition. SAS Institute Inc., Cary, NC. 1998
13. S. Schiavon and G. Bittante "Double-muscléd and conventional cattle have the same net energy requirements if these are related to mature and current body protein mass, and to gain composition". *J. Anim. Sci.* 2012, Vol. 90, pp. 3973-3987.
14. S. Schiavon, F. Tagliapietra, M. Dal Mass, L. Bailoni, and G. Bittante.. Effects of low-protein diets and rumen-protected conjugated linoleic acid on production and carcass traits of growing double-muscléd Piemontese bulls. *J. Anim. Sci.*, 2010, Vol. 88, pp.3372-3383.
15. J. A. Scimeca, "Cancer inhibition in animals", En: *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*. Jean-Louis Sébédio, William W. Christie and Richard Adlof, eds. (AOCS Press. Champaign, Ill. USA. 1999), Vol. 1. Capítulo 34, pp. 420-443.

PAQUETE TECNOLÓGICO PARA EL CULTIVO ORGÁNICO DE ESCAROLA (*CICHORIUM ENDIVIA* L) Y BETABEL (*BETA VULGARIS* L.)

Diana Cordero ^a, Ma. Socorro Orozco ^b

Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM., Unidad de investigación en Ecología Vegetal
centro de capacitación en agricultura urbana "Chimalxochipan" México, D.F.,
dianaescolares@hotmail.com, mariaorozco_2009@hotmail.com.

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo desarrollar un paquete tecnológico para el cultivo orgánico de escarola (*Cichorium endivia* L) y betabel (*Beta vulgaris* L.). La investigación se desarrolló en el Centro de Capacitación en Agricultura Urbana "Chimalxochipan" en la FES Zaragoza. Ambos cultivos se realizaron a cielo abierto, cada uno en una cama biointensiva de 6 m² con una densidad de plantación para ambos cultivos de 9 plantas/ m². Las dos especies se trasplantaron con un arreglo a tresbolillo. La escarola se intercaló con rábano, cebolla y caléndula como plantas acompañantes, para el control natural de plagas y el betabel con hierbabuena. Quincenalmente se evaluó: emergencia, altura, cobertura, peso fresco, índice de robustez, razón r/v, y también se calcularon los costos de producción e índice costo/beneficio. Como parte del paquete tecnológico, se determinó la cantidad de luz requerida, el riego y la temperatura, para el buen desarrollo de los cultivos; así como se elaboraron los abonos orgánicos y se establecieron las estrategias de biofertilización. Los paquetes tecnológicos para los dos cultivos, resultaron exitosos. La escarola se cosechó a los 90 días, y el betabel a los 95 días, con un rendimiento de 1.16 kg/m² y 1.27 kg/m² en relación a cada uno de ellos. El costo de producción/ planta de la escarola fue de \$27 y el del betabel de \$13, con un índice costo/ beneficio de 1.79 para la escarola y de 1.42 para el betabel, resultando el cultivo de ambas especies rentable económicamente.

INTRODUCCIÓN

El Codex Alimentarius define agricultura orgánica como un sistema holístico de producción que promueve y mejora la salud del agroecosistema, incluyendo la biodiversidad, los ciclos biológicos y la actividad biológica del suelo, prefiriendo el uso de prácticas de manejo dentro de la finca al uso de insumos externos a la finca, tomando en cuenta que condiciones regionales requieren de sistemas adaptados a las condiciones locales. Esto se logra utilizando en lo posible métodos culturales, biológicos y mecánicos en oposición a materiales sintéticos para satisfacer cualquier función específica dentro del sistema (Codex, 1999). Un sistema de producción orgánico debe:

1. Mejorar la diversidad biológica del sistema
2. Aumentar la actividad biológica del suelo
3. Mantener la fertilidad del suelo al largo plazo
4. Reciclar desechos de origen animal o vegetal para devolver los nutrientes al sistema, minimizando el uso de fuentes no renovables
5. Contar con recursos renovables en sistemas agrícolas localmente organizados
6. Promover el uso saludable del agua, el suelo y el aire, así como minimizar todas las formas de contaminación que pueden resultar de la producción agrícola
7. Manejar los productos agrícolas en su procesamiento con el cuidado de no perder la integridad orgánica en el proceso
8. Establecerse en fincas después de un período de conversión, cuya duración estará determinada por factores específicos de cada sitio, tales como el historial del terreno y el tipo de cultivos y ganado producido (Codex, 1999).

Por su origen la agricultura orgánica surge desde una concepción integral, donde se involucran elementos técnicos, sociales, económicos y agroecológicos. No se trata de la mera sustitución del modelo productivo o de insumos de síntesis artificial por insumos naturales. La agricultura orgánica es una opción integral de desarrollo capaz de consolidar la producción de alimentos saludables en mercados altamente competitivos y crecientes.

TEORÍA

Antecedentes

La propagación orgánica de hortalizas es una actividad incipiente en México, la producción en un 95%, se basa principalmente en las prácticas de la agricultura industrial, donde la aplicación de fertilizantes, plaguicidas y herbicidas es indispensable para la obtención de altos rendimientos, esto debido a la condición de deterioro en el que se encuentran los suelos de la República Mexicana, en relación a su pobreza de nutrimentos y presencia de una gran cantidad de contaminantes, lo cual ha sido consecuencia de la aplicación indiscriminada de éstas sustancias al suelo. Ante esta situación, es necesario buscar opciones de producción de alimentos bajo los principios de agriculturas alternativas, como la ecológica u orgánica, que generan la producción de alimentos entre ellos las hortalizas, libres de remanentes de sustancias químicas dañinas para la salud y cuyas prácticas de producción se basan en un sistema de manejo que no daña los recursos naturales como el suelo, el agua y la biodiversidad.

La producción de hortalizas bajo un sistema ecológico, debe ser totalmente sostenible, para lo cual es necesario elaborar o asegurar los insumos necesarios para tal producción y, así dejar de ser dependiente de insumos externos. Es importante que bajo este sistema de producción, se utilicen recursos locales que permitan la elaboración de abonos orgánicos, así como, el uso de una gran diversidad de plantas que permitan la creación de hábitats para el mantenimiento de organismos benéficos para los cultivos en producción, como polinizadores y enemigos naturales de las plagas. Estos cultivos orgánicos además requieren del manejo de las condiciones de luz, riego, fertilización, poda y control de plagas, que permitan una producción con buenos rendimientos, de aquí la necesidad de generar paquetes tecnológicos basados en la agricultura ecológica (Cuevas, 2003).

Características generales de la escarola

Es parte de la familia Asteraceae y el origen de este cultivo parece ubicarse en la India Oriental. Es conocida y utilizada por los hombres desde hace muchos años. Ya los egipcios la consumían cocida o en ensalada, especialmente las variedades de hoja lisa, puesto que las variedades de hoja rizada no se conocieron hasta el siglo XVI.

Se emplea principalmente en ensaladas debido a su sabor amargo y a su alto contenido en vitaminas (A, B₁, B₂, B₃ y C). También tiene la propiedad de estimular el apetito.

La hojas de la escarola contiene intibina (principio amargo), la cual es reconocida por su efecto facilitador del buen funcionamiento de la vesícula biliar y del hígado, favoreciendo la digestión de las grasas.

La escarola es una planta anual o biannual. Posee una raíz pivotante, corta y con pequeñas ramificaciones, las hojas están colocadas en roseta, desplegadas al principio. No llegan a formar nunca pella, pero hay variedades en que las hojas nacen muy apretadas y dan lugar a un blanqueamiento natural. Después de estar madura, es cuando la escarola emite el tallo floral que se ramifica en capítulos de flores de color azulado. Forma frutos en aquenios, que se confunden con las verdaderas semillas y que son de mayor tamaño que los de las lechugas.

Existen dos grupos de variedades en función de la forma de sus hojas: *Cichorium endivia* var. Crispa: tiene hojas muy divididas y retorcidas, con los bordes dentados y *Cichorium endivia* var. Latifolia: con hojas anchas, onduladas y los bordes son apenas dentados (Anónimo, 2008).

Características generales del betabel

Es de la familia Amaranthaceae Esta hortaliza es originaria de Europa, del área del Mediterráneo, donde los griegos aprovechaban sus hojas como alimento. En 1558 fue reportada en Alemania y en América (1806), donde se utilizaba para consumirla cocida.

Es una planta herbácea de vida corta, que tiene un tamaño 0.6 a 1 m de alto con un tallo ramificado en la parte superior, verde o a veces rojiza. Sus hojas son alternas, algo carnosas, las basales dispuestas en roseta, grandes (de hasta 20 cm de largo), pecioladas, a veces con el margen sinuado, las hojas superiores más chicas y casi sésiles.

Presenta flores hermafroditas, con estambres y pistilos pudiendo aparecer solas o en grupos (panícula) apretados de dos o tres. La flor está compuesta de cinco pétalos, que al madurar forman un pequeño fruto que contiene de 2 a 6 semillas muy pequeñas en forma de munición o de un frijol pequeño (Rivera, 2011).

Las hojas (cuello) de la remolacha son una fuente excelente de vitamina A y las raíces (remolachas) son una buena fuente de vitamina C.

El betabel posee hojas comestibles en su parte superior, las cuales contienen beta carotenos, calcio y hierro; éstas pueden cocerse de igual manera que las espinacas. En las civilizaciones antiguas sólo se comían las hojas, y la raíz se usaba como medicamento para tratar dolores de cabeza y dolores de muelas. También es una buena fuente de folato: una vitamina esencial para mantener sanas las células (su deficiencia está relacionada con la anemia) (Anónimo, 2014).

PARTE EXPERIMENTAL

Metodología

Las dos hortalizas se cultivaron a cielo abierto en un camas de cultivo de 6 m², las cuales previamente se trabajaron mediante el método de doble excavación (Jeavons, 2002), para facilitar el desarrollo radical. La escarola se sembró en almácigo y el betabel de manera directa, la densidad de plantación para ambos cultivos fue de 9 plantas/m². Durante el desarrollo de ambos cultivos, se evaluaron las siguientes variables: emergencia, altura, cobertura, peso fresco, índice de robustez, relación biomasa seca aérea/ biomasa seca raíz, índice de cosecha, costos de producción, así mismo se cuantificó el rendimiento y el índice costo/beneficio. También se evaluó el tiempo de cosecha bajo las condiciones locales de producción.

Durante el desarrollo, se evaluó la cantidad de luz necesaria para un buen rendimiento, la cantidad de riego y la frecuencia de biofertilización, el tipo de abonos orgánicos, así como las estrategias de manejo de plagas, de esta manera se generó el paquete tecnológico de producción orgánica.

Los resultados demuestran que el cultivo ecológico de estas dos hortalizas, es rentable económicamente, donde los rendimientos fueron de 1.16 kg/m² para escarola y 1.27 kg/m² para betabel. El costo de producción/ planta de la escarola fue de \$27 y el del betabel de \$13, con un índice costo/ beneficio de 1.79 para la escarola y de 1.42 para el betabel, resultando el cultivo de ambas especies rentables económicamente. El cultivo ecológico, solo requiere del control de las siguientes actividades culturales: luz solar directa o difusa, riego moderado (dos-tres veces/semana), biofertilización mensual con composta, materia orgánica, lixiviado de lombricomposta y microorganismos eficientes, roca fosfórica, zeolita y ceniza, en forma de

aporque. La presencia de plagas se mantuvo bajo el umbral económico, aunque para mantenerlo en estas condiciones se intercalaron plantas de caléndula, cebollín, rábano y hierbabuena y se aplicó un biopreparado de ajo, cebolla y chile, así como pulverizaciones de azufre, cuando las poblaciones eran incipientes

CONCLUSIONES

El cultivo orgánico de la escarola y betabel, producen buenos rendimientos, como una respuesta directa a los insumos naturales utilizados. Las plantas acompañantes como cebollín, rábano, caléndula y hierbabuena, regulan las plagas, donde sus poblaciones se mantienen bajo el umbral económico. Los dos cultivos bajo el manejo agroecológico resultaron rentables económicamente.

BIBLIOGRAFÍA

1. Anónimo, Betabel. E.U. SNAP.Vol. I, 10, 2010, pp.1-7
2. Anónimo. (2014). El betabel. 11/05/2014. Sitio web: <http://www.alimentacion-sana.org/informaciones/alimentoscuran/betabel.htm>
3. Anónimo. (2008). *El cultivo de la escarola*. Infoagro Systems, S.L. 04/20/ 2014. Sitio web: <http://www.infoagro.com/>.
4. A. Rivera, (2011). Betabel. 11/05/2014, Sitio web: <http://www.faxsa.com.mx/semhort1/c60be001.htm>.
5. J. Alcázar, Manual básico "Producción de hortalizas". México. 2010 pp. 4-30
6. J. Jeavons & C. Cox *El huerto sustentable, como obtener suelos saludables, productos sanos y abundantes*. EU. Wade Fox. 2007. pp 20-25
7. O. Cuevas, Agricultura orgánica: una herramienta para el desarrollo rural sostenible y la reducción de la pobreza. Costa Rica. 2003, pp. 1-12
8. R. Romero (2008). *Producción de hortalizas orgánicas. Manual del cultivo biointensivo de alimentos*. Las Cañadas. Recuperado: 04/20/2014. Sitio web: <http://www.tierramor.org/PDF-Docs/ManualHuertoBiointensivo.pdf>
9. T. Moore, P. Sánchez & C. Desmarchelier, *Manual de cultivo y manejo de Caléndula*. Argentina. Asociación Argentina de Fitomedicina (AAF). 2012.pp 3-13
10. V. Rozano, C. Quiroz, J. Acosta, L. Pimentel & E. Quiñones, Hortalizas, las llaves de la energía. *Revista digital Universitaria*.Vol 5,7, 2004, pp.2-30.

EFFECTO DE LA ELIMINACIÓN DE LOS PASTOS EN LA REGENERACIÓN DEL ESTRATO HERBÁCEO DE PAISAJES DE GANADERÍA EXTENSIVA Y ALGUNOS MÉTODOS PARA MEDIR EL CAMBIO

Carlos Nahin Castro Jose ^a, Ana Lid del Angel Pérez ^a, Carmen Aridai Hernández Estrada ^a, Marcos Ventura Vázquez Hernández ^a

^aInstituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP)
nahin.castro@gmail.com, delangel.analid@inifap.gob.mx hernandez.carmen@inifap.gob.mx
vazquez.marcos@inifap.gob.mx

RESUMEN

La ganadería extensiva en el estado de Veracruz, ha modificado la estructura y los procesos de regeneración vegetal debido a la introducción de pastos exóticos que generan condiciones adversas para el establecimiento de la vegetación herbácea nativa. El objetivo del trabajo fue determinar el efecto de la eliminación de los pastos sobre la regeneración del estrato herbáceo y medir este cambio con índices de diversidad. Se establecieron tres cuadrantes de muestreo en microambientes de la zona (zona alta, zona de valle y zona riparia) de un área ganadera del centro de Veracruz, se eliminó totalmente la cubierta vegetal y se registraron las especies emergidas por un periodo de un año cada dos meses. Se registró el número total de especies y la cantidad de individuos por especie, los resultados obtenidos se analizaron con el programa PAST con el cual se determinaron los índices de Margalef y de Simpson, los índices muestran que la diversidad y dominancia de especies es mayor en la zona de valle, con valores de 4.8 y 0.93 respectivamente, sobre todo en época de lluvias, debido a las condiciones orográficas y de proximidad a la fuente de propágulos. Considerando lo anterior se concluye que es posible sugerir actividades de manejo de las zonas ganaderas que permitan el crecimiento controlado de los forrajes y favorezcan el establecimiento de especies vegetales nativas.

INTRODUCCIÓN

La ganadería extensiva está caracterizada por desarrollarse en áreas donde el ganado puede pastar libremente, generalmente, estas zonas de pastoreo han sido adecuadas para tal actividad modificando de manera parcial o total el ambiente, para el caso de la zona centro de Veracruz, ecosistemas como las dunas costeras que se adentran para formar los llamados médanos, llanuras inundables, humedales y selvas bajas subcaducifolias, han sido transformados al punto en que la vegetación actual es muy diferente a la que originalmente se encontraba en estas zonas (Bedoya *et al.*, 2010). Las modificaciones a estos ecosistemas van desde las reestructuraciones físicas del terreno hasta los cambios totales de la estructura vegetal; durante este proceso la vegetación nativa ha sido sustituida por gramíneas forrajeras exóticas (Mora *et al.*, 2013), cuyo desarrollo vegetativo es muy agresivo, con lo que se produce un efecto dominante sobre las especies (Moreno, 2001), dichas gramíneas tienen un crecimiento acelerado, alta resistencia a periodos de sequía e inundación (Moreno *et al.*, 2011), así como una alta producción de biomasa, lo cual genera condiciones microclimáticas tales como elevados niveles de temperatura, humedad y sombra en el suelo que reducen la germinación de las semillas de otras especies. En ausencia de regeneración natural se vuelve necesaria la intervención humana con el fin de restaurar las propiedades originales del ecosistema, lo cual puede involucrar costos económicos, (Martínez y García, 2007) pero estas actividades de recuperación de la vegetación nativa, no solo conlleva al mejoramiento del ecosistema a nivel de especies, sino también una mejora en las condiciones de vida de los habitantes a través de los servicios ambientales que ofrece a la zona. Aunado a lo anterior, es de suma importancia destacar la relación hombre-planta, ya que muchas de las especies que se pierden al momento de establecer un sistema ganadero extensivo, han tenido un vínculo ancestral por medio de la utilización de la plantas como alimento, medicina y materia prima para la vida

cotidiana. Por lo anterior, este trabajo pretende determinar eliminando los pastos, la regeneración del estrato herbáceo, medido con índices de diversidad.

TEORÍA

En los últimos 150 años grandes extensiones de bosques y otros ecosistemas han sido transformados en pasturas, en ellas, el restablecimiento de la vegetación herbácea puede darse lentamente y limitar los procesos de regeneración (Posada *et al.*, 2000). Dadas las características de las especies de pastos que se utilizan en terrenos ganaderos en donde se forma un monocultivo forrajero se presentan condiciones que limitan el establecimiento y desarrollo de una gran variedad de especies, como algunos tipos de plantas leñosas (Muñiz *et al.*, 2006). En el caso de especies del dosel Ortega *et al.*, (2011), señalaron que la germinación de ciertas especies arbóreas se ve favorecida en zonas en las que se desarrollan pastos nativos, en estas zonas, a diferencia de donde se cultivan pastos exóticos se tienen tasas de germinación de hasta el 92 %. Es importante considerar factores como este en sistemas de producción pecuaria, de tal forma que se puedan establecer condiciones de manejo en las que se puedan sugerir acciones que apoyen tanto la conservación como la producción, ya que, como señalan Cingolani *et al.*, (2008) no es viable inclinarse solo al aspecto ecológico debido a la imposibilidad de realizar actividades de conservación en todas las áreas de ganadería extensiva, sin causar afectaciones al medio de subsistencia de muchas personas, y de la misma forma, no es posible dejar de lado los efectos que causa la ganadería, ya que, si en el corto plazo no se atienden las necesidades del medio, en los años siguientes se agotará una gran cantidad de recursos naturales así como los servicios ambientales proporcionados por el ecosistema. Para establecer acciones de manejo que contribuyan a un equilibrio entre lo productivo y lo conservacionista es importante considerar el establecimiento de parámetros que indiquen el estado en el que se encuentra el medio. Para ello se existen una gran variedad de índices de diversidad, los cuales pretenden ser indicadores del bienestar de los ecosistemas (Bravo, 1991); a través de ellos es posible determinar si existe riqueza, abundancia, dominancia entre especies o similitud o disimilitud entre paisajes (Moreno 2001). A pesar de que se ha señalado que los índices de diversidad comprimen demasiado la información, en muchos casos son el único método para analizar los datos provenientes de muestreos de vegetación, y en la actualidad son ampliamente utilizados en la realización de estudios florísticos y ecológicos en diferentes ecosistemas (Moreno *et al.*, 2010, Gelviz *et al.*, 2013), la ventaja principal de los índices es que resumen la información a un solo valor y permiten una comparación rápida, lo cual es importante debido al acelerado proceso de cambio en el que se encuentran los ecosistemas (Moreno 2001). Por todo lo anterior, en búsqueda de establecer acciones que promuevan la conservación de las especies vegetales para realizar acciones que no dejen de lado el aspecto productivo de la ganadería, se requiere realizar la descripción del comportamiento de los procesos de sucesión vegetal que ocurren en zonas ganaderas y generar información para promover sistemas productivos de menor impacto ambiental.

PARTE EXPERIMENTAL

El área de trabajo se encuentra en la localidad de Loma Iguana, Municipio de La Antigua, Ver., ubicado a 19°22' latitud norte y 96°18' longitud oeste y una altura de 20 msnm. Se establecieron cuadrantes de 1m² en diferentes microambientes del área ganadera (Zona de loma, valle y zona riparia), con un total de tres repeticiones para cada una. En el área de los cuadrantes se eliminó la cubierta vegetal, compuesta en su mayoría por pastos forrajeros y se aflojó el suelo de tal forma que los estolones y raíces se extrajeran completamente y así evitar el rebrote. De julio de 2013 a junio de 2014 se realizó la toma de datos cada dos meses. Se registró el número total de especies emergidas por cada cuadrante identificándolas por medio del registro fotográfico. Las especies, y el número total de cada una fueron capturados en una hoja de cálculo de Microsoft Excel y posteriormente analizados con el programa estadístico PAST (Hammer *et al.* 2001). Se obtuvieron los índices de Margalef y de Simpson.

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones de muestreo generadas después del establecimiento de los cuadrantes se registraron en la zona de loma 9 especies, en la zona de valle de 8 hasta 17 especies y en la zona riparia desde 2 hasta 7 especies dependiendo la fecha de medición.

Se utilizó un índice de riqueza específica, en este caso del índice de Margalef, el cual supone que las especies se añaden conforme aumenta el muestreo, valores altos indican una alta diversidad, los cercanos a cero indican una sola especie. Este concepto se relaciona con el número de especies presentes en la comunidad, y el número total de individuos independientemente del tamaño de la muestra (Moreno, 2001), está representado por la fórmula 1.

$$D_{Mg} = \frac{S - 1}{\ln N}$$

Fórmula 1. Índice de diversidad de Margalef

Dónde:

S= número de especies

N= número total de individuos

Tabla 1. Valores del índice de Margalef para los muestreos de vegetación en zonas ganaderas.

ÍNDICE DE MARGALEF						
	Julio 2013	Septiembre 2013	Noviembre 2013	Febrero 2014	Abril 2014	Junio 2014
ZONA ALTA	1.82	3.82	1.66	0	0	1.57
ZONA VALLE	2.79	4.52	4.84	2.23	1.55	3.29
ZONA RIPARIA	1.44	2.33	2.89	1.71	0	0

Los datos sugeridos por el índice de Margalef muestran que existe una mayor diversidad de especies en la zona de valle, a pesar de que existe una marcada estacionalidad debido a los periodos de lluvia y sequía en el área, la zona de valle continuo presentando mayor número de especies y un índice de diversidad más alto que las otras zonas a lo largo del año, existen distintos factores que afectan los procesos de sucesión en un campo ganadero, por ejemplo, la cercanía a la fuente de propágulos, los valores de este índice se atribuyen a las condiciones en las que se encuentra la zona de valle., al estar cerca de acahuales y zonas con vegetación nativa en proceso de regeneración, estas funcionan como importantes fuentes de semillas, estolones, tubérculos o rizomas, para promover el inicio de los procesos de sucesión vegetal (Ortega *et al.*, 2011, Muñiz *et al.*, 2006). Para el caso de la zona de valle, que fue la que presento más especies, el hecho de que el sitio de muestreo este ubicado cerca de zonas de acahuales tiene una fuerte influencia para la deposición de semillas de plantas vecinas ya sea por acción del viento, el agua o los animales, estos últimos principalmente aves, cumplen una importante función como dispersoras de semillas en campos ganaderos (Puebla y Winker., 2004), en estas condiciones la lluvia de semillas parece tener un efecto más notorio en el cuadrante muestreado, es probable que muchas de las semillas emergidas en la zona se hayan encontrado ahí desde mucho tiempo antes de realizar la preparación de los cuadrantes para los muestreos, sin embargo las condiciones generadas por la alta dominancia de los pastos no permitía su germinación debido a las condiciones microclimaticas que generan en el suelo (Ortega *et al.*, 2011), debido a que las actividades de manejo en el agroecosistema, en este caso el cultivo de pasturas, tienen un marcado impacto en los procesos de regeneración y regulación del banco de semillas (Acosta y Agüero., 2001). La zona de loma presenta una baja vegetación debido a que el suelo arenoso, que se caracteriza por una inestabilidad constante, se encuentra expuesto a factores como la erosión por lluvia y viento, así como la escasa vegetación arbórea del área circundante que hacen más difícil el establecimiento de especies herbáceas (Manning *et al.*, 2005). Para el caso de la zona riparia el número de especies fue mínimo, a pesar de que se ha reportado que este tipo de zonas tiene condiciones para el desarrollo de una alta diversidad de especies (Merlos *et al.*, 2005) tanto hidrófilas como herbáceas tolerantes a largos periodos de humedad e incluso inundación, las características del

suelo que permanece inundado parecen haber influido en el bajo establecimiento de nuevos individuos, lo que coincide con los menores valores de riqueza encontrados en zonas bajas de Veracruz (Travieso *et al.*, 2005) donde el valor de riqueza fue de dos.

La presencia de vegetación de tipo herbáceo es el estado inicial del proceso de restauración en áreas ganaderas, las cuales, dan paso a las especies leñosas con lo que la cubierta forestal se recupera rápidamente (Aide *et al.*, 1996) los valores superiores a dos del índice de Margalef en los cuadrantes muestreados sugieren que la biodiversidad vegetal tiende a incrementarse en la temporada de lluvias, bajo la condición de control de crecimiento de los pastos, lo que sugiere que el manejo, sobre todo de las especies exóticas, las cuales han provocado un cambio ambiental sin precedentes en México (Moreno *et al.*, 2007), es fundamental en las actividades de conservación de paisajes ganaderos.

También se utilizó el índice de Simpson el cual valora fuertemente la distribución de abundancias, se puede expresar como el grado de dominancia de ciertas especies, en este caso el valor máximo es 1 y este se da cuando solamente hay una especie (dominancia completa) mientras que los valores que se aproximan a cero son obtenidos cuando existen numerosas especies y cada una es una fracción muy pequeña del total (Odum, 1986). Como el valor del índice de Simpson es inverso a la equidad, se puede calcular como muestra la fórmula 2.

$$s_{i_D} = 1 - \sum_{i=1}^s P_i^2 = 1 - D_{5i}$$

Fórmula 2. Índice de Simpson.

En este caso s_{i_D} = índice de diversidad de Simpson que indica la probabilidad de encontrar dos individuos de especies diferentes en dos “extracciones” sucesivas al azar sin “reposición”

Tabla 2. Valores del índice de Simpson para los muestreos de vegetación en zonas ganaderas.

INDICE DE SIMPSON						
	Julio 2013	Septiembre 2013	Noviembre 2013	Febrero 2014	Abril 2014	Junio 2014
ZONA ALTA	0.66	0.89	0.64	0	0	0.41
ZONA VALLE	0.83	0.85	0.93	0.77	0.73	0.83
ZONA RIPARIA	0.50	0.80	0.87	0.36	0	0

Los valores cercanos a uno proporcionados por el índice de Simpson en las zona de valle indican la dominancia por parte de algunas especies y por consiguiente una baja equitatividad, las principales especies fueron *Tridax procumbens*, planta herbácea de porte rastrero con propiedades antidiarreicas, antiinflamatorias y antimicrobianas entre otras (Mundada y Shivhare., 2010) y *Mucuna pruriens*, conocida localmente como “pica-pica” esta última con hasta 80 individuos en los muestreos durante la temporada de lluvias., es considerada por los habitantes locales como una maleza dentro de sus cultivos sin embargo en ciertas regiones es usada para aliviar la fiebre, problemas del ciclo menstrual e incluso como tratamiento de la enfermedad de Parkinson (Kavitha y Thanganami, 2014).

Se puede decir que los resultados preliminares de los muestreos sugieren una riqueza media en la zona de valle, con valores del índice de Margalef superiores a dos, sobre todo en la época estival., sin embargo parece haber cierta dominancia de algunas especies de acuerdo a lo sugerido por los valores cercanos a uno del índice de Simpson, es importante considerar que los mecanismos de dispersión de las especies más dominantes en el presente estudio pertenecientes a las familias Asteraceae y Fabaceae, se caracterizan por elevado número de aquenios en el caso de *Tridax procumbens* y semillas en *Mucuna pruriens*, que permiten un elevado número de individuos al grado de ser consideradas como malezas (Guzmán *et al.*, 2013), pero que forman parte de la vegetación nativa de la región. Los valores más bajos para ambos índice en la zona alta y riparia se deben principalmente a las características del suelo y las condiciones ambientales (procesos de erosión por agua y viento, escasos propágulos y saturación de agua, respectivamente). Las características de la zona de estudio concuerdan con las con las secuencias sucesionales

descritas por Moreno-Casasola (2004), para la zona centro de Veracruz, quien sugiere que los procesos de regeneración vegetal se ven influidos fuertemente por una combinación de factores ambientales, orográficos y de manejos antropogénico. En conclusión, paisajes de ganadería extensiva en donde se pueda controlar el crecimiento de los pastos en determinadas áreas, para mantener también la producción ganadera, es un factor importante en la regeneración de la vegetación nativa que puede contribuir a aumentar los índices de diversidad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aide, T., J. Zimmerman, R. Maide, H. Marcano. 1996. Forest recovery in abandoned cattle pastures along an elevational gradient in northeastern Puerto Rico. *Biotropica*, 28 (4): 537-548.
2. Bedoya, J., G. Estévez, G. Castaño. 2010. Banco de semillas del suelo y su papel en la recuperación de los bosques tropicales. *Boletín Científico. Centro de Museos. Museo de Historia Natural*, 14(2), 77-91.
3. Bravo-Núñez, E. 1991. Sobre la cuantificación de la diversidad ecológica. *Hidrobiológica*, 1(1): 87-93.
4. Cingolani, A., I. Noy, D. Renison, M. Cabido. 2008 .La ganadería extensiva, ¿es compatible con la conservación de la biodiversidad y de los suelos? *Ecología Austral*. 18: 253-271.
5. Gelviz, S., N. Pavón. 2013. Diversidad de especies arbustivas en una zona semiárida del Centro de México. *Revista Chapingo Ciencias Forestales y del Ambiente*, 19 (3): 323-335.
6. Guzmán, M., T. Wend, B. Simpson, M. Alvarado, R. Foroughbakhch, M. González, A. Rocha. 2013. Listado florístico de especies anuales de floración invernal en el noreste de Nuevo León, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 84 (3): 884-893
7. Hammer, Ø., Harper, D.A.T., Ryan, P.D. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1): 9pp. http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm
8. Kavitha, C., C. Thangamani. 2014. Amazing bean “*Mucuna pruriens*”: A comprehensive review. *Journal of Medicinal Plants Research*, 8(2), 138-143.
9. Manning, A., J. Fischer, D. Lindenmayer. 2006. Scattered trees are keystone structures- Implications for conservation. *Biological Conservation*, 132 (3): 311-321.
10. Martínez, M., X. García. 2007. Sucesión ecológica y restauración de selvas húmedas. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 80: 69-84.
11. Merlos, D., C. Harvey, A. Grijalva, A. Medina, S. Vilchez, B. Hernández. 2005. Diversidad, composición y estructura de la vegetación en un agropaisaje ganadero en Matiguás, Nicaragua. *Revista de Biología Tropical*, 53 (3-4):387-414.
12. Mora, C., J. Jiménez, E. Alanís, E. Rubio, J. Yerena, M. González. 2013. Efecto de la ganadería en la composición y diversidad arbórea y arbustiva del matorral espinos tamaulipeco. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 4 (17):124-137.
13. Moreno Casasola P. (2004). Las playas y dunas del golfo de México. Una visión de la situación actual. En M. Caso, I. Pisanty y E. Ezcurra. (Compiladores). *Diagnostico ambiental del golfo de México*. (pp 491-521). México.
14. Moreno, C. E. 2001. Métodos para medir la biodiversidad. M & T- Manuales y Tesis SEA. Vol. L. Zaragoza, 84 pp.
15. Moreno, P., E. Cejudo, A. Capistran, D. Infante, H. López, G. Castillo, J. Pale, A. campos. 2010. Composición florística de humedales herbáceos en la planicie costera central de Veracruz, México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 87: 29-50.
16. Moreno, P., J. Vázquez, H. López. 2011. Cambios en la composición de la comunidad vegetal después de la restauración de un humedal tropical en Veracruz, México. *Ciencia Uat*. 21(3):52-57.
17. Moreno, P., K. Paradowsca, S. Sada, G. Salinas, 2007. Los conflictos de la conservación, el caso de la mancha. Halffter, Gonzalo, Sergio Guevara Sada y Antonio Melic (eds) Hacia una cultura de conservación de la biodiversidad biológica, Zaragoza: Sociedad Entomológica Aragonesa, 222-236.
18. Mundada, S., R. Shivhare. 2010. Pharmacology of *Tridax procumbens* a weed: review. *International Journal of PharmT ech Research*. 2 (2): 1391-1394.

19. Muñiz, M., G. Williams, J. Rey. 2006. Distance effect from cloud forest fragments on plant community structure in abandoned pastures in Veracruz, Mexico. *Journal of Tropical Ecology*. 22:431-440.
20. Odum, Eugene. Ecología. Serie de biología moderna. Edit. CECSA. México. 1986. 295 pp.
21. Ortega, A., F. López, N. Ramírez, J. García. 2011. Early seedling establishment of two tropical montane cloud forest tree species: The role of native and exotic grasses. *Forest Ecology and Management*. 261: 1336-1343
22. Puebla, F., K. Winker. 2004. Dieta y dispersión de semillas de dos especies de tangara (*Habia*) en dos tipos de vegetación en Los Tuxtlas, Veracruz, México. *Ornitología Neotropical*, 15: 53-64.
23. Travieso, A., P. Moreno, A. Campos. 2005. Efecto de diferentes manejos pecuarios sobre el suelo y la vegetación en humedales transformados a pastizales. *Interciencia: Revista de ciencia y tecnología de América*, 30(1), 12-18.

EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO MICROBIANO DURANTE LA FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO DE NOPAL FORRAJERO

H. Cabrera ^a, A. Aguilera ^a, E. Orozco ^a, T. Reis ^a, G. Bernal ^a, E. Díaz ^b

^a Maestría en Recursos Bióticos. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Autónoma de Querétaro. hector.cabrera90@gmail.com, araba@uaq.mx, elba.orozco1@gmail.com, tercia@uaq.mx, dalia@uaq.mx, ^b LMVZ. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Autónoma de Querétaro. quique.3092@hotmail.com

RESUMEN

En el presente trabajo se evaluó el crecimiento y la diversidad de microorganismos presentes en el nopal forrajero fermentado en estado sólido (FES) con o sin levadura y/o urea a diferentes tiempos de fermentación. Los tratamientos de FES de nopal evaluados fueron: 1) 0% levadura y 0% urea; 2) 0.75% levadura y 0% Urea; 3) 0% levadura y 1% urea; y 4) 0.75% levadura y 1% urea. Los tratamientos se realizaron en cubetas con capacidad de 9 kg de nopal picado con tres repeticiones. A las 0, 6, 12, 18, 24, 30 y 36 horas de fermentación aeróbica se tomaron muestras homogéneas para evaluar el crecimiento y la diversidad de microorganismos en el nopal FES. Las muestras se molieron y se realizó su siembra por extensión de superficie por triplicado en un medio de cultivo selectivo para mohos y levaduras compuesto de dextrosa y papa y se incubaron a 30° Celsius durante 96 horas. De cada tratamiento y hora de la FES se realizó el conteo de Unidades Formadoras de Colonias y tinción de Gram para observar la morfología de células y la diversidad de microorganismos presente en el nopal fermentado. En los tratamientos 2 y 4, independientemente del tiempo de fermentación, presentaron una dominancia de levaduras; mientras que en el tratamiento 1 y 3 hubo mayor diversidad de microorganismos (cocos, bacilos, levaduras y mohos). El número de colonias fue directamente proporcional al tiempo de fermentación, el tratamiento 4 con levadura y urea presentó el mayor número, seguido del tratamiento 2 con levadura. Caso contrario en el tratamiento 3, donde la urea provocó un decremento en el número de colonias con respecto al tratamiento 1 sin urea. El crecimiento microbiano durante la FES de nopal se vio favorecido con la inclusión de levaduras y urea como fuente de nitrógeno.

INTRODUCCIÓN

El contenido de proteína del nopal es bajo, 3.4 - 4% en base seca, por lo que ésta se convierte en la principal limitante para llenar los requisitos de los animales cuando se alimentan con nopal (Aguilera *et al.*, 2001; Flores y Suassuna, 2006), por lo cual es primordial incrementar este nutrimento. Para aumentar el contenido de la proteína en el nopal se pueden utilizar levaduras, hongos y bacterias mediante fermentación aeróbica (Flores y Suassuna, 2006). En la bibliografía se reporta el uso de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* que permite el incremento de proteína desde un 7.8 a 41.13% en harina de maíz precocida (Gualtieri y Sánchez, 2003).

El objetivo del uso de la levadura es la transformación de materia sólida de forma aerobia sobre un sustrato insoluble sin una fase libre, donde puede existir una variación del nivel de humedad del 30 al 80% del sustrato donde se pretende realizar la inoculación del microorganismo (Subramaniyam, 2012; Raimbault, 1998; Ruíz, 2007; Bhargava, 2007).

En el presente trabajo se evaluó el crecimiento y la diversidad de microorganismos presentes en el nopal forrajero fermentado en estado sólido (FES) con o sin levadura y/o urea a diferentes tiempos de fermentación.

TEORÍA

El nopal forrajero es útil no sólo porque sobrevive a las sequías, sino también porque es más eficiente que muchas gramíneas o pastos forrajeros de hoja ancha. La importancia forrajera del nopal *Opuntia spp* aplica para el ganado, pero también ha sido usado como forraje para cerdos. Aún durante los períodos de sequía en el verano o el invierno, el nopal permanece verde, con buen nivel de vitamina A. Sin embargo, debe ser combinado con otros alimentos para complementar la dieta diaria, debido a que tiene bajo contenido de proteína, a pesar de ser rico en carbohidratos y calcio (Díaz *et al.*, 2012).

El término “proteína unicelular”, significa o identifica a alimentos proteicos derivados de microorganismos unicelulares o pluricelulares crecidos por procesos fermentativos en cultivos sumergidos, de diversas fuentes y en desechos orgánicos. También se le conoce como proteína microbiana, biomasa o SCP (*Single cell protein*). Suelen ser producidas por métodos no tradicionales y están asociadas al reciclaje de una gran variedad de desechos biodegradables de bajo valor económico (Gualtieri, 2003).

Se puede mejorar el valor nutritivo del nopal mediante un proceso de fermentación en presencia de algunos microorganismos, los cuales transforman los polisacáridos de las hojas o cladodios del nopal, en moléculas más simples de carbono que, al agregar fuentes de nitrógeno (sulfato de amonio; urea), pueden transformarlas en proteína. Este proceso ha sido ya ensayado con técnicas de macrofermentación con el fin de emplearlo como forraje (Aranda *et al.*, 2009, Flores y Aranda, 1997). Asimismo, se ha usado del nopal, en su forma natural, como complemento de forrajes ya empleados para alimentar ganado ovino o caprino (Hernández, 2012).

Dentro de los microorganismos que han sido autorizados para su empleo en la alimentación animal podemos distinguir diferentes grupos de bacterias probióticas (*Bacillus cereus*, *Bacillus cereus toyoi*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus faciminis*, *Pediococcus acidilactici*) y entre las levaduras el género más común es el *Saccharomyces*, especies *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces cerevisiae* variedad Boulardii. Todas estas cepas han demostrado efectos positivos en diferentes especies tales como rumiantes, aves, porcinos, peces y conejos. Las levaduras son microorganismos eucariotas y sus propiedades son completamente diferentes a las de las bacterias. Por ejemplo, las levaduras son resistentes a los antibióticos, sulfamidas y otros agentes antibacteriales. Esta resistencia es genéticamente natural y no es susceptible a ser modificada o transmitida a otros microorganismos. El tamaño de las levaduras varía alrededor de 5 x 10 µm y es también significativamente mayor al de la bacteria (0.5 x 5 µm) (Bazay, 2010).

El uso de *S. cerevisiae* como suplemento en dietas fibrosas produce modificaciones en los patrones de fermentación en el rumen como la mejora en la utilización de la fibra y disponibilidad de los nutrientes, aumento en el número de bacterias celulolíticas y disminución en la concentración de ácido láctico (Rodríguez, 2012).

PARTE EXPERIMENTAL

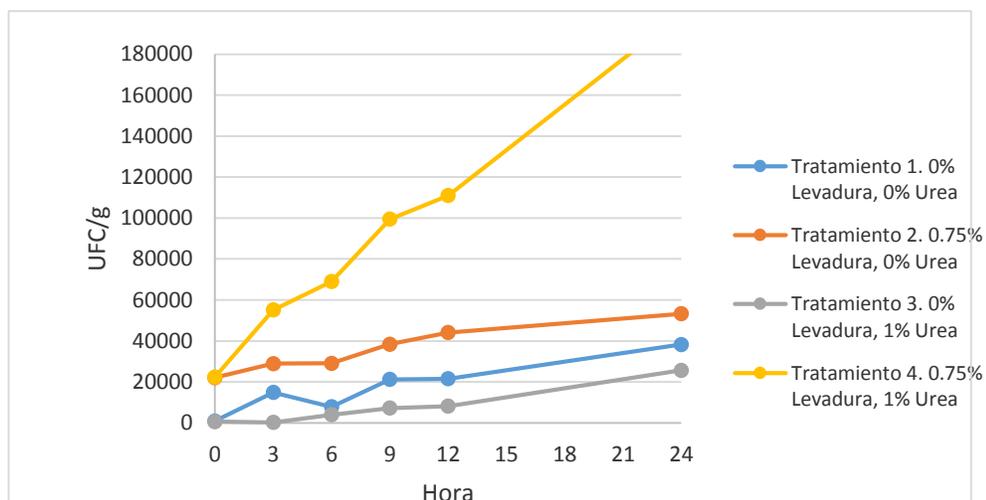
Se realizaron cuatro tratamientos en base a muestras húmedas de nopal por triplicado, 1) 0% levadura y 0% urea; 2) 0.75% levadura y 0% Urea; 3) 0% levadura y 1% urea; y 4) 0.75% levadura y 1% urea. Las pencas de nopal se seleccionaron con un peso aproximado de 1.2 - 1.5 kg y de 30 cm de largo por 20 cm de ancho de 1 año de edad, se picaron en una picadora con tamaños de 4 a 10 cm² y se depositaron en botes de plástico de 9 kg de capacidad previamente lavados. Posteriormente se adicionó el inóculo de levadura y/o urea correspondiente a cada tratamiento. Los botes se taparon con gasa y se colocaron en condiciones de temperatura ambiente permaneciendo bajo estas condiciones durante 36 horas. Posteriormente se tomaron muestras a

las: 0, 6, 12, 18, 24, 30 y 36 horas de fermentación aeróbica en estado sólido, llevándose inmediatamente a su siembra diluyendo 25 g de muestra en 250 g de agua peptonada, después se homogeneizó en el Stomacher y se sembraron por la técnica de extensión de superficie tomándose 0.1 ml de cada dilución, haciéndose por triplicado en un medio de cultivo selectivo para mohos y levaduras compuesto de dextrosa y papa incubándose a 30° C durante 96 horas. De cada tratamiento y hora de la FES se realizó el conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) donde se obtuvo un promedio de los triplicados (NOM 092, 1994). Para conocer las UFC de la levadura inóculo se realizaron las diluciones 10³, 10⁶, 10⁷ y 10¹⁰, tomándose 0.1 ml de cada dilución, se incubó a 30° C durante 96 horas, se realizó el conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) (NOM 110, 1994). Con el objetivo de conocer si el crecimiento de microorganismos se debía al inóculo de levadura o a contaminación del ambiente se realizó una tinción de Gram, para observar en el microscopio óptico a 100x con aceite de inmersión la morfología de células y la diversidad de microorganismos presentes en el nopal fermentado.

RESULTADOS

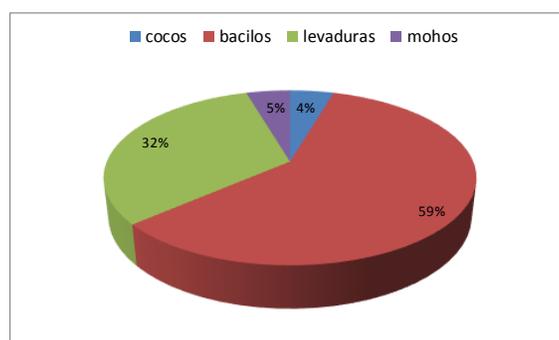
La levadura inóculo empleada en los tratamientos 2 y 4 presentó 34.5 X 10⁶ UFC por gramo.

El crecimiento microbiano representado por las UFC en los diferentes tratamientos, se observó que en el tratamiento 4 donde se adicionó levadura y urea hubo un mayor crecimiento de microorganismos conforme paso el tiempo de fermentación, mientras que en el tratamiento 3 donde solo se adicionó urea fue donde existió un menor crecimiento con respecto al tiempo posiblemente por inhibición por la urea (Gráfica 1). En el tratamiento 4 después de las 12 horas de fermentación no se pudo realizar el conteo debido a su alto número de colonias.

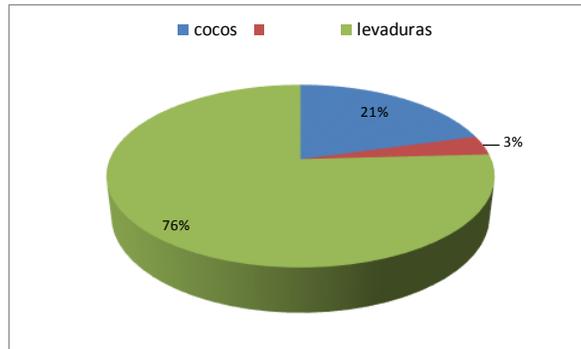


Gráfica 1. Unidades formadoras de colonias en la fermentación del nopal a diferentes horas

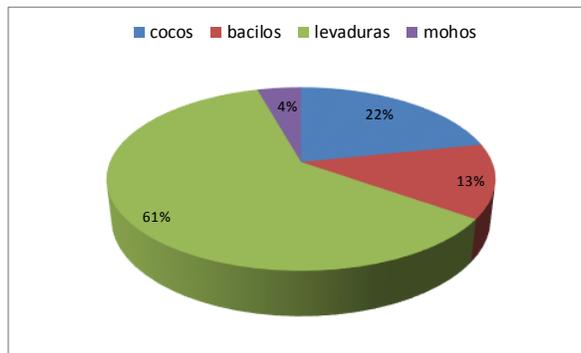
De los resultados de diversidad microbiana con la tinción de Gram, se observó que en el tratamiento 1 predominaron los bacilos seguidos de las levaduras (Gráfica 2). Los tratamientos 2 y 4 (Gráfica 3 y 5) propiciaron las condiciones para que las levaduras fueran el principal microorganismo presente con 76 y 93%, respectivamente, posiblemente la presencia de urea inhibió el crecimiento de cocos. En el tratamiento 3 (Gráfica 4) se distinguió por una mayor diversificación de microorganismos, sin embargo, las levaduras dominaron a los cocos y bacilos.



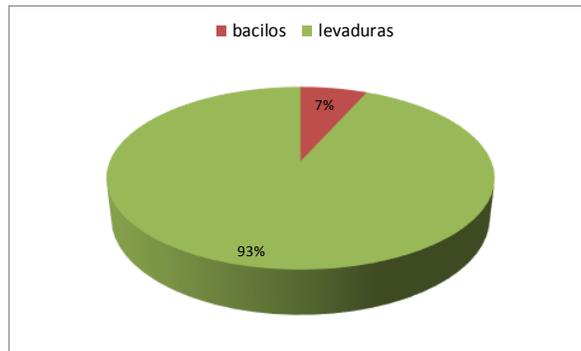
Gráfica 2. Diversidad microbiana del tratamiento 1 (0% levadura y 0% urea)



Gráfica 3. Diversidad microbiana del tratamiento 2 (0.75% levadura y 0% urea)



Gráfica 4. Diversidad microbiana del tratamiento 3 (0% levadura y 1% urea)



Gráfica 5. Diversidad microbiana del tratamiento 4 (0.75% levadura y 1% urea)

CONCLUSIONES

El crecimiento microbiano en el nopal fermentado está directamente relacionado con el tiempo de fermentación aeróbica en estado sólido y de la adición de levadura y/o urea. El nopal lleva consigo una diversidad de microorganismos, duplicándose durante la FES. La urea favorece la diversificación de bacilos, cocos y predominantemente de levaduras, pero inhibe su crecimiento. La levadura con o sin urea propicia un ambiente óptimo para el crecimiento dominante de levaduras.

Proyecto financiado por FOFI – UAQ 2013

BIBLIOGRAFÍA

1. S.J.I. Aguilera, L.R.G. Ramírez, L.F. Méndez, "Utilización de nopal como alimento animal. In: Opuntia as Forage". FAO (2001. ed.), pp. 45-52.
2. A.O.A.C. "Official Methods of Analysis". 14th Edition. Association of Official Analytical Chemist, Washington, 1984, DC. pp. 152-157.
3. G. Bazay, "Uso de los probióticos en la alimentación animal con énfasis en *Saccharomyces cerevisiae*", 2010, Revisión bibliográfica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria. Lima, Perú.
4. S. Bhargav, B. Panda, M. Ali, y S. Javed, "Solid state fermentation: an overview", Chem. Biochem. Engin. Quarterly, Vol. 22, 2008, pp. 49-70.
5. D. Díaz, C. Rodríguez, P. Mancillas, N. Ruíz, S. Mena, F. Salvador, L. Duran, "Fermentación in vitro de nopal forrajero con un inóculo de levadura *Kluyveromyces lactis* obtenida a partir de manzana de desecho". 2012, Revista electrónica de Veterinaria - ISSN 1695-7504, 2012. Málaga España.
6. V.C. Flores, A. Suassuna. "Experiencias en el enriquecimiento proteico del nopal en Brasil y México. Centro de Investigaciones Económicas, Sociales y Tecnológicas de la Agroindustria y la Agricultura Mundial". 2006, Chapingo, México.
7. M. Gualtieri, C.J.A. Sánchez, "Producción de proteína unicelular de levaduras crecidas en desechos de harina de maíz precocida (*Zea mays*)". Rev. Fac. Farmacia 45, 2003, pp.17-22.
8. O.E. Gutiérrez, A. Elías, H.A. Santos, A. Facundo, T.H. Morales, B.H. Bernal, "Uso del nopal nativo y cultivado en la alimentación de rumiantes". VIII Simposio Taller Nacional y 1er Internacional "Producción y aprovechamiento del nopal", 2008, pp. 66-74.
9. J. Hernández, A. Boyzo, "Alimentos ricos en proteína: sistema nopal – proceso microbiano". Ciencia Innovación y Tecnología para el Desarrollo de México, Vol. 5, 108, pp.1
10. Petróleos Mexicanos, 2014. Obtenido de: <http://www.ref.pemex.com/index.cfm?action=content§ionID=11&catID=222&contentID=1693>. Consultado [01/12/14].
11. M. Rimbault, "General and microbiological aspects of solid substrate fermentation", 1998, Electr. J. Biotech., Vol. 1, 3, 1998, pp.1-15
12. M.C. Rodríguez, "Tecnologías para la suplementación del ganado en épocas críticas", 2012. Obtenido de: http://www.uach.mx/noticias/2012/03/20/expogan_panelistas/
13. Norma Oficial Mexicana 092, bienes y servicios. "Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa". 1994. Obtenido de <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/092ssa14.html>. Consultado [12/04/2015].

14. Norma Oficial Mexicana 110, bienes y servicios. "Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico". 1994. Obtenido de <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/110ssa14.html>. Consultado [12/04/2015].
15. H. Ruíz, R. Rodríguez, R. Rodríguez, J. Contreras, C. Aguilar, "Diseño de biorreactores para fermentación en medio sólido", Rev. Méx. Ing. Quim. Vol. 6, 1, 2007, pp. 33-40.
16. R. Subramaniam, R. Vimala, "Solid state and submerged fermentation for the production of bioactive substances: a comparative study", Internat. J. Sci. Nat. Vol. 3, 2012, pp. 480-486.

COMPORTAMIENTO TÉRMICO DE MEZCLAS DE MUCINAS/PROTEÍNAS POR CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO

López-López, A., Ramos-Ramírez, E.G., Salazar-Montoya, J.A.

Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, CINVESTAV-IPN
Av. IPN 2508 Col. San Pedro Zacatenco, México D.F.
jsalazar@cinvestav.mx

RESUMEN

Las mucinas son glicoproteínas con alto peso molecular, fuertemente glicosiladas conteniendo agua, sales y lípidos que constituyen las secreciones de mucosas que cubren superficies del sistema digestivo, respiratorio y reproductor de mamíferos. Las interacciones de esta glicoproteína son de gran importancia debido a las funciones de protección que desempeñan en el sistema gástrico y al reciente interés en el estudio de mezclas con proteínas. La calorimetría diferencial de barrido (DSC) se ha utilizado para estudiar cambios en proteínas en función de la temperatura. La estabilidad térmica de las proteínas puede ser monitoreada por las transiciones vítreas, cambios de entalpía (ΔH) y capacidad calorífica (C_p). El objetivo de este estudio fue determinar el comportamiento térmico de mezclas de mucina cruda (MC) y purificada (MP) con proteínas (soya y res) mezcladas en proporción 1:1. Se utilizó un calorímetro TA Instruments modelo 2010, las muestras se colocaron en charolas de aluminio selladas herméticamente, se utilizó una rampa de 5 °C/min, en un rango de 25 – 260 °C bajo una atmósfera inerte de N₂ (50 mL/min). De acuerdo a los termogramas obtenidos se observan valores de transición vítrea mayor del 36-44% en las mezclas MC-proteínas debido probablemente al mayor contenido de carbohidratos en el sistema. Las entalpías y capacidad calorífica obtenidas fueron de ΔH_f (8.04-17.71 J/g) y ΔC_p (0.37-0.41 J/g°C) en MC-proteínas de soya, ΔH_f (5.82-28.53 J/g) y ΔC_p (0.14-0.51 J/g°C) para MC-proteínas de res, de ΔH_f (126.8-134.2 J/g) y ΔC_p (2.35-6.62 J/g°C) en MP-proteínas de soya y finalmente de ΔH_f (136.5-201 J/g) y ΔC_p (2.35-4.36 J/g°C) en mezclas de MP-proteínas de res. Se presenta un ΔH_f de 7.5-15 veces mayor en mezclas de MP-proteínas que en MC-proteínas; sin embargo, los ΔC_p son 6 -15% mayores en mezclas con MC, por lo que es necesario mayor calor de reacción para desnaturalizar las proteínas en las mezclas con MP.

INTRODUCCION

Las mucinas son glicoproteínas con alto peso molecular, fuertemente glicosiladas, conteniendo cadenas de carbohidratos unidos a péptidos por enlaces O-glicosídicos, la parte peptídica es rica en treonina, serina, prolina, glicina y alanina (McGuckin & Thornton 2012). En conjunto con agua, sales y lípidos constituyen las secreciones de mucosas, la cuales se sintetizan en órganos expuestos al ambiente externo, como son el tracto respiratorio, gastrointestinal y reproductivo, entre las funciones que desempeña se encuentra la de lubricación, mantenimiento de una capa hidratada sobre el epitelio, una barrera para patógenos y sustancias nocivas, así como una capa de gel permeable (Patel *et al.* 2003; Bansil & Turner 2006).

El estudio de las interacciones de ésta glicoproteína es de gran importancia debido a las funciones de protección que desempeña y al reciente interés en el estudio de mezclas con proteínas, dentro de estas se encuentran las proteínas de origen vegetal como la soya y las de origen animal como las grenetinas.

Las proteínas de soya han adquirido un gran interés debido a sus propiedades funcionales, excelentes valores nutricionales y su efecto en la salud (Li *et al.* 2014). Consisten de cuatro componentes principales, globulinas 2S, 7S, 11S y 15S; las globulinas 7S y 11S ó β -conglucina y glicina son los componentes principales con aproximadamente el 70% del total del contenido de proteína de soya (Bainy *et al.* 2008). La grenetina es una proteína derivada de la desnaturalización ácida o alcalina del colágeno, el componente principal del tejido conectivo animal, cuando se trata

con ácidos o bases la estructura secundaria del colágeno es destruida obteniéndose así la grenetina, las fuentes principales de obtención son cerdo y res (Gilsenan & Ross-Murphy 2000; Akbulut *et al.* 2008).

La calorimetría diferencial de barrido (DSC) se ha utilizado para estudiar posibles cambios en las proteínas en función de la temperatura; éstos cambios son reflejados en las curvas de DSC, la estabilidad térmica de las muestras puede ser monitoreada en condiciones controladas de velocidad de calentamiento, obteniéndose así temperaturas de transición vítrea T_g , Temperaturas de fusión T_m y los picos obtenidos pueden ser integrados para obtener la entalpía de fusión ΔH_f , es posible además calcular la capacidad calorífica (Johnson 2013; Li *et al.* 2014).

MATERIALES Y METODOS

Se utilizó mucina de estómago de cerdo tipo II (≤ 1.2 % de ácido siálico), mucina de estómago de cerdo tipo III parcialmente purificada (0.5 – 1.5 % de ácido siálico) ambas adquiridas de Sigma Aldrich (México). El aislado de soya (90 % proteína en base seca) y el concentrado de soya (67 % proteína en base seca) fueron donados por Danisco (México) perteneciente a DUPONT (EUA) y la harina de soya (53 % proteína en base seca) fue adquirida de Sigma Aldrich (México) y grenetinas de piel de res donadas por la empresa Gelita-México con diferente número de grados Bloom, (una medida estándar utilizada para indicar la resistencia mecánica de geles en grenetinas), P150010 (Bloom 200), P120001 (Bloom 225) y P1500033 (Bloom 180), a las cuales se les denominó PRa, PRb y PRc respectivamente (PR=proteína de res, a= P150010, b= P120001 y c= P1500033 correspondiente al número de lote).

Se realizaron mezclas de mucina cruda (MC) y purificada (MP) con proteínas (soya y res) en relación 1:1. Para el análisis del comportamiento térmico se utilizó un calorímetro diferencial de barrido (DSC) marca TA Instruments modelo 2010, las muestras se colocaron en charolas de aluminio selladas herméticamente (8-12 mg), se utilizó una rampa de 5 °C/min, en un rango de 25 – 260 °C bajo una atmósfera inerte de N_2 (50 mL/min).

A partir de los termogramas obtenidos fue posible calcular la temperatura de fusión T_m (°C), entalpía de fusión ΔH_f (en J/g) y capacidad calorífica C_p (J/g°C). El software utilizado fue TA Instruments Universal Analysis 2000, la entalpía se calculó a partir de las áreas bajo los picos. Se realizaron análisis por duplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Figura 1 muestra los termogramas correspondientes a las mucinas, proteínas de soya y grenetinas de res. Es posible observar dos picos de desnaturalización correspondientes a la MC $T_g=120.4$ °C y $T_m=206.12$ °C y para la MP $T_g=83.17$ °C y $T_m=180.64$. Este comportamiento está asociado al mayor contenido de carbohidratos en el caso de la MC (1.2% ácido siálico) en comparación a la MP (0.5% ácido siálico), incrementando la T_g y T_m en la mucina más pura. En cuanto a las proteínas de soya es posible observar temperaturas de transición vítrea similares en las muestras de aislado, concentrado y harina de soya (55.49 °C, 54.15 °C y 52.63 °C) y un pico de temperaturas de fusión correspondiente a la desnaturalización de uno de los componentes principales de la soya (125.71 °C, 122.32°C y 131.89 °C) esto debido a que el proceso de producción en proteínas comerciales podrían inducir propiedades diferentes a las nativas como indica (Hermansson 1986), por lo que se puede establecer que probablemente éstas se encuentran parcialmente desnaturalizadas. La T_m es mayor en la harina comparado con el concentrado y aislado esto es probablemente debido al mayor contenido de carbohidratos en la harina como indica (Kumar *et al.* 2004). Las grenetinas de res muestran valores de T_g muy similares (76.50 °C, 73.82 °C y 75.37 °C) y T_m (119.61 °C, 127.37 °C y 120.95 °C), la grenetina PRb con el mayor grado de Bloom presenta la mayor temperatura de fusión.

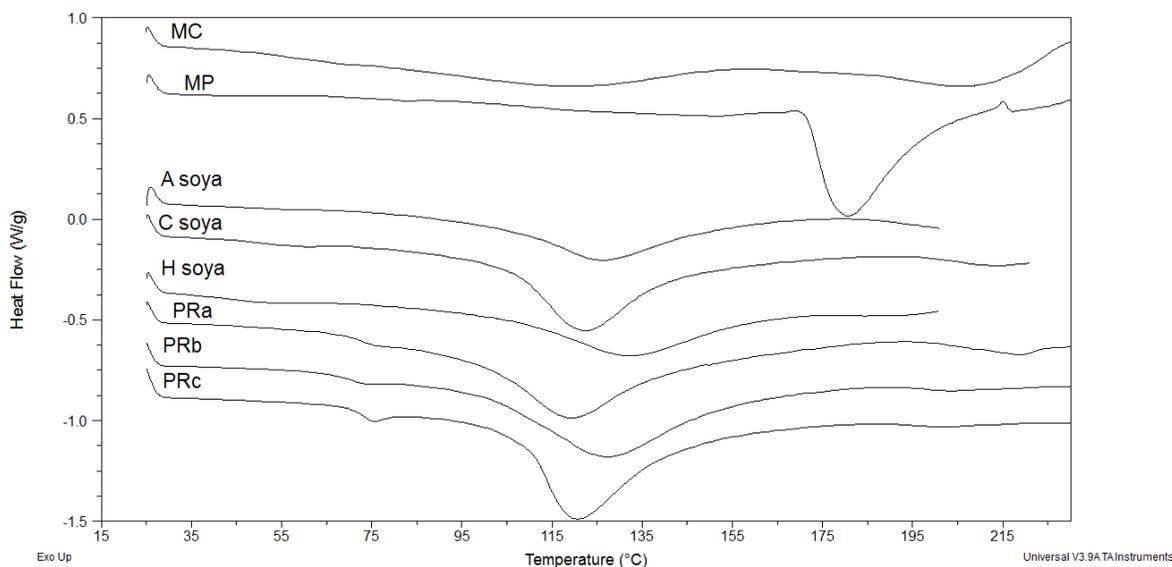


Figura 1. Termogramas correspondientes a las mucinas, proteínas de soya y grenetinas de piel de res, MC: Mucina cruda; MP: Mucina purificada; A: Aislado; C: Concentrado; H: Harina; PR: Proteína de res (a=P150010, b= P120001 y c= P1500033 número de lote).

En la Tabla 1 se presentan los valores de Tg, Tm, ΔH_f y ΔC_p correspondientes a las mucinas, proteínas de soya y proteínas de res sin ser mezclados.

Tabla 1. Transición térmica de mucinas, proteínas de soya y grenetinas de piel de res

Componente	Parámetros térmicos			
	Tg(°C)	Tm (°C)	ΔH_f (J/g)	ΔC_p ((J/g°C)
Mucina cruda (MC)	120.4	206.12	27.89	0.53
Mucina purificada (MP)	83.17	180.64	118.2	6.57
Aislado de soya	55.49	125.71	98.78	1.91
Concentrado de soya	54.15	122.32	121.8	3.50
Harina de soya	52.63	131.89	83.82	1.58
Proteína de res a (P150010)	76.50	119.61	155.5	3.65
Proteína de res b (P120001)	73.82	127.37	160.0	2.91
Proteína de res c (P1500033)	75.37	120.95	150.5	6.06

Tg: Temperatura de transición vítrea; Tm: Temperatura de fusión; ΔH_f : Entalpía de fusión; ΔC_p : Capacidad calorífica.

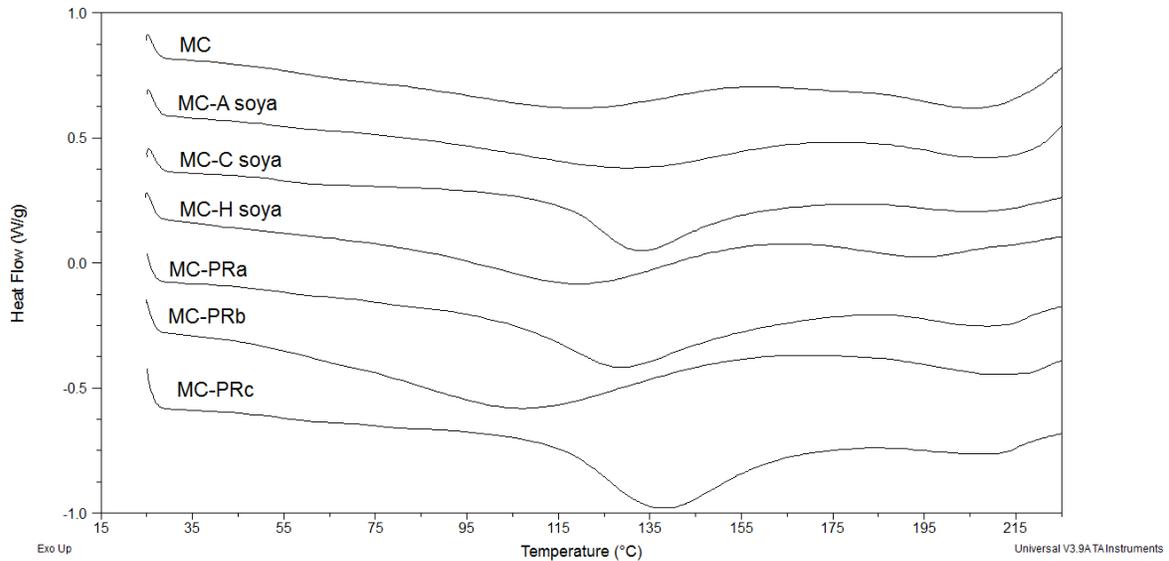


Figura 2. Termogramas correspondientes a las mezclas mucina cruda-proteínas soya y proteínas de res (1:1) (a=P150010, b= P120001 y c= P1500033 número de lote).

En las Figuras 2 y 3 se observan los termogramas de las mezclas de mucinas con proteínas y en la Tabla 2 se presentan los valores de T_g , T_m , ΔH_f y ΔC_p obtenidos en las mezclas mucinas-proteínas. En las mezclas con MC los valores de T_g (107.20 – 137.10°C) y T_m (194.56 – 211.30 °C) son similares a la MC sin mezclar T_g (120.40 °C) y T_m (210.12 °C), predominando así el comportamiento de la mucina, indicando que no hay una marcada interacción entre las proteínas y mucinas.

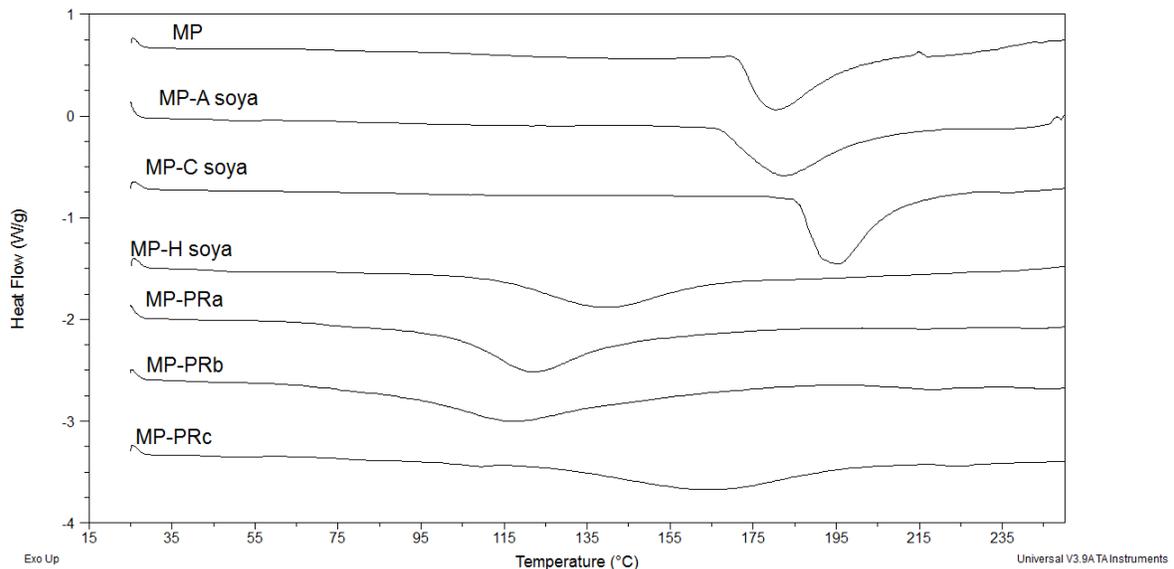


Figura 3. Termogramas correspondientes a las mezclas mucina purificada-proteínas de soya y proteínas de res (1:1) (a=P150010, b= P120001 y c= P1500033 número de lote) El comportamiento térmico de mezclas con MP, sin embargo parecen presentar una interacción de proteínas debido a que los valores de T_g (45.46 – 53.02 °C) están 60% por debajo de lo observado en la mucina purificada (83.17 °C), la T_m sin embargo presenta valores semejantes entre MP y

proteínas de soya, siendo estos Tm (138.65 – 195.34 °C) para proteínas y Tm (180.64 °C) en la MP. Los valores de Tm para proteínas de res mezcladas con MP son (117.48 – 164.16 °C).

Tabla 2. Transición térmica de mezclas de mucinas/proteínas

Mezclas Mucina cruda/proteínas	Parámetros térmicos				Mezclas Mucina purificada/proteínas	Parámetros térmicos			
	Tg(°C)	Tm (°C)	ΔH_f (J/g)	ΔC_p ((J/g°C)		Tg(°C)	Tm (°C)	ΔH_f (J/g)	ΔC_p ((J/g°C)
MC-A soya	130.94	208.06	17.71	0.41	MP-A soya	52.68	182.18	134.2	5.08
MC-C soya	132.79	206.93	8.038	0.51	MP-C soya	49.49	195.34	126.8	6.62
MC-H soya	119.60	194.56	15.53	0.37	MP-H soya	53.02	138.65	129.8	2.35
MC- PR a	128.15	210.35	21.43	0.49	MP- PR a	46.48	121.96	176.4	4.36
MC- PR b	107.2	211.3	28.53	0.51	MP- PR b	45.46	117.48	201.0	3.25
MC- PR c	137.09	209.69	5.821	0.14	MP- PR c	51.15	164.16	136.5	2.35

CONCLUSIONES

De acuerdo a los termogramas obtenidos se observan valores de transición vítrea mayor del 36-44% en las mezclas MC-proteínas animales y vegetales, debido probablemente al mayor contenido de carbohidratos en el sistema. Los valores de ΔH_f en las mezclas y componentes individuales muestran valores de 7.5-15 veces mayor en mezclas de MP-proteínas que en MC-proteínas; sin embargo, los ΔC_p son 6 -15% mayores en mezclas con MC, por lo que es necesario mayor calor de reacción para desnaturalizar las proteínas en las mezclas con MP

BIBLIOGRAFIA

1. Akbulut M., Reddy N.K., Bechtloff B., Koltzenburg S., Vermant J. & Prud'homme R.K. (2008) Flow-Induced Conformational Changes in Gelatin Structure and Colloidal Stabilization. *Langmuir* **24**, 9636-41.
2. Bairy E., Tosh S., Corredig M., Woodrow L. & Poysa V. (2008) Protein Subunit Composition Effects on the Thermal Denaturation at Different Stages During the Soy Protein Isolate Processing and Gelation Profiles of Soy Protein Isolates. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **85**, 581-90.
3. Bansil R. & Turner B.S. (2006) Mucin structure, aggregation, physiological functions and biomedical applications. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* **11**, 164-70.
4. Gilsenan P.M. & Ross-Murphy S.B. (2000) Rheological characterisation of gelatins from mammalian and marine sources. *Food Hydrocolloids* **14**, 191-5.
5. Hermansson A.M. (1986) Soy protein gelation. *Journal of the American Oil Chemists Society* **63**, 658-66.
6. Johnson C.M. (2013) Differential scanning calorimetry as a tool for protein folding and stability. *Arch Biochem Biophys* **531**, 100-9.
7. Kumar R., Choudhary V., Mishra S. & Varma I.K. (2004) Enzymatically modified Soy Protein. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* **75**, 727-38.
8. Li S., Wei Y., Fang Y., Zhang W. & Zhang B. (2014) DSC study on the thermal properties of soybean protein isolates/corn starch mixture. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* **115**, 1633-8.
9. McGuckin M.A. & Thornton D.J. (2012) *Mucins Methods and Protocols*. Springer Protocols.
10. Patel M.M., Smart J.D., Nevell T.G., Ewen R.J., Eaton P.J. & Tsibouklis J. (2003) Mucin/Poly(acrylic acid) Interactions: A Spectroscopic Investigation of Mucoadhesion. *Biomacromolecules* **4**, 1184-90.

Indicadores Productivos de Gallinas Rhode Island en un Sistema de Traspatio en la Localidad de Valle de San Francisco, Loreto, Zacatecas

Amelia Torres ^a R. Bañuelos Valenzuela ^b C. Meza- Lopez ^b H. Rodríguez-Frausto ^b R. Ramón-
^b F. G. Echavarría Chairez ^c

^b Universidad Autónoma de Zacatecas, Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Carratera Panamerica Km 35.5 El Cordovel Enrique Estrada Zacatecas

^c Inifap Campo Calera Carretera Panamericana Km 25.5 Zacatecas Fresnillo

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar los indicadores productivos de gallina Rhode Island Roja en un sistema de producción avícola alternativa, se realizó en módulos de traspatio en la localidad de Valle de San Francisco, Loreto, Zacatecas, México. Se utilizaron 110 gallinas de las cuales fueron 98 hembras y 12 machos de 38 semanas de edad. Las gallinas fueron alimentadas hasta la semana 38 con una dieta alternativa, contenido 16% proteína cruda y 2700 kcal/kg de energía metabolizable. Los indicadores de estudio fueron madurez sexual, peso vivo a la postura, producción de huevo por semana. El análisis estadístico se realizó con estadística descriptiva utilizando medidas repetidas. De acuerdo al análisis se obtuvo que la Madurez sexual se manifestó a las 22 semanas de edad, el peso promedio de las gallos fue de 2,544 kg y de las gallinas fue de 1,619 kg, con una producción de huevo por semana por ave de 4.83 huevos, con una producción total de 5027 huevos por las 98 gallinas que estuvieron bajo observación, con un peso promedio de huevo de 57 grs. Los indicadores productivos evaluados varían de acuerdo al manejo alimenticio alternativo tanto como al manejo zootécnico recibido. Se concluye que de acuerdo a los resultados obtenidos, se cumplieron los objetivos que se plantearon, los cuales cuyo propósito central es el autoconsumo, la generación de ingresos complementarios y un elemento de ahorro en las unidades de producción campesina.

INTRODUCCIÓN

La avicultura familiar de traspatio es la actividad pecuaria de mayor tradición y difusión en México, presente en 85% de las unidades de producción del país. Se caracteriza por la utilización de pocos insumos y la mano de obra de los miembros de la familia que es usada para el manejo de los animales (Centeno *et al.*, 2007). Desde la antigüedad las aves de corral han estado estrechamente ligadas a la vida del agricultor, ya que su cría es sencilla y los productos que se obtiene de ellas son de alta calidad nutritiva e indispensable en la alimentación familiar (Vargas *et al.*, 2005)

Dentro de los sistemas de producción se encuentran los sistemas de producción intensivos, que se caracterizan por contar con animales genéticamente mejorados, altas densidades en confinamiento, instalaciones tecnificadas y una alimentación balanceada, sin embargo se encuentra también la avicultura de traspatio o "avicultura familiar" o rustica, esta se caracteriza con manejo, alimento y crianza tradicionales (Portillo de León, 2007)

En las zonas rurales situadas en un medio ambiente frágil económicamente marginado, la avicultura familiar es un elemento común de los sistemas agrícolas mixtos. Siendo una manera de mantener el abasto de proteína de origen animal (Davila-Hernandez, 2009).

La alimentación de las gallinas en el sistema tradicional o de traspatio es muy variada, conociéndose dos sistemas, la que suministran los criadores y la que recolectan las aves en las áreas que recorren (SAGARPA, 2002). Los alimentos que pueden recolectar están definidos por la disponibilidad de recursos existentes en las áreas donde se crían las aves domésticas, estos productos están determinados por la respuesta animal frente a la oferta de recursos del medio ambiente (Álvarez, 2000).

Aunque la avicultura de traspatio se desarrolla en numerosas comunidades es muy limitado el conocimiento que se tiene de sus implicaciones sociales y productivas, además no existe información suficiente del origen, cantidad y calidad nutricional de la dieta de las gallinas criollas de traspatio. Lo cual dificulta la comprensión de su problemática y en consecuencia la implementación de acciones tendientes a superar las limitaciones de su desarrollo (Centeno *et al.*, 2007). En la actualidad la mayoría de los estudios realizados de la avicultura de traspatio son descriptivos y están basados en encuestas, por ello se hace necesario caracterizar la población de las aves criollas considerando los aspectos productivos y reproductivos de éstas (Juárez *et al.*, 2000).

Consecuentemente, varios países en vías de desarrollo (África, Asia y América Latina) están empleando programas para la producción avícola de traspatio con el apoyo de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) a través de la Red Internacional para el Desarrollo de la Avicultura Familiar (RIDAF), también a través del Proyecto Estratégico para la Seguridad Alimentaria (PESA), que promueve entre otros aspectos, la utilización de razas de aves autóctonas y la seguridad alimentaria en zonas rurales (Fernández *et al.*, 2004).

Con base en lo anterior, dicha investigación se centró en evaluar los indicadores productivos de gallinas Rhode Island en sistemas de traspatio en una localidad del estado de Zacatecas. Con el fin de mejorar la producción obteniendo mayor cantidad y calidad de los productos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se llevó a cabo en la localidad de Valle de San Francisco, Loreto, Zacatecas, México. Se utilizaron 110 aves de raza Rhode Island Roja de las cuales fueron 98 hembras, 12 Machos de 38 semanas de edad (266 días de edad), se dividieron por el programa PESA por ser una localidad de alta marginación, en 7 módulos, cada paquete contenía 16 aves. Las gallinas fueron alimentadas hasta la semana 38 con una dieta alternativa, contenido 16% proteína cruda y 2700 kcal/kg de energía metabolizable. Los indicadores de estudio fueron madurez sexual, peso vivo a la postura, producción de huevo por semana. El análisis estadístico se realizó con estadística descriptiva utilizando medidas repetidas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Madurez sexual de gallinas Rhode Island Roja con alimento alternativo en producción de traspatio

Las gallinas alcanzaron la madurez sexual a las 22 semanas de edad en promedio. Este resultado se comparó con un estudio reportado por Jerez (2005), en donde reportaron madurez sexual de gallinas criollas; la gallina criolla negra alcanzó la madurez sexual a las 24 semanas y la gallina roja en la semana 25. Podemos rescatar que la raza Rhode Island Roja aun a nivel de producción de traspatio con diversidad de manejo alcanza la madurez sexual a más temprana edad que las gallinas criollas.

Peso vivo de las gallinas Rhode Island con alimento alternativo a nivel de traspatio

El peso vivo promedio de las aves durante la postura presentó variaciones en peso de gallos y gallinas, los gallos obtuvieron un peso promedio de 2.544 kg y las gallinas obtuvieron un peso vivo de 1.619kg, lo cual es semejante al estudio realizado por Jerez (2005). Estas semejanzas pueden deberse al tipo de alimentación ya que las gallinas criollas en este sistema se les proporciona maíz, y lo que recolectan del traspatio, como larvas de insectos, desperdicios de cocina y desechos de cosecha. Pero estos resultados no coinciden con el trabajo realizado por Toscano (2002) quien

menciona que las gallinas criollas alimentadas con maíz tuvieron un peso vivo de 2.044 kg y con trigo de 2.016 kg a las 35 semanas de edad evaluadas bajo un sistema semi-intensivo.

Producción de huevo semanal de gallinas Rhode Island con alimento alternativo a nivel de traspatio

La semana que obtuvo mayor producción de huevo fue alcanzado en la semana 27 representando una producción de 474 huevos, con un promedio de 4.83 huevos por ave por semana, mostrando una producción promedio de 34.666 durante las 17 semanas de producción, comparando el resultado con el estudio de Jerez (2005) en el cual utilizaron gallinas criollas produjeron una cantidad de 2.6 huevos por aves por semana siendo mayor la producción de gallinas Rhode Island roja.

Numero de huevos acumulados por semana de gallinas Rhode Island con alimento alternativo a nivel de traspatio

En el periodo observado se obtuvieron un total de 5027 huevos, este dato se obtiene de la cantidad de huevos en el día dividido entre el total de gallinas por 7 días con un total de 359 huevos lo cual es mucho mayor a la producción acumulados por semana en las gallinas criollas ya que se reportan en las gallinas rojas 282 y las gallinas negras 212 huevos según los datos obtenidos del estudio realizado en Oaxaca por Jerez (2005) en un sistema de producción alternativo. (Figura 3)

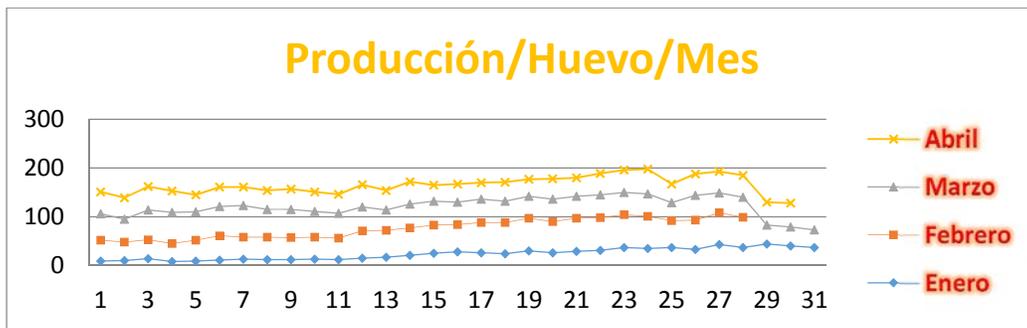


Figura 1 Producción/huevo/mes

Peso de huevo de gallinas Rhode Island con alimento alternativo a nivel de traspatio

El peso de huevo de las gallinas Rhode Island aun con alimento alternativo y criadas bajo un nivel de traspatio se obtuvo un peso de huevo de 57 grs lo cual es un peso muy significativo debido al sistema de producción bajo el cual fue producido en comparación con las gallinas criollas fue bastante bueno ya que en los otros dos estudios de Jerez (2005) reportan un peso de 53.3 gr.

Análisis estadístico

De acuerdo al análisis estadístico realizado podemos observar que 3 series de 7 analizadas fueron invariablemente en crecimiento que las otras 4 de 7 series. Las series 2, 4 y 7 son datos pertenecientes a familias que se apropiaron bien del módulo, ya que le invirtieron tiempo y dedicación al cuidado de las aves, como es el caso de la series 2 correspondiente a una señora que fue integrante del grupo de alta marginación, pero que aún debido a su situación la familia hace lo posible por mejorar su forma de alimentación, otra vez de la producción de huevo, lo cual ella se dedicó a recortar todas las mañanas alfalfa, cilantro, y granos de maíz para administrarlos a la dieta de sus aves, tanto como durante la tarde les permite salir a pastorear, inclusive de lo poco o mucho que obtenían de ganancias en la venta del cilantro y de la alfalfa esta familia destinaba una parte de sus ganancias hacia la compra de alimento comercial ponedora para incluirlo en la dieta de sus aves, con. En el caso de la serie 7 corresponde a una familia rural, la cual están acostumbrados a manejar animales, a cosechar maíz, alfalfa, cilantro. E inclusive a realizar trabajos de labranza para poder mejorar la alimentación de sus animales, destinan un tiempo diario para dejar libres a las aves, para que puedan recoger algunos insectos, de igual forma esta familia incluye alimento comercial en la

dieta de sus aves con la finalidad de producir mayor cantidad de huevo para incluirlo en su propia dieta. (Figura 4)

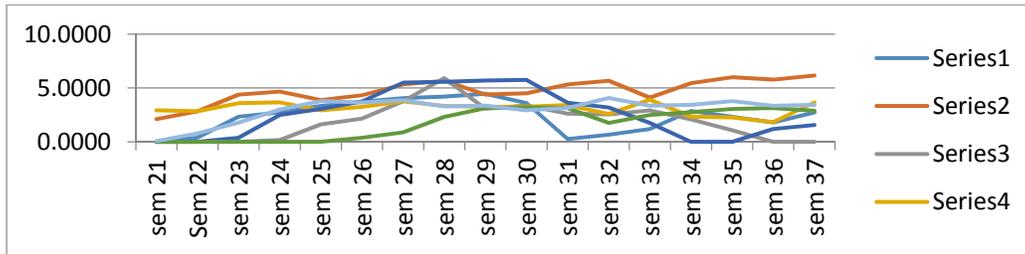


Figura 2 Producción de huevo /sem ilustrado por grupos

Semejante fue el manejo de la serie 4, corresponde a una señora que forma parte al grupo de alta marginación, ya que es una señora que vive sola y que está en relación directa del cuidado de sus aves de traspatio, se dedica un cierto tiempo diario a cuidarlas cuando las deja libre y alimentarlas, con su misma producción, la cual es, maíz y repollo. De igual forma de la venta de su producción ella destina un porcentaje para la compra de alimento comercial para incluirlo en la dieta de sus aves ya que tiene el deseo de vender la producción de sus aves.

Mostrándose un manejo semejante en tres grupos ya que obtuvieron mayor producción la cual fue aumentando constantemente, a lo que se puede culpar al manejo y a la variada alimentación, ya que se les incluía maíz, alfalfa, desperdicios de verduras, alimento comercial y pastoreo. Ya que el segundo grupo muestran una producción que va en aumento y repentinamente tiene un decrecimiento significativo o que se mantiene, esto se puede deber al manejo ya que las aves de estos 4 grupos siempre estuvieron en hacinamiento con una alimentación a base de granos de maíz y algún otra ocasión desperdicios de verduras. (Figura 5)

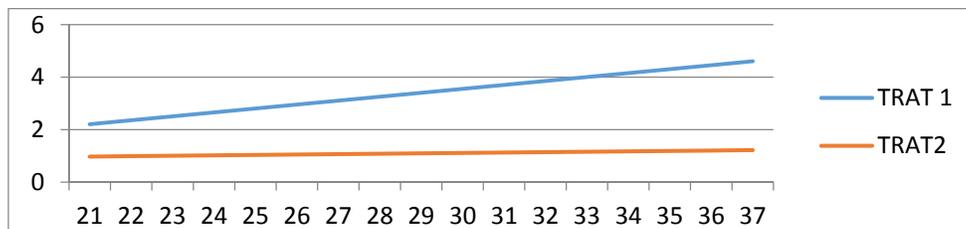


Figura 3 Producción por grupos

Por lo anterior se propone que se realicen más estudios con respecto a estos programas de ayuda y capacitación a las personas a los cuales se les otorga dichos paquetes para que los módulos sean redituables en cuanto al suministro de proteína en la nutrición de estas comunidades de huevo y carne.

BIBLIOGRAFIA

1. Álvarez T.M.I. 2000. Producción tradicional de aves y cerdos en el pacífico Colombiano (En línea). Comunidad afrocolombiana de Coquí. Zootecnista Fundación Espavé. Colombia.
2. Centeno Bautista S.B; López D.E. C.A y Juárez E. M.A. 2007. Producción avícola Familiar en una comunidad del municipio de Ixtacamaxtitlán, Puebla. (En Línea) Técnica pecuaria en México, Enero-Abril, Vol. 45, número 001. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. México. pp. 41-60.
3. Dávila-Hernández 2009 Dávila-Hernández, L. 2009. Educación sanitaria para el control, prevención y erradicación de las principales enfermedades que atacan a las aves de traspatio en el parcelamiento el silencio, municipio de la Gomera, Departamento de Escuintla. Tesis de Licenciatura en Pedagogía y Ciencias de la Educación. Universidad de San Carlos Guatemala. Guatemala. Recuperado el 24 de junio, 2013. http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/07/07_1957.pdf
4. Fernández R.J; Revidatti F.A; Rafart J. F; Térreas J. C; Sandoval G. L; Asiaín M. V y Sindik M.I. 2004. Parámetros productivos en reproductores De huevos y carne tipo INTA (En línea). Universidad Nacional del Nordeste. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas 2004. Argentina.
5. Jerez Salas M. P. M reyes Sánchez, Jc Carrillo Rodríguez, y Villegas Aparicio, J Segura Correa.2005. – Indicadores Productivos de gallinas criollas en un sistema de producción Avícola Alternativo en Oaxaca Mexico.
6. Juárez C.A, Manríquez A.J. A y Segura C.J.C. 2000. Rasgos de apariencia Fenotípica en la avicultura rural de los municipios de la ribera del lago de Pátzcuaro Michoacán, México (En línea). Livestock Research for Rural Development 2(1)1-7
7. Juárez C.A; Ortiz R; Pérez S; Gutiérrez V y Val A. 2007. Caracterización y Modelación del sistema de producción avícola familiar (En línea). Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
8. Portillo de León, K.S. 2007. Caracterización del subsistema avícola de traspatio en el caserío de Chuinahualate, municipio de Nahualá, Departamento de Sololá. Tesis de Licenciatura. Escuela de Zootecnia, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. 42 pp. Recuperado el 24 de junio, 2013. http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/10/10_1036.pdf
9. SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). 2002. Producción avícola a pequeña escala (En línea). Subsecretaría de Desarrollo Rural. Dirección General de Apoyos para el Desarrollo Rural.
10. Toscano, R. L. 2002. Efecto de tres dietas sobre los parámetros productivos y reproductivos en gallinas criollas. Tesis de maestría instituto Tecnológico Agropecuario No. 23 de Oaxaca. Centro de investigación y Graduados 54 Agropecuarios (CIGA). Nazareno Xoxocotlan, Oaxaca p 69
11. Vargas L. S; García M. A. R; Palma G. H.R y Librado P. M. 2005. Integración de la lombricultura en la producción de aves de traspatio en Puebla, México (En línea). Fundación Cátedra Iberoamericana. México.

EVALUACIÓN DE LA AUTOPRODUCCIÓN DE CONEJOS A UN AÑO DE SER INSTALADAS LAS GRANJAS EN UNA COMUNIDAD DEL MUNICIPIO DE QUERÉTARO

Gómez Soto José Guadalupe^a, Romero Zepeda Marcela^b, Camacho Bucio Juan Carlos^a, Ojeda Navarro Laura Regina^b, Álvarez Salas Melissa Libertad^b, Roitman Genoud Patricia^b, Preciado Cortés Roxana^b.

^a Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Querétaro, jose.gomez@uaq.mx, deperrosirilo@hotmail.com.

^b Escuela de Nutrición, Universidad Autónoma de Querétaro. marceromero70@hotmail.com, lojedanavarro@yahoo.com.mx, melib1210@hotmail.com, patriciaroitman@yahoo.com.mx, roxapre@uaq.mx.

RESUMEN

La cunicultura en México es una actividad ganadera que se ha desarrollado lentamente. Existe una necesidad de productos cárnicos que en algunas comunidades ni siquiera es ofertada y el acceso es limitado, en gran parte por el bajo poder adquisitivo de las familias. La cunicultura es una oportunidad para autoproducir carne, considerando la eficiencia productiva de la especie cunícula, el poco espacio requerido y tener ciclos de producción rápidos. En Enero del 2014, después de una evaluación nutricia de la población de la comunidad “ampliación de San José el Alto”, Qro., que presenta una alta marginación, con apoyo del municipio de Querétaro, se instalaron 6 granjas familiares, entregándose a las familias beneficiadas jaulas y al menos 1 par de reproductores. Se les capacitó en la producción y aprovechamiento de la carne de conejo. A un año del inicio de esta producción, se encuestó a los productores y la información obtenida es que 83% de los mismos lo hicieron desde un principio por mejorar su alimentación, en promedio cuentan actualmente con 10 animales cada uno, han tenido 4 partos, han destetado 6 gazapos por parto, la alimentación que ofrecen a los animales es comercial y desperdicio de alimento, el sacrificio humanitario es llevado a cabo por mujeres en el 66% de las granjas, 100% consideran importante la cunicultura y prueba de ello es que 100% de los productores consumen lo que producen y además promueven entre sus vecinos el consumo de la misma por lo que 100% de ellos indicaron que es importante seguir con esta actividad y que desean acrecentar su producción. Se concluye que haber instalado estas seis granjas en esta comunidad, ha sido bien valorado por los beneficiarios, quienes están dispuestos a continuar mejorando e incrementando su capacidad productiva, siendo necesario seguir dando asesoría técnica a los mismos.

INTRODUCCIÓN

La nutrición comunitaria permite intentar mejorar los estilos de vida ligados al consumo alimentario para contribuir a mejorar el bienestar y a la promoción de la salud de la comunidad en la cual se desempeña esta tarea. Las actuaciones dentro de este campo se basan en la epidemiología, la nutrición, las ciencias de la alimentación humana y las ciencias de la conducta. Además, es necesario contemplar aspectos socioeconómicos y de disponibilidad y accesibilidad de alimentos a nivel regional y nacional. Las principales funciones a desarrollar en un programa de nutrición comunitaria consisten en identificar, priorizar y evaluar problemas nutricionales de la comunidad y diseñar, organizar, implementar y evaluar programas de intervención mediante distintas estrategias (Aranceta-Bartrina, 2010). Por lo anterior, es que en Enero del 2014, después de una evaluación

nutricia de la población de la comunidad “ampliación de San José el Alto”, Qro., que presenta una alta marginación y con apoyo del municipio de Querétaro, se instalaron 6 granjas familiares para la producción de carne de conejo, entregándose a las familias beneficiadas jaulas y al menos 1 par de reproductores. La importancia de la realización de trabajo comunitario en relación con la nutrición, radica en que según cifras de la CONEVAL (2010), en el año 2008 el 18.2% del total de la población mexicana se encontraba en pobreza alimentaria, lo que significa que más de 3.8 millones de hogares no contaban con el ingreso suficiente para comprar los bienes de la canasta básica. Para mejorar el acceso a los alimentos inocuos y de calidad, a estas familias beneficiadas que se encuentran viviendo en asentamientos autoconstruidos bajo deficientes condiciones de vida, se les planteó la posibilidad de que produjeran alimentos cárnicos para su autoconsumo.

TEORÍA

El consumo de proteína de origen animal es indispensable para los seres humanos, de allí que debe insistirse en incrementar la producción de carne de diferentes especies de interés zootécnico. Una de esas especies es el conejo, ya que presenta numerosas ventajas tanto en su manejo y eficiencia reproductiva, como en su tasa de productividad frente a otras especies. Una coneja puede producir cada año hasta 20 veces su peso vivo expresado como kilogramo de canal (Osechas y Becerra, 2006).

La cunicultura es el proceso de reproducción, cría y engorda de los conejos en forma económica para obtener un máximo beneficio en la venta de sus productos y subproductos (Martó, 2012).

Se estima que el consumo *per capita* promedio a nivel mundial es de 300 g de carne de conejo al año (Cury *et al.*, 2011). La producción mundial de carne de conejo en el año 2010 fue de 1.73 millones de toneladas, en el 2011 fue de 1.81 y en el 2012 fue de 1.83. Las principales regiones productoras de conejos son Asia (48.1 %), Europa (30.2 %), Sudamérica (16.7 %), África (4.7 %) y Centroamérica (0.3 %). Por países, China es el mayor productor de carne de conejo, seguido de Venezuela e Italia; México ocupa el decimoséptimo lugar en la producción mundial (FAO, 2014).

La producción de carne de conejo y sus derivados es una de las cadenas productivas más dinámicas, con un crecimiento acelerado y con gran importancia social, debido a que el 90 % pertenecen a pequeños productores en México, los cuales mejoran su ingreso y su alimentación al dedicarse a esta actividad (Alianza para el Campo, 2003). Los productos que se obtienen del conejo son carne, piel y pelo, y subproductos como el estiércol para emplearse como fertilizante, la orina como fijador de perfumes y las vísceras para la fabricación de alimentos balanceados, inclusive las orejas se emplean para elaborar carnaza para perros. La carne de conejo es un producto de alto valor nutricional, cuya demanda se ha incrementado en los últimos años por ser considerado un alimento sano para el consumo humano por su alto contenido proteico, bajo porcentaje de grasa y colesterol, es de fácil digestión, rica en vitaminas del complejo B y en minerales. A su vez, introduce una variación en la dieta (nuevos sabores), lo que es una característica de la demanda actual de alimentos; además, puede integrarse a una dieta saludable y equilibrada; lo que la hace apta para el consumo de todas las personas. Por todo lo anterior, la cunicultura ofrece varias ventajas que podrían ser aprovechadas en algunas regiones para afrontar los problemas de desnutrición que se presentan en los sectores de la población de escasos recursos económicos, además de contribuir a ofrecer una mayor variedad de productos, y a satisfacer la demanda de carne en los centros urbanos con poblaciones donde existe mayor capacidad de consumo (Gamboa, 2001; Román, 2011).

A pesar de todas las bondades biológicas de esta especie, el consumo de carne de conejo en México es inferior comparado con otros países. El bajo consumo en el país puede deberse a que culturalmente no es parte de la dieta, ya sea por desconocer sus propiedades, no saberla preparar o la poca oferta; aunado a los problemas existentes en los canales de comercialización (Osechas y Becerra, 2006), también debido a la presencia de enfermedades como la hemorrágica viral de los conejos que en la década de 1980 diezmo la producción de esta especie en nuestro país (Moctezuma, 2014).

El potencial de producción de carne de conejo se considera subestimado y se presenta como una alternativa para los países en desarrollo, considerando su bajo costo de producción con respecto a otros animales domésticos y por muchas razones es, una especie con un futuro de producción potencial (OEIDRUS, 2009).

Lo importante en la mayoría de los proyectos productivos de cualquier especie, sea animal o vegetal, es el seguimiento y la adecuada y constante capacitación para los productores. Parte del éxito de cualquier proyecto productivo, radica precisamente en este punto.

MATERIAL Y MÉTODOS

En Enero del 2014, después de una evaluación nutricia de la población de la comunidad “ampliación de San José el Alto”, Qro., que presenta una alta marginación y con el apoyo del municipio de Querétaro, se instalaron 6 granjas familiares para la cría y engorda de conejos, entregándose a las familias beneficiadas jaulas y al menos 1 par de reproductores. Se les capacitó durante un año, a través de visitas *in situ*, entrega de material impreso y pláticas de capacitación grupal e individual, en la producción, manejo y aprovechamiento de la carne de conejo. A un año del inicio de esta producción, a finales del mes de Enero del año 2015, se encuestó a los productores beneficiados. Las preguntas realizadas fueron las siguientes:

- ¿Cuál fue el motivo para iniciar su granja?
- ¿De qué forma pudo iniciar su producción?
- ¿Con cuántos animales inició su producción?
- ¿Cuántos animales tiene actualmente?
- ¿Cuántos partos han tenido sus conejas en promedio durante este año de producción?
- ¿Cuántos gazapos desteta por hembra en cada parto?
- ¿Qué tipo de alimentación emplea para sus animales?
- ¿Lleva un programa permanente de registros productivos?
- ¿Qué miembro de su familia es quién realiza el sacrificio humanitario de sus conejos para el autoconsumo?
- ¿Le parece importante la producción de conejos? ¿Por qué?
- ¿Consumen los conejos que usted mismo (-a) produce?

- ¿Intercambia técnicas, consejos y experiencias con otras personas sobre la crianza de conejos?
- ¿Promueve el consumo de carne de conejo en su comunidad? ¿De qué manera lo promueve?
- ¿La instalación y manejo de la unidad de producción cunícola ha cambiado o afectado sus actividades diarias?
- ¿Ha hecho parte de su alimentación la carne de conejo?
- ¿Cuántas veces al mes consume carne de conejo?
- ¿Cuánto dinero genera mensualmente la producción de carne de conejo de su unidad de producción?
- ¿Es importante para usted continuar con esta actividad?
- ¿Cuántas personas se benefician de su unidad de producción?
- ¿Qué visión tiene con su unidad de producción en un futuro?

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El 83.3 % de los encuestados iniciaron su unidad de producción para mejorar su alimentación y sólo un 16.6 % por curiosidad. Los 6 productores pudieron iniciar su producción cunícola gracias al apoyo del municipio de Querétaro y de la labor de los docentes de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro. El 50 % de los productores iniciaron con 3 animales como reproductores (2 hembras y 1 macho) y el 50 % con 1 hembra y 1 macho. El 16.6 % de los productores tiene 9 animales actualmente, 16.6 % tienen 3 animales, 16.6 % tiene 30 conejos, 16.6 % tienen 6, 16.6 % tienen 5 y 16.6 % cuentan a la fecha de la encuesta con 10 animales. A un año de iniciar la producción de la carne de conejos el 50 % de los productores han tenido 4 partos, el 33.3 % 6 partos y 16.6 % 1 parto. El 50 % de los productores han destetado en promedio 5 gazapos por parto, el 16.6 % 10 gazapos por parto, el 16.6 % 8 gazapos por parto y el 16.6 % no ha destetado gazapo alguno. El 66.6 % de las unidades de producción dan de comer alimento balanceado junto con desperdicios de alimentos propios de su hogar o que consiguen en mercados públicos como desecho de los locales que se encuentran en estos lugares, sólo el 16.6 % de los productores dan exclusivamente alimento balanceado y el 16.6 % sólo desperdicios de casa. El 83.3 % de los productores sí llevan registros productivos y el 16.6 % no llevan a cabo esta actividad. En el 50% de las unidades de producción, la madre de familia es quien lleva a cabo el sacrificio humanitario de los conejos, en el 33.3 % el padre de familia y en el 16 % tanto el padre como la madre de familia realizan esta actividad. El 100% de los productores consideran importante la cunicultura, de ellos el 50 % mencionan que es importante porque consumen esta carne, el 16.6 % porque puede obtener ingreso económico y aliento de esta producción, el 16.6 % porque se siente motivada al tener su unidad de producción y 16.6 % porque le hace feliz ver y atender sus conejos. El 83.3 % de los encuestados ha consumido la carne de conejo que produce y de éstos el 60 % dice que por ser sana, el 20 % porque es nutritiva y el 20 % restante porque es una carne limpia y sin promotores de crecimiento añadidos en el proceso productivo. Sólo el 50 % encuestados intercambian técnicas, consejos y experiencias con otros productores. El 66.6 % de los productores fomentan el consumo de carne de conejo en su comunidad dando a conocer que

tienen una unidad de producción cunícola y consumiendo la carne en familia o invitando a sus vecinos a probarla. Sólo el 16.6 % de los productores tienen un anuncio de venta de carne de conejo y pié de cría. Para el 83.3 % de los productores, el trabajar en su unidad de producción no ha tenido un cambio radical en sus actividades diarias, sólo en el 16.6 % de ellos menciona que sí hay un efecto positivo al sentirse con trabajo, se mantiene con una terapia ocupacional y se motiva a seguir adelante en esta actividad. El 83.3 % mencionaron que el conejo forma actualmente parte de su alimentación frecuente, ya sea por la necesidad de comer, por ser saludable y sana y porque ellos mismos la producen. El 50 % de los productores consumen al menos 3 veces al mes conejo, y el 33.3 % al menos 1 vez al mes. 16.6 % de los productores generan al menos 500 pesos mensuales por la venta de carne o animales en pié, el 33.3 % indicaron que al menos ganan 100 pesos mensuales por la venta de carne y el 50 % no tienen ingresos económicos por la venta de excedentes de su unidad de producción. El 100 % de los productores indicaron que es importante seguir con esta actividad por el beneficio directo a sus familias, porque les gusta esta carne y porque representa una ayuda en la economía del hogar. 33.3 % de las unidades de producción benefician a 4 personas directamente, 33.3 % benefician a 7 personas y 16.6 % de las granjas benefician a 15 personas. El 66.6 % de los productores desean hacer más grande su unidad de producción y vender parte de lo que produzcan, el 33.3 % indica que desea seguir consumiendo carne de conejo, mantener su unidad de producción y mejorar la alimentación de sus animales.

Desde la década de 1970, el gobierno mexicano impulsó la cunicultura de traspatio, con el objetivo de que las familias de escasos recursos pudiesen consumir proteína de origen animal producida por ellos mismos, sin embargo, años más tarde, en la siguiente década, la presencia de la enfermedad hemorrágica viral de los conejos en nuestro país, llevó a las autoridades a tomar medidas drásticas como la aplicación del rifle sanitario, por lo que el consumo de la carne de conejo ha ido incrementando paulatinamente desde esos sucesos (Martínez *et al.*, 2014.). El establecimiento de estas granjas en Querétaro, es un esfuerzo por llevar opciones de actividades para que familias en situación de vulnerabilidad extrema puedan tener acceso a una mejor alimentación. Considerando los aspectos socioeconómicos y medioambientales en los que se encuentran los productores de la comunidad de “ampliación de San José el Alto”, el sistema empleado de producción es de tipo familiar y semitecnificado según las especificaciones descritas por Moctezuma (2014). Existe una clara intención de mejorar la alimentación de las familias que manejan estas unidades de producción, y considerando que estos productores no tenían experiencia en la producción y reproducción de los conejos, es evidente que requieren de una capacitación constante para incrementar su producción, se requiere de aumentar el número de partos por unidad de producción para asegurar que tengan suficiente carne disponible para un autoconsumo frecuente de la misma. La participación de las mujeres en el manejo de las unidades de producción queda evidenciado al considerar que en más de la mitad de estas unidades, la mujer es quien lleva a cabo el sacrificio humanitario de los animales y por consiguiente es necesario seguir dando la capacitación y asistencia técnica para el correcto manejo sanitario de la carne, ya que dadas las condiciones de vida de esta población, no todos los hogares cuentan con refrigerador, y en otros por ejemplo, no cuentan con tubería para que les llegue agua a sus casas. La idea de poder incrementar la producción cunícola y poder obtener ingresos por la venta de los excedentes de la producción, se debe manejar con cautela, lo anterior debido a que aún se debe fomentar más el autoconsumo frecuente del conejo y hay que considerar que se deben llevar a cabo acciones de higiene para evitar malos olores que puedan ocasionar problemas con los vecinos. El tener productores que consideran el manejo de su unidad de producción como una

actividad ocupacional, se relaciona con la intención de todos los productores de continuar trabajando y mejorar sus parámetros productivos, por lo que es necesario que todas las granjas lleven sus registros productivos de forma correcta, para asegurar el éxito de sus producciones e incentivar a que poco a poco los diferentes miembros de las familias se involucren y sean partícipes de la producción de los alimentos que ellos mismos consumen.

CONCLUSIONES

A pesar del interés general mostrado por los productores de seguir adelante con sus unidades de producción, se deben mejorar los parámetros productivos para eficientizar el equipo entregado a cada una de estas familias. La idea original es que de forma constante puedan tener acceso al consumo de proteína de origen animal producida por ellos mismos. Por lo anterior es que una capacitación constante y efectiva se debe continuar, sin dejar de lado el considerar las condiciones de vida y socioeconómicas en que se encuentran estos productores, por lo que se espera que en los próximos meses, y con un conocimiento y experiencia mayor en el manejo productivo y reproductivo de los conejos, estos productores mejoren la situación actual de sus unidades de producción y consuman de forma más frecuente en sus hogares el alimento que ellos generan en sus unidades de producción.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alianza para el Campo, Fundación Produce Tlaxcala y Colegio Postgraduados en Ciencias Agrícolas Campus Puebla. 2003. Programa Estratégico para el Desarrollo de la Cunicultura en México: Producción, Transformación y Comercialización del Conejo. Tlaxcala, Tlax. Disponible en: <http://www.cofupro.org.mx/cofupro/Publicacion/Archivos/penit127.pdf> Consultado: 13 de Diciembre del 2014.
2. Aranceta- Bartrina, J. 2010. Nuevos retos de la nutrición comunitaria. Rev. Esp. Nutr. Comunitaria. 16 (1): 51-55.
3. CONEVAL (Consejo Nacional de Evaluación de la Política de Desarrollo Social). 2010. Dimensiones de la seguridad alimentaria: Evaluación Estratégica de Nutrición y Abasto. México.
4. Cury, K., Martínez, A., Aguas, Y., Oliverio, R. 2011. Characterization of rabbit meat and sausage production. Revista Colombiana Ciencia Animal. Córdoba, Colombia. 3 (2): 269 - 272.
5. FAO. 2014. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Estadísticas. Disponible en: <http://faostat.fao.org/DesktopModules/Admin/Logon.aspx?tabID=0>. Consultado: 11 de Diciembre del 2014.
6. Gamboa, C. 2001. Estudio de Mercado de la Carne de Conejo en el Municipio de Texcoco. Tesis de Maestría. Instituto de Recursos Genéticos y Productividad, Especialidad en Ganadería, Colegio de Postgraduados. Texcoco, Edo. de México.
7. Martínez, M., Jandete, H., Gálvez, A. 2014. Zootecnia Cunícola. Editorial UNAM-FMVZ. México. Disponible en:

http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/p_estudios/apuntes_zoo/unidad_10_zootecniacunicola.pdf. Consultado: 20 de Agosto de 2014.

8. Marto, R. 2012. Situación actual del sistema de producción cunícola en el municipio de Villaflores, Chiapas, México. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Chiapas. Facultad de Ciencias Agronómicas. Chiapas, México.
9. Moctezuma Q., M. L. 2014. Principios de Cunicultura. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Querétaro. México.
10. OIEDRUS. 2009. Estudio sobre Cunicultura en el estado de Baja California. Disponible en: http://www.oiedrus-bc.gob.mx/oiedrus_bca/biblioteca/Estudios/pecuarios/doctoConejo.pdf. Consultado: 20 de Diciembre del 2014.
11. Osechas, D., Becerra, L. 2006. Producción y mercadeo de carne de conejo en el Estado Trujillo, Venezuela. Revista Científica, FCV-LUZ. 16 (2): 129-135.
12. Román, D. 2011. Carne de conejo: equilibrio y salud. Endocrinología y Nutrición. Facultad de Medicina de Valladolid. Río Hortega Valladolid. España.18: 1 – 2.

Efecto de la suplementación de fermentos de *Saccharomyces cerevisiae* en la prevención de la acidosis neonatal en becerros Holstein

Sonia Vázquez Flores^a, Jazmyn Alexandra Franco Pereira^a, Yanine Paulina Guzmán Cervantes^a, Stephany Barrera Almanza^a, María de Jesús Guerrero Carrillo

^aESIABA-Tecnológico de Monterrey-Campus Querétaro, Querétaro, Qro. svazquef@itesm.mx

RESUMEN

La acidosis neonatal se presenta principalmente por: dificultad al parto, hipoxia en el recién nacido, alimentación líquida al rumen, y diarreas infecciosas y no infecciosas. La determinación de desórdenes metabólicos se hace mediante la medición de pH en el animal, obtenido de líquidos corporales como: orina, plasma sanguíneo y líquido ruminal. Los becerros con diarrea presentan pérdida de agua, electrolitos y bicarbonato, causando en los becerros deshidratación y acidosis; los becerros mayores de 7 días de edad tienden a desarrollar acidosis láctica, si la diarrea se prolonga, causa acidosis metabólica. El objetivo del proyecto fue reducir la acidosis en becerros neonatos por medio del tratamiento 1. Se estudiaron dos producciones lecheras con 20 becerros por grupo de estudio: en el Sitio 1 se compararon tres grupos: Tratamiento 1, Tratamiento 2 y Placebo; en el Sitio 2 se analizaron dos grupos Tratamiento 1 y Placebo. A cada becerros se les tomaron muestras de orina y suero sanguíneo 6 veces durante su primer mes de edad, siendo alimentadas todos con leche entera y concentrado. Los resultados obtenidos de pH en orina y suero mostraron que los tratamientos 1 y 2 del Sitio 1, tendían a la acidez (<6.8), y el placebo a la alcalinidad (>8.2), no hubo diferencias entre tratamientos. El Sitio 2 mostró tendencia a la neutralidad, sin haber diferencia entre grupos. Al correlacionar con geofagia, ambos sitios de estudio fueron significativamente diferentes para el Tratamiento 1 (valor-P >0.005 y valor-P >0.05 respectivamente). Conclusiones: la orina neutra y básica es la manifestación de acidosis metabólica compensada por el consumo de tierra con minerales amortiguadores; mientras que los animales con orina ácida (Tratamiento 1), manejo adecuado de los tiempos de alimentación permiten la neutralización metabólica eliminando el exceso de acidez por orina.

INTRODUCCIÓN

En los becerros neonatos, el rumen aún no se desarrolla, porque de manera natural los becerros ingieren la leche de la vaca en una posición que direcciona el calostro y la leche directamente hacia el abomaso, los cuales se desvían por el canal esofágico. Sin embargo, al cambiar la posición de la alimentación (de mamila a cubeta), la leche y el alimento sólido se dirigen hacia el rumen, iniciando su actividad (Heinrichs y Lesmeister, 2005).

Otro factor que favorece la presentación de acidosis neonatal es si la vaca presentó distocia: al pasar por el canal de parto, el animal tiene poco oxígeno, pocos fluidos corporales y una ligera acidosis. Esto se corrige al momento en que el becerro comienza a respirar correctamente, obtiene su alimento líquido y mantiene una buena circulación sanguínea. Los becerros nacidos de un parto difícil (distocia), tardan más en compensar esta acidosis si no son atendidos médicamente (Garry, 1998). Los becerros que experimentaron una distocia larga o compleja, sufren de hipoxia y una

acidosis severa, y éstas pueden ser fatales inmediatamente o algunos días después (Lombar et al, 2006).

Para medir, o determinar los desórdenes metabólicos, una buena herramienta es la medición del pH, y es posible adquirirla de diferentes líquidos corporales como: líquido ruminal, sangre y orina. La medida más común es a través de la orina, la cual consiste en tomar una muestra de orina y usar una tira reactiva de pH o un potenciómetro y obtener el valor buscado (Freeden et al., 1988). Las tiras reactivas miden el pH en aumentos de 0.5 a 1 unidades entre los valores ácidos y alcalinos (Kollias, 2012). El sistema usado para distinguir el pH en estos rangos es el uso de un sistema de doble indicador que contiene rojo de metilo y azul de bromotimol; un pH de 4 a 6 afecta el rojo de metilo, induciendo una variación de colores desde el rojo hasta el amarillo; un pH de 6 a 9 causa efecto el azul de bromotimol, produciendo un cambio de colores de amarillo a azul (Kollias, 2012). Un valor promedio inicial del pH de la orina en becerros varía de autor a autor, Elkhair y Hartmann establecen que el valor promedio inicial del pH de la orina en becerros era de 6.6 a 6.8; en bueyes lactantes, aunque no son bovinos sí son rumiantes, el pH va desde 7.0 a 8.3 (MacDonal,d, Krieger y Bogart, 1960; Elkhair y Hartmann, 2012. En un experimento llevado a cabo por Nouws, Vree y cols., presentaron una tabla sobre compensaciones renales en becerros y vacas, donde el pH de tres becerros eran tomados a diferentes días de edad (4, 7 y 14), siendo los resultados 7.2, 8.1 y 8.2, respectivamente (Nouws, et al., 1991). Hasta el momento no se pudo localizar el pH en orina de becerros Holstein neonatos.

Otros sistemas para detección de acidosis incluyen el pH de líquido ruminal y pH de suero sanguíneo. Para obtener el pH ruminal es necesario obtener una muestra del líquido del rumen, el cual puede ser extraído a través de una punción directa (rumenocentesis) o con un catéter ruminal, utilizando un tubo que se introduce a través de la boca y succiona el líquido deseado; una vez obtenida la muestra, el resultado se mide con tiras reactivas o con un potenciómetro (Gentile, et al., 2004). La razón más importante por la cual el pH es medido en sangre es porque la presencia de acidosis, así como su severidad, provoca una disminución en el pH de la sangre; dicha disminución se debe al exceso de dióxido de carbono en la sangre, condición que se conoce como hipercapnia (Frandsen et al., 2009).

Los becerros con diarrea presentan déficit de líquidos corporales, electrolitos y bicarbonato, por lo tanto aquellos becerros con diarrea concomitante presentan una acidosis mayor. Becerros con más de siete días de edad tienen una mayor predisposición a desarrollar acidosis láctica. Las posibles causas de la acidosis pueden ser relacionadas con la pérdida del bicarbonato en los intestinos, y la reducción de la excreción renal del ion de hidrógeno (Naylor, 1987). Si la diarrea es severa, la pérdida excesiva de líquidos y electrolitos causará una acidosis metabólica (Ewaschuk et al., 2003).

La ingestión de alimento líquido por medio de cubeta, favorece a que el alimento llegue primero al rumen, y gradualmente se traslada por movimiento ruminales al abomaso. Durante este tiempo, la leche presenta una fermentación natural, ocasionando la producción de ácido láctico. Al introducir alimento sólido, conocido como pre-iniciador, que es un concentrado con proteínas y carbohidratos, estos últimos favorecen la fermentación ruminal en combinación con la leche. Esta combinación de alimentos produce una cantidad excesiva de ácidos, gas, y los primeros signos

observables como timpanismo y dolor (Panciera, 2007). Un sistema de compensación natural de los becerros que presentan acidosis es geofagia, lo que puede agravar la situación porque se ingieren esporas de *Clostridium perfringens*, que encuentre ambiente propicio para liberar las toxinas alpha principalmente y ocasionar ulceras abomasales y en ocasiones muerte súbita (Vázquez-Flores, S., et al., 2013)

Objetivo

El objetivo del proyecto fue reducir hacer un seguimiento de la acidosis metabólica en becerros neonatos y determinar si el uso de fermentos de levadura puede compensar la acidez ruminal y metabólica alimenticia.

METODOLOGÍA

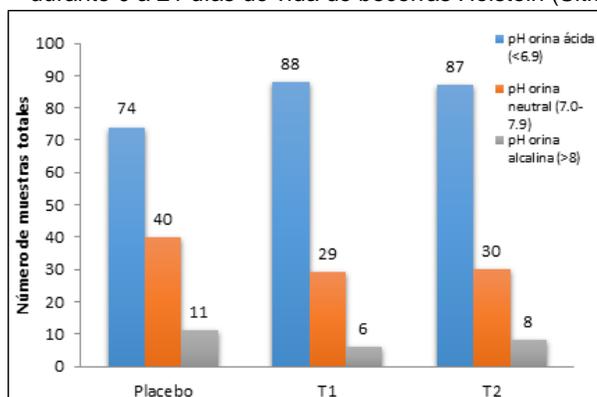
Se realizaron dos estudios simultáneos en dos establos lecheros en diferente sitio, con características similares en cuanto al número de animales estudiados y la dieta. Se compararon fermentos de levadura contra manano-oligosacáridos y un placebo.

Se estudiaron dos recías con 20 becerros por grupo de estudio: en el Sitio 1 se compararon tres grupos: Tratamiento 1, Tratamiento 2 y Placebo; en el Sitio 2 se analizaron dos grupos Tratamiento 1 y Placebo. A cada becerro se le tomaron muestras de orina (días 1, 4, 7, 10, 14, 21), suero sanguíneo (48 horas y 14 días) durante su primer mes de edad. El criterio de inclusión fue becerras de raza Holstein, recién nacidas con pesos entre 35 y 45 kg. No se aceptaron becerras nacidas de distocia, prematuras o con malformaciones. Se asignaron aleatoriamente al grupo de estudio conforme el orden de nacimiento. El estudio fue doblemente ciego, para las personas que les ofrecieron los productos a los becerros y para el personal de laboratorio.

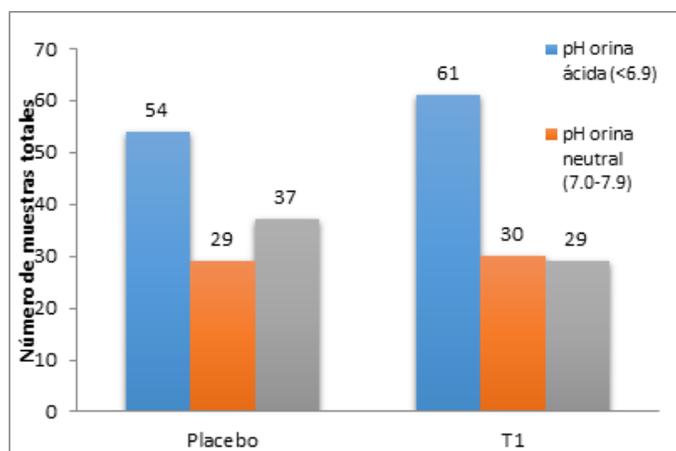
3. RESULTADOS

Para analizar la información del pH se realizó una comparación entre los diferentes tratamientos de cada uno de los sitios. Las gráficas son presentadas con un pH estratificado: todo pH de <6.9 se tomó como ácido, de 7.0-7.9 neutral, y >8 alcalino. También se obtuvieron las líneas de tendencia, respecto al comportamiento de cada tratamiento según el pH.

Gráfica 1. Comparación de pH de orina estratificado por tratamientos durante 0 a 21 días de vida de becerras Holstein (Sitio 1).



Gráfica 2. Comparación de pH de orina estratificado por tratamientos durante 0 a 21 días de vida de becerras Holstein (Sitio 2).



Los resultados muestran todos los casos de pH en orina acumulados durante los 6 muestreos realizados. El pH ácido en orina presenta en ambos sitios de estudio es el dominante, siendo el placebo en ambos casos, el que tiene menor número de casos. El pH neutral, es el siguiente en número de casos para el sitio1. El pH alcalino, se observó en número reducido en el sitio 1, y con una presencia similar a pH neutral en el sitio 2 (Gráficas 1 y 2).

Tabla 1. Casos de geofagia y timpanismo en los dos sitios de estudio.

Becerras Sitio 1				
	Geofagia Promedio \pm DS	Geofagia (# casos)	Timpanismo Promedio \pm DS	Timpanismo (# casos)
Tratamiento 1 ^a	0.1 \pm 0.3 (n = 3)	3	1.7 \pm 1.5 (n = 10)	22
Tratamiento 2	0.6 \pm 0.7 (n = 8)	9	2.9 \pm 2.01 (n = 12)	20
Placebo	0.6 \pm 0.8 (n = 8)	12	2.2 \pm 1.5 (n = 14)	41
Becerras Sitio 2				
Tratamiento 1	0.2 \pm 0.4 (n = 3)	4	-	-
Placebo	0.2 \pm 0.5 (n = 4)	4	-	-

^aTratamiento 1 vs Placebo valor-P 0.008; Tratamiento vs Tratamiento 2 valor-P 0.002 (Wilcoxon)

Se analizó la oportunidad relativa de cada sitio, para entender la relación entre la presencia de timpanismo y geofagia para compensar acidosis ruminal. En la tabla 1 se muestra la correlación con geofagia, donde el tratamiento 1 presentó un número menor de casos que los otros tratamientos en el Sitio 1. Esto indica que los animales se encontraron en la necesidad de un

amortiguador para nivelar su pH; particularmente, los animales en el Tratamiento 2, a pesar de que no presentaron acidosis metabólica, necesitaron comer tierra, porque el Tratamiento 2 no fue suficiente para controlar dicha acidosis. En el sitio 2 el comportamiento de los becerros en los dos tratamientos fue similar (tabla 1).

Tabla 2. Casos de geofagia y oportunidad relativa comparando los tres tratamientos usados en becerros Holstein neonatas en el Sitio 1

Oportunidad relativa		
Grupo de Tratamientos	Tratamiento 2	Placebo
Tratamiento 1	0.2157 ^a	0.1176 ^c
Tratamiento 2	-	0.5455 ^b
Placebo	0.5455 ^b	-

^aOR (valor p=0.004) con confiabilidad de 95%; ^bOR (valor p=0.34) con confiabilidad de 95%; OR (valor p=0.005) con confiabilidad de 95%

Tabla 3. Casos de timpanismo y oportunidad relativa comparando los tres tratamientos usados en becerros Holstein neonatas en el Sitio 1

Oportunidad relativa			
Grupo de Tratamientos	Timpanismo (Promedio)	Tratamiento 2	Placebo
Tratamiento 1	1.7 (1.5) ^a	3.28 ^b	1.1364 ^d
Tratamiento 2	2.2 (1.5) ^a	-	3.7273 ^c
Placebo	2.9 (2.0)	3.7273 ^c	-

^aComparación de cada par Wilcoxon (valor p=0.04) con confiabilidad de 95%; ^bOR (valor p=0.82) con confiabilidad de 95%
^cOR (valor p=0.03) con confiabilidad de 95%; ^dOR (valor p=0.06) con confiabilidad de 95%

Tabla 4. Casos de geofagia y oportunidad relativa comparando los tres tratamientos usados en becerros Holstein neonatas en el Sitio 2

Oportunidad relativa	
Grupo de Tratamientos	Placebo
Tratamiento 1	0.9412 ^a
Placebo	-

^aOR (valor p=0.9) con confiabilidad de 95%

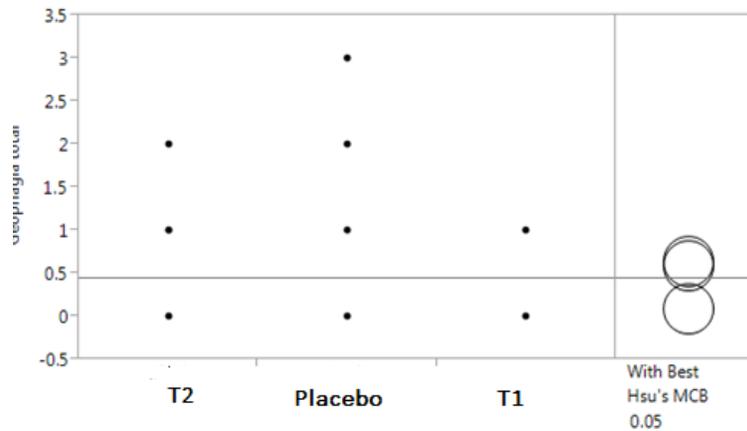
Al analizar las tablas 2, 3 y 4 se necesita aclarar que si la oportunidad relativa es igual a 1 significa que ambos grupos tuvieron una respuesta similar al tratamiento. Si la oportunidad relativa >1, entonces el tratamiento aumenta la posibilidad de manifestar la condición; si la oportunidad relativa <1, el tratamiento disminuye la posibilidad de que ambos factores estén relacionados (NCI, n.d.).

En la tabla 2 ninguno de los tratamientos se diferencian entre sí, pues sus valores son menores a 1, a contraste con la tabla 3, en donde se muestran valores muy por encima de la unidad. La relación entre el Tratamiento 1 y el Placebo indica un comportamiento similar de los

tratamientos. Por último, en la tabla 4 del Sitio 2, la oportunidad relativa indica que el tratamiento 1 y el placebo fueron similares en el control de geofagia.

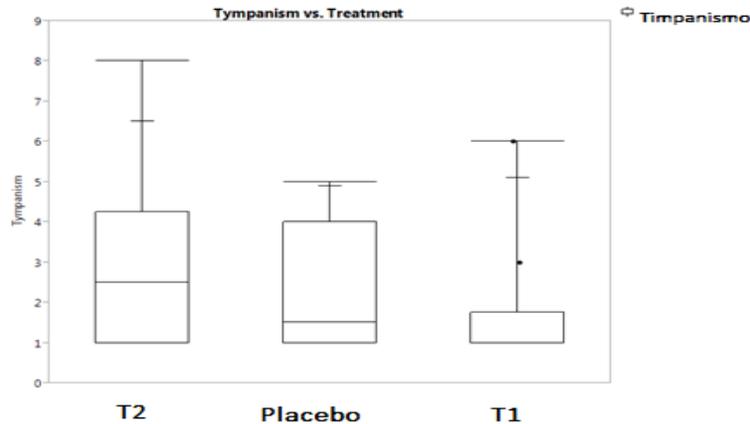
Al estudiar geofagia en el sitio 1 por medio del método de Comparaciones Múltiples Hsu (Best HSU MCB). Los resultados obtenidos mostraron el Tratamiento 1 fue significativamente diferente al placebo (Valor-p de 0.0267), mientras que el placebo y tratamiento 2 fueron iguales (gráfica 3). Para el sitio 2 no hubo diferencias entre los casos de geofagia en los dos grupos de estudio.

Gráfica 3. Distribución de casos de geofagia en becerras de 0 a 28 días de raza Holstein por tratamiento



Se realizó una comparación no-paramétrica múltiple por medio de Wilcoxon para estudiar timpanismo para el sitio 1. La comparación entre el tratamiento 1 y tratamiento 2 mostró una diferencia estadísticamente significativa (Valor-p 0.0336). Los dos tratamientos fueron similares al placebo. En el sitio 2 se reportó un solo caso de timpanismo.

Gráfica 4 Distribución de casos de timpanismo en becerras de 0 a 28 días de raza Holstein por tratamiento



CONCLUSIONES

De acuerdo con James L. Lewis, en su artículo de *Acidosis metabólica*, esta condición se debe a la acumulación de ácido, debido a diferentes factores, siendo la más relevante la disminución de la excreción del ácido y la pérdida renal del bicarbonato (Lewis, 2013).

El grupo de becerras que no ingirió tierra para compensar la acidez ruminal fue la del tratamiento 1, compensando de forma eficiente el pH sanguíneo mediante la eliminación de metabolitos ácidos en la orina en el sitio 1 de estudio.

En la **Tabla 2** ninguno de los tratamientos se diferencian entre sí, pues sus valores son menores a 1, a diferencia de la **Tabla 3**, en donde se muestran valores muy por encima de la unidad, a excepción de la relación entre el Tratamiento 1 y el Placebo, pues es muy cercano a uno; en los otras relaciones significan que efectivamente existe una alta diferencia entre tratamientos, lo que puede estar relacionado con la causa del timpanismo. Por último, en la **Gráfica 4** del Sitio 2, la oportunidad relativa es aproximadamente uno, por lo que no se sabe con certeza si la relación entre el Tratamiento 1 y el Placebo sean diferentes; dicho resultado puede ser explicado por el manejo del que anteriormente se habló.

En el sitio 1, el Tratamiento 1 casi no presenta casos de geofagia (valor-P 0.0267) en comparación con el placebo. Esta conclusión se refuerza con el número reducido de casos de timpanismo en el Tratamiento 1 (valor-P < 0.05).

La orina neutra y básica es la manifestación de acidosis metabólica compensada por el consumo de tierra con minerales amortiguadores; mientras que los animales con orina ácida, manejo adecuado de los tiempos de alimentación que consumen los fermentos de levadura, son capaces de eliminar el exceso de acidez por orina permitiendo la neutralización metabólica.

BIBLIOGRAFÍA

- Elkhair, N. M., & Hartmann, H. (2012). Studies on acid-base status in calves with ammonium chloride induced metabolic acidosis. *Global Vet*, 9, 388-395.
- Ewaschuk, J. B., Naylor, J. M., & Zello, G. A. (2003). Anion Gap Correlates with Serum D- and DL-Lactate Concentration in Diarrheic Neonatal Calves. *J Vet Intern Med*, 940-942.
- Frandsen, R. D., Wilke, W. L., & Fails, A. D. (2009). The Urinary System. In R. D. Frandsen, *Anatomy and Physiology of Farm Animals* (pp. 383-400). Iowa: Blackwell Publishing.
- Fredeen, A.H., E.J. DePeters, and R.L. Baldwin (1988). Characterization of acid-base disturbances and effects on calcium and phosphorus balances of dietary fixed ions in pregnant or lactating does. *J. Anim. Sci.* 66:159
- Garry, F. (2004). *Managing to Decrease Newborn Calf Problems*. College of Veterinary Medicine & Biomedical Sciences. Colorado State University.
- Gentile, A., Sconza, S., Lorenz, I., Otranto, G., Rademacher, G., Famigli-Bergamini, P., & Klee, W. (2004). D-Lactic Acidosis in Calves as a Consequence of Experimentally Induced Ruminal Acidosis. *Journal of Veterinary Medicine*, 64-70.

Heinrichs, A. J., & Lesmeister, K. E. (2005). Rumen development in the dairy calf. *Advances in Dairy Technology* (2005) Volume 17: 179-187

Kollias, H. (2012). Informal Experiments. How do pH strips work? Retrieved from Precision Nutrition: <http://www.precisionnutrition.com/ie-how-ph-strips-work>.

Lewis, J. L. (2013). Metabolic Acidosis. Retrieved from Merck Manuals: http://www.merckmanuals.com/professional/endocrine_and_metabolic_disorders/acid-base_regulation_and_disorders/metabolic_acidosis.html

Lombard, J. E., Garry, F. B., Tomlinson, S. M., & Garber, L. P. (2007). Impacts of dystocia on health and survival of dairy calves. *Journal of dairy science*, 90(4), 1751-1760.

MacDonald, M. A., Krueger, H., & Bogart, R. (1960). Rate and Efficiency of Gains in Beef Cattle. Technical Bulletin 40. Agricultural Experiment Station. Oregon State College:

Naylor, J. M. (1987). Severity and Nature of Acidosis in Diarrheic Calves Over and Under One Week of Age. *Can Vet*, 168-173.

NCI. (n.d.). Odds ratio. Retrieved from National Cancer Institute at the National Institutes of Health: <http://www.cancer.gov/dictionary?cdrid=618610>

Nouws, J. F. M., Vree, T. B., Degen, M., & Mevius, D. (1991). Pharmacokinetics of sulphamethoxazole in calves and cows. *Veterinary Quarterly*, 13(1), 10-15.

Pancieria, R. J., Boileau, M. J., & Step, D. L. (2007). Tympany, acidosis, and mural emphysema of the stomach in calves: report of cases and experimental induction. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, 19(4), 392-395.

Vázquez-Flores, S, Villarreal-Larrauri, A., Barrera-Almanza, S. Rojas-López, L. Sotomayor-Vera, T, Guerrero-Carrillo, M.J. (2013). Diagnóstico patológico, molecular y ambiental de *Clostridium perfringens* tipo A y *Sarcina* spp. en becerros neonatos Holstein con úlceras abomasales y timpanismo. XXII Congreso Nacional de Patología Veterinaria, Oaxaca, Oax. ISBN 978-607-9012-04-4

EVALUACIÓN DE TÉCNICAS DE PROPAGACIÓN *in vitro* DE *Agave salmiana*

Florencia Salinas^a, E. Bautista^a, A. Olvera^a, Y. Sánchez^a.

^aUniversidad Tecnológica de Tecámac, Estado de México, biotlofencia@yahoo.com.mx, marin_bautista_123@outlook.com, berolco_815@yahoo.com.mx, mayesi7405@hotmail.com.

RESUMEN

En México, los agaves tienen una gran importancia económica y cultural para numerosos pueblos indígenas y mestizos que han aprovechado sus características como fuente de alimento, bebida, medicina, combustible, cobijo, ornato, fibras. Desafortunadamente, muchas especies de este grupo se han visto amenazadas por la sobre explotación, en donde la Biotecnología Vegetal aporta herramientas que permitan promover su rescate ecológico mediante técnicas que permitan la propagación *in vitro* de especies de Agave. De acuerdo con Gentry (1982), el género Agave se propaga por semillas, vástagos vegetativos (la más utilizada) y propágulos en la inflorescencia. Se ha enfatizado la necesidad de un programa de mejoramiento con técnicas de propagación *in vitro* que proporcionen nuevas características como periodicidad, crecimiento rápido, mayor rendimiento, mayor producción de carbohidratos. El proyecto se realizó con *Agave salmiana*, especie endémica de zonas de Hidalgo, Tlaxcala y Estado de México y que se realizó en dos etapas; la primera evaluó la eficiencia del medio MS en dos concentraciones (50% y 100%) en condiciones de cultivo artificial con un fotoperiodo de 16 hrs de luz y 8 de oscuridad con una temperatura de $27^{\circ}\text{C} \pm 2$, la segunda evaluó las técnicas de germinación tradicional y con escarificación mecánica; ambas con la finalidad de determinar la viabilidad, minimizando tiempos de propagación de la especie. Los resultados reportados indican que el mejor medio fue el cultivo MS al 100% con un 72% de germinación la cual se cataloga como germinación avanzada ya que presentó la radícula y el brote de la plántula en el mismo intervalo de tiempo de incubación. Para la segunda etapa se logró una germinación cercana al 100% en 3 días de la especie, cuando con las técnicas tradicionales reportan el porcentaje de germinación es menor y tarda en promedio 10 días.

INTRODUCCIÓN

Conocido con el nombre de maguey manso, maguey verde y maguey pulquero (*Agave salmiana*), es una de las especies con más tradición de uso en México. Perteneciente a la familia Agavaceae, se reconoce por sus hojas anchas, fuertes, suculentas, de color verde con largos ápices acuminados y sigmoideos, de tallo corto y macizo, con forma de roseta y tamaños que van desde 1.50 m a 3.40 m de altura y hasta 5 m de diámetro. Tiene flores carnosas de tépalos dimorfos, estrechos, doblados hacia el interior. Se le encuentra en terrenos planos y montañosos, desde suelos profundos a superficiales, este Agave se distribuye principalmente en el valle de México y en los estados de México, Hidalgo, Puebla y Tlaxcala. (Galván,1994). En México, los agaves han tenido y tienen una gran importancia económica y cultural para numerosos pueblos indígenas y mestizos, que los han aprovechado durante siglos como fuente de alimento, bebida, medicina, combustible, cobijo, ornato, fibras. Actualmente su importancia va desde su valor ecológico y económico, hasta su aspecto cultural. Desafortunadamente, muchas especies de este grupo han sido descuidadas desde los puntos de vista del mejoramiento, explotación racional y conservación. En este sentido, la Biotecnología puede aportar herramientas valiosas que permitan el mejor aprovechamiento de estas plantas y aseguren al mismo tiempo su conservación, como son las

técnicas que permiten la propagación masiva in vitro de especies de Agave. (Domínguez et al., 2008)

El presente trabajo se desarrolló en dos etapas, en la primera etapa se evaluó la eficiencia del medio MS en dos concentraciones (50% y 100%) para la germinación de semilla de Agave salmiana en condiciones in vitro dentro de las instalaciones del Laboratorio de Tejidos Vegetales de la Universidad Tecnológica de Tecámac, con la finalidad de determinar la viabilidad de la técnica, minimizando tiempos de propagación de la especie. En la segunda etapa se realizó la evaluación del medio MS al 50 y 25 % a partir de semillas de Agave salmiana, bajo tratamiento simple y escarificación de semilla. El objetivo de la primera etapa es evaluar la eficiencia de los dos medios de cultivo para la micropropagación de semilla de Agave salmiana. Para la segunda etapa, evaluar los dos medios de cultivo y la propagación a partir de semilla por tratamiento simple y escarificación.

TEORÍA

Los agaves crecen en las planicies, las montañas, los acantilados, las dunas costeras o en los picos montañosos, preferentemente entre los mil y dos mil metros de altitud. El género Agave le da nombre a la familia Agavaceae, a la cual pertenecen otros ocho géneros de plantas mexicanas, como los amoles (géneros Beschorneria, Manfreda, Polianthes y Prochnyanthes), pitas (Furcraea), samandoques (Hesperaloe) e izotes (Hesperoyucca y Yucca). De los nueve géneros se obtienen beneficios como fibras, alimento, material de construcción, sustitutos del jabón, etcétera. Sin embargo, únicamente del género Agave se obtienen bebidas fermentadas o destiladas.

Descripción botánica del agave salmiana

De acuerdo con (Gentry, 1982), que describe a la especie salmiana como:

- Plantas medianas o grandes con un tallo pequeño y grueso, forma rosetas macizas de 1.5-2 m de alto y con el doble de ancho, hojas de 100-200 x 20-35 cm de amplitud, carnosas y macizas, verdes y grisáceas.
- Son monocotiledóneas, de raíz fibrosa revestida de escamas morenas e imbricadas de hojas en roseta apretada más o menos y por lo regular de textura firme, con espina terminal pungente y con abundantes espinas marginales.
- El borde foral es alto y se haya provisto de numerosas brácteas prefoliadas.

Usos

Las diferentes necesidades que han presentado las comunidades indígenas de nuestro país a través del tiempo, han hecho que se considere a la planta de agave como una fuente de recurso sustentable, para los habitantes de ciertas regiones, asignándoles, ciertos usos tal como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Uso tradicional alimenticio, tejido, vestuario, construcción y uso doméstico de los agaves en México.

Concepto	Uso	Partes de la planta
Alimenticio	Aguamiel, jarabe, mezcal, etc.	Piña del maguey, aguamiel concentrado.
Tejido y vestuario	Hilos, bolsas, lazos y mantas.	Fibras de las pencas.
Construcción	Techo, aditivo para mezcla.	Pencas frescas, quiote seco, baba de la penca.
Uso doméstico	Jabón para ropa	Raíces y pencas.

Fuente (Cervantes Huerta, 2007)

Importancia ecológica de los agaves

Se conoce que cerca del 50% del territorio presenta un suelo árido y semiárido provocando pérdida del mismo por erosión eólica, la instalación de los agaves salmiana permite garantizar la protección del suelo, ya que la generación de abundante raíz retiene al mismo, evitando que la corriente tanto de agua como de aire arrastre parte del suelo, evitan daños en lugar en donde crece (Rivera, 1990). En algunas regiones se cultiva delimitando bordos o terrazas para evitar la erosión y deslave de las tierras (Ramírez, 2001).

PARTE EXPERIMENTAL

Para el presente trabajo se utilizaron semillas recolectadas en el estado de Hidalgo, de la variedad *Agave salmiana* Otto, las cuales fueron sometidas a una serie de lavado y enjuagues con detergente en polvo al 5%, posteriormente se dejaron en remojo durante 24 horas en agua purificada, al día siguiente se enjuagaron nuevamente y se dejaron durante 20 min en una solución de hipoclorito de sodio al 6%, posteriormente se enjuagaron 3 veces con agua purificada estéril y se dejaron secar en papel filtro estéril durante 1 min dentro del área estéril. Posteriormente se sembraron 5 semillas por frasco con 5 repeticiones de medio MS al 100% y al 50%, dejándose en obscuridad durante 3 días a una temperatura de $27 \pm 2^\circ\text{C}$. Después de este tiempo las semillas contenidas en los frascos fueron incubadas en condiciones de cultivo artificial con un fotoperiodo de 16 hrs de luz y 8 de oscuridad con una temperatura de $27^\circ \pm 2$. Para la segunda etapa se empleó el medio de cultivo MS con dos variantes de concentración al 50 y 25% empleando un total de 50 semillas, las pruebas en las dos concentraciones se realizaron bajo condiciones de luz controlada. Se realizó la selección de la semilla en base a tamaño color, estado de la semilla sin necrosis ni señales de deterioro, utilizando para ello la prueba de flotación. A continuación se realizó la desinfestación de la semilla con hipoclorito de sodio al 12-15% y se dejaron reposar 24 horas. La siembra de la semilla se realizó mediante técnicas de sembrado simple y escarificación, la cual consistió en desprender la testa de la semilla y cortar en forma de embrión. Los frascos ya preparados fueron llevados a cámaras de incubación con una temperatura máxima de 24.8 y mínima de 21.8 °C con una humedad relativa de 28 % y un fotoperiodo de 16 horas s de luz y 8 de oscuridad.

RESULTADOS

En la primera etapa los resultados reportados indican que la germinación de la semilla fue del 64%, donde solo se presentó el desarrollo de radícula y el 20 % de los frascos que se sembraron presentaron contaminación por hongo. (Figura 1)

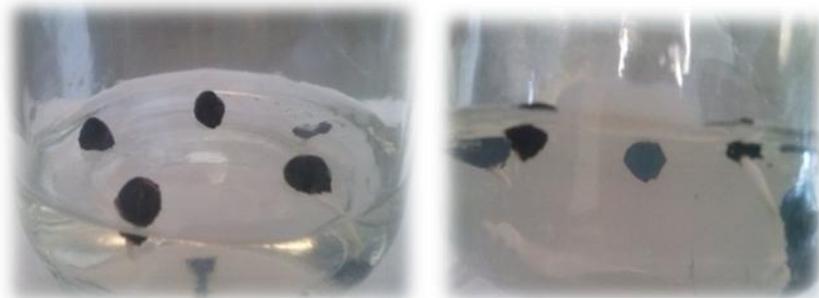


Figura 1. Germinación de semillas de *A. salmiana* en medio MS50% después de 11 días de incubación.

Con respecto al medio MS al 100% se observó la germinación del 72% de las semillas, el 25 % de los frascos que se sembraron presentaron contaminación por hongo. (Gráfica 1).

La germinación presente en los frascos de MS 100% se considera como germinación avanzada, ya que presenta tanto la radícula como el brote inicial de la plántula (figura 2).

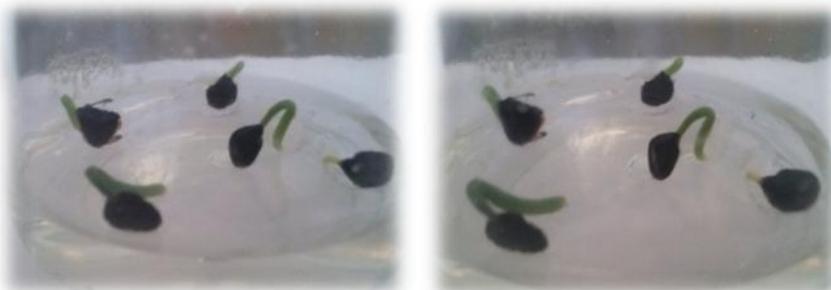
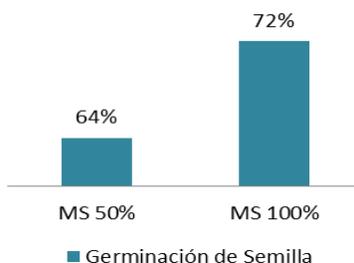


Figura 2. Germinación de semillas de *A. salmiana* en medio MS100% después de 11 días de incubación.

Se realizó el sembrado de las semillas de *A. salmiana* en dos medios de cultivo, MS 50% y MS 100% donde se obtuvo un mayor porcentaje de germinación en el medio MS 100% (gráfica 1).



Gráfica 1 –Comparativo del porcentaje de las germinaciones en medio de cultivo MS

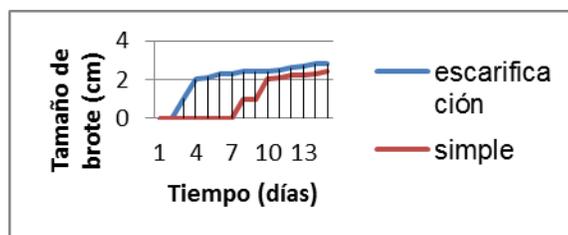
El resultado encontrado a los 11 días de germinación, presenta un ahorro entre 2-10 días con relación a la germinación tradicional en invernadero como lo reporta Vázquez et al., (2011), en cuya siembra encontró que las hojas cotiledonares iniciaron la emergencia a los 13 día después de la siembra en promedio, y la mayor emergencia en plántulas hojas cotiledonares, se presentó entre los 21 y 51 días.

De acuerdo con las observaciones realizadas de las 15 muestras se tuvo germinación en la escarificación con un porcentaje del 90% debido a problemas de contaminación y de la siembra simple, fue mayor con un porcentaje de 95%. Estos resultados se llevaron a cabo en un tiempo de 15 días. (Tabla 1y gráfica 2)

Tabla 1 Control de germinación.

Muestras		Escarificado	Simple	Escarificado	Simple
Escarificado	Simple	Día de germinación	Día de germinación	Crecimiento total	Crecimiento total
1	1	3	10	2.3 cm	1.4 cm
2	2	3	10	1.8 cm	1.1 cm
3	3	-----	9	-----	1.5 cm
4	4	4	8	2.0 cm	1.8 cm
5	5	3	11	2.6 cm	1.0 cm
6	6	3	-----	2.7 cm	-----
7	7	3	10	2.4 cm	1.2 cm
8	8	3	10	2.5 cm	1.3 cm
9	9	3	10	2.6 cm	1.3 cm
10	10	3	10	2.4 cm	1.4 cm
11	11	3	9	2.4 cm	1.0 cm
12	12	-----	10	-----	1.3 cm
13	13	4	10	2.1 cm	1.5 cm
14	14	3	8	2.8 cm	1.8 cm
15	15	4	9	1.9 cm	1.8 cm

En la gráfica 2 se observa el tiempo de crecimiento del brote mediante las dos técnicas de germinación de semilla *Agave salmiana*, es más rápido con escarificación que con sembrado simple en su tiempo de brote, dado que los nutrientes estimulan su aprovechamiento en esta etapa, favoreciendo su desarrollo.



Gráfica 2. Crecimiento de brotes.

CONCLUSIONES

Se obtuvo un mayor porcentaje de germinación en el medio MS 100% con la ventaja de que la germinación se asocia a un desarrollo avanzado identificado por brote radicular y apical aéreo. Se establece que la escarificación es el proceso más rápido para obtener brotes de la semilla con un tiempo de tres días en cambio el sembrado simple requiere de 10 días.

BIBLIOGRAFÍA

1. Domínguez, M. S.; Alpuche, A.G.; Vasco, N.L.; Pérez, E.; 2008. Efecto de citocininas en la propagación in vitro de Agaves mexicanos. Revista Fitotecnia Mexicana. Vol. 31(4):317-322.
2. Galván, R.V. 1994. Riquezas de las familias Agavaceae y Nolinaceae en México. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
3. Vázquez E.; García, J.; Peña, C.; Ramírez, H.; Morales, V. 2011. Tamaño de la semilla, emergencia y desarrollo de la plántula de maguey (*Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck). Fitotecnia Mexica Vol. 34(3): 167-173

ELABORACIÓN DE LOMBRICOMPOSTA CON UN CONSORCIO BACTERIANO Y EL EFLUENTE DE UN BIODIGESTOR ANAEROBIO

*Elsa A. Guerrero-Cornejo*¹, *Héctor G. Nuñez-Palenius*², *Víctor Olalde-Portugal*³, *Graciela M. L. Ruiz-Aguilar*¹.

¹ Departamento Ciencias Ambientales, División Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato, Irapuato, México. E-mail: *g.ruiz.aguilar@gmail.com*

² Departamento de Ingeniería en Agronomía, División Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato, Irapuato, México. E-mail: *palenius@ugto.mx*.

³ Departamento de Bioquímica y Biotecnología, CINVESTAV, Campus Guanajuato, Irapuato, México. E-mail: *volalde@ira.cinvestav.mx*

RESUMEN

La lombricomposta es una opción de fertilización orgánica que aporta nutrientes al suelo contribuyendo al crecimiento de plantas. El agua usada para la elaboración de lombricompostas puede representar un gasto para el productor. En un sistema sustentable con un biodigestor anaeróbico para el tratamiento de estiércol de vaca, se produce un efluente que puede utilizarse para enriquecer y a su vez mantener la humedad de la lombricomposta. Para que las lombrices degraden el estiércol de vaca, debe de ser pre-compostado previo a colocar las lombrices. En trabajos anteriores se demostró que el uso de un consorcio bacteriano lignocelulósico acelera el proceso de compostaje, esto no se ha probado en lombricompostaje. En esta investigación se evaluó el uso de un efluente de biodigestor anaerobio y un consorcio bacteriano en la elaboración de lombricompostas. Se realizaron dos experimentos: haciendo la inoculación del consorcio en el pre-compostaje (e-1), y en el lombricompostaje (e-2). Se evaluó la lombricomposta final midiendo la producción de ácidos húmicos (AH) y ácidos fulvicos (AF) finales. En e-1 fueron entre 9 y 15% siendo el más alto el tratamiento de efluente inoculado con el consorcio. En e-2 los % AH resultaron entre 19 y 29% al final del lombricompostaje, siendo el de mayor porcentaje el tratamiento irrigado con agua e inoculado con el consorcio. Se determinó la humedad (%H), pH y conductividad eléctrica (CE) según lo establecido en la norma mexicana NMX-FF-109-SCFI-2007. Se observó que los valores de pH y %H están por arriba de lo estipulado sin embargo la CE resultó dentro de lo establecido en e-1 y e-2. Como conclusión, el uso del efluente de un biodigestor sí puede ser una opción para ahorrar agua en un proceso de lombricomposteo. El consorcio bacteriano acelera el proceso cuando se inocula en el pre-compostaje.

Palabras clave: *compostaje, lombricompostaje, efluente.*

INTRODUCCIÓN

Los fertilizantes orgánicos son una opción para reducir el uso de fertilizantes inorgánicos sintéticos dañinos para el medio ambiente, ya que conforman una fuente rica en nutrientes vegetales (Rodríguez et al., 2010). La lombricomposta, está constituida exclusivamente por material orgánico resultante de la transformación digestiva y metabólica de la materia orgánica que pasa a través del sistema digestivo de la lombriz (NMX-FF-109-SCFI-2007). El uso de la lombricomposta incrementa la fase orgánica del suelo y mejora las características fisicoquímicas para conservación y fertilización del suelo (Barbado, 2003), y debido al enriquecimiento de nutrientes y a la viabilidad de la actividad microbiana que proveen las lombricompostas, promueven el crecimiento de las plantas y suprimen la población de organismos patógenos para éstas y la cantidad de pesticidas presentes en el suelo (Jayakumar y Natarajan, 2012). El agua que es usada en la elaboración de lombricompostas

representa un gasto para los productores. Una alternativa para conformar un sistema integral para los ganaderos incluye el uso de biodigestores anaerobios, éstos además de producir metano también producirán efluentes. Un sistema de biodigestión es el conjunto de componentes que facilitan la conversión de un residuo en energía, dentro de los que se encuentra el biodigestor anaeróbico, capaz de convertir materia orgánica, como estiércol de vaca en metano principalmente (Samayoa et al., 2012). En un sistema sustentable con un biodigestor anaeróbico para el tratamiento de estiércol de vaca, se produce un efluente que puede utilizarse para enriquecer y a su vez mantener la humedad de la lombricomposta. Además se enriquecería el material lombricompostado haciéndolo apto para el uso directo en el suelo agrícola.

El objetivo de este proyecto es evaluar la producción de lombricomposta asociándola a un consorcio bacteriano lignocelulolítico, empleando un efluente de un biodigestor anaerobio para sustituir el agua de uso en la elaboración de la lombricomposta.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cada experimento constó de dos fases: la primera un pre-compostaje en el que se acondiciona el estiércol de vaca fresco para posteriormente en la segunda fase, ser lombricompostado. Se realizaron dos experimentos: e-1 en el que se inoculó el consorcio en la fase de pre-compostaje y e-2 en el que se inoculó el consorcio bacteriano en la fase de lombricompostaje. Se pusieron dos camas de estiércol de vaca para el precompostaje en el experimento e-1 y cuatro camas en el experimento e-2, ya que en e-1 no se inoculó sino hasta el momento de sembrar las lombrices. En e-1, se regó con agua una de las camas y la otra con efluente. En e-2 se regaron dos camas con agua y dos camas con efluente, de estos pares se inoculó una cama de cada tipo de riego con bacterias (1.39×10^5 bacterias del consorcio). Se evaluó la lombricomposta midiendo la producción de ácidos húmicos (AH) y ácidos fulvicos (AF) (Sánchez-Monedero, 1996) con una frecuencia semanal. Se determinó la humedad (%H), pH y conductividad eléctrica (CE) según lo establecido en la norma mexicana NMX-FF-109-SCFI-2007 al inicio de la fase de pre-compostaje, al inicio del lombricompostaje y al final del mismo. En ambos experimentos la frecuencia de riego fue cada dos días, volteando las camas para su aireación cada semana. Todos los tratamientos fueron cubiertos con paja de sorgo con el fin de mantener el contenido de humedad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El porcentaje de humedad, en ambos experimentos e-1 y e-2 resultó más alto que lo establecido por la normatividad mexicana (tabla 1). Presentando un rango de humedad de 55% a 68% en la fase de lombricompostaje, sin embargo estos valores resultaron conforme a lo reportado por Domínguez y Edwards (2011) de 55% y hasta 65% (Nengwu, 2007), para compostas con paja. El pH en ambos experimentos subió, en e-1 de 9.42 a 9.7 en los tratamientos con agua, y a 10 en los tratamientos con efluente. En e-2 el pH aumentó desde 8.3 a 9.7 en los tratamientos irrigados con agua, y a 10 en los irrigados con efluente. Lo anterior resultó arriba de lo que establece la norma y por arriba del pH característico en las compostas comerciales que es de 7 (Romero *et al.*, 2001). En los experimentos se observó que la conductividad eléctrica decreció, quedando dentro del valor permitido, sin embargo no coincide con lo reportado por Wong (1997) y Sharma (2003) donde se demostró un incremento gradual debido a la pérdida de la materia orgánica y a la liberación de sales minerales en formas disponibles. Esto puede deberse a que en estos reportes se trabajó con residuos sólidos municipales y no con estiércol de vaca.

Tabla 1. Características de las lombricompostas.

		Humedad	pH	Conductividad eléctrica
NMX-FF-109-SCFI-2007		De 20 a 40 %	De 5.5 a 8.5	$\leq 4 \text{ dS m}^{-1}$
Primer experimento*				
Pre-compostaje	<i>Agua inicio</i>	80.03	9.42	5.41
	<i>Agua final</i>	69.33	9.34	0.02
Lombricompostaje	<i>Efluente inicio</i>	80.03	9.42	5.41
	<i>Efluente final</i>	62.68	9.80	0.02
	<i>ASB</i>	68.65	9.63	0.01
	<i>AB</i>	66.34	9.73	0.01
	<i>ESB</i>	60.89	10.05	0.02
	<i>EB</i>	64.63	10.08	0.02
Segundo experimento**				
Pre-compostaje	<i>ASB inicio</i>	70.95	8.3	0.02
	<i>ASB final</i>	63.21	9.5	0.01
	<i>AB inicio</i>	70.95	8.3	0.02
	<i>AB final</i>	55.95	9.5	0.01
	<i>ESB inicio</i>	70.95	8.3	0.02
	<i>ESB final</i>	67.58	9.8	0.01
	<i>EB inicio</i>	70.95	8.3	0.02
	<i>EB final</i>	68.98	9.9	0.01
Lombricompostaje	<i>ASB</i>	64.34	9.6	0.01
	<i>AB</i>	59.17	9.7	0.01
	<i>ESB</i>	68.17	10.2	0.01
	<i>EB</i>	54.87	10.3	0.02

ASB= Agua sin Bacteria; AB= Agua con Bacteria; ESB= Efluente sin Bacteria; EB= Efluente con Bacteria.

*Experimento e-1 (inoculación en la fase de lombricompostaje)

**Experimento e-2 (inoculación en la fase de pre-compostaje)

El porcentaje de AH en la fase de pre-compostaje fue a la baja y en la fase de lombricompostaje resultó al alta, en ambos experimentos. En el porcentaje de AF ocurrió al contrario, excepto en el caso del tratamiento de lombricompostaje regado con agua e inoculado con bacterias (figura 1). En el segundo experimento con la adición inicial del consorcio bacteriano, se observó que (figura 2) el comportamiento en las camas regadas con agua en la fase de pre-compostaje tuvo su máximo en AH en el día 14, no resultó así con las camas regadas con efluente que presentaron su máximo el día 26, en comparación con el primer experimento que ambos tratamientos agua y efluente decrecieron en la fase de pre-compostaje y presentaron su máximo en AH el día 20. Las lombricompostas con más bajos niveles de AH tendrán menos interacción con los componentes del suelo (Sholkovitz y Copland, 1981). Asimismo Arancon et al (2003) corroboraron cómo el contenido de sustancias húmicas en la lombricomposta es indicativo de un mejor crecimiento en plantas. Lo anterior sugiere que el producto del lombricompostaje obtenido en el segundo experimento podría resultar menos eficiente para promover el crecimiento de plantas. Los AF tienen un gran contenido

de oxígeno pero un bajo contenido de carbono y nitrógeno en comparación con los AH, por esto los AH son los más importantes para la agricultura (Landgraf et al., 1998), los AF tienen un efecto más rápido sobre la planta pero son menos persistentes que los AH. Entonces las lombricompostas con mayor cantidad de ácidos húmicos y menor porcentaje de AF son las mejores para su uso en plantas (Landgraf et al., 1998), en ambos experimentos fue el control de agua con bacterias. Sin embargo las lombricompostas regadas con efluente también demostraron tener una mayor cantidad de AH que de AF por lo que también pueden ser candidatas para evaluarse en el crecimiento de plantas.

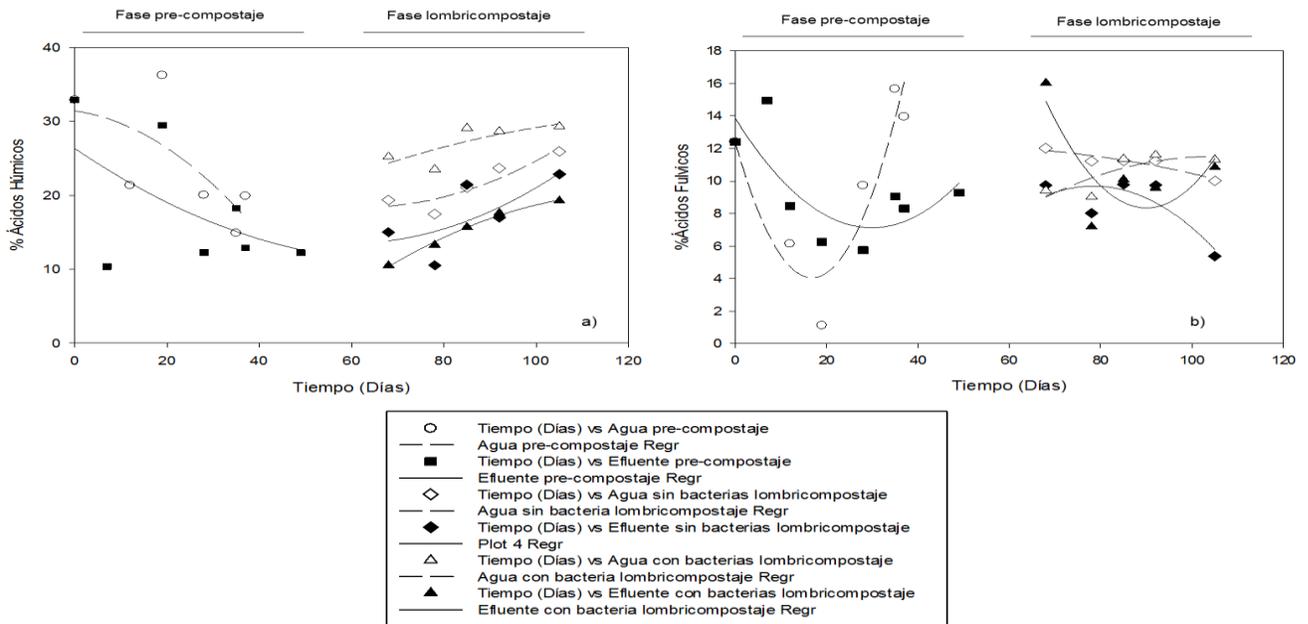


Figura 1. Porcentaje de ácidos húmicos (izquierda); porcentaje de ácidos fulvicos (derecha) en el primer experimento.

CONCLUSIONES

Los resultados anteriores demuestran que el uso de un efluente de biodigestor anaeróbico y un consorcio bacteriano puede ayudar a reducir el tiempo de lombricompostaje si se inocula en la fase de pre-composteo del estiércol. Es posible generar un bio-fertilizante de buena calidad, comparable con los elaborados con agua, usando el efluente de un biodigestor, lo que ahorra en el uso del agua para la producción de la lombricomposta. Además con el uso del consorcio se reduce el tiempo de lombricompostaje lo que también deriva en un ahorro de agua. De esta manera se propone una alternativa para el uso de los residuos pecuarios como el estiércol de vaca, en un sistema integral compuesto de un biodigestor anaerobio y la producción de lombricomposta.

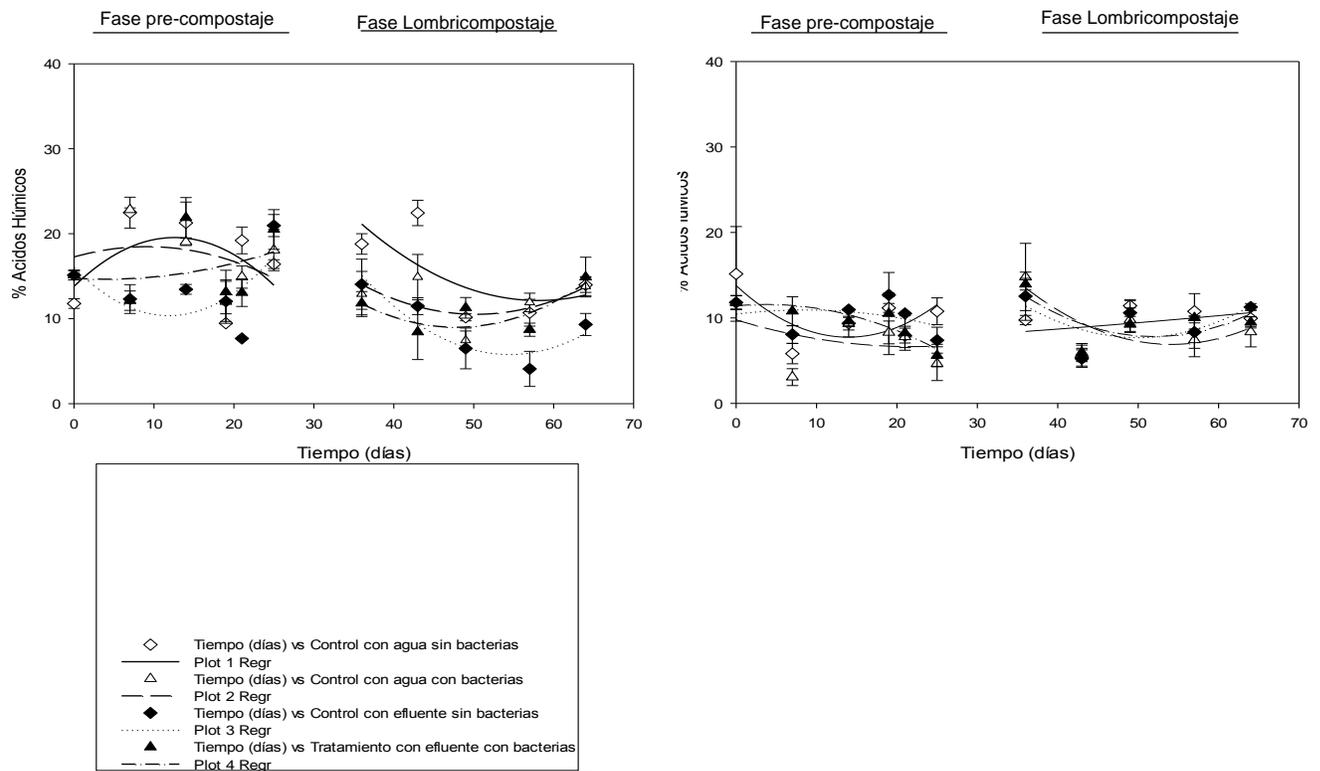


Figura 2. Porcentaje de ácidos húmicos (izquierda); porcentaje de ácidos fulvicos (derecha) en el segundo experimento.

REFERENCIAS

- Arancon, N. Q., Lee, S., Edwards, C. A., & Atiyeh, R. (2003). Effects of humic acids derived from cattle, food and paper-waste vermicomposts on growth of greenhouse plants: The 7th international symposium on earthworm ecology Cardiff Wales 2002. *Pedobiologia*, 47(5), 741-744. / Barbado, J. L. 2003. Cría de lombrices. Editorial Albatros. México. Pp 56-58. / Domínguez, J., and Edwards, C. A. 2011. Relationship between composting and vermicomposting. *Vermiculture Technology*. CRC Press cap. 2 11-40. / Jayakumar, P., and Natarajan, S. 2012. Microbial diversity of vermicompost bacteria that exhibit useful agricultural traits and waste management potential. *Springer Plus* 26:1-19. / Landgraf, M. D., da Silva, S. C., & Rezende, M. O. D. O. (1998). Mechanism of metribuzin herbicide sorption by humic acid samples from peat and vermicompost. *Analytica Chimica Acta*, 368(1), 155-164. / Nengwu, Z. 2007. Effect of low initial C/N ratio on aerobic composting of swine manure with rice straw. *Bioresource Technology* 98 9-13. / Normas Oficiales Mexicanas. NMX-FF-109-SCFI-2007. Humus de lombriz (lombricomposta) – Especificaciones y Métodos de prueba. / Rodríguez, O. J. C., Loredó, C., Alcalá, J. A., Beltrán, L., Tapia, J. J., Villar, C., y García, J. L. 2010. Efecto de dosis y momento de aplicación de lombricomposta en la producción de cebollita cambray (*Allium cepa*). *Agrofaz*. 10:99-106. / Romero, S. S., Cerrato, R. F., Suárez, J. J. A., Spínola, A. G., & Boullard, I. B. (2001). Dinámica y relaciones de microorganismos, C-orgánico y N-total durante el composteo y vermicomposteo. *Agrociencia*, 35(4), 337-384. / Sánchez-Monedero, M. A., Roig, A., Martínez-Pardo, C., Cegarra, J., & Paredes, C. 1996. A microanalysis method for determining total organic carbon in extracts of humic substances. *Relationships between total organic carbon and oxidable carbon*. *Bioresource Technology*, 57(3), 291-295. / Samayoa, S., Bueso, C., Víquez, J. 2012. Guía de implementación de sistemas de biodigestión en ecoempresas. Programa Regional de Medio Ambiente en Centro América pp 13. / Sharma, S. (2003). Municipal solid waste management through vermicomposting employing exotic and local species of earthworms. *Bioresource Technology*, 90(2), 169-173. / Sholkovitz, E. R., & Copland, D. (1981). The coagulation, solubility and adsorption properties of Fe, Mn, Cu, Ni, Cd, Co and humic acids in a river water. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 45(2), 181-189. Barbado, J. L. 2003. Cría de lombrices. Editorial Albatros. México. Pp 56-58. / Wong, J. W. C., Fang, M., Li, G. X., & Wong, M. H. (1997). Feasibility of using coal ash residues as co-composting materials for sewage sludge. *Environmental technology*, 18(5), 563-568.

ANÁLISIS FILOGENÉTICO DEL GÉNERO *Polianthes* A PARTIR DE CARACTERES MORFOLÓGICOS Y MOLECULARES

^aMagdalena Hernández Herrera, ^aP. Dupre, ^aR. Barba-González, ^bM.C. Castañeda-Saucedo, ^aE. Tapia-Campos.

^aCentro de investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, m.hernandez22@live.com, pdupre@ciatej.mx, rbarba@ciatej.mx, etapia@ciatej.mx

^bCentro Universitario del Sur, Universidad de Guadalajara (CUSUR-UDG). claudia.saucedo@cusur.udg.mx

RESUMEN

El género *Polianthes* L. Pertenece a la familia Asparagaceae, incluye 14 especies, siendo endémico de México. *Polianthes tuberosa* L. es la única especie cultivada con propósito ornamental con alto nivel comercial en floricultura en países como México, China, India, Nueva Zelanda y Taiwán además, debido a la importancia económica y problemas taxonómicos seis especies silvestres y dos cultivadas están siendo caracterizadas a partir de caracteres morfológicos tanto vegetativos (número de hojas (NH), ancho (AH) y largo de la hoja (LH), ancho (ABP) y largo de brácteas del pedúnculo (LBP), longitud de inflorescencia (LF), longitud raquis (LR), ancho (AB) y largo de bulbo (LB)) y reproductivos (ancho (AP) y largo del perianto (LP), largo (LP) y ancho del pedicelo (AP), ancho (AL) y largo de lóbulos (LL), largo del filamento (LF), ancho (AA) y largo de antera(LA), ancho (EA) y largo estilo (EL), ancho estigma (AE), largo (LO) y ancho del ovario (AO), ancho (AS) y largo de semilla (LS), número de flores (NF), número de nudos (NN) y distancia entre nudos fértiles (DN)) para conocer las relaciones filogenéticas de las especies del género *Polianthes* y géneros emparentados. Hasta el momento se observa una variación en características florales para las variables AP, LP, AL, LL y como vegetativas LH y AH que permite separar hasta cierto nivel a las especies dentro del género. Sin embargo, para reforzar estas relaciones se están efectuando análisis moleculares con marcadores AFLP (Amplified fragment length polymorphism), que nos permitirá tener una mejor claridad respecto a la filogenia de este género que será discutida en el presente trabajo.

INTRODUCCIÓN

La clasificación de las especies vegetales ha sido extraída a partir de datos morfológicos, desde los tiempos de los naturalistas griegos hasta nuestros días. Los datos morfológicos existen en dos tipos: los macromorfológicos que se observan a simple vista, con ayuda de una lupa o de un microscopio esteroscópico, los caracteres micromorfológicos pueden ser estudiados con un microscopio de luz compuesta o un microscopio electrónico (Stuessy, 1990).

En la clasificación de plantas con flores se da mayor peso a los caracteres reproductivos que los vegetativos, ya que estos últimos tienen una construcción modular con unidades estructurales que se repiten sin un número fijo de partes, en cambio en las flores se observa un número más definido (Solano 2000). Sin embargo, a pesar de la variabilidad de los caracteres foliares constituyen la base de datos importante en diversos estudios de clasificación de especies. Algunas de las principales ventajas del uso de los rasgos morfológicos es su bajo costo, puede ser utilizado para

especímenes de herbario y otros tejidos muertos; sin embargo, su empleo a veces es limitado debido a su escasez y a que presenta dominancia, peliotropía, epistasis e incluso algunos son deletéreos (Tapia-Campos, 2007).

El género *Polianthes* pertenece a la familia Asparagaceae y está formado por 14 especies (Solano, 2000), es endémico de México, se distribuye en los estados de: Chihuahua, Tamaulipas, Jalisco, Zacatecas, Durango, Nayarit, Aguascalientes, Michoacán, Guanajuato, Colima, Guerrero, Hidalgo,

Morelos, México, Distrito Federal, Puebla, Tlaxcala, Guerrero y Oaxaca; frecuente en los bosques de coníferas y de pino-encino (McVaugh, 1989).

Todas las especies silvestres del género están formadas por flores con coloraciones blancas, amarillas, rojizas, rosadas y anaranjadas, haciendo de todas las especies silvestres un recurso potencial como plantas ornamentales; *Polianthes tuberosa* ha sido cultivada en este sentido por más de 400 años; así mismo, posee aceites esenciales que son utilizados en la industria de la perfumería, además debido a la alta concentración de sapogeninas que se encuentran en sus rizomas y raíces, muchas especies han sido utilizadas como sustitutos del jabón (Rose, 1903; Solano, 2007).

Cinco especies del género *Polianthes* se encuentran enlistadas en la categoría de protección especial en la Norma Oficial Mexicana; por esto diversos estudios buscan la conservación *in situ* y *ex situ*. La conservación de especies comprende la caracterización de las especies, registrando rasgos morfológicos y moleculares altamente heredables, para taxonomía, genética, garantía de calidad y otros propósitos de manejo (Solano, 2007).

Las relaciones filogenéticas de *Polianthes* han sido analizadas pero no existe hasta ahora un acuerdo al respecto. A partir de caracteres vegetativos, reproductivos y hábito de crecimiento, Rose (1899), encontró que *Polianthes* se describía como una planta que tenía una espiga simple y laxa, mientras que *Prochnyanthes* presentaba un racimo laxo. De acuerdo a sus observaciones, no existía diferencia en la inflorescencia de estos géneros; Así mismo, las raíces, los tallos, las hojas, el hábito de crecimiento los reconoció muy similares y llegó a la conclusión que el único carácter que podía ayudar a su separación estaba en el perianto. Bogler y colaboradores (1995), propusieron que los géneros *Polianthes*, *Manfreda* Salisb. y *Prochnyanthes* se encuentran estrechamente relacionados, considerándolos como un clado independiente de *Agave* L.

Debido a la importancia Taxonómica del género, se tiene como objetivo en el presente trabajo la caracterización morfológica de seis especies silvestres y dos cultivadas, además de los géneros emparentados (*Manfreda* y *Prochnyanthes*) las cuales pueden aportar evidencias para aclarar su situación taxonómica.

PARTE EXPERIMENTAL

Se tomaron datos morfológicos de seis especies silvestres y dos cultivadas del género *Polianthes* además de individuos de los géneros *Manfreda* y *Prochnyanthes* (Cuadro 1). Se registraron en total 26 caracteres correspondientes a estructuras vegetativas: número de hojas (NH), ancho (AH) y largo de la hoja (LH), ancho (AB) y largo de brácteas (LB), longitud de inflorescencia (LF), longitud raquis (LR), ancho (AB) y largo de bulbo (LB); y reproductivos: (ancho (AP) y largo del perianto (LP), largo (LP) y ancho del pedicelo (AP), ancho (AL) y largo de lóbulos (LL), largo del filamento (LF), ancho (AA) y largo de antera(LA), ancho (EA) y largo estilo (EL), ancho estigma (AE), largo (LO) y ancho del ovario (AO), ancho (AS) y largo de semilla (LS), número de flores (NF).

Cuadro 1. Especies silvestres y cultivadas del genero *Polianthes* usadas en la caracterización

Especies	Localidad de colecta	Código
<i>P. howardii</i>	Colima	Ho1, Ho2, Ho3
<i>P. montana</i>	Lagos de Moreno, Jalisco	Mon1, Mon2, Mon3
<i>P. geminiflora</i> var. <i>clivicola</i>	Tapalpa, y Casimiro Castillo, Jalisco	Cli1, Cli2, Cli3
<i>P. platyphylla</i>	Mascota, Jalisco	Pla1, Pla2, Pla3
<i>P. tuberosa</i> cv. 'Double'	Puente de Ixtla, Morelos	TD1, TD2, TD3
<i>P. tuberosa</i> cv. 'Single'	Tantoyuca, Veracruz	TS1, TS2, TS3
<i>P. pringlei</i>	San Cristobal de la Barranca, Jalisco	Pri1, Pri2, Pri3
<i>P. zapopanensis</i>	Zapopan, Jalisco	Zap1, Zap2, Zap3
<i>Manfreda</i>	San Cristobal de la Barranca, Jalisco	Man1, Man2, Man3
<i>Prochnyanthes</i>	Zapopan, Jalisco	Pro1, Pro2, Pro3

Los caracteres morfológicos cuantitativos de cada especie fueron promediados y se elaboró una matriz de datos morfológicos, que fue estandarizada mediante NTSYS-pc 2.1 (Rohlf, 2000). Posteriormente se sometieron a un análisis de componentes principales (ACP). Los valores y vectores propios se calcularon con el uso de la matriz de correlaciones mediante el software NTSYS-pc 2.1 (Rohlf, 2000). A partir de la matriz generada fue usada para formar una matriz de distancias euclidianas con la que se elaboró un dendograma usando el logaritmo UPGMA (*Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Means*, por sus siglas en inglés) NTSYS-pc 2.1

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Los valores propios, y el porcentaje de la varianza explicada para cada componente principal se presentan en el cuadro 2. La varianza asociada con cada componente principal es diferente y decrece en el orden, lo cual es una característica deseable en este tipo de análisis. Con los primeros tres componentes se puede explicar el 65% de la variación encontrada. El primer componente explica el 30.23 % de la varianza total, el segundo 23.13 % de la variación, el tercero 12.18 % y así sucesivamente, hasta que toda la variabilidad quede distribuida diferencialmente entre los 26 componentes.

Cuadro 2. Valores propios y proporción de la varianza explicada en el análisis de componentes principales de 26 caracteres cuantitativos de las especies del género *Polianthes*.

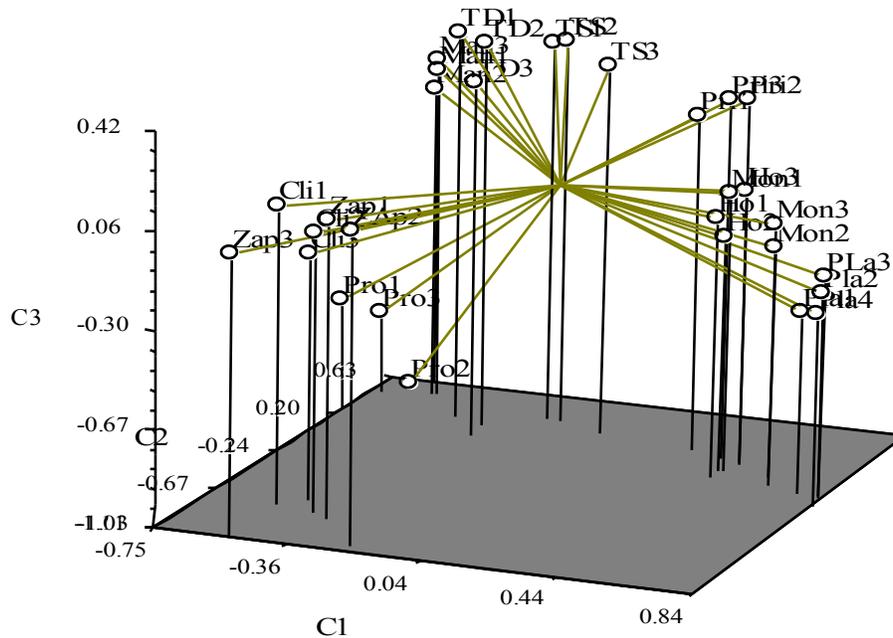
Componentes principales	valores propios	Porcentaje (%)	Acumulado (%)
1	7.862	30.238	30.238
2	6.016	23.139	53.377
3	3.168	12.183	65.56
4	1.935	7.442	73.002
5	1.429	5.496	78.499

Las variables más importantes de cada componente principal fueron determinadas en base a los valores propios de cada componente y en su correlación con las variables originales. Las variables importantes fueron aquellas con coeficientes más altos en valor absoluto. Para el CP1, las variables más importantes fueron: Longitud de la hoja (LH), ancho bulbo (AB), longitud del raquis (LR), largo bráctea del pedúnculo (LBP) y Longitud de la inflorescencia (LI), esto nos indica que para el primer componente se distinguen los principales caracteres vegetativos, predominando el tamaño de sus hojas. Estos resultados se contraponen a los de Solano (2000) que da mayor peso a los caracteres reproductivos, debido a que los rasgos foliares son muy homogéneos y difícilmente se pueden formar grupos de especies.

En el CP2 las variables importantes fueron: Ancho de la hoja (AH), número de flores (NF) y ancho de la porción amplia del perianto (APAP); mientras que para el CP3 las variables sobresalientes fueron ancho de la bráctea del pedúnculo (ABP), ancho de la hoja (AH) y la longitud amplia de la porción del perianto (LAPP).

En la figura 1, se observa el plano de distribución de los individuos analizados en base a los tres primeros componentes, donde se observa muy asociado a los individuos del género *Manfreda* con las especies cultivadas de *Polianthes tuberosa* (simple y doble), estos individuos caracterizados por presentar un mayor número de hojas y de mayor tamaño de las mismas, de igual modo las estructuras florales de mayor tamaño en relación con el resto de los ejemplares silvestres analizados. Los individuos del género *Prochnyanthes* fueron los que se observaron menos asociados al resto de los individuos.

Figura



1.

Distribución de individuos analizados con base a los tres primeros componentes principales

En general los individuos silvestres del género *Polianthes* presentaron estructuras vegetativas y florales más pequeñas en relación a los género afines *Manfreda* y *Prochyanthes* lo que concuerda con lo reportado por Solano (2000), observa como principales rasgos para separar especies a los caracteres reproductivos como: la flor, tubo floral y lóbulos del perianto; sin embargo, existe una asociación interesante con respecto a las especies cultivadas que hacen difícil una clara separación de estos géneros con las caracteres evaluados hasta el momento.

A pesar de la similitud en tamaño en las especies silvestres del género *Polianthes*, se observa una clara separación de *P. geminiflora* var. *clivicola* y *P. zapopenesis* respecto al resto, estas especies fueron muy similares morfológicamente lo que concuerda con lo reportado por Solano (2011) al incluir a *P. zapopenesis* como nueva especie dentro del género *Polianthes* y observa la gran similitud morfológica con *Polianthes geminiflora* var. *geminiflora*, *P. geminiflora* var. *clivicola*, *P. geminiflora* var. *pueblensis*, *P. graminifolia* y *P. oaxacana*.

CONCLUSIONES

A partir de los datos morfológicos cuantitativos analizados hasta el momento se reconoce una gran variación entre los individuos del género *Polianthes* estudiados, no se observa una clara separación de estas especies respecto a los géneros relacionados *Manfreda* y *Prochyanthes*; sin embargo, se espera tener una mayor claridad en los agrupamientos obtenidos al tener los análisis con marcadores moleculares que actualmente están en proceso.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bogler, D. J. y B. B. Simpson. 1996. Phylogeny of Agavaceae based on its rDNA sequence variation. *Am. J. Bot.* 83: 1225–1235.
2. McVaugh, R. 1989. *Flora Novo-Galiciana. Bromeliaceae to Disocoreaceae.* Vol. 15. The University of Michigan Herbarium. USA.
3. Rose, J. N. 1903. *Prochyanthes* and its species. *Contr. U. S. Natl. Herb.* 8(1): 13–14.

4. Rohlf, F.J. 2000. NTSYS-pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Version 2.1 Exceter Software, New York U.S.A.
5. Stuessy, F. T. 1990. Plant taxonomy. The systematic evaluation of comparative data. Columbia University Press. New York, USA.
6. Solano, C. E. 2000. Sistemática del género *Polianthes* L. (Agavaceae). Tesis de doctorado. Facultad de Ciencias, División de Estudios de Posgrado, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 291 pp.
7. Solano, E. y T. P. Feria. 2007. Ecological niche modeling and geographic distribution of the genus *Polianthes* L. (Agavaceae) in Mexico: using niche modeling to improve assessments of risk status. *Biodivers. Conserv.* 16: 1885-1900.
8. Tapia, C. E. 2007. Caracterización de germoplasma de cítricos mediante marcadores morfológicos y moleculares. Tesis de doctorado. Instituto de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, Estado de México. 34-35 pp.
9. Torres M., J. P. 2000. La utilización de técnicas estadísticas multivariadas. Estudio de caso. Tesis de maestría. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco. 102 pp.
10. Verhoek-Williams, S. 1975. A study of the Tibe Poliantheae (including *Manfreda*) and revision of *Manfreda* and *Prochnyanthes* (Agavaceae). P.h. D. Dissertation. Cornell Univ. Ithaca, New York.

EFFECTO DE LOS TRATAMIENTOS TÉRMICOS EN LA INDUCCIÓN FLORAL Y CAMBIOS BIOQUÍMICOS EN EL GÉNERO *Polianthes*

Jaime Silva-Morales^a, J. Rodríguez-Campos^a, R. Barba-González^a, M.C. Castañeda-Saucedo^b, E. Tapia-Campos^a

^a Centro de investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, silvajaim@yaho.com, jarorodriguez@ciatej.mx, rbarba@ciatej.mx, etapia@ciatej.mx

^b Centro Universitario del Sur, Universidad de Guadalajara (CUSUR-UDG). claudia.saucedo@cusur.udg.mx

RESUMEN

Se está llevando a cabo el experimento mediante el almacenamiento térmico de frío y calor de bulbos comerciales de nardo (*Polianthes tuberosa*) previo a la siembra con el fin evaluar el efecto de los tratamientos en la floración. Los bulbos se almacenaron con temperaturas constantes para frío a 4° C (4, 5, 6 o 7 semana) y para tratamientos de calor a 27° C (4, 5, 6 o 7 semanas). Los mejores resultados se presentaron en bulbos que fueron tratados con temperaturas de calor por 6 semanas, presentando floración a los 90 y 100 días después de la siembra, mayor homogeneidad en la curva de cosecha y no se afectaron sus características morfológicas con relación al testigo sin tratamiento térmico y un control extra tratado con ácido giberélico (GA₃). Sin embargo, los tratamientos sometidos de frío presentaron largo de espiga mayor respecto al resto de los tratamientos. Actualmente se está evaluando la relación de estos tratamientos respecto a los niveles de giberelinas endógenas del bulbo. Con base en estos resultados se sugiere que los tratamientos térmicos tienen un efecto positivo en la floración de *P. tuberosa*.

INTRODUCCIÓN

La industria de flores de bulbo produce grandes cantidades adaptadas a muchas zonas que se comercializan como flor de corte, planta de maceta o plantas ornamentales, los mayores productores se han establecido en zonas en las que se logra duplicar ciclos mediante prácticas culturales y control de factores ambientales que requiera la especie para la iniciación floral y el desarrollo. Una de las limitaciones en la producción de campo es la falta de control de tiempo para la floración; desde hace muchos años los cultivadores de bulbos y cormos han realizado investigaciones con el fin de provocar la floración antes del tiempo natural o retardarla para épocas de demanda. En condiciones naturales los bulbos permanecen en el suelo en estado de dormancia o latencia; para prácticas hortícolas los bulbos se levantan y se almacenan en sitios específicos con el fin de acortar o alargar la floración (Rees, 1992). La dormancia es un estado dinámico fisiológico, morfológico y bioquímico en la que la planta no presenta cambios externos aparentes (Kamenetsky y Okubo, 2012).

Tuberosa o nardo (*Polianthes tuberosa*) es una planta ornamental bulbosa nativa de México, es producida en regiones tropicales y subtropicales en países como India, Nueva Zelanda, Japón y México pertenece a la familia Asparagaceae (Lobna y Rawia, 2011). *P. tuberosa* requiere alta luminosidad no es afectada por el fotoperíodo, debido que es una flor de día neutro, que generalmente induce floración con altas temperaturas (Barba-González et al., 2012). El forzamiento consiste en controlar condiciones, regular el crecimiento y desarrollo de las flores de los bulbos; muchas veces este proceso es relativamente fácil, sin embargo aún no se han

entendido los principios fisiológicos en totalidad (De Hertogh, 1996), se realiza esta práctica ya que existe la necesidad de aumentar eficiencia y reducir costos de insumos por tallo o flor producida, manteniendo la calidad (Kamenetsky y Okubo, 2012).

Algunas investigaciones han comprobado que las giberelinas están estrechamente involucradas en el proceso de floración realizando aplicaciones exógenas en los bulbos, también se sugiere que las giberelinas son reemplazadoras de frío o de la vernalización, en investigaciones realizadas por Naor y colaboradores (2008) con aplicaciones de GA₃ encontraron que los niveles de giberelinas sufren aumentos temporales a los 15 días antes de la aparición de las inflorescencias en *Zantedeschia*; sin embargo Rebers y colaboradores (1996) encontraron que los niveles de giberelinas endógenas en bulbos aunque sufren cambios no sustituyen a bulbos de tulipán tratados con frío ya que los niveles de giberelinas no fueron significativos.

El presente trabajo pretende comprender el efecto de las temperaturas bajas y temperaturas altas sobre la floración en bulbos del género *Polianthes*, debido a que puede ser utilizado para efectos de producción comercial y obtener cosechas en épocas de mayor demanda.

PARTE EXPERIMENTAL

MATERIALES Y METODOS

Material Vegetal, tratamiento térmico y cultivo

Bulbos de nardo (*Polianthes tuberosa*) var. Doble calibre 10/12, provenientes de la ciudad Morelos, fueron divididos en cuatro grupos. El primer grupo fue almacenado a 4° C, el segundo grupo fue almacenado a 27° C, durante 4,5,6 o 7 semanas, el tercer grupo correspondió al testigo absoluto y el último grupo fueron bulbos tratados con 200 partes por millón (ppm) de GA₃ previo a la siembra. Se plantaron en jabs rellenas con sustrato de tierra de monte y turba en proporción 3:1 (v/v) dentro de un invernadero en el Centro de investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco – CIATEJ, el 2 de mayo de 2014. Se sembraron 17 bulbos por cada tratamiento con 4 repeticiones. Riego por goteo y fertilización sólida fue aplicada dos veces en el ciclo del cultivo.

Desarrollo floral

Se realizó el corte destructivo de 3 bulbos por cada tratamiento para analizar la morfología en el meristemo apical del bulbo en microscopio de fluorescencia, Las observaciones se realizaron antes de ingresar al almacenamiento y posterior a ello, consecutivamente a los 30, 60 y 90 días después de la siembra (dds)

Análisis Bioquímico

El procedimiento para la extracción de giberelinas está basado en lo descrito por Trucker y Roberts (2000) con ciertas modificaciones. Los platos basales fueron guardados a -80° C previo a la extracción. 50 g de material fueron homogenizados con nitrógeno y extraído en metanol al 80%, el líquido sobrenadante se evaporó a temperatura de 36° C. Para eliminar lípidos, grasas, pigmentos y fenoles se los paso con éter de petróleo, acetato de etilo y polivinilpirrolidona. Por último se hidrolizó durante 24 horas para obtener las giberelinas conjugadas. Obtenido el extracto y purificado se realizó la inyección en cromatografía líquida de alta precisión (HPLC)

RESULTADOS

Brotación

Los bulbos tratados con calor y testigo se evidenció la aparición de sus hojas a la primera semana de siembra y una semana después los bulbos tratados con frío y con ácido giberélico, independientemente de las semanas de almacenamiento.

Iniciación floral

Los bulbos con tratamiento térmico de frío o calor presentaron una modificación en la morfología del meristemo apical dentro del bulbo a los 30 días después de la siembra (dds), sin importar el tiempo de almacenamiento ni la temperatura tratada (Figura 1). Los tratamientos térmicos no tuvieron efecto sobre la organogénesis del meristemo apical del bulbo al momento de la siembra. El testigo no presentó iniciación floral a los 0, 30 días después de la siembra.

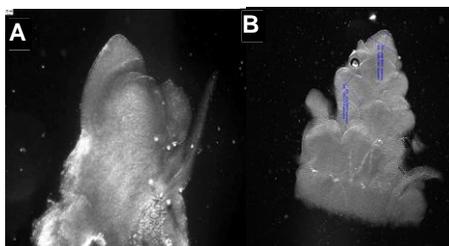


Figura 1 Transición meristemática en *P. tuberosa*.
A) meristemo vegetativo 0 dds. B) meristemo en organogénesis 30 dds

Caracteres florales

Bulbos sometidos a tratamientos térmicos produjeron evidencias significativas en ciertos caracteres florales (Tabla 1). El largo del tallo ($p= 0.351$), número de flores ($p= 0.301$) no tuvieron diferencias significativas entre tratamientos ni tiempo de almacenamiento. El grosor de tallo ($p=0.001$) tuvo un incremento en el tratamiento con ácido giberélico (T9). El largo de la espiga floral ($p=0.026$) el tratamiento sometido a frío durante 6 semanas (T2) tuvo los mayores valores. Los días a floración ($p= 0.001$) hubo diferencias estadísticas entre los tratamientos de frío, calor, testigo y tratamiento con giberélico, siendo los más precoces los que fueron almacenados en frío con 7 semanas (T1) y con calor con 6 semanas (T6), sin embargo la homogeneidad en la curva de cosecha se presentó en el tratamiento de calor T6. La media de días a cosecha en tratamientos con calor fue de 110.42 días, en tratamientos con frío 125.53, para el testigo (T0) fue de 122.41 y el que más tiempo duro la floración fue el tratamiento con ácido giberélico (T9) con una media de siembra cosecha de 173.5 días

Tabla 1.- Efecto del almacenamiento térmico en las características florales en bulbos de *P. tuberosa*

Tratamiento	Temperatura (° C)	Duración (semanas)	Largo de tallo (cm)	Largo de Espiga (cm)	Flores (numero)	Grosor del tallo (cm)	Días a floración
0	n/a	0	115.54 a	28.84 cd	32.31 a	8.86 bcd	124.56 bcd
1	4	7	113.23 a	27.49 d	29.94 a	8.01 d	100.88 d
2	4	6	116.02 a	35.29 a	35.92 a	9.18 bc	119.25 bcd
3	4	5	111.09 a	29.86 bcd	31.12 a	9.51 b	141.57 b
4	4	4	113.44 a	30.23 abcd	31.03 a	8.67 bcd	128.39 bc
5	27	7	117.77 a	30.79 abcd	33.41 a	8.48 bcd	112.33 cd
6	27	6	116.59 a	33.36 abc	32.53 a	8.22 cd	104.01 cd
7	27	5	111.5 a	30.32 abcd	31.78 a	8.34 cd	115.16 cd
8	27	4	117.96 a	34.4 ab	34.62 a	8.61 bcd	109.21 cd
9	n/a	0	110.18 a	30.97 abcd	34.58 a	10.59 a	173.46 a

$\alpha= 0.05$ Medias con la misma letra son estadísticamente iguales

Aplicación de ácido giberélico (200 ppm) antes de la siembra a pesar que tiene una ganancia de grosor del tallo retrasó la floración, lo que resulta en una condición desfavorable para *P. tuberosa*. Temperaturas de almacenamiento influyen en la brotación de bulbos, la calidad y productividad del tallo floral; sin embargo existen conflictos, en estudios realizados en la India Mukhopadhyay y Sadhu (1987) proponen almacenar a temperaturas de 30 °C durante 8 semanas, con la restricción de calidad para el tallo floral. Almacenar a 10 °C por 30 días aumenta la productividad pero, almacenar a esa temperatura por periodos mayores de tiempo decrementan la misma (De Hertogh y Le Nard, 1993), los resultados ambiguos posiblemente se vean influenciado por otros factores medioambientales y no se puede explicar todavía de manera concreta.

Concentración endógena de las giberelinas

En base a estos resultados descritos se encuentra en ejecución el trabajo de determinación de giberelinas a los 0, 30, 60, 90 dds para conocer la relación de las concentraciones endógenas en las diferentes etapas fenológicas en bulbos de *P. tuberosa* y su efecto en la floración.

CONCLUSIONES

La iniciación floral en *P. tuberosa* no ocurre durante el almacenamiento térmico sino que sucede después de la siembra. Existió una brotación más tardía en bulbos almacenados a temperaturas bajas. El efecto de los tratamientos térmicos sobre los bulbos de nardo, tiene efecto en los caracteres florales de grosor, largo de espiga y días a floración. Aplicación de ácido giberélico previo a la siembra y temperaturas de frío retrasaron la floración.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. Rees, "Ornamental Bulbs, Corms and Tubers", C.A.B. International., 1992, 220 pp.
2. R. Kamenetsky y H. Okubo, "Ornamental Geophytes: From Basic Science to Sustainable Production". CRC Press, 2013, 578 pp.
3. S. T. Lobna y A. E. Rawia, "Simulation effect of some bioregulators on flowering, chemical constituents, essential oil and phytohormones of tuberose (*Polianthes tuberosa* L.)", Journal of America Science vol. 5 issue 7, 2011, pp 165-171.

4. R. Barba-González, J. M. Rodríguez-Domínguez, M.C. Castañedo-Saucedo, J. Van Tuyl y E. Tapia-Campos, "Mexican geophytes I. A review of the genus Polianthes", *Floriculture and Ornamental Biotechnology* vol. 6 issue 1, 2012, pp 122-128.
5. A. De Hertogh, "Holland Bulb Forcer's Guide", Alkemade Printing BV, 1996, 455 pp.
6. A. De Hertogh y M. Le Nard, "The physiology of flower bulbs: A comprehensive Treatise on the Physiology and Utilization of Ornamental flowering bulbous and Tuberous Plants", Elsevier Science, 1993, 810 pp.
7. V. Naor, J. Kigel, Y. Ben Tal y M. Ziv. "Variation in endogenous gibberellins, abscisic acid and carbohydrate content during the growth cycle of colored *Zantedeschia* spp. A tuberous geophyte", *Journal of Plant Growth Regulation*, vol. 27, 2008, pp 211 -220.
8. M. Rebers, E. Vermeer, E. Knecht y L. Van Der Plas, "Gibberellin levels are not a suitable indicator for properly cold-treated Tulip bulbs", *Hortscience* vol. 31 issue 5, 1996, pp 837-838.
9. G. A. Tucker y J.A.Roberts, "Plant Hormone Protocols", Humana Press vol. 141, 2000, 201 pp.

FACTIBILIDAD DEL USO DE MODELOS DE CLASIFICACIÓN SIMCA PARA LA DETECCIÓN DE OXITETRACICLINA Y SULFATIAZOL EN MIEL DE ABEJA

Karina Uribe-Hernández^a, Tzayhri Gallardo-Velázquez^a, Guillermo Osorio-Revilla^a, Norma Almaraz-abarca^b

^aEscuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México, karinauribe@gmail.com, gtzayhri@yahoo.com, osorgi@gmail.com

^bCentro interdisciplinario de investigación para el desarrollo integral regional, Durango, almaraz@ipn.mx

RESUMEN

Este trabajo explora la posibilidad de utilizar la espectroscopia infrarroja en la región media (FTIR-MIR), acoplada a técnicas de reconocimiento de pautas supervisadas para desarrollar modelos para la clasificación de muestras de miel sin contaminar y dos grupos de muestras contaminadas con sulfatiazol y oxitetraciclina. Los modelos de clasificación para los tres grupos de muestras fueron desarrollados por la técnica de modelado independiente de clases (SIMCA), el cual se basa en construir un modelo independiente para cada una de las clases mediante la herramienta estadística análisis de componentes principales (PCA). Las distancias entre las clases (modelos) estuvieron por arriba de 6 y por debajo de 14 entre los tres grupos de muestras lo cual permitió visualizar adecuadamente los modelos en un espacio 3D (hiperboxes). Los modelos obtenidos fueron validados mediante validación externa con muestras no utilizadas para la construcción de los modelos dando tasas de reconocimiento y rechazo del 100% para todas las muestras.

INTRODUCCIÓN

Los contaminantes de la práctica apícola incluyen acaricidas, los repelentes de abejas utilizadas en la cosecha de miel, los plaguicidas para la polilla y los antibióticos. Los antibióticos se encuentran en gran parte en la miel porque se utilizan en la apicultura para el tratamiento de enfermedades bacterianas. Antibióticos como sulfatiazol, oxitetraciclina, estreptomina, enrofloxacin, etc, también se utilizan en la apicultura¹. Los métodos de análisis aplicados a la miel generalmente se agrupan en varios temas: determinación de origen botánico o geográfico, control de calidad de acuerdo a la normatividad vigente y a la detección de la adulteración o residuos. En todas estas áreas la espectroscopia infrarroja se ha aplicado recientemente ya que presenta un enfoque rápido, no destructivo y prometedor.

TEORÍA

Las técnicas de reconocimiento de pautas supervisadas tienen como fin desarrollar reglas de clasificación o modelado de clases para muestras (objetos) desconocidas a partir de un grupo de muestras conocidas (conjunto de calibración o training set), que están caracterizadas por los valores de las variables medidas².

El método SIMCA se basa en construir un modelo independiente para cada una de las clases mediante la herramienta estadística análisis de componentes principales (PCA). PCA reduce todas las variables (longitudes de onda) de los espectros obtenidos de cada clase a un menor número de variables. Los componentes principales (PC) son combinaciones lineales que contiene un mapa que describe las propiedades físicas y químicas de la muestra³. El número de componentes principales utilizado para cada clase explica un determinado porcentaje de la varianza en los

datos. El modelo SIMCA desarrolla una estructura geométrica conocida como hiperbox, que se construye alrededor de las muestras de cada clase, y los límites de este espacio se definen a un nivel específico de confianza.

PARTE EXPERIMENTAL

Calibración del modelo SIMCA

A un grupo de muestras de miel se adicionaron sulfatiazol y oxitetraciclina en un intervalo de 10 a 1000 ppb, se obtuvieron sus espectros para la construcción de los modelos quimiométricos mediante el espectrofotómetro marca Perkin Elmer modelo GX junto con el aditamento de reflectancia total atenuada (HATR) con cristal de selenuro de zinc. Tomando 3 espectros de cada muestra mediante 64 barridos, resolución de 4 cm^{-1} en el intervalo de $4000\text{-}650\text{ cm}^{-1}$. Para la calibración y optimización de los modelos cualitativos (SIMCA) se utilizó el programa AssureID[®] desarrollado por Perkin Elmer. Adicionalmente se obtuvieron los espectros de un conjunto de muestras sin ningún tipo de antibiótico. La técnica de modelado SIMCA fue aplicada a los espectros de tres conjuntos de muestras (clases) obtenidas en FTIR-MIR, se realizó primero la matriz de datos espectrales para su posterior procesamiento. Los modelos fueron creados utilizando el 80 % (27 muestras de cada clase) de las muestras como grupo de calibración y el 20% restante (3 muestras de cada clase) como grupo de validación, el modelo fue validado mediante validación externa con un 99% de confiabilidad, obteniéndose los resultados que a continuación se describen. Se realizaron un conjunto "n" de calibraciones, modificando diferentes opciones de procesamiento de datos con los cuales cuenta el programa AssureID, hasta realizar la optimización del modelo definitivo, es decir la obtención del modelo que mostrara una adecuada separación de las clases y un correcto reconocimiento o clasificación de muestras de validación. Las condiciones que se utilizaron para obtener el modelo optimado fueron las siguientes: se eligió un intervalo espectral entre $1450\text{-}600\text{ cm}^{-1}$; se eliminó el ruido electrónico en los intervalos $4000\text{-}1450\text{ cm}^{-1}$; se utilizó un filtro para eliminar el ruido causado por dióxido de carbono y humedad ambiental, se aplicó un suavizado de 5 puntos, se corrigió la línea base espectral mediante derivada de segundo orden y finalmente se utilizó una normalización MSC o corrección multiplicativa de la dispersión. Bajo las características mencionadas se pudo observar que los conjuntos de muestras para cada clase se separaron, lo cual se indica como espacios definidos en 3D (hiperboxes) bajo tres colores distintos, Figura 1; es decir se desarrolló adecuadamente un modelo de clasificación para cada conjunto de muestras.

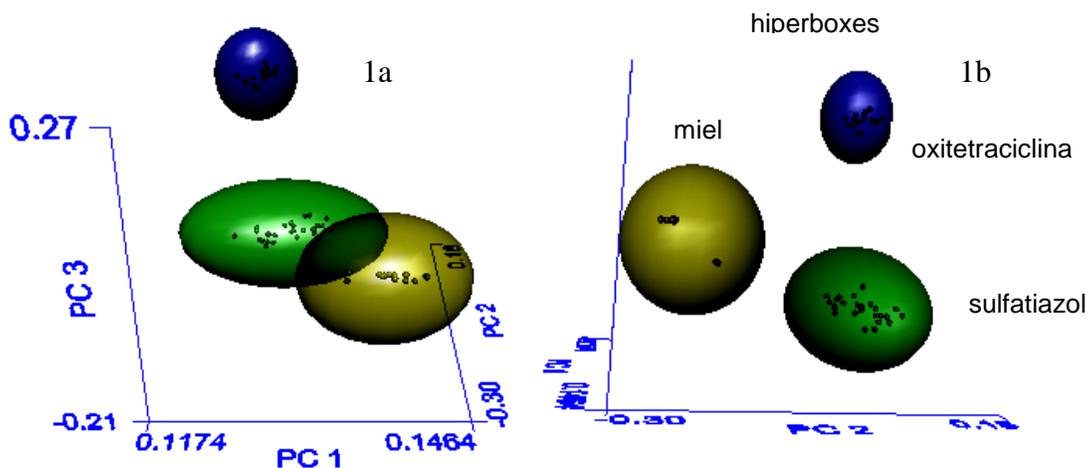


Figura 1. Ambas imágenes son representativas de los mismos modelos, la figura 1b corresponde a rotar la imagen teniendo como base PC2 en lugar de PC1 como en la figura 1a

Por otra parte los diagramas de Coomans son otra herramienta que permite visualizar los resultados obtenidos para SIMCA. Los diagramas de Coomans son representaciones bidimensionales de las distancias que presentan las muestras entre dos modelos. Se realizó el comparativo entre los diferentes modelos para cada una de las respectivas clases mediante que desarrollo el programa AssureID. En la figura 2 se presentan las gráficas.

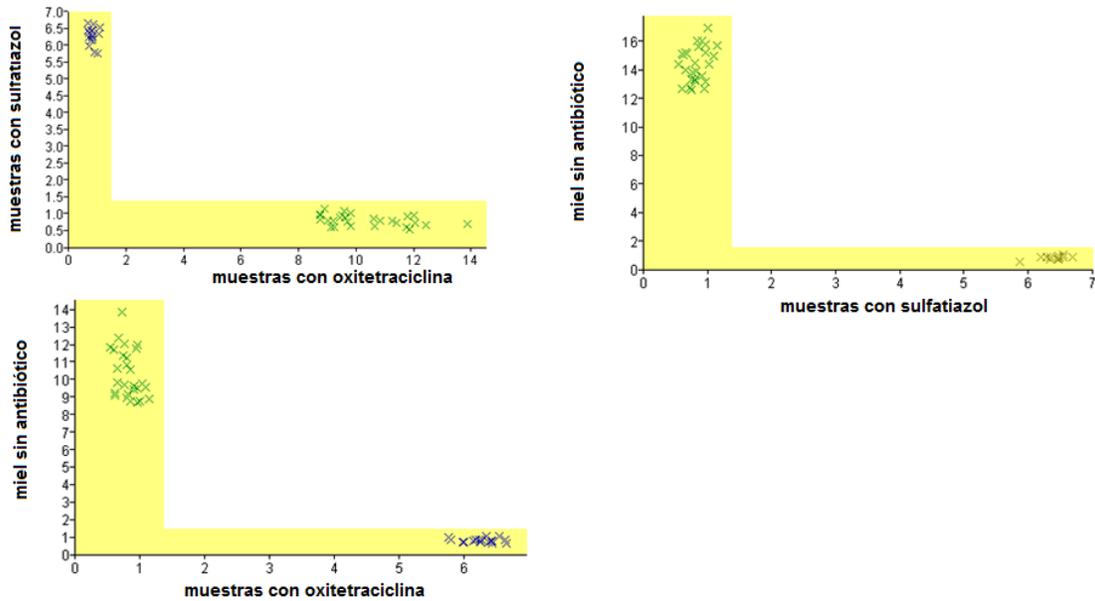


Figura 2. Diagramas de Coomans para los modelos obtenidos con SIMCA

En los diagramas en la figura 2 se observa que al comparar las clases formada por muestras conteniendo sulfatiazol, oxitetraciclina y miel, cada una de ellas se ubica en su respectiva área, ninguna de ellas se mezcla con otra de otro conjunto diferente, es decir todas las muestras que componen cada modelo son incluidas en su área representativa, por lo tanto cada modelo rechaza el 100 % de las muestras pertenecientes a otras clases. Lo anterior se ve reflejado en los resultados para las distancias interclase generados por el programa AssureID, Tabla 1.

Tabla 1. Distancia interclase para muestras contaminadas con oxitetraciclina, sulfatiazol y comparadas con miel sin antibiótico

Material	Distancia interclase		
	sulfatiazol	oxitetraciclina	miel
sulfatiazol		6.93	8.1
oxitetraciclina			13.3

Como se puede observar las distancias entre las clases para la construcción del modelo se encuentran por arriba de 6 y por debajo de 14, entre los tres grupos de muestras. La distancia interclase se define como la distancia geométrica de los modelos (hiperboxs) con un 99% de confianza de que el objeto particular pertenece a una clase. Como regla general, una distancia

interclase > 3.0 indica que las muestras están adecuadamente separadas y por lo tanto pertenecen a clases diferentes⁴.

Para cada clase y su modelo correspondiente como los que se observan en la Figura 1, se define la sensibilidad como el porcentaje de muestras que perteneciendo a esa clase son reconocidas correctamente por el modelo matemático. Análogamente se define la especificidad como el porcentaje de muestras que perteneciendo a otra clase son reconocidas como ajenas a los modelos. Estos dos términos se ven reflejados como tasas de reconocimiento y rechazo. Para el modelo optimado SIMCA desarrollado con el programa AssureID se obtuvieron los resultados que se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Tasas de reconocimiento y rechazo obtenidas con los modelos simca para muestras contaminadas con oxitetraciclina, sulfatiazol comparadas con miel sin adicionar antibiótico

	% de reconocimiento	% de rechazo
sulfatiazol	100 (27/27)	100(41/41)
oxitetraciclina	100 (27/27)	100(41/41)
miel	100(14/14)	100(54/54)

Validación el modelo SIMCA

Por otra parte, al probar el modelo con el grupo de validación, cada una de las nueve muestras desconocidas para los modelos, fue predicha correctamente con lo cual se tienen los resultados que se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Distancia total y residual de las muestras utilizadas para de validacion del modelo SIMCA

Material Especificado	Material Identificado	Distancia total del material especificado	Distancia Residual
SFZ	SFZ	0.6867	0.9225
SFZ	SFZ	0.5725	0.7691
SFZ	SFZ	0.8238	1.2011
Miel	Miel	0.7958	1.1604
Miel	Miel	0.5616	0.8188
Miel	Miel	0.5825	0.8493
OTC	OTC	0.5566	0.8111
OTC	OTC	0.6129	0.9491
OTC	OTC	0.8863	1.354

Se considera que este tipo de modelo de clasificación están validados adecuadamente cuando las muestras presentan una distancia total menor a 1 lo que indica que la muestra fue clasificada correctamente, la distancia residual debe ser tan bajo como sea posible ya que una gran distancia residual indica que la muestra contiene una fuente de variación que no ha sido previamente encontrado³. Estos resultados demuestran la capacidad del modelo SIMCA para clasificar correctamente los tres grupos estudiados con un límite de confianza del 99%.

CONCLUSIONES

Existen varias técnicas para determinar residuos de antibióticos en miel, sin embargo la espectroscopia infrarroja es una técnica que una vez creados los modelos de clasificación permitió la detección de sulfatiazol y oxitetraciclina. De acuerdo con los resultados la espectroscopia FTIR-MIR y los modelos de clasificación obtenidos mediante SIMCA esta técnica pueden ser una herramienta de cribado para la detección de los antibióticos analizados.

BIBLIOGRAFÍA

1. S. Bogdanov, "Contaminants of bee products", *Apidologie*, Vol. 37, 2006, pp.1-18.
2. D.L. Massart, B.G. Vandeginste, L.M. Buydens, P.J. Lewi, J Smeyers, S.D. Jong, Handbook of chemometrics and qualimetrics: Part A, (Elsevier Science Inc, New York, NY, 1997), pp 334-346.
3. O. G. Meza, T.G, Gallardo, G.I. Osorio, "FT-MIR and Raman spectroscopy coupled to multivariate analysis for the detection of clenbuterol in murine model", *Analyst*, Vol. 136,16, 2011, pp 3355-3365.
4. Y. He, C. Haiyan, "Theory and application of near infrared reflectance spectroscopy in determination of food quality", *Trends in Food Sci. Tech*, Vol.18,2, 2007, pp 72-83.

CULTIVO *In vitro* DE *Stevia rebaudiana* B.

Claudia F. Romero^b Ada María Ríos-Cortés^a, Sandra Luz Cabrera-Hilerio^b, Minerva Rosas-Morales^a,
Javier Carbajal^a, Alma Leticia Martínez-Ayala^c.

^aCIBA-IPN, Tlaxcala, adarioscort@yahoo.com.mx, mormin@hotmail.com, pulquesdeapan@hotmail.com

^b Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, Pue., kan_k_u@hotmail.com,
cabrerahilerio_sl@hotmail.com.

^c CEPROBI-IPN almarayala@hotmail.com

RESUMEN

Stevia rebaudiana B. es una planta originaria de Paraguay, ocupada como edulcorante natural no contiene calórico, la cual posee varios usos medicinales. Recientemente ha aumentado el interés en su propagación, no obstante la semilla de estevia tiene un bajo porcentaje de ya que la mayoría son estériles. La propagación más común es por esquejes pero presenta diversas desventajas. Por esto en el presente trabajo se estableció el cultivo *in vitro* de esta planta permitiendo con esto, obtener propagación masiva con características uniformes y teniendo un mayor control sobre la sanidad del material que se propaga, todo esto con el fin de proveer la gran demanda que se espera por el interés creciente en el país. Se utilizaron explantes de yemas, tallos y hojas de la variedad morita II y criolla. El cultivo aséptico consistió en una inmersión de estos explantes en una solución de Cloruro de Mercurio al 0.1%. Los explantes se cultivaron en medio MS al 50% con una combinación de auxinas, citocininas, conteniendo 15g/L de sacarosa y 8 g/L de agar, cisteína (200 mg/L) ajustando pH 5.7. Los cultivos preparados fueron incubados a 26± 1°C y fotoperiodo de 16 horas luz (32 µM/seg m²) y 8 horas de oscuridad. Al transcurrir 28 días se observaron plántulas sanas de 10-12 cm de largo que presentaban raíces. El alto porcentaje de sobrevivencia y de crecimiento, indican que las condiciones beneficiaron el desarrollo y crecimiento de las plántulas. La viabilidad de la multiplicación *in vitro* es el punto de partida para obtener plantas en forma masiva con características seleccionadas y uniformes en cuanto a su crecimiento, satisfaciendo la demanda de la planta, para así dar origen a nuevas plantas en menor tiempo.

INTRODUCCIÓN

Stevia es un género de plantas pertenecientes a la familia de las asteráceas; se estima que el número de especies dentro del género es de más de 300, de la cual *Stevia rebaudiana* Bertoni, es la única especie con principios edulcorantes y bajo contenido calórico (Grashoff, 1972). La estevia constituye una prometedora alternativa como edulcorantes naturales, más aún, cuando los edulcorantes sintéticos están seriamente cuestionados por los efectos de su consumo a corto y largo plazo (Martin, 2004), cuyo poder edulcorante en estado puro y cristalino puede ser 300 veces mayor que la sacarosa; las moléculas responsables de esta característica son glucósidos de diterpeno que se encuentran en su mayoría en las hojas y en menor porción en tallo y raíz, los cuales son el esteviósido y rebaudiósido A (Genus, 2003). La estevia en su forma natural, es usada como bactericida, sobre todo las bacterias responsables de la caries; el extracto, se usa para el control de la glicemia tanto en personas sanas como en personas con enfermedades de tipo metabólicas tal como es el caso de la diabetes mellitus tipo 2; también se ha demostrado, que decrece la hipertensión arterial, mediante la inducción a la vasodilatación y controla la glicemia (Brandle, 2005); es por ello, el alto interés comercial que se le ha atribuido en la industria alimentaria. En la búsqueda de alternativas menos riesgosas que los edulcorantes artificiales; ha permitido que el cultivo de *S. rebaudiana* prospere en países como Brasil, Japón e Israel. China

actualmente cultiva el 90% de la producción global de esta planta. Por ello, recientemente ha aumentado el interés en su propagación, esto con el fin de proveer la gran demanda que se espera por el interés creciente en el país.

TEORÍA

La estevia es una planta que puede propagarse por todos los sistemas de reproducción habituales, no obstante, se siembra principalmente por medio de semillas, que resultan de la polinización cruzada; esta forma de reproducción implica recombinación genética y por lo tanto alta heterogeneidad en las semillas resultantes, al tener un porcentaje de germinación entre el 10-38 %, que se reflejan tanto en su crecimiento como en la producción de steviósidos (Jordán, 1983).

Se ha recurrido a la reproducción asexual mediante estacas para tratar de obtener materiales homólogos, pero dentro de sus desventajas se menciona que cuando planta entra en floración, disminuye la posibilidad de enraizamiento; cuando existe un mal riego, provoca la desecación de las futuras plántulas y se corre el riesgo de presentar enfermedades fúngicas (Jordán 1983); por lo que no ha sido muy satisfactorio con respecto a la uniformidad del material obtenido, por lo que se ha tenido que buscar otras alternativas propagativas.

Una alternativa es el cultivo de tejidos que permite obtener plantas en forma masiva con características seleccionadas y uniformes en cuanto a su crecimiento y la producción de steviósidos, Asimismo, mediante en cultivo de tejidos es posible producir steviósidos cultivando explantes (tejidos, células) en un medio nutritivo para posteriormente, extraerlos y purificarlos sin requerir de la planta completa.

En la micropropagación se realiza un procedimiento aséptico que comprende la manipulación de plantas, ya sea de órganos, tejidos o células; en el cual, se obtendrá una descendencia uniforme con plantas genéticamente idénticas. Dentro de las ventajas que presenta, en comparación con sistemas convencionales, son: incremento acelerado del número de plantas, disminución del tiempo de multiplicación, mayor número de plantas por superficie, mayor control de sanidad, fácil transporte para comercio de materiales y la posibilidad de multiplicar rápidamente especies en peligro de extinción (Orozco, 2004; Levitus, 2010). Se tiene que tomar en cuenta los cambios tanto cuantitativos como cualitativos que se dan durante el desarrollo, a través del fenómeno de morfogénesis, que es definida como el origen y cambios en la forma específica durante el desarrollo de un organismo y comprende el crecimiento y la diferenciación celular. La respuesta morfogenética puede manifestarse siguiendo dos rutas alternativas: la organogénesis y la embriogénesis.

Una amplia gama de condiciones ambientales desfavorables como daños mecánicos, herbicidas, cambios bruscos de temperatura y la pérdida de nutrientes, provocan estrés oxidativo en las plantas que alteran su desarrollo y metabolismo; esto, mediante la formación de radicales libres que se producen continuamente como subproductos del metabolismo aeróbico provocando la inactivación de enzimas, oxidación de compuestos fenólicos, envejecimiento, incluso conducir a la muerte de la planta.

PARTE EXPERIMENTAL

Se utilizaron yemas axilares y apicales con tallo y hojas de aproximadamente 3 a 5 cm de longitud, variedad morita 2 y criolla. Se realizó un cultivo aséptico de los explantes, los cuales fueron lavados con agua corriente, luego en una solución Tween 20, posteriormente, una inmersión en una solución de Cloruro de Mercurio 0.1% y finalmente se enjuagaron con agua destilada estéril. El medio de cultivo empleado fue el MS al 50% con diferentes antioxidantes: carbón activado, PVP y cisteína (1g/L, 0.5 g/L y 0.2 g/L respectivamente) a un pH de 5.7.

En condiciones asépticas los explantes se cortaron en segmentos aproximadamente 1 cm en campana de flujo laminar y se colocarán 6 explantes en cada recipiente con el medio MS; para la inducción a calogénesis se usaron diferentes combinaciones de fitorreguladores: BAP 2.5 y 3.0 mg/ml y 2,4-D en intervalos de 1.0 y 1.5 mg/ml; y para la inducción a brote se usaron diferentes combinaciones de ANA en concentraciones de 0.5 y 1.0 mg/ml y 2,4-D en concentraciones de 1.0 y 1.5 mg/ml.

Posteriormente, se incubaron durante 28 días de $26 \pm 1^\circ\text{C}$ bajo un régimen de fotoperiodo de 16 horas ($32 \mu\text{M}/\text{seg m}^2$) y 8 horas de oscuridad. Después de la etapa de inducción, los explantes con brotes se pasaron a etapa de multiplicación, donde fueron subcultivados después 4 semanas, en el mismo medio de cultivo para su multiplicación y enraizamiento, con las auxinas ANA y AIA en concentraciones 2.0 y 3.0 mg/ml. Para la aclimatación, se seleccionaron plántulas que presentarán raíz ni oxidación.

CONCLUSIONES

Durante las condiciones de incubación, se evaluó, la respuesta morfogénica (figura 1) y la oxidación de las plántulas; no se presentó oscurecimiento de tejidos en los explantes incubados con medio MS complementado con PVP más cisteína, a diferencia de los explantes con Carbón activado, que a las 2 semanas, ya presentaban oxidación principalmente en sus hojas; también se observaron plántulas 10-12 cm de largo y que presentaron de 2 a 4 raíces.

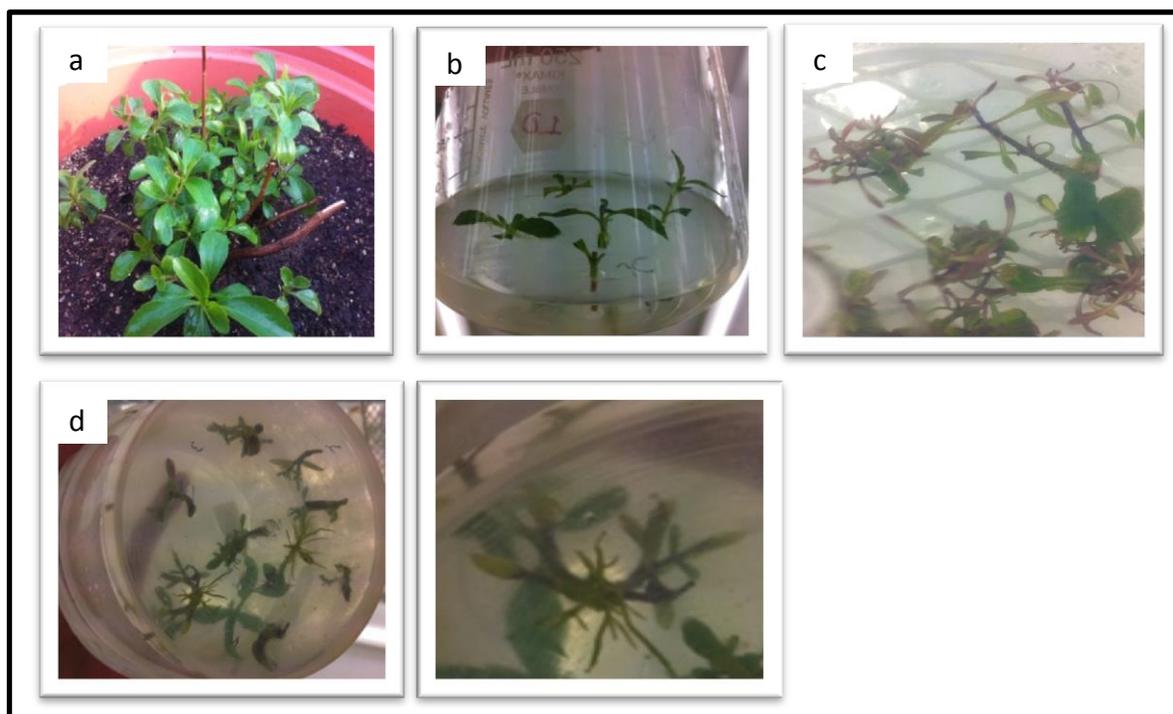


Figura: 1. Cultivo *in vitro* de *Stevia rebaudiana* Bertoni. (a) Planta madre, (b) Crecimiento y c) multiplicación de brotes estevia, d) Enraizamiento de los brotes.

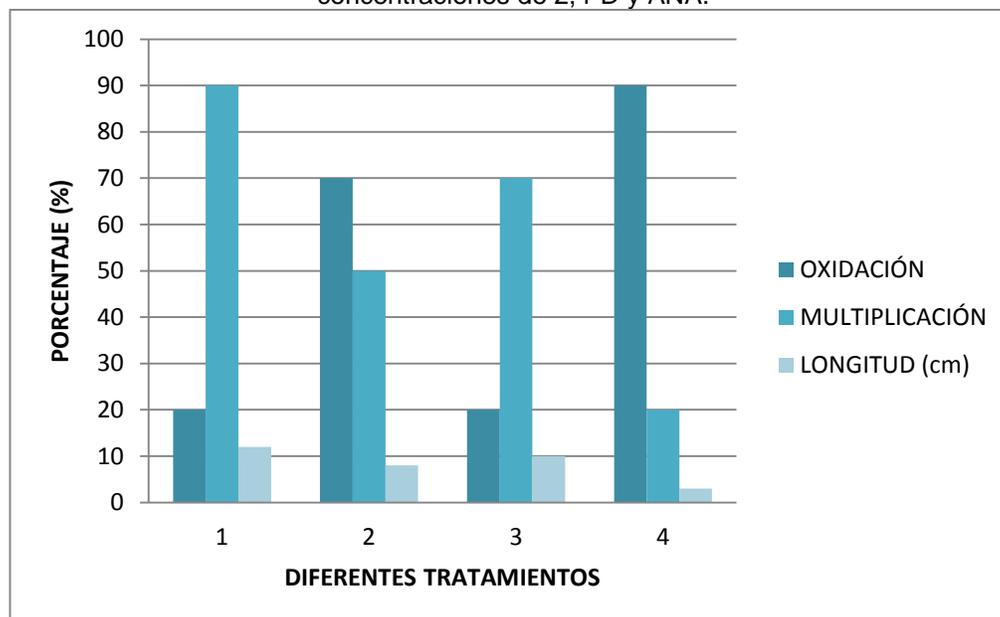
Se observó que ANA [0.5mg/ml] y a mayor concentración de 2,4-D [1.0 mg/ml] dio como resultado la multiplicación de brotes (Tabla 1).

Tabla 1. Efectos de diversas concentraciones de 2,4-D y ANA (mg / ml) en la longitud de brotes y porcentaje de multiplicación de brotes en *Stevia rebaudiana*

% de explantes que formaron brotes múltiples		% de brotes por explantes	Longitud promedio de brote (cm)
ANA	2,4-D		
0.5	1.0	90	12
0.5	1.5	50	8
1.0	1.0	70	10
1.0	1.5	20	3

El cultivo *in vitro* de estevia, ha sido bien documentado; Pratibha Gupta en 2010 utilizó el cultivo *in vitro* de estevia, para obtener callos en cortos periodos, mediante varias concentraciones de hormonas, tales como IBA, Kinetina, ANA y 2,4 D pero con concentraciones elevadas de ANA; sin embargo, en el presente trabajo se logró bajar la concentración a 0.5 mg/ml con la ayuda de la auxina 2,4-D, para multiplicación de brotes (Gráfica 1). En todos los estudios anteriores que implican la regeneración de brotes *in vitro* de *S. rebaudiana*; a diferencia de este trabajo, fue el fitorregulador 2,4-D a concentración [1.0 mg/ml], donde se observó el óptimo desarrollo de los explantes.

Gráfica 1. Porcentaje de explantes de *Stevia rebaudiana* con multiplicación de brote en diferentes concentraciones de 2,4-D y ANA.



Se obtuvieron brotes sanos y de 12 cm aproximadamente de longitud, dentro de las primeras 4 semanas. La regeneración y la mayor longitud de brotes fue significativamente mayor en el tratamiento con ANA [0.5mg/ml] en comparación con la que se consiguió con la otra concentración de [1.0 mg/ml]. Para la inducción de la raíz, los brotes individuales fueron subcultivados en medio MS con auxinas. La mejor inducción y crecimiento de raíces sanas (3 a 4 raíces por explante) se obtuvo en medio MS con ANA [2.0 mg/ml]. Las plántulas con raíces expuestas tuvieron un porcentaje de supervivencia del 95% después de 28 días. Las plantas aclimatadas exhibieron un desarrollo normal y ninguna variación morfológica. El alto porcentaje de crecimiento, indican que las condiciones beneficiaron el desarrollo y crecimiento de las plántulas. La viabilidad de la multiplicación *in vitro* permitió obtener plantas en forma masiva con características seleccionadas y uniformes y en menor tiempo.

BIBLIOGRAFÍA

1. E.I., Suárez. "Propagación In Vitro de Stevia rebaudiana Bert. (Asteraceae-Eupatorieae) a través de organogénesis". Universidad de Córdoba, Departamento de ingeniería Agronómica. Temas Agrarios., Vol. 13. 2008, pp.40-48.
2. .F. Jordán. "La propagación de Ka'a he'e, Stevia rebaudiana Bertoni. Primer Simposio Nacional de la Stevia (Ka'a he'e)". Asunción, Paraguay, 1983.
3. Genus, J.M.C." Molecules of Interest: Stevioside". Phytochemistry.2003.64:913–921.
4. Grashoff, J.L."A systematic a study of the North Central and Souter".University of Texas. Austin .1972, p.p 609.
5. H. Hartmann, D. Kester, "Propagación de las plantas", 6ta. Ed. C.E.C.S.A., México; 1998, p.p.620..
6. J.E. Brandle, "Stevia, Nature`s natural low calorie sweetener", Journal of Small-Scale Forest Economics, Management and Policy, 2005, p.p185-204.
7. Jordán, Francisco. "La propagación de Ka'a he'e. *Stevia rebaudiana* Bertoni". Primer Simposio Nacional de la Stevia (ka'a he'e). Asunción, Paraguay. 1983, p.p 12.
8. Orozco, Carlos." Situación actual de la Biotecnología en Guatemala". Consejo Nacional de Áreas Protegidas-CONAP. Primera Edición. Guatemala. 2004.
9. Levitus, G., Echenique, V., Rubinstein, C., Hopp, E., Morginski, A."Biotecnología y Mejoramiento Vegetal". II Edición. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Consejo Argentino para la Información el Desarrollo de la Biotecnología. Argentina.2010.

PRODUCCIÓN DE ÁCIDOS GRASOS DE CULTIVO CELULAR DE *IBERVILLEA SONORAE*

Galarza-Ramírez Elena-Esmeralda, Arciniega-Carreón Ilse-Yazmín, Ramírez-Sotelo María-Guadalupe^a, Oliver-Salvador María del Carmen^b

Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología (UPIBI-IPN). Av. Acueducto s/n, col. La Lagunilla Ticomán.

México D.F. Tel: (55) -57-29-6000-ext-56471 y 56465 email: oliveripn@hotmail.com^a; gramirez55120@gmail.com^b

RESUMEN

La *Ibervillea sonora* Greene (*I. sonora*) es una planta de la familia de las cucurbitáceas, con una distribución geográfica del norte de México, principalmente de Sonora, Sinaloa y Baja California. Es una especie considerada en peligro de extinción debido a la gran demanda y uso descontrolado de la raíz para el control de la Diabetes Mellitus Tipo II. Investigaciones recientes han propuesto que el efecto hipoglucemiante se debe al contenido de ácidos grasos presentes en la raíz. Por lo que es importante utilizar técnicas como el cultivo *in vitro* para producir y obtener compuestos de interés como los ácidos grasos. En este trabajo, se evaluó el crecimiento celular en suspensiones a partir de tejido calloso empleando tallos como explantes. Así mismo, se evaluó la producción de los ácidos grasos durante los 28 días de cultivo de dos diferentes medios de cultivo MS2 (0.5 mg/L CIN, 1.5 mg/L 2,4-D) y MS4 (0.5 mg/L BAP, 0.5 mg/L 2,4-D). Obteniéndose una tasa de crecimiento alta en MS2 de 0.0794 mg/mL al día, en comparación con MS4 de y 0.0352 mg/mL. Sin embargo, este último se obtuvo una producción mayor de ácidos grasos siendo de 18.78 g/L a los 28 días.

INTRODUCCIÓN

La *Ibervillea sonora* Greene (*I. sonora*) es una planta dioica perenne conocida como wereke o guareke, choya-huani, melón de coyote (Figura 1), perteneciente a la familia de las cucurbitáceas. Está distribuida en las zonas semiáridas de Sonora, Sinaloa y Baja California. La raíz es tuberculosa y puede llegar a pesar hasta ocho kilos [1]. Ha sido empleada por varios grupos étnicos como Mayo, Opata, Seri y Yaqui como medicina. Las hojas se usan para el tratamiento de enfermedades de la piel, úlceras de estómago, y la raíz es útil para el tratamiento externo de daños dermatológicos, reumatismo así como para contrarrestar la Diabetes Mellitus (DM) [2, 4, 7]. Nuestro grupo de trabajo ha demostrado que *I. sonora* tiene actividad hipoglucemiante, antitumoral y antioxidante [13]. Se ha demostrado que para ejercer el efecto hipoglucémico necesita la presencia de insulina, mostrándose el efecto en ratas con diabetes moderada administradas por vía intraperitoneal (IP), por lo que solo es útil para el control de la DM Tipo II [2, 3, 17].



Figura 1. *Ibervillea sonora* Greene

La Biotecnología permite realizar un control de las condiciones de cultivo de células influyendo en la producción de metabolitos secundarios, siendo una mejor alternativa para la producción de estos [10]. Por lo que se evaluó el efecto de los reguladores de crecimiento; Cinetina (CIN), 6-Bencilaminopurina (BAP) y 2,4-Diclorofenoxiacético (2,4-D) en los cultivos celulares de *I. sonorae* como una alternativa para evitar su explotación y extinción, evaluando la producción de los ácidos grasos.

TEORÍA

De acuerdo Hernández et al. (2007) atribuyeron la propiedad hipoglucemiante a la mezcla de monoglicéridos y de ácidos grasos aislados de esta raíz obtenidos por diclorometano. Los estudios realizados por Estrada Zúñiga et al. (2012), evaluaron el contenido de los ácidos grasos de cultivos *in vitro*, donde la producción de ácidos grasos tiene una relación directa con el crecimiento. Se conoce que los ácidos grasos tienen una estrecha relación con la hipoglucemia debido a los defectos de la β -oxidación de los mismos. Así mismo, se conoce que los ácidos grasos libres producen resistencia a la insulina afectando así el estímulo de la glucosa [5, 14].

PARTE EXPERIMENTAL

Establecimiento de cultivos de *I. sonorae*.

El cultivo de callos de *I. sonorae* se realizó a partir de explantes de tallo en medio MS (Murashige y Skoog, 1962) suplementado con Sacarosa 30 g/L, vitaminas MS, Ácido Ascórbico 150 mg/L, ajustadas a un pH 5.8 y agar 6 g/L. Con un fotoperiodo de 16 h luz/ 8 oscuridad y con intensidad luminosa de Se emplearon dos formulaciones del medio de cultivo MS con diferentes reguladores de crecimiento vegetal: MS2 (CIN 0.5mg/mL y 2,4-D 1.5 mg/mL) y MS4 (BAP 0.5 mg/mL, 2,4-D 1 mg/mL).

Establecimiento de cultivos de células de *I. sonorae*.

El cultivo de células en suspensión de *I. sonorae* se realizó con 5 ± 0.5 g de callos friables (del cultivo anterior) y vigorosos de 20 días de cultivo, suspendidos en 25 mL de medio MS con la misma composición que el medio indicado arriba. Estos cultivos se mantuvieron de 120 -150 rpm, a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ con un fotoperiodo de 16 h luz/8 h de oscuridad (intensidad luminosa xxx). Una vez dispersadas las células, se centrifugaron a 3000 rpm, y se inocularon de 25 ± 5 g de células en 200 mL de medio MS y se mantuvieron durante 28 días en las mismas condiciones descritas, tomando muestra cada 3-5 días.

Determinación de ácidos grasos.

Se empleó el método fluorimétrico de Wei-Chen et al., (2009) modificado para determinar ácidos grasos en los cultivos celulares. A los cultivos de 28 días, se les determino el contenido de ácidos grasos: muestras de 160 μL de cada medio, MS2 y MS4, se les adicionó 160 μL de DMSO al 25% y 4 μL de rojo de Nilo μL de rojo de Nilo ((9-8diethyl amino) benzo [α] phenoxazin-5(5H)-one). Esta mezcla se agitó e incubo 10 minutos a 40°C ; posteriormente se le añadió 1600 μL de agua destilada. Después de 1 minuto se tomó lectura en un fluorómetro Jenway 6280 a 486 nm de excitación y 570 nm de emisión. Para calcular la concentración de mg ácidos grasos se usó una curva tipo de Trioleina. Las determinaciones se realizaron de aproximadamente cada 4 días de los cultivos en suspensión.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Establecimiento de cultivos celulares de *I. sonorae*.

Luego de 28 días de cultivo, los cultivos celulares de *I. sonorae* a partir de tallos presentaron una tasa de crecimiento de 0.0794 y 0.0352 mg/mL por día para MS2 y MS4, respectivamente. Por lo que se observó que empleando CIN y 2,4-D se tiene un mayor crecimiento, obteniéndose que a una concentración alta de la auxina (2,4-D) favorece el crecimiento celular. El crecimiento de las células depende de las concentraciones de auxina, donde 2,4-D es un buen regulador para la inducción y el mantenimiento de las células en suspensión [9]. Con el medio de cultivo MS4, que es suplementado con BAP no tiene un buen crecimiento para el cultivo celular debido a la baja concentración de 2,4-D. Sin embargo, en investigaciones previas de este grupo se ha demostrado que BAP favorece la inducción y crecimiento de callos a diferencia de CIN, observándose también que a concentraciones mayores/iguales a 1 mg/mL tanto de CIN como BAP pueden inhibir el crecimiento celular. De acuerdo con Pérez Molphe et al. (1999) y J. Finer (1994), la inducción de callos depende de la concentración de auxinas y citocininas, además de que determina la dirección del metabolismo celular. Se ha observado que el crecimiento del tejido calloso obtenido a partir de tallo de *I. sonorae* es mayor a diferencia de los obtenidos en raíz, empleando el medio de Gamborg, 1968 (B5) y reguladores de crecimiento como Ácido α -naftalenacético (NAA), 6-Bencilaminopurina (BAP) y Ácido 3- indoacético (IAA), datos aún no publicados.

Determinación de ácidos grasos.

Se midió la concentración de lípidos neutros excretados al medio a lo largo del crecimiento celular por el método fluorimétrico de Wei-Chen et al., (2009) modificado. La producción de ácidos grasos a los 28 días está asociado al crecimiento de los cultivos de células de *I. sonorae* (Figura 1 y 2), donde la producción fue de: 12.82 g/L y 18.78 g/L para MS2 y MS4, respectivamente. Estrada Zúñiga et al. (2012), evaluaron el contenido de los ácidos grasos en callos de explantes de hojas a los 7 días de incubación con CIN (1 mg/L) y 2,4-D (1.5 mg/L) obteniendo una producción de ácidos grasos de 48.57 mg/g, encontrándose el ácido palmítico en mayor concentración. En el medio MS4 empleando 0.5 mg/L BAP y 0.5 mg/L 2,4-D, se incrementó la producción de ácidos grasos, a diferencia de MS2 donde se había obtenido una mejor tasa de crecimiento, sin embargo, esto no sucede para tener una mejor producción de ácidos grasos, esto se debe a la diferente concentración empleada de los reguladores así como el tipo de citocinina que fue empleada. Por lo la productividad y el rendimiento de los metabolitos secundarios que son producidos en cultivos *in vitro* de células vegetales, son diferentes a los que se han encontrado en plantas que crecen en condiciones naturales [12,15].

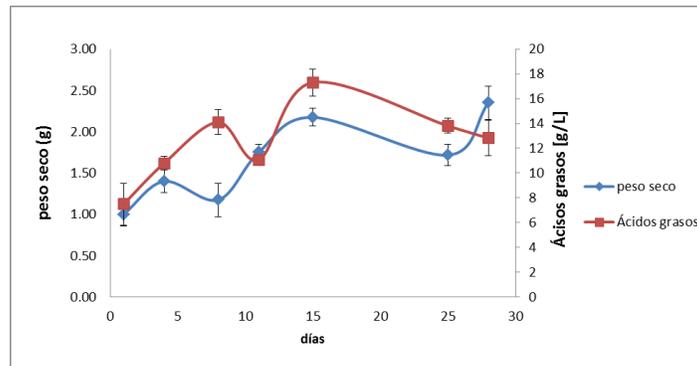


Figura 1. Concentración de ácidos grasos en función de la edad del cultivo celular durante 28 días de crecimiento de *I. sonorae* con el medio MS2 (0.5 mg/L CIN, 1.5 mg/L 2,4-D) por la técnica de rojo de Nilo.

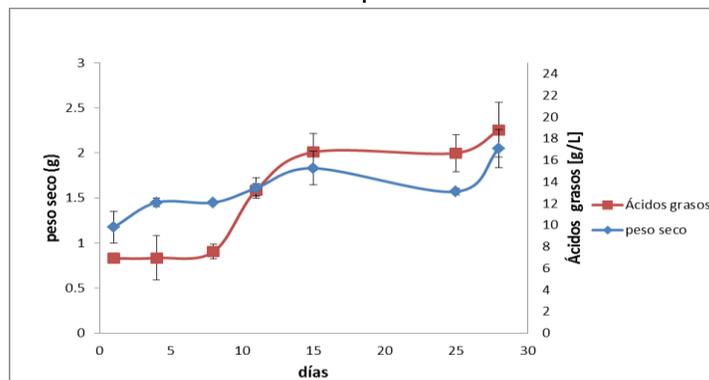


Figura 2. Concentración de ácidos grasos en función de la edad del cultivo celular durante 28 días de crecimiento de *I. sonorae* con el medio MS4 (0.5 mg/L BAP, 0.5 mg/L 2,4-D) por la técnica de rojo de Nilo.

CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados experimentales: se logró el establecimiento de los cultivos celulares de *I. sonorae*, teniendo una buena tasa de crecimiento con el medio MS2 con una concentración de 1.5 mg/mL de 2,4-D, siendo esta de 0.0794 mg/mL al día. La concentración que más favoreció la producción de ácidos grasos de los cultivos celulares de *I. sonorae* fue en el medio MS4, con 18.78 g/L a los 28 días de cultivo celular empleando BAP y 2,4-D como reguladores.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aguilar Conteras A., Celso Fantini A., Martínez Balleste A. (2006). Riquezas del bosque: frutas, remedios y artesanías de America Latina. Chap. 3. Semilla, raíces y cogollos. Xolalpa Molina S. y Aguilar Contreras A., Edited by López C, Shanley P., Cronkleton MC. El Pais Publications. Bolivia. 102-105.
2. Alarcón-Aguilar, F.J., Campos-Sepúlveda, A. E., Xolalpa-Molina, S., Hernández-Galicia, E., Ramón-Ramos, R. (2002). Hypoglycemic activity of *Ibervillea sonora* roots in healthy and diabetic mice and rats. *Pharmaceutical Biology* 40:570-575.
3. Alarcón-Aguilar, F.J., Calzada-Bermejo, F., Hernández-Galicia, E., Ruíz-Ángeles, C., Román-Ramos, R. (2005) Acute and chronic hypoglycemic effect of *Ibervillea sonora* root extracts-II. *Journal of Ethnopharmacology* 97:447-452.
4. Banderas-Dorantes, T.R., Román-Ramos, R., Zamilpa, A., García-Macedo, R., Díaz, M., Campos, M.G., Tortoriello, J., Alarcón-Aguilar, F.J. (2012). Influence of two hypoglycemic Cucurbitaceae (*Curcubitaficifolia* Bouché and *Ibervillea sonora* Greene) on ATP-sensitive potassium channels in rat aortic rings. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. 11(6):510-519
5. Durruty A. P., García de los Ríos A. (2001). Glucotoxicidad y lipotoxicidad: factores en la patogénesis y evolución de la diabetes tipo 2. *Rev. Méd. Chile*. 129(6).
6. Estrada-Zuñiga, M.E., Arano-Varela, H., Buendía-González. L., Orozco-Villafuerte J. (2012). Fatty acids, phenols content, and antioxidant activity in *Ibervillea sonora* callus cultures. *Rev Mexicana de Ingeniería Química*, 11(1):89-96.
7. Hernández-Díaz, A. F. (2011). Producción de extractos de *Ibervillea sonora* y su evaluación biológica *in vitro* e *in vivo*. Tesis, UPIBI-IPN. 1-68.
8. Hernández-Galicia E., Calzada, F., Román-Ramos, R., Alarcón-Aguilar F.J. (2007). Monoglycerides and fatty acids from *Ibervillea sonora* root: isolation and hypoglycemic activity. *Plant Med*. 73: 1-5.
9. J. Finer John (1994). Cap. 5. Plant regeneration via embryogenic suspension cultures. In: R. A. Dixon and R. A. Gonzales. *Plant cell culture, a Practical Approach*. Second Edition. Oxford. New York, USA, pp 1-
10. Loyola-Vargas y Vazquez-Flota. (2006). *Plant cell culture protocols*. Second Edition. New Jersey. Humana Press.
11. Pérez-Morphe, E.M, Ramírez-Malagón, R., Nuñez-Plenus H.P., Ochoa-Alejo, N. (1999). Introducción al Cultivo de Tejidos Vegetales. Primera Edición. Universidad Autónoma de Aguascalientes. Páginas 7-179.
12. Phillipson, G. (1999). Plants as a Sources of Valuable Products. In: Charlwood, B.V. and M.J.C. *Secondary Products from Plant Tissue Culture*. Clarendon Press. Oxford. New York. USA, pp 1-288.
13. Nevárez-Ramírez, A. (2014). Evaluación de la actividad anti-tumoral y anti-inflamatoria de *Ibervillea sonora*. Tesis, UPIBI-IPN. 1-114.
14. Randle P. J., Garland P. B., Hales C. N. y Newsholme E. A. (1963). The Glucose Fatty-Acid Cycle. Its Role in Insulin sensitivity and the Metabolic Disturbances of Diabetes Mellitus. *The Lancet*. 785-9.
15. Trejo-Tapia, G., Rodríguez-Monroy, M. (2007). La agregación celular en la producción de Metabolitos Secundarios en Cultivos Vegetales *in vitro*. *Interciencia*, 32 (10): 669-674.
16. Wei-Chen, Chengwu-Zhang, Lirong-Song, Milton-Sommerfeld, Qiang-Hu (2009). A high throughput Nile red method for quantitative measurement of neutral lipids in microalgae. *Journal of Microbiological Methods* 77: 41-47.
17. Zapata-Bustos, R., Alonso-Castro, Á. J., Gómez-Sánchez M., Salazar-Olivo L. A. (2014). *Ibervillea sonora* (Cucurbitaceae) induces the glucose uptake in human adipocytes by activating a P13K-independent pathway. *J.Ethnopharmacology*. 152:546-552.

ESTUDIO DE LA RECUPERACIÓN DE LA LIPASA RECOMBINANTE TERMOALCALÓFILA DE *GEOBACILLUS THERMOLEOVORANS* CCR11 A PARTIR DE CUERPOS DE INCLUSIÓN

D. Sierra-Cacho ^a, M.J. Tiburcio-Guzmán^a, G.L. Badillo-Zeferino^b, M.G. Sánchez-Otero^a, R. Quintana-Castro^a, R.M. Oliart-Ros^b

^aFacultad de Bioanálisis, Universidad Veracruzana, Veracruz, Ver., dsierracacho@gmail.com, guadsanchez@uv.mx, roquintana@uv.mx

^bUnidad en Investigación y Desarrollo en Alimentos, Instituto Tecnológico de Veracruz, gbadizef@gmail.com, roliart@itver.edu.mx

RESUMEN

El objetivo del trabajo fue la recuperación de lipasa recombinante de *Geobacillus thermoleovorans* CCR11 a partir de cuerpos de inclusión obtenidos en *Escherichia coli* BL21 (DE3). Los cuerpos de inclusión fueron aislados a partir de la fracción insoluble obtenida tras la lisis de celular de *Escherichia coli* BL21 que contenían el gen de la proteína de interés. Posteriormente estos fueron solubilizados con urea 4M y DTT 0.05 mM por 12 horas a 4°C. Finalmente el producto solubilizado fue dializado contra buffer Tris-HCl 20mM pH 8.0 con cambios de buffer cada 4 horas por 24 horas, obteniéndose un porcentaje de recuperación de cuerpos de inclusión del 54%, valor que se encuentra dentro de lo establecido por la literatura consultada. En cuanto a la purificación, se obtuvo un factor de 3.6 que, a pesar de desviarse de lo reportado por otros autores, resulta prometedor para efectuar posteriores aproximaciones racionales que permitan incrementar la purificación de esta proteína.

INTRODUCCIÓN

La industria se encuentra en constante búsqueda de catalizadores capaces de producir una mayor cantidad de productos con una inversión mínima en lapsos de tiempo más cortos. Al día de hoy, el número de enzimas que poseen aplicaciones industriales potenciales es inmenso, sin embargo muchas de ellas sólo son capaces de actuar bajo cierto rango de condiciones físicas, tal como la temperatura, pH y presencia de solventes. Es por tal razón que esa búsqueda ha apuntado hacia las enzimas microbianas, más específicamente aquellas provenientes de microorganismos extremófilos.

Estos organismos poseen la capacidad de desarrollarse bajo condiciones inhóspitas para los seres humanos, por eso su denominación extremófilo. Las enzimas producidas por estos, denominadas extremoenzimas, son capaces de resistir condiciones industriales agresivas. Lamentablemente, los extremófilos necesitan medios nutricionales especiales para su desarrollo, además, éste suele tomar demasiado tiempo, situación que se ha visto resuelta por la ingeniería genética.

En años recientes, muchos genes productores de extremoenzimas han sido aislados, secuenciados, clonados y expresados en hospederos homólogos y heterólogos, como la *Escherichia coli*; sin embargo, ésta producción presenta ciertos inconvenientes. Tras forzar a la bacteria a producir prioritariamente y en abundancia la proteína recombinante, ciertas unidades adoptan estructuras parcial o incorrectamente plegadas. Algunas de ellas son eliminadas por distintos sistemas de la célula, pero el resto forma agregados proteicos, los cuales son insolubles y en la mayoría de los casos carecen de actividad. Estos aglomerados son llamados cuerpos de inclusión.

Para solubilizar la proteína contenida en éstas estructuras usualmente se utilizan distintos agentes caotrópicos, moléculas capaces de modificar la estructura terciaria de las proteínas, entre los que destacan la urea y el cloruro de guanidina. Posterior a la solubilización, se procede a la eliminación del agente caotrópico con la finalidad de que la biomolécula recupere su configuración espacial y con ello, su actividad. Debido a que cada proteína está constituida por diferentes aminoácidos y por

tal motivo, poseen una estructura característica, es necesario establecer un protocolo específico de solubilización y plegamiento.

TEORÍA

Los microorganismos extremófilos habitan en lugares con condiciones extremas. Las variables más importantes que pueden afectar las funciones y estructuras celulares y que permiten definir un ambiente como extremo son temperatura, pH, presión, disponibilidad de oxígeno, salinidad y exposición a la radiación. Estos microorganismos tienden a habitar ambientes donde son sometidos a múltiples condiciones de estrés, desarrollando la capacidad de sobrevivir bajo más de una condición extrema. ⁽¹⁾

Actualmente, la mayoría de las enzimas utilizadas en la industria provienen de organismos mesófilos y, a pesar de las ventajas que proporcionan, su aplicación es limitada debido a los rangos de temperatura y pH en los que su desempeño es el óptimo. Por tal motivo se está recurriendo al uso de extremoenzimas. De estas, un grupo que ha adquirido notable relevancia son las enzimas termoalcalófilas, capaces de resistir altas temperaturas y pH neutro o alcalino. Dentro de esta clasificación encontramos enzimas con actividad proteasa, amilasa, lipasa, etcétera.

Las lipasas (EC 3.1.1.3), pertenecientes al grupo de las hidrolasas (EC 3), son triacilglicerol hidrolasas que catalizan la hidrólisis de triacilglicerol a glicerol y ácidos grasos. Estas enzimas poseen pesos moleculares que van de 12 a 76 kDa. En su estructura presentan el plegamiento de las alfa (α) y beta (β) hidrolasas, que consiste en una estructura central formada por 8 láminas β interconectadas por hélices α formando así su estructura terciaria. Su sitio activo está cubierto por una α -hélice flexible que en posición cerrada mantiene a la triada catalítica: un residuo nucleofílico (serina, cisteína o aspartato), un residuo catalítico ácido (aspartato o glutamato), y un residuo de histidina, siempre en este orden en la secuencia de aminoácidos. ⁽²⁾

Las lipasas son ampliamente utilizadas en distintos procesos industriales, motivo por el cual el descubrimiento de lipasas capaces de soportar condiciones agresivas es relevante.

Estudios recientes han demostrado que las aguas termales son fuente importante de microorganismos termoalcalófilos. Uno de ellos es el *Geobacillus thermoleovorans* CCR11. Éste microorganismo, aislado del balneario "El Carrizal" ubicado en el centro del estado de Veracruz, produce una lipasa termoalcalófila con un peso de 11 kDa, actividad específica de 5,500 U/mg de proteína, estable en un rango de pH de 5-11 (siendo su pH óptimo 9.0), capaz de reaccionar en temperaturas que oscilan entre 30-60°C y en presencia de ciertos detergentes y solventes orgánicos. ⁽³⁾

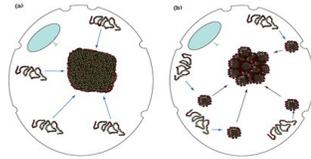
El gen productor de esta la lipasa fue expresado en cuatro vectores diferentes, siendo el de características más sobresalientes el producido en *Escherichia coli* BL21 (DE3). Esta lipasa, LipMatCCR11, posee un peso de 43 kDa, con actividad específica de 215,000 U/mg de proteína, activa en un rango de temperatura de 30-60°C (óptima de 40°C), pH 7.0-10.0 (óptimo de 9.0) y presenta una preferencia por sustratos de cadena C:8, además es capaz de funcionar en presencia de ciertos detergentes y solventes orgánicos, haciéndola interesante para la industria. ⁽⁴⁾

Desafortunadamente, la expresión de proteínas recombinantes (PR) genera ciertos problemas, siendo el principal de ellos la formación de cuerpos de inclusión. Tras forzar a la célula hospedera a producir una cantidad de proteínas que supera su capacidad, muchas de ellas fallan al alcanzar su estructura tridimensional nativa, adquiriendo un incompleto o incorrecto plegado. Estas unidades erróneamente plegadas tienden a agregarse, llegando a formar aglomerados insolubles y carentes de actividad.

En la actualidad, se han propuesto dos modelos que describen la forma en la que se forman los cuerpos de inclusión. El primer modelo propone que por la falta de compartimentación en las bacterias, las proteínas son sintetizadas simultáneamente en múltiples lugares del citoplasma bacteriano (sitios de nucleación) y se forman varios estados de plegado intermedio de la proteína. Algunos de estos intermediarios que fallan en el proceso de plegado son eliminados inmediatamente por mecanismos de reparación de la célula, mientras que otros se agrupan en

pequeños agregados, denominados proto-agregados. Debido a que la adición de más unidades está fuertemente determinada por la estabilidad de los agregados, existirá un agregado fundador el cual tenderá a dominar en el citoplasma celular (Figura 1a). Un modelo alternativo (figura 1b) señala que los cuerpos de inclusión son agregados de agregados. Explicado en otras palabras, los cuerpos de inclusión se forman de pequeños agregados individuales los cuales se asocian para dar lugar a un agregado mayor.⁽⁵⁾

Figura 1. Modelos de formación de los cuerpos de inclusión⁽⁴⁾



A pesar del problema que resulta la formación de cuerpos de inclusión (proteína insoluble e inclusive inactiva), ésta tiene ciertas ventajas: la protección de la proteína expresada contra ataques proteolíticos, el alto grado de pureza de ésta y su fácil recuperación. Gracias a la densidad de los cuerpos de inclusión (1.3 mg/mL), estos pueden ser fácilmente recuperados tras la lisis celular. Posteriormente, deben someterse a un proceso de solubilización, el cual debe ser capaz de alterar la estructura proteica y con ello, modificar sus propiedades, como por ejemplo la hidrofobicidad; para esto se contempla el uso de agentes caotrópicos, tales como la urea y el cloruro de guanidina.

A pesar del uso extendido de la urea, su mecanismo de acción como agente desnaturante aún no está completamente claro. Para elucidar éste mecanismo, se han propuesto dos distintas teorías para explicar como ocurre la desnaturación proteica inducida por urea. Según la teoría del mecanismo directo, la desnaturación es debida a una interacción entre la urea y la proteína, en cambio de acuerdo al mecanismo indirecto, la urea es un productor de cambios en el solvente.⁽⁶⁾

Posterior a la solubilización de la proteína es necesario replegarla. Éste proceso se consigue al eliminar al agente caotrópico de la muestra, ya que al suprimir éste, la proteína regresa a su configuración espacial nativa. Para lograr esto se proponen técnicas como la dilución, diálisis o la cromatografía.

La diálisis, es una técnica de separación que facilita la remoción de partículas pequeñas o componentes no deseados en la muestra por difusión pasiva, para tal fin se emplea una membrana semipermeable dispuesta de poros. La muestra contenida en la membrana suele llamarse dializado, mientras que el buffer donde la membrana está inmersa es denominado buffer de diálisis. En este método, las moléculas de un tamaño menor al poro de la membrana transitan libremente del dializado al buffer de diálisis. Cada determinado lapso de tiempo el buffer de diálisis es reemplazado para eliminar los contaminantes que pasaron del dializado al buffer y así evitar la difusión de estos del buffer de diálisis al dializado. Empleando una membrana con una porosidad adecuada es posible obtener un alto porcentaje de recuperación de la proteína de interés.

Es importante remarcar que la metodología y condiciones a emplear deben ser formuladas específicamente para cada proteína.⁽⁷⁾

PARTE EXPERIMENTAL

Se procedió de un cultivo de *Escherichia coli* BL21 (DE3), el cual fue inducido a producir la lipasa por medio de la adición de IPTG. La inducción se realizó a 16°C por 18 horas. Posterior a esta, se efectuó a la lisis celular, descartando la fracción soluble y conservando la parte insoluble; en esta se localizan los cuerpos de inclusión.

-Lavado de pellets

Los pellets, fueron lavados en tres ocasiones con un buffer Tris-HCl 50 mM pH 8.0, EDTA 10 mM, Triton X-100 0.05% y NaCl 1.5 M. Posteriormente, fueron lavados en tres rondas más con un buffer de composición similar al anterior libre de Triton X-100. Entre cada lavado, la muestra se sometió a sonificado con la finalidad de lograr un completo homogenizado.

-Solubilización de la proteína contenida en cuerpos de inclusión

Los pellets se solubilizaron con buffer Tris-HCl 20 mM pH 8.0, urea 4 M y ditiotreitól (DTT) 0.05 mM. La solubilización se llevó a cabo por 12 horas a 4° C.⁽⁸⁾ Se estableció una relación 1.5 ml de buffer/100 mg de pellet para los lavados y la solubilización.

-Diálisis

El producto solubilizado se sometió a diálisis usando una membrana con una porosidad de 10 kDa; se dializó contra buffer Tris-HCl 20 mM pH 8.0. El proceso se llevó a cabo a 4° C durante 24 horas, con cambios de buffer cada 4 horas.

Para obtener el porcentaje de rendimiento y factor de purificación, se determinó la concentración de proteínas en los productos de solubilización y diálisis; para esto se empleó la técnica propuesta por M. Bradford.⁽⁹⁾

3.4.-Determinación de actividad lipolítica

En cuanto a la determinación de actividad lipolítica, se realizó en base al método empleado por N. Nawani⁽¹⁰⁾, modificando la temperatura de reacción de 60° C a 40° C.

3.5.-Electroforesis de proteínas

Para evaluar la purificación de la enzima, se realizó una electroforesis de proteínas en geles de policrilamida al 12% en condiciones desnaturalizantes. Se utilizó un voltaje de 70V por 30 minutos para posteriormente usar 120V durante 90 minutos.

3.6.-Zimograma

Al término de la electroforesis, se constató la actividad lipolítica in gel del producto de diálisis por medio de un zimograma efectuado a lo descrito por N. Prim.⁽¹¹⁾

Posterior al zimograma, el gel se tiñó con azul de Coomassie y se analizó por medio del equipo Gel Doc XR+ de Bio-Rad y su software, ImageLab; en base a la densidad de la banda correspondiente a la lipasa con respecto a la totalidad de bandas presentes en la muestra, se pudo determinar el porcentaje de lipasa

Finalmente, para calcular el rendimiento y factor de purificación, se formularon las siguientes ecuaciones:

$$\text{mg lipasa en cuerpos de inclusión} = \left(\frac{\text{mg proteínas}}{\text{mg pellet}} \right) \left(\frac{\text{mg lipasa}}{\text{mg proteínas}} \right) (\text{mg pellet})$$

$$\text{mg lipasa recuperada} = \frac{\text{mg lipasa}}{\text{mg proteínas}}$$

$$\text{Rendimiento} = \left(\frac{\text{mg lipasa en cuerpos}}{\text{mg lipasa recuperada}} \right) (100)$$

$$\text{Actividad específica (U/mg proteína)} = \frac{(\text{U/mL sol.})(\text{mL sol.})}{(\text{mg proteína/mg pellet})(\text{mg pellet})}$$

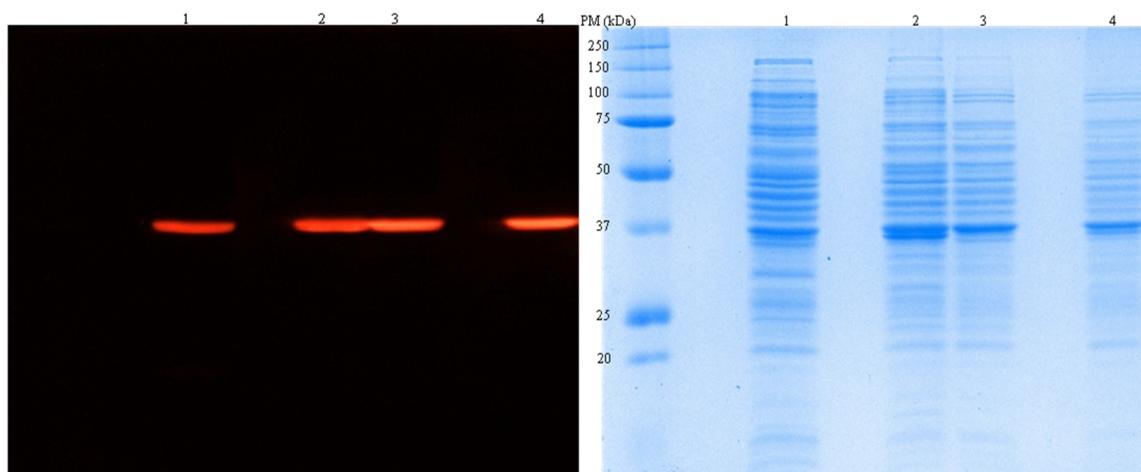
Factor de Purificación e imagen, la densidad de la banda con respecto al largo del carril o la intensidad con respecto a las otras bandas =

$$\frac{\text{Actividad específica dializado}}{\text{Actividad específica pellet}}$$

Donde:

U/mL sol.= Unidades lipolíticas en la muestra.

mL sol.= Volumen utilizado para solubilizar el pellet.



1= Extracto crudo

2= Pellet solubilizado con Tris-HCl 20 mM pH 8.0, urea 8 M, DTT 10 mM.

3= Pellet solubilizado con Tris-HCl 20 mM pH 8.0, urea 4 M, DTT 0.05 mM.

4= Producto de la diálisis (pellet solubilizado con Tris-HCl 20 mM pH 8.0, urea 4 M, DTT 0.05 mM).

Muestra	mg lipasa/[proteínas]	Actividad Específica	Rendimiento	Purificación
3	0.614	70923.72		
4	0.337	256195.30	54.8	3.6

CONCLUSIONES

Con el método empleado de solubilización y diálisis, se logró obtener un rendimiento de recuperación del 54.8% y un factor de purificación de 3.6. Es conveniente analizar los factores que intervienen en el replegamiento de la enzima para elaborar un protocolo capaz de mejorar los parámetros analizados, así como el uso de técnicas complementarias (cromatografía de afinidad, exclusión molecular, diafiltración, etcétera), las cuales podrían incrementar sustancialmente el grado de purificación de la proteína ⁽¹²⁾.

BIBLIOGRAFÍA

1. J. Gomes, W. Steiner, "The biocatalytic potential of extremophiles and entremoenzymes", *Food Technol. Biotechnol.*, Vol. 42, 4, 2004, pp. 223-235.
2. K.E. Jaeger, B.W. Dijkstra, M.T. Reetz, "Bacterial biocatalysts: Molecular biology, three-dimensional structures, and biotechnological applications of lipases", *Annu. Rev. Microbiol.*, Vol. 53, 1999, pp. 315-351.
3. L.D. Castro-Ochoa, C. Rodríguez-Gómez, G. Valerio-Alfaro, R. Oliart Ros, "Screening, purification and characterization of the thermoalkalophilic lipase produced by *Bacillus thermoleovorans* CCR11", *Enzyme and Microbial Technology*, Vol. 37, 2005, pp. 648-654.
4. R. Quintana-Castro, P. Díaz, G. Valerio Alfaro, H.S. García, R. Oliart-Ros, "Gene cloning, expression, and characterization of the *Geobacillus thermoleovorans* CCR11 thermoalkaliphilic lipase", *Mol. Biotechnol.*, 42, 2009, pp. 75-83
5. RR. Kopito. "Aggresomes, inclusion bodies and protein aggregation", *Trends in Cell Biology*, Vol. 10, 2000, pp. 524-530.
6. M.C. Stumpe, H. Grubmüller, "Interaction of urea with amino acids: implication of proteins by urea", *PNAS*, Vol. 100, 9, 2003, pp. 5142-5147.
7. K. Tsumoto, D. Ejima, I. Kumagai, T. Arakawa, "Practical considerations in refolding proteins from inclusion bodies", *Protein Expression and Purification*, Vol. 28, 2003, pp. 1-8.
8. H. Ogino, S. Inoue, R. Akagi, M. Yasuda, N. Doukyu, K. Ishimi, "Refolding of a recombinant organic solvent-stable lipase which is overexpressed and forms an inclusion body, and activation with lipase-speceific foldase", *Biochemical Engineering Journal*, Vol. 40, 2008, pp. 507-511.
9. M.M. Bradford, "A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding", *Analytical Biochemistry*, 72, 1976, pp. 248-254.
10. N. Nawani, N.S. Dosanjh, J. Kaur, "A novel thermostable lipase from a thermophilic *Bacillus* sp.: characterization and esterification studies", *Biotechnology Letters*, Vol. 20, 10, 1998, pp. 997-1000.
11. N. Prim, M. Sánchez, C. Ruiz, F.I.J. Pastor, P. Díaz, "Use of methylumbeliferyl-derivative substrates for lipase activity characterization", *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 22, 2003, pp. 339-346.
12. K.R. Kim, D.Y. Kwon, S.H. Yoon, W.Y. Kim, K.H. Kim, "Purification, refolding, and characterization of recombinant *Pseudomonas fluorescens* lipase", *Protein Expression and Purification*, Vol. 39, 2005, pp. 124-129.

ABSORCIÓN DE NPK EN VARAS FLORALES DE ALCATRAZ EN RESPUESTA A FERTILIZACIÓN NITROGENADA Y POTÁSICA

Nadia Issaí Torres Flores^a, Libia I. Trejo Téllez^a, Brenda I. Trejo Téllez^b, Perla X. Olivares Mercado^a y Fernando C. Gómez Merino^c.

Colegio de Postgraduados

^aCampus Montecillo, nadia.torres@colpos.mx, tlibia@colpos.mx, perla_ipanticed@hotmail.com

^bCampus San Luis Potosí, brendat@colpos.mx

^cCampus Córdoba fernandg@colpos.mx

RESUMEN

Se evaluó la absorción de N, P y K en espata, tallo y hojas de varas florales de alcatraz (*Zantedeschia albomaculata* cv. Captain Murano), en cosecha. Se condujo un experimento completamente al azar evaluando nueve tratamientos, resultado de la combinación de tres dosis de nitrógeno en etapa vegetativa (0.5, 1.5 y 2.5 g planta⁻¹) y tres dosis de potasio en etapa reproductiva (4, 6 y 8 g planta⁻¹). La concentración de N en espata fue significativamente menor en los tratamientos con dosis baja de N (0.5 g planta⁻¹); mientras que, en tallos se observa cómo se incrementa ésta con el aumento en las dosis tanto de N como de K, teniéndose las máximas concentraciones de N con dosis de N de 2.5 g planta⁻¹ y de K de 8 g planta⁻¹. En hojas existió una relación positiva entre la dosis de N con la concentración foliar de este elemento. La concentración de P en los órganos evaluados mostró tendencias diferentes; en espata la mayor concentración se obtuvo con la dosis de 2.5 g planta⁻¹ de N y 4 g planta⁻¹ de K; en tallos se tuvo con la dosis de 2.5 g planta⁻¹ de N y 8 g planta⁻¹ de K; en hojas con las dosis de N y K de 2.5 y 6 g planta⁻¹. Las concentraciones de K indican que en espata fue mayor con las dosis de 2.5 g planta⁻¹ de N y 6 g planta⁻¹ de K, para los tallos no se observaron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos; en hojas, la concentración de K fue superior con las dos dosis de N más altas que fueron evaluadas; asimismo, en estos tratamientos se observa relación positiva entre la dosis de K y la concentración foliar de este elemento.

INTRODUCCIÓN

El alcatraz es una ornamental que pertenece a la familia araceae; que se ha convertido en los últimos años en una interesante opción productiva para el país (Sánchez, 2001), debido a que la especie *Zantedeschia* es una planta ornamental que presenta características atractivas como espata vistosa y follaje moteado, con una amplia diversidad de colores, ya que actualmente, existen más de 120 híbridos de alcatrazes de colores con diferentes matices y tonalidades (Funnell, 1993); pero su tiempo de explotación es reciente en nuestro país, por lo que no se encuentra difundido a pesar de la gran aceptación que tiene por los consumidores finales (Clark y Bolding, 1991), diversos géneros de *Zantedeschia* se han cultivado como plantas de jardín y como flores de corte (Bahamonde, 2006).

En México el suministro de fertilizantes en alcatraz de color, se basa en recomendaciones de otros países, lo que ocasiona un déficit o exceso y en consecuencia, una disminución en la productividad y calidad de los tallos florales por un desequilibrio nutrimental (Segeren, 2010). Las plantas requieren para un buen crecimiento, el aporte de nutrimentos en proporciones de acuerdo a sus requerimientos, y con ello completar su ciclo de vida (Pérez, 1998).

Las concentraciones de N, en hojas *Zantedeschia* durante la época de floración inciden directamente sobre el número y calidad de tallos florales; por ello Gómez *et al.* (2010) recomiendan

la aplicación de 248, 42, 305, 103, 21 y 33 kg ha⁻¹ de N, P, K, Ca, Mg y S, respectivamente, para la obtención de una producción de 160 tallos florales m⁻².

Clark y Bolding (1991), encontraron que las cantidades de N y K son los nutrientes que más se requieren durante las semanas 6 a 12 del ciclo del cultivo, lo que genera que exista una absorción neta de 403 kg de K ha⁻¹, durante el ciclo de producción.

En el contexto anterior, este trabajo plantea como objetivo la evaluación en *Zantedeschia albomaculata* cv. Captain Murano la absorción de NPK en los tallos florales para determinar el máximo rendimiento en función de la nutrición nitrogenada en etapa vegetativa y de la potásica en etapa reproductiva.

MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación fue desarrollada bajo condiciones de invernadero. Los rizomas utilizados fueron de la especie *Zantedeschia albomaculata* cv. Captain Murano; los cuales fueron desinfectados con una solución de Mancozeb® + Tecto® 60 a razón de 2 g L⁻¹ de agua durante 15 min para prevenir enfermedades fungosas; además se introdujeron en una solución de 100 mg L⁻¹ de ácido giberélico, por 15 min para favorecer la floración. Posterior a la desinfección, los rizomas fueron plantados en bolsas de polietileno negro de 25 x 25 cm usando como sustrato una mezcla de tezontle de 3 mm + Agrolita® (60/40, v/v); conteniendo un rizoma por bolsa, cada bolsa considerada como una unidad experimental.

Se evaluaron nueve tratamientos resultantes de la combinación de la aplicación de tres dosis de nitrógeno (0.5, 1.5 y 2.5 g planta⁻¹) durante la etapa vegetativa y de tres dosis de potasio (4, 6 y 8 g planta⁻¹) en la etapa reproductiva. Se utilizó un experimento completamente al azar con diez repeticiones por tratamiento, teniendo 90 unidades experimentales. Los niveles de N y K evaluados fueron suministrados de manera fraccionada durante las etapas vegetativa y reproductiva, respectivamente, en la solución nutritiva de Steiner al 100% (Steiner, 1984), sin variación en el resto de los nutrientes que la constituyen. La aplicación de tratamientos se inició 15 días después de la plantación (ddp), aplicando 250 mL por bolsa dos veces por semana.

Al término del ciclo del cultivo se evaluaron las concentraciones de NPK en tallos florales; la concentración de N total se determinó empleando el método Semimicro-Kjeldahl (Bremner, 1965); y las determinaciones de P y K, se realizaron mediante digestión húmeda del material seco (Alcántar y Sandoval, 1999). La lectura de los extractos obtenidos después de la digestión y filtrado se determinaron en el equipo Optical Emission Spectrometer (ICP), modelo Varian 725-ES.

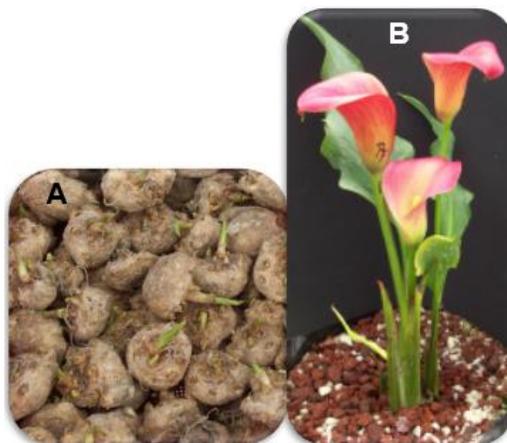


Figura 1. Bulbos de alcatraz *Zantedeschia albomaculata* cv. Captain Murano (A); tallos florales al momento de la cosecha (B).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 2 se muestran las concentraciones de N, P y K obtenidas en espata. En el caso de la concentración de N solo se observó reducción significativa de ésta en los tratamientos consistentes en la baja dosis de N ($0.5 \text{ g planta}^{-1}$) y la baja y alta de K (4 y 8 g planta^{-1}). En el caso del P se observa una relación positiva entre su concentración y la dosis de N, particularmente con la dosis media y baja de K. En el caso del K la mayor concentración de este elemento se obtuvo con las dosis de $2.5 \text{ g planta}^{-1}$ de N y 6 g planta^{-1} ; así también es evidente el efecto positivo de la dosis creciente de K cuando se utilizó la dosis baja de N en fase vegetativa (**Figura 2**).

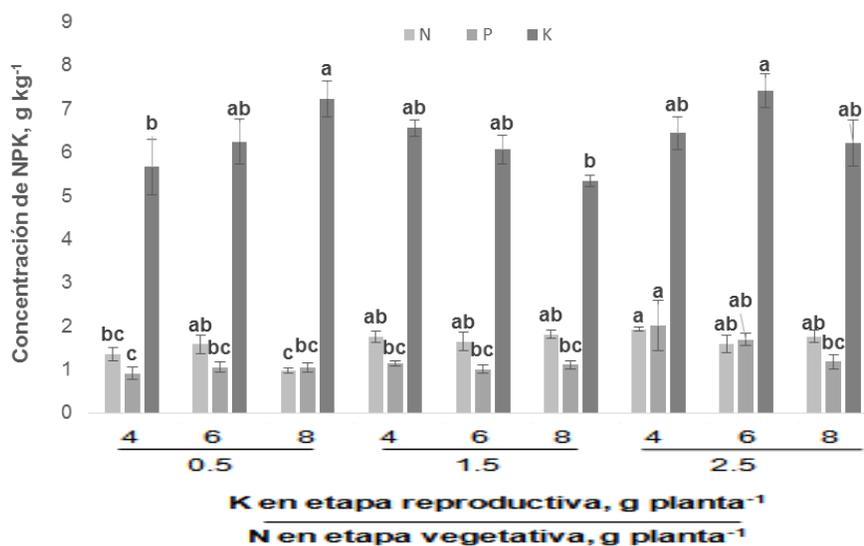


Figura 2. Concentración nutrimental de NPK en espata de alcatraz *Z. albomaculata* cv. Captain

Murano, en respuesta a fertilización nitrogenada en etapa vegetativa y potásica en etapa reproductiva. Barras \pm DE con letras distintas en cada figura indican diferencias estadísticas significativas (LSD, $P \leq 0.05$) entre tratamientos.

La concentración nutrimental de N en tallos, tuvo diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, presentándose una relación positiva entre ésta y la dosis de ésta suministrada en fase vegetativa. La misma tendencia que en la concentración de N se observó para el caso de la concentración de P en tallos, registrándose las máximas concentraciones de N y P con la dosis de $2.5 \text{ g planta}^{-1}$ de N y 8 g planta^{-1} de K. En el caso del K, la mayor concentración en tallos se tuvo con el tratamiento consistente en dosis de N y de K de 2.5 y 6 g planta^{-1} , respectivamente (**Figura 3**).

Es evidente la relación positiva entre la dosis de N aplicada en etapa vegetativa con la concentración foliar de este elemento. Las dosis de N y K de 2.5 y 6 g planta^{-1} respectivamente, incrementa significativamente la concentración de P en hoja; mientras que en el K se observan efectos positivos con las dos dosis de N más altas que fueron evaluadas; además de observarse que en los tratamientos existe una relación positiva entre la dosis de K y la concentración foliar de este elemento (**Figura 4**).

En hojas, de manera coincidente los tres elementos tuvieron las mayores concentraciones en el tratamiento consistente en dosis de N de $2.5 \text{ g planta}^{-1}$ y de K de 6 g planta^{-1} (**Figura 4**).

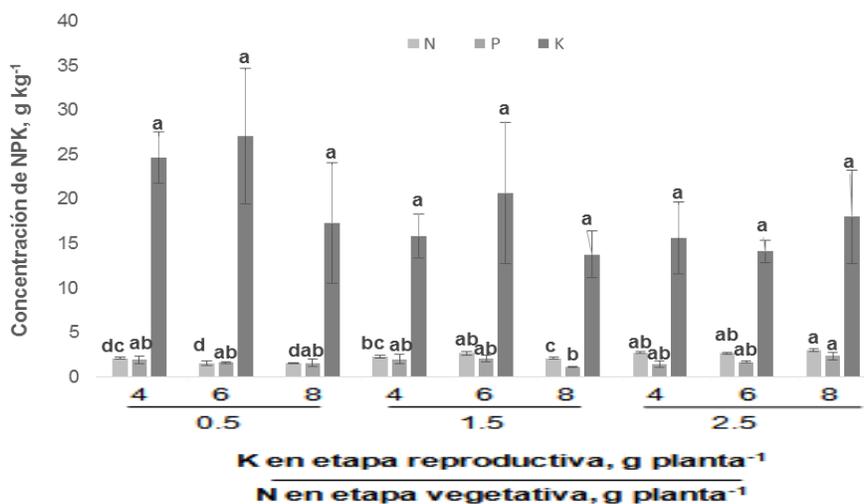


Figura 3. Concentración nutricional de NPK en tallos de alcatraz *Z. albomaculata* cv. Captain Murano (A), en respuesta a fertilización nitrogenada en etapa vegetativa y potásica en etapa reproductiva. Barras \pm DE con letras distintas en cada figura indican diferencias estadísticas significativas (LSD, $P \leq 0.05$) entre tratamientos.

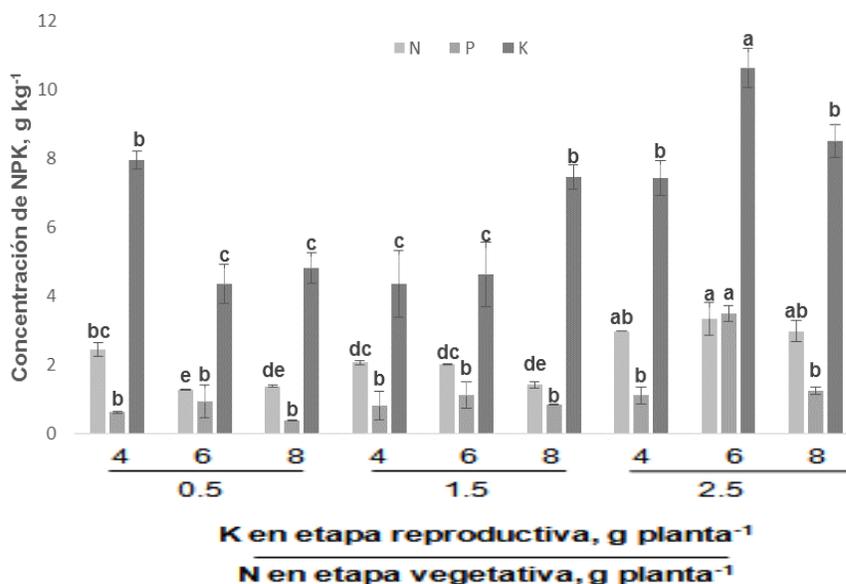


Figura 4. Concentración nutricional de NPK en hojas de alcatraz *Z. albomaculata* cv. Captain Murano (A), en respuesta a fertilización nitrogenada en etapa vegetativa y potásica en etapa reproductiva. Barras \pm DE con letras distintas en cada figura indican diferencias estadísticas significativas (LSD, $P \leq 0.05$) entre tratamientos.

CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos se concluye que de manera general, la mayor concentración de NPK en los órganos que constituyen los tallos florales de *Zantedeschia albomaculata* se obtiene con la dosis más alta de N (2.5 g planta⁻¹) aplicada en etapa vegetativa y la dosis media de K (6 g planta⁻¹), aplicada en etapa reproductiva. También se observa que en los órganos evaluados hay una concentración más alta de K, seguida de N y finalmente el P, lo que es indicativo de la demanda nutrimental de esta especie.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. Steiner, "The universal nutrient solution". *In: ISOSC Proceedings 6th International Congress on Soilless Culture. The Netherlands. 1984.633-649.*
2. A. Segeren, F. "Absorção de nutrientes em duas cultivares de copo-de-leite colorido (*Zantedeschia* sp.) sob fertirrigação". Tese (Mestrado em Irrigação e Drenagem) – Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho". San Paulo, Brasil. 2010 pp 74.
3. C. J. M. Sánchez de L. "Guía de las plantas ornamentales". Mundi-prensa. México, D. F. 2001. pp 685.
4. G. Alcántar, C. y M. Sandoval V. "Manual de análisis químico de tejido vegetal. Guía de muestreo, preparación, análisis e interpretación". Publicación especial No. 10 de la Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo A. C., Chapingo, México.1999.
5. I. Pérez C. "Aplicación de ácido giberélico y thidiazuron en alcatraz (*Zantedeschia elliotiana*), para incrementar flores bajo invernadero". Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Fitotecnia. Tesis de Licenciatura. Texcoco. México. 1998. pp 85.
6. J. Bremner, M. "Total nitrogen". *In: Methods of soil analysis. Part 2. Agronomy 9. 1965. Black, C. A. (ed.).*
7. J. Clark, C. and H. L. Bolding. "Biomass and mineral nutrient partitioning in relation to seasonal growth of *Zantedeschia*". *Scientia Horticulturae Vol 47, 1991, pp 125-135.*
8. K, Funnell. "The Physiology of Flower Bulbs". *Zantedeschia. In: De Hertogh A. and M. Le Nard (Eds.). Amsterdam, Holland. Elsevier Science. 1993. pp. 683-704.*
9. P. V. Bahamonde B. "Efecto de la aplicación de reguladores de crecimiento sobre híbridos de calas (*Zantedeschia* spp.)". Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Austral de Chile, Chile. 2006.
10. S. Gómez, C. R. Bonilla., y J. C. Menjívar. "Absorción de nutrientes en *Zantedeschia elliotiana* variedad Cristal Blush y su relación con la producción de biomasa en condiciones de la zona cafetera de Colombia". *Acta Agronómica Vol. 59, 4, 2010, pp 462-472.*

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE TORTILLAS DE MAÍZ AZUL

¹Martha Isabel Hajar Mateos, ¹Berenice Yahuáca, ¹Consuelo de Jesús Cortés

¹Facultad de Químico farmacobiología, UMSNH (isajar_14@hotmail.com);

RESUMEN

El uso de maíz pigmentado, puede incrementar el valor nutricional de la tortilla. Los compuestos que le confieren la coloración son antocianinas que pertenecen al grupo de los flavonoides con capacidad antioxidante. Sin embargo los factores de la nixtamalización tales como concentración del hidróxido de calcio y tiempo de reposo pueden alterar dicha capacidad antioxidante. Por lo anterior, el objetivo fue determinar el efecto de la nixtamalización sobre la capacidad antioxidante en tortillas de maíz azul. El material de estudio fue maíz azul. La caracterización del grano se realizó mediante la determinación del tamaño, peso hectolitrito, peso de 100 granos, color, dureza, además del análisis químico proximal. El maíz se nixtamalizó con hidróxido de calcio a 0.75% y 1%, 90°C 45 minutos y un tiempo de reposo de 12 horas, el nixtamal se molió y de la masa obtenida se elaboraron las tortillas. A las tortillas se les determinó la capacidad antioxidante por el método de DPPH. El análisis de caracterización del maíz seleccionado indica que es un grano apto para nixtamalización. La determinación de color indicó una disminución en la tonalidad de la tortilla (Hue=105.504, Crhoma=0.6545) por efecto de la temperatura en relación a la masa (h=211.42, c=1.097). En referencia a la capacidad antioxidante, se observó un porcentaje de inhibición del 55% en tortilla nixtamalizada a 0.75% de hidróxido de calcio y de 56% para las nixtamalizadas con 1% de hidróxido de calcio, lo cual no representa una diferencia significativa entre ambas concentraciones. Este porcentaje de inhibición es comparable con la capacidad antioxidante del grano de maíz sin procesar (55% de inhibición), por lo anterior se concluye que la nixtamalización a dichas concentraciones de hidróxido de calcio no afecta la capacidad antioxidante del maíz azul.

INTRODUCCIÓN

El maíz constituye la base de la alimentación para la mayor parte de países en desarrollo. El maíz pertenece a la especie *Zea* de la familia de las gramíneas, y es una planta anual dotada de un amplio sistema radicular fibroso (FAO, 1993). Las variedades criollas de maíz presentan granos pigmentados de múltiples colores, y se encuentran dentro de las 59 razas descritas (Sánchez *et al.*, 2000). Los colores de granos encontrados principalmente en las variedades pigmentadas son: amarillo, negro, morado, azul, rojo y naranja, aunque existen otras tonalidades. México es el cuarto productor de maíz en el mundo con un 3 % de la producción total. El primer lugar lo ocupa Estados Unidos (40 %), seguido por China (19 %) y Brasil (6 %). Los estados productores en México de

maíz azul: Jalisco, Edo. de México, Sinaloa, Chiapas y Michoacán. Las variedades de maíz cultivadas en México: blanco y amarillo o forrajero y pigmentado. A los maíces pigmentados se les ha otorgado un valor agregado debido a su alto contenido de compuestos fenólicos del grupo de los flavonoides, entre los que destacan las antocianinas y los ácidos fenólicos (Masuoka *et al.*, 2012). Además, en varios estudios se ha destacado el perfil de compuestos fenólicos, antocianinas y capacidad antioxidante de distintas variedades (Pedreschi y Cisneros-Zevallos, 2007; Li *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2010). El maíz contiene mayor cantidad de fenoles y capacidad antioxidante que otros cereales como trigo, arroz y avena (Ichikawa *et al.*, 2001; Adom y Liu, 2002). El grano de maíz con pigmento tipo antociano (rojo, azul, morado y negro) debe su coloración a las antocianinas, que representan uno de los principales grupos de pigmentos vegetales visibles al ojo humano. Las antocianinas, además de ser colorantes inocuos para el consumo humano, poseen importantes actividades biológicas como antioxidantes, antimutagénicas y anticancerígenas (López-Martínez *et al.*, 2009; Zhao *et al.*, 2009). Las antocianinas pertenecen a los flavonoides, un subgrupo importante de los CF, y son pigmentos ampliamente distribuidos en las plantas. Estos compuestos son los responsables de los colores azul, púrpura y rojo en plantas comestibles, principalmente cereales y frutas (Escribano- Bailón *et al.*, 2004). El tipo de antocianidina formado depende del grado o nivel de hidroxilación o metoxilación del anillo (B) de la molécula (Garzón, 2008). El color de las antocianinas depende del número y posición de los grupos sustituyentes en la molécula. Un aumento en la cantidad de grupos hidroxilo produce pigmentos de tonos azules, y por el contrario, con predominancia de grupos metoxilo se presenta una tonalidad roja (Stintzing *et al.*, 2002). Las antocianinas pueden encontrarse en forma acilada debido a la acilación de los residuos de azúcares con derivados de ácidos orgánicos alifáticos. Las formas no aciladas son menos estables que las antocianinas que presentan uno o más grupos acilo (De Pascual-Teresa *et al.*, 2002). La estabilidad de las antocianinas depende principalmente de la presencia de luz, oxígeno, pH, presencia de iones metálicos (Ca^{2+}) y de la temperatura (Bordignon-Luiz *et al.*, 2007), y por ello los maíces que contienen estas biomoléculas son difíciles de procesar. Por lo que el objetivo del trabajo fue determinar el efecto de la cocción térmico alcalina sobre la capacidad antioxidante en tortillas elaboradas con maíz azul, así como sus propiedades físicas como color y textura.

MATERIALES Y MÉTODOS

Como material biológico se utilizó maíz azul adquirido en la ciudad de Morelia Michoacán. Se realizaron métodos para la caracterización del grano, primero se realizó la medición del grano con un vernier (alto, ancho y espesor). Se calculó peso hectolitrico, con una balanza y en un vaso de precipitado se pesaron cien mililitros de granos y se hicieron diez repeticiones. Se midió la dureza del grano con un texturometro TA-TX2, se realizaron diez repeticiones. Se midió el color en un colorímetro Hunter lab miniScan, éste se realizó en grano, masa y tortilla, con diez repeticiones para cada muestra. Se realizó el análisis químico proximal en la muestra de grano, se calculó Proteína, extracto etéreo (grasa), cenizas, extracto seco, humedad y E.L.N. (carbohidratos). Se llevó a cabo la elaboración de tortillas, por el método tradicional, se nixtamalizó a una temperatura de 94°C durante 35 minutos y se llevó a un reposo de 12 horas. Se lavo el nixtamal eliminando el nejayotey se preparó la masa, a través de un molino eléctrico y finalmente se elaboraron tortillas. Se midió el color de masa y tortilla en el colorímetro Hunter la miniScan, calculando Hue y Chroma. Finalmente se midió la capacidad antioxidante por el método de DPPH, se preparo la solución madre, cada muestra se colocó en un matraz EM, se pesaron 5g de la muestra, se mezcló con 50ml de metanol ácido MeOH y HCl 1% 1N, se llevó a agitación a una temperatura de 40°C durante una hora, se centrifugó en tubos cónicos durante 10 minutos, se recuperó el sobrenadante en un matraz EM y se llevó a refrigeración a -20°C hasta su uso. Se prepararon tubos en la obscuridad con 200µl de la solución de DPPH, se agregaron 3,800µl de muestra en cada tubo y se realizó por triplicado se midió en espectrofotómetro a 517 nm a los 30 y 60 minutos se utilizó como blanco agua destilada. Se realizó el cálculo para obtener el porcentaje de inhibición.

RESULTADOS

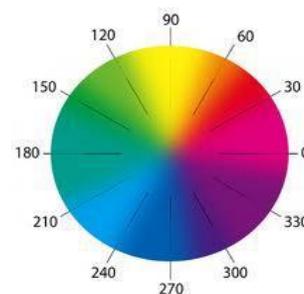
En el análisis de caracterización en el cual se calculó tamaño, el resultado indica dentro del genotipo de maíces criollos, ya que tiene un tamaño pequeño, y a su vez como lo indica la norma (NMX-FF-034/1-2002), los maíces de tamaño pequeño tienen una mejor hidratación del grano, ya que un grano pequeño se hidrata mejor que uno de mayor tamaño. Para el peso hectolítrico nos indica que es un maíz de grano suave el cual es apto para la nixtamalización, como lo indica la norma (NMX-FF-034/1-2002). El peso de cien granos nos indica el tamaño del grano que a su vez se relaciona con la consistencia del grano, nos indica que es un grano suave (Tabla 1).

Tabla 1. Caracterización de grano

ANÁLISIS	RESULTADO
TAMAÑO	Ancho: 1.074cm Alto: 1.41cm Espesor: 0.438
PESO HECTOLITRICO	76.85g/ml.
PESO DE CIENTO GRANOS	37.0940g

Para el análisis de color, el cual se realizó en grano, masa y tortilla en el cual el grano presenta una tonalidad en los amarillos debido a que el grano no tiene un color uniforme, por lo cual no concuerda con el color que se observa físicamente. Para la masa se encontró entre la tonalidad azul y en tortilla al 0.75% nos indicó una tonalidad entre los verdes debido al cambio de pH que es mayor a 7 como lo indica la literatura al igual que la tortilla al 1%.

MUESTRA	HUE	CHROMA	TONALIDAD
GRANO	78.180°	5.875	Amarillo
MASA	211.419°	1.097	Azul
TORTILLA 0.75%	105.504°	0.655	verdes
TORTILLA 1%	53°	4.2	Amarillo



Los resultados para la actividad antioxidante (TABLA 2) nos indica el porcentaje de inhibición en grano y tortilla al 0.75% y 1%. El porcentaje nos indica que no hubo pérdida de actividad antioxidante haciendo la comparación entre el grano y la tortilla al 0.75% y cuanto a la torilla al 1% la pérdida fue minima .

Tabla 2.ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE (DPPH)

MUESTRA	% DE INHIBICIÓN
MAÍZ	55% (+ 0.0213)
TORTILLA 0.75%	55% (+ 0.0213)
TORTILLA 1%	56%(± 0.0256)

CONCLUSIONES

En el proceso de nixtamalización, la concentración de hidróxido de calcio y la temperatura no alteran la capacidad antioxidante de la tortilla, aun cuando de acuerdo a la literatura, puede haber perdida de antocianinas (principal compuesto que le otorga esta capacidad antioxidante) debido a las condiciones propias del proceso.

BIBLIOGRAFÍA

1. Castañeda. (2011). Propiedades nutricionales y antioxidantes del maíz azul. 25 julio 2014, de Universidad de las Américas Puebla Sitio web: [http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No5-Vol-2/TSIA-5\(2\)-Castaneda-Sanchez-2011.pdf](http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No5-Vol-2/TSIA-5(2)-Castaneda-Sanchez-2011.pdf)
2. Y. Salinas, F. Aragón. (2013). Caracterización física y composición química de razas de maíz de grano azul/morado de las regiones tropicales. 28 de julio del 2014, de Revista Fitotecnia Sitio web: <http://www.revistafitotecniamexicana.org/documentos/36-1/3a.pdf>
3. M. López. (2010). Caso de éxito de Pothetli-pinole de una comunidad indígena . 31 de ju
4. lio del 2014, de PECEISA Sitio web: <http://www.siac.org.mx/fichas/52%20Puebla%20Maiz%20Azul.pdf>
5. Fernando RAMOS-ESCUADERO1*, María L. GONZÁLEZ-MIRET2, Agustín GARCÍA ASUERO3. (2012). EFECTO DE VARIOS SISTEMAS DE EXTRACCIÓN SOBRE LA CINÉTICA DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y COLOR DE EXTRACTOS DE MAÍZ MORADO. VITAE, REVISTA DE LA FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA, volumen 19, 1-8.

DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS DE *Ganoderma curtisii*.

Ivone Huerta Aguilar^a, Berenice Yahuaca Juárez^a

^aFacultad de Químico Farmacobiología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. ivonehuerta73@hotmail.com, yajuabe@yahoo.com

RESUMEN

El hongo *Ganoderma* contiene componentes bioactivos tales como terpenoides, polisacáridos, esteroides, compuestos fenólicos y glicoproteínas. Principalmente los polisacáridos, triterpenos y compuestos fenólicos presentan propiedades antioxidantes. El objetivo de la presente investigación fue determinar la actividad antioxidante de extractos etanólico, hidroalcohólico y polisacáridos de *Ganoderma curtisii* colectado en Michoacán, México. Los extractos etanólico e hidroalcohólico se obtuvieron por calentamiento directo a 78°C y 80°C respectivamente durante 2 horas. Los polisacáridos se extrajeron de 10 g de hongo mediante extracción acuosa por calentamiento directo a 85°C por 5 horas, para esta prueba se realizaron tres extracciones de la misma muestra. Del extracto acuoso se obtuvieron los polisacáridos por precipitación con etanol a 4°C por 24 horas, posteriormente se colectaron por centrifugación a 3500 rpm por 15 minutos, se lavaron con etanol y se secaron. Los compuestos fenólicos en los extractos hidroalcohólico y etanólico se determinaron por el método de Folin-Ciocalteu. El porcentaje de inhibición del extracto alcohólico, hidroalcohólico y polisacáridos fue evaluado por el método de DPPH utilizando el ácido ascórbico como patrón de referencia. Los resultados de la actividad antioxidante mostraron que todos los extractos fueron capaces de atrapar radicales DPPH de manera directamente proporcional a la concentración. El máximo porcentaje de inhibición para extractos etanólico, hidroalcohólico y polisacáridos a concentración de 1 mg/ml, fue de 90.59±1.76 %, 89.10±0.66 y de 83.09±1.82 % respectivamente, mientras que el del ácido ascórbico fue de 96.4±0.66 %. Los compuestos fenólicos presentes en los extractos hidroalcohólico (35.6313±0.1868 mg GAE/gr) y etanólico (49.1467±0.1692 mg GAE/gr) también contribuyen a una mayor capacidad antioxidante observada en estos extractos.

Palabras clave: **DPPH, Polisacáridos, Porcentaje de inhibición, calentamiento directo**

INTRODUCCIÓN

Por sus propiedades medicinales y nutricionales, el hongo *Ganoderma* ha sido usado en la medicina herbolaria tradicional desde hace aproximadamente 2000 años y su empleo se ha extendido a todo el mundo (Wachtel-Galor et al. 2004). Algunas propiedades farmacológicas del *Ganoderma* se han relacionado con su capacidad para reducir el riesgo de enfermedades del corazón, cáncer y para estimular el sistema inmunológico (Russell, 2006). Las propiedades benéficas para la salud de las especies de *Ganoderma* se atribuyen a una amplia variedad de componentes bioactivos tales como polisacáridos, triterpenos, esteroides, lectinas y algunas proteínas (Ferreira et al, 2010). Hay algunos informes en relación con las propiedades antioxidantes tanto de extractos metanólicos (Mau et al, 2002) y acuosos (Lin et al. 1995) de *G. lucidum*, así como también de sus polisacáridos (Liu et al. 2010; Kozarski et al. 2011) y compuestos fenólicos (Kim et al. 2008, Ferreira et al. 2009)). El daño oxidativo al ADN es capaz de desencadenar la carcinogénesis (Ajith et al. 2007). Se ha sugerido que las actividades antitumorales e inmunomoduladoras de los extractos de *Ganoderma*, están en gran medida relacionadas con sus propiedades antioxidantes (Russell et al. 2006). Por lo tanto, el objetivo del

presente trabajo es evaluar el contenido de compuestos fenólicos en los extractos hidroalcohólico y etanólico, así como las propiedades antioxidantes de los extractos hidroalcohólico, etanólico y polisacáridos obtenidos de la extracción acuosa de los cuerpos fructíferos maduros de la cepa silvestre del hongo *Ganoderma curtisii*, colectados en la localidad de la Escalera, en el municipio de Charo en Michoacán, México. En los últimos años, el uso de los hongos del género *Ganoderma* se ha vuelto cada vez más importante en nuestra dieta por sus características nutricionales y farmacológicas. Sus valores nutricionales y componentes medicinales se han estudiado. Sin embargo, hay poca información disponible sobre las propiedades antioxidantes de los hongos del género *Ganoderma* en México.

PARTE EXPERIMENTAL

Material de estudio

El hongo *Ganoderma* fue proporcionado por la empresa Kamuhro, colectado en la comunidad de La Escalera, Municipio de Charo, Michoacán. Se identificó taxonómicamente como *Ganoderma curtisii*. Fueron depositados dos ejemplares en el Herbario de la UMSNH (EBUM) con número de voucher 24032.

Preparación de los Extractos de *Ganoderma curtisii*

Se prepararon tres extractos de 5 gramos de hongo molido, utilizando como solventes 200 ml de etanol, agua-etanol (120:80) y agua. Se utilizaron tres temperaturas y tiempos de extracción, 78°C/120 minutos para la extracción etanólica, 80°C /120 minutos para la extracción hidroalcohólica (agua-etanol) y 85°C /5 horas para la extracción acuosa. Los polisacáridos fueron aislados de la extracción acuosa por precipitación con etanol frío, según el método propuesto por Skalicka-Wozniak (2012). El precipitado formado se centrifugó a 3500 rpm durante 15 minutos, se lavó con etanol y se secó a 60°C. Los extractos hidroalcohólico y etanólico se secaron para obtener el extracto en polvo. De los cuales se obtuvieron 524.5 mg/100 ml de extracto hidroalcohólico y 344.1 mg/100 ml de extracto etanólico.

Actividad Antioxidante de los Extractos de *Ganoderma curtisii*

La capacidad para capturar radicales libres de los extractos de *Ganoderma curtisii* fue determinada utilizando como referencia la disolución de 1,1-Difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) de acuerdo al método reportado por Chung-wah Ma et al. (2013). Se tomaron 2 ml de cada extracto (etanólico, hidroalcohólico y polisacáridos) con diferentes concentraciones de extracto seco (0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1 mg/ml) y se le adicionó a cada uno 2 ml de solución etanólica 0.2 mM de DPPH. El control fue realizado con etanol en lugar de DPPH y el etanol fue utilizado como blanco. Después de agitar los tubos en vortex durante 15 s, se dejaron reposar durante 30 min a temperatura ambiente en ausencia de luz, posteriormente se midió la absorbancia a 517 nm en un espectrofotómetro (Espectro Genesys 10 S UV Vis Thermo Scientific). El ácido ascórbico fue utilizado como estándar positivo a las mismas concentraciones que las muestras. Los experimentos se llevaron a cabo por triplicado. La actividad antioxidante se expresó como porcentaje de inhibición correspondiendo a la cantidad de radical DPPH neutralizado por el extracto a una determinada concentración, de acuerdo a la ecuación 1:

$$\text{Porcentaje de inhibición (\%)} = \left(1 - \frac{A_s - A_c}{A} \right) * 100$$

Ecuación 1

Donde A_s = absorbancia de la solución muestra y DPPH, A_c es la absorbancia de la solución control de etanol y A es la absorbancia de la solución incluyendo 2 ml de DPPH y 2 ml de etanol. También se reporta el parámetro IC_{50} que es la concentración necesaria para obtener un 50% de efecto. Un valor bajo de IC_{50} corresponde a una mayor actividad antioxidante del extracto del hongo.

Determinación de polifenoles totales en los extractos hidroalcohólico y etanólico

Se siguió el método espectrofotométrico realizado por Nagaraj et al (2014) con algunas modificaciones. Extractos hidroalcohólicos y alcohólicos de 5 g de *G. curtisii* se obtuvieron en una mezcla de 200 ml de agua/etanol (3:2) y en etanol (200 ml) a una concentración de 524.5 mg/100 ml y 344.1 mg/100 ml, respectivamente. Las muestras de extractos (0.5 ml) se mezclaron con reactivo de Folin-Ciocalteu (2.5 ml, previamente diluido en agua 1:10, v/v) y carbonato de sodio (75 g/l, 2 ml). Los tubos se mezclaron en vortex por 15 s y se dejaron reposar en obscuridad por 40 min a temperatura ambiente (21°C). Se realizó una curva de calibración estándar de ácido gálico en agua (0.0094-0.15 mg/ml). Se midió la absorbancia a 765 nm. Para cada una de las muestras se calculó la concentración de ácido gálico usando la ecuación basada en la curva de calibración: $Y = 0.0974x - 0.0047$, $R^2 = 0.9995$; donde x fue la absorbancia y Y fueron los mg de ácido gálico.

Análisis Estadístico

Los datos se presentan como media \pm desviación estándar (SD). Todos los análisis se llevaron a cabo por triplicado.

El análisis estadístico se realizó mediante el análisis unidireccional de la varianza (ANOVA) seguido de la prueba HSD de Tukey con $\alpha=0.05$. Las diferencias significativas entre los grupos se determinaron en $p < 0.0001$. Se utilizó el programa estadístico JMP versión 6.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la actividad antioxidante indican que todos los extractos fueron capaces de atrapar radicales DPPH y que dicha capacidad es dependiente de la concentración. Los extractos hidroalcohólico y etanólico no presentan diferencias estadísticas en sus valores del porcentaje de inhibición en todas sus concentraciones. A concentraciones de 0.4 mg/ml no hay diferencias significativas en los porcentajes de inhibición de los extractos hidroalcohólico, etanólico y de los polisacáridos, siendo de $74.05 \pm 1.38\%$ para el extracto etanólico, $73.64 \pm 1.30\%$ para el extracto hidroalcohólico y $73.62 \pm 2.59\%$ para los polisacáridos. El máximo porcentaje de inhibición para los extractos etanólico, hidroalcohólico y los polisacáridos a una concentración de 1 mg/ml, fue de $90.59 \pm 1.76\%$, $89.10 \pm 0.66\%$ y de $83.09 \pm 1.82\%$ respectivamente, mientras que para el ácido ascórbico fue de $96.4 \pm 0.66\%$ (Figura 1).

El porcentaje de inhibición de los extractos de *Ganoderma curtisii* aumenta en forma directamente proporcional a las concentraciones de estos. Los valores obtenidos concuerdan con lo reportado por otros autores para especies de *Ganoderma*. Kozarski M et al, (2012) reportan valores de porcentajes de inhibición de 77.5-81.9 % para el hongo *G. applanatum* para concentraciones que van de 0.1 a 1 mg/ml. Min Shi et al. (2013) reportan porcentajes de inhibición de 88.38 % para polisacáridos de *G. lucidum* a una concentración de 1.25 mg/ml.

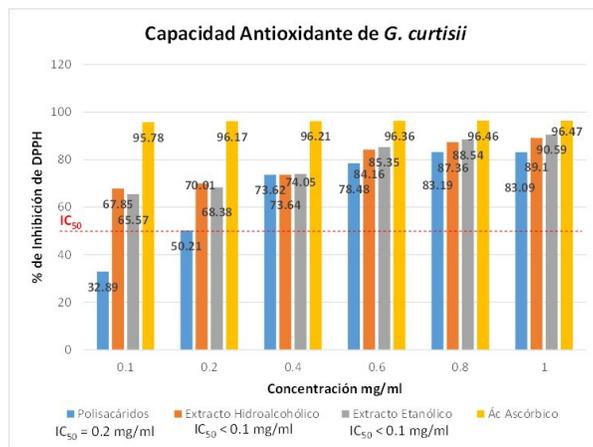


Figura 1. Gráfica de Porcentajes de Inhibición de extractos de *G. curtisii*, Ácido ascórbico y valores de IC₅₀.

Valores de IC₅₀ en las propiedades antioxidantes

Los valores de IC₅₀ para los extractos hidroalcohólico y etanólico de *G. curtisii* fueron menores a 0.1 mg/ml, mientras que para los polisacáridos fue de 0.2 mg/ml. Estos valores nos indican que los extractos hidroalcohólico y etanólico inhiben el 50% de los radicales DPPH a concentraciones menores de 0.1 mg/ml, mientras que se requieren concentraciones de 0.2 mg/ml de los polisacáridos para inhibir los radicales DPPH (Figura1). Estos resultados concuerdan con lo reportado por Kozarski M et al (2012) y Saltarelli R. et al (2009) para polisacáridos de *G. lucidum*.

Contenido de Compuestos Fenólicos Totales

El contenido de compuestos fenólicos en los extractos de *Ganoderma curtisii* fue de 49.1467 ± 0.1692 mg GAE/g para el extracto etanólico y de 35.6313 ± 0.1868 mg GAE/g para el extracto hidroalcohólico. Estos resultados concuerdan con los valores reportados por Heleno et al, (2012) y Čilerdžić et al (2014) de 47 mg GAE/g para el extracto hidroalcohólico de *G. lucidum* y de 33.42-52.15 mg GAE/g para extractos etanólicos de *G. lucidum*.

Existe una correlación directamente proporcional entre el porcentaje de inhibición de los extractos hidroalcohólico y etanólico de *G. curtisii* y la cantidad de compuestos fenólicos mg GAE/g.

CONCLUSIONES

Los extractos etanólico, hidroalcohólico y los polisacáridos de *G. curtisii* presentaron capacidad de inhibición de radicales DPPH y valores de IC₅₀ bajos, lo que indica una adecuada actividad antioxidante. Los compuestos fenólicos presentes en los extractos hidroalcohólico y etanólico contribuyen a una mayor capacidad antioxidante.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ajith T.A. and Jonardhanan K.K. (2007) Indian Medicinal mushrooms as source of antioxidant and antitumor agents. *Journal of Clinical Biochemistry and nutrition*, 40, 157-162.
2. Chung-wah Ma et al, (2013), Optimization for the extraction of polysaccharides from *Ganoderma lucidum* and their antioxidant and antiproliferative activities, *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* 44 886-894.
3. Čilerdžić Jasmina, et al (2014), Biological activity of *Ganoderma lucidum* basidiocarps cultivated on alternative and commercial substrate. *Journal of Ethnopharmacology* 155, 312-319.
4. Ferreira, I. C. F. R., Barros, L., & Abreu, R. M. V. (2009). Antioxidants in wild mushrooms. *Current Medicinal Chemistry*, 16, 1543–1560.
5. Ferreira, I. C. F. R., Vaz, J. A., Vasconcelos, M. H., & Martins, A. (2010). Compounds from wild mushrooms with antitumor potential. *Anti-cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 10, 424–436.
6. Heleno Sandrina A., et al (2012) Fruiting body, spores and in vitro produced mycelium of *Ganoderma lucidum* from Northeast Portugal: A comparative study of the antioxidant potential of phenolic and polysaccharidic extracts. *Food Research International* 46, 135-140.
7. Kim, M.Y., et al. (2008). Phenolic compound concentration and antioxidant activities of edible and medicinal mushrooms from Korea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 7265–7270.

8. Kozarski, M., et al (2011). Antioxidative and immunomodulating activities of polysaccharide extracts of the medicinal mushrooms *Agaricus bisporus*, *Agaricus brasiliensis*, *Ganoderma lucidum* and *Phellinus linteus*. *Food Chemistry*, 129, 1667–1675.
9. Kozarski M., et al (2012) Antioxidative activities and chemical characterization of polisaccharide extracts from widely used mushrooms *Ganoderma applanatum*, *Ganoderma lucidum*, *Lentinus edodes* and *Trametes versicolor*. *Journal of Food Composition and Analysis* 23, 144-153.
10. Lin, J. -M., et al (1995). Radical scavenger and antihepatotoxic activity of *Ganoderma formosanum*, *Ganoderma lucidum* and *Ganoderma neo-japonicum*. *Journal of Ethnopharmacology*, 47, 33–41.
11. Liu, W., et al (2010). Characterization and antioxidant activity of two low-molecular-weight polysaccharides purified from the fruiting bodies of *Ganoderma lucidum*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 46, 51–457.
12. McKenna, D.J; et al 2002; Reishi Botanical Medicines. The Desk reference for Major Herbal Supplements, 2nd Ed.; The Haworth Herbal Press: New York, London, Oxford, 825- 855.
13. Mau, J. L. et al (2002). Antioxidant properties of several medicinal mushrooms. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50(21), 6072–6077.
14. Min Shi, Zhenya Zhang, Yingnan Yang (2013). Antioxidant and immunoregulatory activity of *Ganoderma lucidum* polysaccharide (GLP) *Carbohydrate Polymers* 95, 200-206.
15. Nagaraj K, N Mallikarjun, Raja Naika, Venugopal TM. (2014). Antioxidative Activities of Wild Macro fungi *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, Vol. 7, Suppl 2, 166-171.
16. Russell R. & Paterson M. (2006) *Ganoderma*, a therapeutic fungal biofactory. *Phytochemistry*, 67, 1985-2001.
17. Saltarelli R, et al (2009), Biochemical characterization and antioxidant activity of mycelium of *Ganoderma lucidum* from Central Italy. *Food Chemistry* 116 143–151.
18. Skalicka-Wozniak K., et al. (2012). Evaluation of Polysaccharides content in fruit bodies and their antimicrobial activity of four *Ganoderma lucidum* (W Curt.: Fr.) P. Karst. Strains cultivated on different wood type substrates. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 81(1):17-21.
19. Stamets Paul, 2000; Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms Third edition, Ten Speed Press, 614 páginas.
20. Wachtel-Galor S, et al. (2004). Lingzhi polyphorous fungus. In: Herbal and Traditional Medicine: Molecular Aspects of Health. New York: Marcel Dekker Incpp. 179–228.

ESTABLECIMIENTO DE CULTIVOS ASEPTICOS PARA LA PROPAGACION *in vitro* DE ESPECIES SILVESTRES DEL GENERO *Polianthes* L. (ASPARAGACEAE)

^aAdanelly de la Cruz-Cruz, A. Gutiérrez-Mora^a, J. M. Rodríguez-Domínguez^a, M.C. Castañeda-Saucedo^b, E. Tapia-Campos^a

^aCentro de investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, nellypowerpuff@hotmail.com, agutierrez@ciatej.mx, mrodriguez@ciatej.mx, etapia@ciatej.mx

^bCentro Universitario del Sur, Universidad de Guadalajara (CUSUR-UDG). claudia.saucedo@cusur.udg.mx

RESUMEN

El género *Polianthes* comprende un grupo de especies de distribución restringida, sensible a perturbaciones de su hábitat natural y vulnerable a la extinción. Una estrategia para conservar estas especies es el cultivo de tejidos; sin embargo al tratarse de plantas bulbosas que conviven con patógenos del suelo en su hábitat natural el establecimiento de un cultivo aséptico (para su posterior propagación *in vitro*) es un punto problemático. Con el propósito de obtener cultivos asépticos de especies silvestres del género *Polianthes* se tomaron bulbos de *P. platyphylla*, *P. howardii*, *P. montana*, *P. pringleii*, y *P. geminifloravar. Pueblensis*; además de una especie comercial *P. tuberosa* var. Doble. Se probaron diferentes tratamientos de desinfección superficial de los bulbos: tratamiento fungicida-bactericida a base de Captan (.5, 1 y 2g·L⁻¹) y Bactrol (.5 1 y 2g·L⁻¹) durante 30 min, 1y 24 hrs, cefotaxima (300 y 600 mg· L⁻¹ y 1g·L⁻¹) durante 16 24 hrs, Cl comercial al 3% (durante 3, 5 ó 7 min) y Alcohol al 90% (durante 10, 20,30 s ó 1 min) según la especie además tratamiento con cloruro de mercurio (HgCl₂) al 1% (durante 5, 7 ó 10 min) en algunas especies. La contaminación por hongos y bacterias fue una constante en la mayoría de los tratamientos, hasta el momento el mejor tratamiento para la desinfección eficiente de los explantes fue Captan (2g·L⁻¹) y Bactrol (2g·L⁻¹) durante 1 día, cefotaxima (1g·L⁻¹) durante 1 día, Cl comercial al 3% durante 5 min, alcohol al 90% por 1 min y cloruro de mercurio (HgCl₂) al 1% durante 10 min, que mostro una supresión de la contaminación para todas las especies mencionadas sugiriendo que este método es el más adecuado para el establecimiento *in vitro* para su posterior propagación masiva o conservación *in vitro*.

INTRODUCCION

México tiene una gran diversidad biológica debido a su posición geográfica y sus diferentes climas (Ramamoorthy *et al.*,1998 y Toledo, 1988). A nivel mundial nuestro país es considerado entre las naciones con mayor riqueza biológica (Villaseñor, 1991), albergando entre el 8 y el 12% de las especies del planeta (Challenger, 1998). El género *Polianthes* es de distribución restringida, es sensible a las perturbaciones de su hábitat natural y en consecuencia es vulnerable a la extinción. La transformación del hábitat es uno de los principales factores que afectan a las poblaciones silvestres tales como: *P. platyphylla*, *P. howardii*, *P. montana*, *P. pringleii*, y *P. geminifloravar. Pueblensis* por lo que es necesario tomar medidas para la conservación de las mismas. Una de las estrategias que permite el rescate, la conservación y multiplicación de especies amenazadas o en peligro de extinción es el empleo del cultivo *in vitro* de células y tejidos vegetales, con la finalidad de establecer un protocolo para la propagación *in vitro* de estas especies se realizaron varios ensayos para lograr la desinfección del bulbo. Las especies silvestres de *Polianthes* se consideran perennes, el mayor crecimiento vegetativo se presenta durante primavera-verano, florecen durante verano-otoño y permanecen latentes en invierno. La propagación de esta especie puede ser vegetativa mediante el uso de los bulbos que están latentes en el suelo o generativa mediante el uso de las semillas, la desventaja principal de la propagación por semilla es el tiempo requerido para obtener plantas adultas ya que es muy largo, sin embargo, esta puede ser una gran alternativa en el caso de mantener la diversidad genética y reproducir aquellas especies silvestres del género *Polianthes* que se encuentran en peligro de extinción.

El uso de herramientas biotecnológicas en plantas, en este caso el cultivo *in vitro*, puede ayudar a solucionar los problemas de propagación y conservación de especies vegetales amenazadas. El cultivo de tejidos vegetales puede utilizarse para diversos propósitos tales como: la micropropagación, la obtención de plantas libres de virus y otros patógenos, el mejoramiento genético y la conservación de germoplasma. La micropropagación presenta importantes ventajas sobre los métodos tradicionales de propagación, entre ellas se pueden citar: Incremento acelerado del número de plantas derivadas por genotipo, reducción del tiempo de multiplicación, producción de grandes cantidades de plantas en una superficie reducida a bajos costos y en un tiempo económicamente costeable, mayor control sanitario del material que se propaga, posibilidad de multiplicar rápidamente una variedad de la cual existen pocos individuos, etc. (Abdelnour-Esquivel y Vincent-Escalant, 1994).

La contaminación microbiana es un problema constante que compromete el desarrollo de todas las técnicas *in vitro*. Las pérdidas causadas por microorganismos contaminantes principalmente hongos y bacterias constituye un serio problema a escala mundial. El establecimiento y propagación del nardo por medio de cultivo de tejidos ha tenido como objetivo principal el obtener material de siembra libre de virus, así como una multiplicación más rápida, su uso se ha extendido en programas de mejoramiento e investigación en esta especie. En cuanto a la micropropagación masiva Muralidhar y Mehta (1982) lograron la regeneración de hasta 800 plantas a partir de un solo bulbo. Krishnamurthy *et al.* (2001) obtuvieron la micropropagación de dos cultivares de nardo por medio de yemas axilares y secciones del tallo; por otra parte, Hutchinson *et al.* (2004) reportaron el uso de diferentes reguladores de crecimiento como TDZ (Thidiazuron), BA (Benciladenina) y ANA (Ácido Naftalén-1-acético), con el fin de disparar la generación de brotes; además Sangavai y Chellapandi (2008) consiguieron la propagación *in vitro* a partir de segmentos de bulbo.

No existen informes científicos sobre cultivo *in vitro* de *Polianthes* silvestres, por lo que será de gran importancia generar la información necesaria respecto a la micropropagación de estas especies para su conservación o reproducción masiva en el caso de que se necesite su reintroducción en los hábitats naturales, así como para el uso potencial de las mismas.

PARTE EXPERIMENTAL

El presente trabajo se realizó en la Unidad de Biotecnología Vegetal del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ).

Como material inicial se utilizaron bulbos de plantas donantes de *P. tuberosa* var. Doble, *P. platyphylla*, *P. howardii*, *P. montana*, *P. pringleii*, y *P. geminiflora* var. Pueblensis (Figura 1).

Se realizó el lavado de los explantes con agua corriente, se retiró la tierra en su totalidad y las capas superficiales, se limpiaron los explantes exhaustiva y cuidadosamente con ayuda de bisturí y se realizaron cortes transversales desde la parte basal del bulbo, posteriormente se realizaron varios ensayos de desinfección.

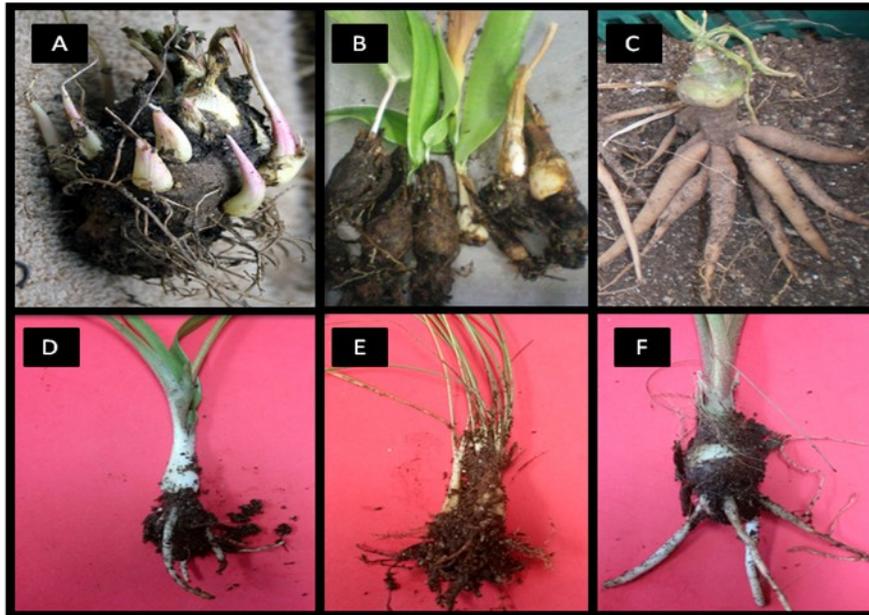


Figura 1. (A) *P. tuberosa* var. Doble, (B) *P. platyphylla*, (C) *P. howardii*, (D) *P. montana*, (E) *P. pringleii*, y (F) *P. geminiflora* var. Pueblensis

Se realizaron diferentes tratamientos de desinfección superficial de los bulbos, utilizando información de distintas publicaciones de donde se buscaba establecer diversas especies, en los que se utilizaron partes subterráneas entre otros explantes. Utilizando estas investigaciones como base se realizó la combinación de tratamientos y tiempos de exposición, hasta obtener el adecuado para los bulbos utilizados en esta investigación.

Cuadro 1. Tratamiento fungicida- bactericida a base de Captan y Bactrol, concentraciones y tiempo de exposición utilizados para la desinfección de bulbos del género *Polianthes*.

Fungicida-Bactericida	Cantidad	Tiempo de exposición
Captan-Bactrol	.5 g·L ⁻¹	30 min.
Captan-Bactrol	1g·L ⁻¹	1 hora
Captan-Bactrol	2 g·L ⁻¹	24 hrs

Cuadro 2. Antibiótico, cantidad y tiempo de exposición utilizados para la desinfección de bulbos del género *Polianthes*.

Antibiótico	Cantidad	Tiempo de exposición
Cefotaxima	300 ·L ⁻¹	1 hora ó 24 hrs
Cefotaxima	600 ·L ⁻¹	1 hora ó 24 hrs
Cefotaxima	1g·L ⁻¹	1 hora ó 24 hrs

Cuadro 3. Utilización de NaClO comercial para la desinfección de bulbos del género *Polianthes*.

Concentración de NaClO	Tiempo de exposición
3%	3 min
3%	5 min
3%	7 min

Cuadro 4. Concentración Alcohol y tiempos de exposición para la desinfección de bulbos del género *Polianthes*.

Concentración de Alcohol	Tiempo de exposición
90%	10s
90%	20 s
90%	30 s
90%	1 min

Cuadro 5. Tratamiento a base de HgCL2 y tiempos de exposición

HgCL2	Tiempo de exposición
1%	5 min
1%	7 min
1%	10 min

La contaminación microbiana es un problema constante que compromete el desarrollo de todas las técnicas *in vitro*. Las pérdidas causadas por microorganismos contaminantes principalmente hongos y bacterias constituye un serio problema a escala mundial. Durante la realización de los distintos ensayos todas las especies mencionadas presentaron problemas de contaminación por hongo y bacteria. (Figura 2).

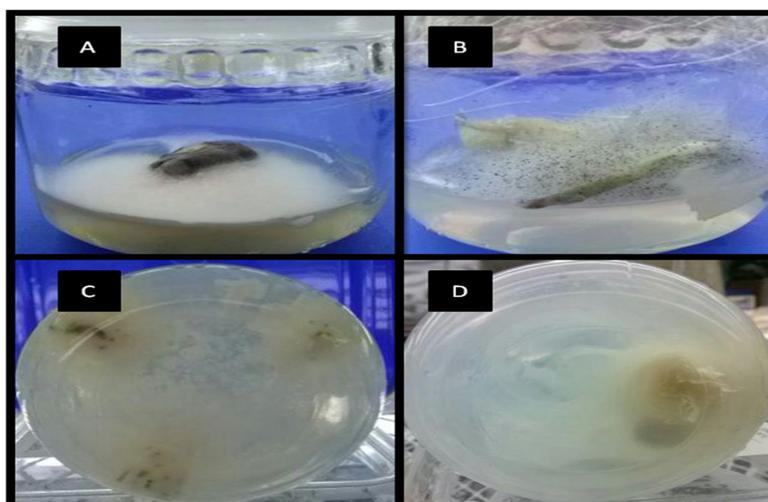


Figura 2. (A y B) contaminación por hongo, (C y D) contaminación por bacteria en especies silvestres del género *Polianthes*.

Martínez (2009), mencionó que durante el establecimiento *in vitro* de yemas del corno de nardo (*Polianthes tuberosa* L.), hongos y bacterias causan la muerte del explante, reportando como agentes causales de la contaminación a *Fusarium* sp. y *Rhizopus* sp.; concluyen que es posible que estos hongos estén localizados dentro de las yemas del corno del bulbo de nardo, lo que dificulta la acción de los desinfectantes superficiales. En el caso de especies silvestres del género *Polianthes* no hay información referente a contaminación por algún patógeno en específico; sin embargo, en esta investigación se confirma que la muerte del explante fue causado por hongos y bacterias aún no identificadas. La descontaminación de los explantes obtenidos de las partes subterráneas ha sido una tarea muy difícil, reportado por varios investigadores (Seabrook 1990; Hol y Vander, 1992). Las especies bulbosas presentan en el interior de sus bulbos mucilago y bacterias que dificultan el establecimiento de un cultivo *in vitro* en condiciones asépticas, como lo menciona Chang *et al.* (2003), quienes reportaron este tipo de problemas para hacer una

propagación eficiente en *Zantedeschia albomaculata* mediante rizomas de esta especie como fuente de explante, por lo que proponen el uso del meristemos apicales como fuente inicial de explante. Las plantas bulbosas son propagadas a menudo a partir de escamas como en la propagación convencional, esta técnica se ha usado en especies raras y en riesgo incluyendo algunas plantas endémicas españolas como el narciso *Narcissus* spp. (Fay, 1992).

En general la principal fuente de explante para la propagación *in vitro* de *P. tuberosa* ha sido el cormo o secciones del mismo, por lo que en el presente experimento fue la fuente de explante que se decidió utilizar. A continuación se muestran cormos cortados transversalmente de *P. montana*, desinfectados y establecidos *in vitro* (Figura 3). Por carecer de información sobre el manejo *in vitro* del género *Polianthes*, especialmente de las especies silvestres, la estrategia utilizada para la desinfección de los bulbos consistió en varios ensayos hasta encontrar el método más eficiente, logrando el establecimiento de cuatro especies silvestres, *P. platyphylla*, *P. howardii*, *P. montana*, *P. pringleii*, y *P. geminiflora* var. Pueblensis; además de una especie comercial *P. tuberosa* var. Doble. El mejor tratamiento para la desinfección eficiente de los explantes fue Captan ($2\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) y Bactrol ($2\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) durante 1 día, cefotaxima ($1\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) durante 1 día, Cl comercial al 3% durante 5 min, alcohol al 90% por 1 min y cloruro de mercurio (HgCl_2) al 1% durante 10 min, que mostro una supresión de la contaminación para todas las especies mencionadas sugiriendo que este método es el más adecuado para el establecimiento *in vitro* para su posterior propagación masiva o conservación *in vitro*.

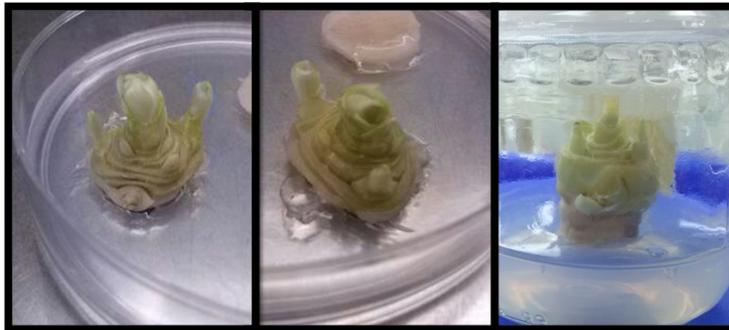


Figura 3. *Polianthes montana* desinfectada y establecida *in vitro*

Se continuara realizando investigación sobre protocolos de desinfección, para el establecimiento *in vitro* de *Polianthes* silvestres. Hasta el momento los bulbos de las distintas especies se encuentran en condiciones *in vitro*, posteriormente se realizara la propagación masiva por medio de la técnica de proliferación de yemas axilares, haciendo un comparativo de la eficiencia de *Polianthes* silvestres en relación a una especie comercial la cual es *Polianthes tuberosa* var. Doble.

CONCLUSIONES

- La contaminación por hongos y bacterias fue una constante en la mayoría de los tratamientos.
- De los ensayos realizados, en los que se utilizo un mayor tiempo de exposición del tratamiento al explante, a excepción del alcohol., fueron los que mostraron mejor resultado.
- Con la presente investigación se encontró un método de desinfección para el establecimiento de cultivos asépticos.
- Este trabajo demostró que es posible establecer cultivos asépticos de especies silvestres del género *Polianthes*: *P. platyphylla*, *P. howardii*, *P. montana*, *P. pringleii*, además de una especie comercial *P. tuberosa* var. Doble., y puede tomarse como base para futuras investigaciones utilizando los métodos descritos en este documento.
- Para el caso de *P. geminiflora* var. Pueblensis, se sugiere continuar con la desinfección de los explantes utilizando los mismos tratamientos en concentraciones y tiempos mayores de exposición., para lograr el establecimiento *in vitro* de los bulbos de esta especie.

BIBLIOGRAFIA

1. Abdelnour-Esquivel A y Vincent-Escalant J. 1994. Conceptos básicos del cultivo de tejidos vegetales. CATIE. Turrialba, Costa Rica pp. 2-3.
2. Challenger A. 1998. Utilización y Conservación de los Sistemas Terrestres de México. Ed. CONABIO, Instituto de Biología, UNAM y Sierra Madre. 847 p.
3. Chang HS, Chakrabarty D, Hahn EJ y Paek KY. 2003. Micropropagation of calla lily (*Zantedeschia albomaculata*) via *in vitro* shoot tip proliferation. *In Vitro Cellular & Developmental Biology. Plant.* 39: 129-134.
4. Fay MF. 1992. Conservation of rare and endangered plants using *in vitro* methods. In: *In Vitro Cellular and Developmental Biology.* 28:1-4.
5. Hutchinson MJ, Onamu R y Obukosia S. 2004. Effect of thidiazuron, benzylaminopurine and naphthalene acetic acid on *in vitro* propagation of tuberose (*Polianthes tuberosa* L.) from shoot tip explants. *Journal of Agricultural Science and Technology.* 6: 48-59.
6. Krishnamurthy KB, Mythili JB y Meenakshi S. 2001. Micropropagation studies in "single" vs. "double" types of tuberose (*Polianthes tuberosa* L.). *Journal of Applied Horticulture.* 3: 82-84.
7. Martínez MO. 2009. Control químico *in vitro* de hongos contaminantes de cultivos de nardo (*Polianthes tuberosa* L.). Tesis de ingeniería. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. pp. 27.
8. Muralidhar CE y Mehta AR. 1982. Clonal propagation of three ornamental plants through tissue culture methods. In *Plant Tissue Culture 1982. Proceedings 5th International Congress of plant Tissue Cell Culture.* A. Fujiwara, (ed.). pp. 693-694.
9. Ramamoorthy TP, Bye R, Lot A y Fa J. 1998. Diversidad Biológica de México: Orígenes y Distribución. Ed. Instituto de Biología, UNAM. 812 p.
10. Sangavai C y Chellapandi P. 2008. *In vitro* Propagation of a Tuberose Plant (*Polianthes tuberosa* L.). *Electronic Journal of Biology.* 4: 98-101.
11. Villaseñor JL. 1991. Las Heliantheae endémicas de México: una guía hacia la conservación. *Acta Botánica.* 15: 29-46.

BIOACTIVIDAD DE EXTRACTOS METANÓLICOS DE *Rubus* spp

Basurto García Alexander¹, Silva Adame María Blanca¹, Sánchez Rico Tsanda¹, Cortes Penagos Consuelo de Jesús² y García Saucedo Pedro Antonio¹. Correo garsapan@hotmail.com

⁽¹⁾Facultad de Agrobiología "Pte. Juárez". Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

⁽²⁾Facultad de Químico Farmacobiología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

RESUMEN

Tallos y hojas de especies de zarzamora silvestre han sido utilizados en la herbolaria tradicional gracias a la presencia de compuestos con actividad antimicrobiana. Dentro de los principales compuestos reportados con actividad antimicrobiana están los polifenoles; éstos se encuentran distribuidos en diversos órganos de las plantas (flores, frutos, hojas y otros) y pueden actuar como sustancias protectoras contra la radiación UV y como mecanismos de defensa. El género *Pseudomonas* comprende algunas especies que causan daños a diversos cultivos y por consiguiente pérdidas económicas para el sector agrícola. En el presente estudio se evaluó el potencial antimicrobiano de extractos metanólicos de hojas y tallos de zarzamoras silvestres (*Rubus adenotrichos* y *Rubus coriifolius*), colectados en el municipio de Uruapan, Michoacán. Las muestras se deshidrataron y maceraron durante cinco días en metanol; los extractos obtenidos fueron resuspendidos en una solución de Dimetil sulfóxido (DMSO) y agua (1:10 v/v). Se cuantificaron polifenoles mediante el método de Folin-Ciocalteu, registrándose la absorbancia a 760 nm en espectrofotómetro UV-Vis. Los tratamientos para determinar la actividad antimicrobiana de los extractos consistieron en: control absoluto "CA" (papa dextrosa más inóculo); control negativo "CN" (papa dextrosa e inóculo más DMSO y agua 1:10 v/v); extractos crudos de los materiales colectados "EC" (dilución 1:10 de los EC en DMSO y agua 1:10 v/v más papa dextrosa e inóculo). La especie *Rubus coriifolius* presentó un mayor contenido de polifenoles (8.23 ± 0.03 y 0.52 ± 0.02 $\mu\text{g EAG}/\mu\text{L}$, hojas y tallos respectivamente), mientras que *Rubus adenotrichus* presentó menor concentración (1.74 ± 0.03 $\mu\text{g EAG}/\mu\text{L}$ en hojas y 0.46 ± 0.04 $\mu\text{g EAG}/\mu\text{L}$ en tallos). No obstante, el porcentaje de inhibición de la bacteria fue mayor con el extracto obtenido de hojas de *Rubus adenotrichus* ($93.27 \% \pm 0.81$).

INTRODUCCIÓN

El género *Rubus* comprende plantas como la zarzamora y la frambuesa que se desarrollan en varios estados de la República Mexicana, entre los que destaca Michoacán, donde se han descrito especies consideradas de importancia económica. Los frutos de la zarzamora silvestre representan una fuente alterna para el ingreso familiar en las comunidades donde se desarrollan, mientras que los tallos y hojas se utilizan en la herbolaria tradicional gracias a la presencia de compuestos con actividad antimicrobiana y antifúngica contra fitopatógenos, destacando *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata*, *Fusarium* sp., *Pseudomonas* spp., entre otros. No obstante lo anterior, de las más de 700 especies de *Rubus* que se reportan en el mundo, sólo se ha evaluado el potencial antimicrobiano

de un pequeño número ellas, de ahí la importancia de evaluar el potencial de las más de 20 especies mexicanas de *Rubus*. Dentro de los principales compuestos reportados con actividad antimicrobiana están los polifenoles; éstos se encuentran extensamente distribuidos en diversos órganos de las plantas (flores, frutos, hojas, etc.), y actúan como sustancias protectoras contra la radiación UV, atrayentes de polinizadores y como mecanismos de defensa, entre otras acciones. El género *Pseudomonas* comprende algunas especies de bacterias que ocasionan enfermedades al ser humano, un ejemplo de estas es *Pseudomonas aeruginosa* causante de diversos problemas asociados al sistema respiratorio, sin embargo también existen especies que causan daños a diversos cultivos (tizón bacteriano en jitomate, pudrición de la vaina en trigo, gomosis en cerezo, etc.) y por consiguiente pérdidas económicas para el sector agrícola.

En el presente estudio se estableció un protocolo para la obtención de extractos metanólicos de hojas y tallos de dos materiales de zarzamora silvestre colectados en el municipio de Uruapan Michoacán y la evaluación de la bioactividad de estos extractos frente a la bacteria fitopatógena *Pseudomonas sp.*

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta y preparación del material para la obtención de extractos metanólicos

Se colectaron las morfoespecies “Vellosa” y “Glabra” en el cerro “La Charanda” en la ciudad de Uruapan, Michoacán, ubicado con los datos georreferenciales N 19° 26’17.6’’ y W 102° 03’49.3’’. La colecta se realizó con base a las características morfológicas contrastantes de ambas morfoespecies. Las hojas y tallos colectados de las dos morfoespecies fueron sometidos a un proceso de deshidratación por 24 horas haciendo uso de un deshidratador doméstico de platos, rotándolos después de 12 horas de proceso. Posteriormente, las hojas fueron pulverizadas en mortero de porcelana y los tallos fueron cortados en segmentos de aproximadamente 1 cm de longitud, para finalmente almacenarlos en bolsas de plástico herméticas.

Obtención de los extractos crudos (EC)

Para la obtención de los EC se partió de 10 g de hojas y tallos deshidratados los cuales fueron macerados en 100 mL de solvente (metanol) por un periodo de 5 días a 4 °C. Transcurrido ese tiempo, los extractos se filtraron en papel filtro Whatman #4 en un sistema de embudo acoplado a bomba de vacío, posteriormente se concentraron en evaporador rotatorio a 40 °C; finalmente se resuspendieron en una solución de DMSO (dimetil sulfóxido) y agua destilada 1:10 v/v (los EC se almacenaron en refrigeración a 4 °C hasta su utilización).

Cuantificación de compuestos polifenólicos

La cuantificación de compuestos polifenólicos se siguió con base al protocolo establecido por Estupiñán *et al.*, en 2011 y con algunas modificaciones de acuerdo a Singleton *et al.*, 1999. La mezcla de reacción consistió en 50 µL de muestra (extractos de tallos y hojas), 100 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu (FC) y 550 µL de agua destilada para un volumen final de 700 µL. Lo anterior consistió en la primera fase de la cuantificación donde se llevó a cabo una reacción de oxidación por acción del FC, dando un tiempo de incubación de 8 min; posteriormente se agregaron 300 µL de Na₂CO₃ y se incubó durante 15 min a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo, se tomó

lectura de la absorbancia a 760 nm en espectrofotómetro UV-Vis marca Nanodrop 2000c®, utilizando un blanco de reactivos con metanol. Para reportar los resultados, se construyó una curva estándar de ácido gálico partiendo de una solución stock con una concentración de 0.5 mg/mL. Los resultados se expresaron como µg equivalentes de ácido gálico (EAG)/µL. La cuantificación de los compuestos polifenólicos se realizó por triplicado.

Material microbiológico

La actividad antibacteriana de los extractos crudos de zarzamora se evaluó frente a la bacteria modelo *Pseudomonas sp.*, la cual fue obtenida del cepario del Laboratorio de Bioquímica Ecológica del CINVESTAV Unidad Irapuato a cargo del Dr. Víctor Olalde Portugal.

Bioensayos de actividad antimicrobiana

Previo a los ensayos de bioactividad se realizó una cinética de crecimiento de la bacteria fitopatógena *Pseudomonas sp.* a partir de la cual se definió el tiempo de incubación del inóculo, el tiempo para evaluar la inhibición de la bacteria así como la DO y las UFC/mL que correspondían a cada evaluación. Posteriormente en medio líquido papa-dextrosa se dejó crecer la bacteria a temperatura ambiente y en agitación a 150 rpm el tiempo necesario para alcanzar una densidad óptica de 0.9-1, la cual corresponde a una población bacteriana aproximada de 1×10^9 UFC/mL en la fase exponencial de crecimiento. Los tratamientos para determinar la actividad antimicrobiana de los extractos consistieron en: control absoluto “CA” (papa dextrosa más inóculo); control negativo “CN” (papa dextrosa e inóculo más DMSO y agua 1:10 v/v); extractos crudos de los materiales colectados “EC” (dilución 1:10 de los EC en DMSO y agua 1:10 v/v más papa dextrosa e inóculo). Se agregaron 500 µL del inóculo a cada tratamiento/control y fueron incubados durante 10 horas a temperatura ambiente en agitación a 150 rpm. Cada control y tratamiento se estableció por triplicado. Transcurrido el tiempo de incubación se emplearon los métodos de diluciones seriales y siembra en placa para contabilizar las UFC/mL.

Tratamiento/Control	Descripción
Control absoluto	Medio papa-dextrosa (PD)
Disolución usada para resuspensión de extractos (control)	DMSO-H ₂ O 1:10 en medio PD
Extractos crudos	Dilución 1:10 de los EC en medio PD

Descripción de los tratamientos y controles

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se logró la identificación de dos de las tres morfoespecies de zarzamora evaluadas, con el apoyo del Dr. Rzedowski y el Dr. Zamudio del Instituto de Ecología A. C., de la ciudad de Pátzcuaro, Michoacán. Los materiales colectados para este trabajo fueron cotejados con ejemplares depositados en la colección del instituto antes mencionado para lograr su identificación mediante la comparación de características morfológicas de hojas, tallos, frutos, inflorescencias, porte, pubescencias, tipo de espinas, etc. La morfoespecie “Velloso” fue identificada como *Rubus adenotrichos* mientras que la morfoespecies “Glabra” como *Rubus coriifolius*.





Características morfológicas de tallos hojas y flores de Rubus

adenotrichus

Características morfológicas de tallos, hojas y flores de *Rubus adenotrichus*

El resultado obtenido con respecto al contenido total de polifenoles indicó que la especie *Rubus coriifolios* presentó mayor cantidad de polifenoles 8.23 ± 0.03 y 0.52 ± 0.02 $\mu\text{g EAG}/\mu\text{L}$, hojas y tallos respectivamente, mientras que la especie de *Rubus adenotrichus* presentó 1.74 ± 0.03 $\mu\text{g EAG}/\mu\text{L}$ en hojas y 0.46 ± 0.04 $\mu\text{g EAG}/\mu\text{L}$ en tallos.

Contenido de polifenoles totales en extractos de hoja y tallo de *R. coriifolius* y *R. adenotrichus*

No obstante el porcentaje de inhibición de la bacteria fue mayor con el extracto obtenido mediante maceración metanólica de hojas de *Rubus adenotrichus* $93.27\% \pm 0.81$.

% de inhibición de extractos metanólicos de tallo y hoja de *Rubus adenotrichus* frente a *Pseudomonas sp.*². Literales distintas denotan diferencias significativas, Tukey ($p < 0.05$)



A) UFC de la bacteria *Pseudomonas sp.* presentes en $100 \mu\text{L}$ del tratamiento con extracto metanólico de hojas de *Rubus adenotrichus*, B) testigo.

CONCLUSIONES

- Se logró la identificación de dos morfoespecies silvestres de zarzamora colectadas en el municipio de Uruapan Michoacán

- Se estableció un protocolo de extracción de compuestos bioactivos por maceración metanólica.
- En los resultados obtenidos se mostró que los extractos obtenidos de hojas de *R. coriifolius* presentan mayor contenido de compuestos polifenólicos.
- La mayor bioactividad fue presentada por los extractos obtenidos de *R. adenotrichus*
- Lo anterior sugiere que la bioactividad de los extractos no está relacionada directamente con el contenido total de polifenoles, sino con el tipo de compuestos presentes en los extractos y la sinergia que estos puedan establecer entre sí.

BIBLIOGRAFIA

Cottyn, B; HeyleN, K; Heyrman, J; Vanhouteghem, K; Pauwelyn, E; Bleyaert, P; Van-Vaerenbergh, J; Höfte, M; De-Vos, P; Maes, M. 2009. *Pseudomonas cichorii* as the causal agent of midrib rot, an emerging disease of Greenhouse-grown butterhead lettuce in Flanders. *Systematic and Applied Microbiology*, 32: 211-225.

Cuesta, D; Vallejo, M; Guerra, K; Cárdenas, J; Hoyos, C; Loaiza, Ea; Villegas, M. 2012. Infección intrahospitalaria por *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente: estudio de casos y controles. *Medicina UPB*, 31: 135-142.

Cuevas-Rodríguez, E. O.; Dia, V. P.; Yousef, G. G.; García-Saucedo, P. A.; López-Medina, J.; Paredes-López, O.; González de Mejía, E.; Lila, M. A. 2010. Inhibition of pro-inflammatory responses and antioxidant capacity of mexican blackberry (*Rubus* spp.) extracts.

Daglia, M. 2012. Polyphenols as antimicrobial agents. *Curr Op Biotech*, 23:174-181.

Garzón, G. A.; Riedl, K. M.; Schwartz, S. J. 2009. Determination of anthocyanins, total phenolic content, and antioxidant activity in Andres berry (*Rubus glaucus* Benth). *J Food Sci*, 74: c227-c232.

Määttä-Riihinen, K. R.; Kamal-Eldin, A.; Törrönen, A. R. 2004. Identification and quantification of phenolic compounds in berries of *Fragaria* and *Rubus* species (Family Rosaceae). *J Agric Food Chem*, 52: 6178-6187.

Panizzi, L.; Caponi, C.; Catalano, S.; Cioni, P. L.; Morelli, I. 2002. In vitro antimicrobial activity of extracts and isolated constituents of *Rubus ulmifolius*. *J Ethnopharm*, 79: 165-168.

Puupponen-Pimiä, R.; Nohynek, L.; Alakomi, H. L.; Oksman-Caldentey, K. M. 2005. Bioactive berry compounds-novel tolols against human pathogens. *Appl Microbiol Biotechnol*, 67: 8-18

Rzedowski, J. y Calderón, R. G. 2005. Rosaceae. Flora del Bajío y de regiones adyacentes, Fascículo 135, Co-edición entre el Instituto de Ecología, A.C. y la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Morelia, Michoacán. pp 123-143.

PRODUCCION DE BIOGÁS A PARTIR DE RESIDUOS GENERADOS POR EL CULTIVO DE *Pleurotus ostreatus* UTILIZANDO COMO INÓCULO ESTIÉRCOL DE VACA

Blanca Alvarez^a, Luis Tovar^a

^aCentro Interdisciplinario de Investigaciones y Estudios sobre Medio Ambiente y Desarrollo IPN, México, D.F., k_at_hara@hotmail.com, lrtovar@hotmail.com .

RESUMEN

La digestión anaeróbica de los residuos orgánicos como los residuos de paja generados por el cultivo *Pleurotus ostreatus* (RPP) representan un medio importante de generación de biogás además de que se minimiza la cantidad de residuos en el medio ambiente. En este estudio se evaluó por cromatografía de gases, el potencial bioquímico de metanización BMP (por sus siglas en inglés Biochemical Methane Potential) de los residuos generados por la industria del cultivo de setas *Pleurotus ostreatus* utilizando como inóculo estiércol de vaca, a 55°C y 60 rpm por 51 días. Para el análisis de los datos generados se utilizó el programa estadístico SigmaPlot 12.0. En cuanto a los resultados del volumen de biogás el resultado indica una diferencia significativa con $P \leq 0.05$ de la paja s-t (paja sin tratamiento) y los RPP indicando que los RPP producen mayor cantidad de biogás que la paja que no ha sido tratada por *Pleurotus ostreatus*. Se observó un incremento de los RPP del 40% comparado con la productividad de biogás de la paja s-t (de 108.95 ml a 153.59 ml de CH_4/g SV de sustrato). Para la producción de metano se observa una diferencia significativa con $P \leq 0.05$ entre los RPP y la paja s-t. Se observó un incremento del 94% en la producción de metano en los RPP con respecto a la paja s-t (de 25.06 ml a 57.52 ml de CH_4/g SV de sustrato).

INTRODUCCION

La paja de trigo es un residuo que se produce en mayor cantidad en Europa, y el segundo más grande en el mundo después de la paja de arroz. De acuerdo a la FAO, 446 millones de toneladas secas de residuos agrícolas son generados cada año. En el territorio mexicano los desechos agrícolas son abundantes, entre esos residuos encontramos la paja proveniente de cultivos de trigo, arroz, avena y cebada. El trigo representa el 21% del consumo de granos básicos, ubicado en el segundo lugar después del maíz, con 52 kg consumo per cápita. Cinco estados, Sonora, Guanajuato, Baja California, Michoacán y Chihuahua concentraron el 65% de la superficie sembrada de trigo en el 2009 que fue de 802 mil ha.

La búsqueda de fuentes de energía renovables, junto con la preocupación en las emisiones de gases de efecto invernadero ha aumentado el interés en materiales de lignocelulosa tales como la paja como una fuente de energía. La paja es un sustrato particularmente adecuado para la producción de energía debido a su gran disponibilidad y bajo costo.

Un uso alternativo que se le da a la paja de trigo es como sustrato para la producción del hongo *Pleurotus ostreatus*. El hongo *Pleurotus ostreatus*, es uno de los géneros más importantes que prosperan con éxito en los residuos agroindustriales de México. Actualmente la producción de hongos comestibles ofrece notables ventajas sociales, económicas y ecológicas. Se estima que la producción comercial en fresco es de aproximadamente 28,895 toneladas anuales. México es el mayor productor de América Latina ya que genera alrededor del 56% de la producción total de región y lo ubica en el lugar 18 como productor a nivel mundial. La paja de trigo al ser utilizada

como sustrato para el crecimiento de *Pleurotus ostreatus* pierde componentes como la lignina y dejando residuos de paja que no fue degradada por el hongo.

La digestión anaerobia es una tecnología útil para transformar los residuos en biogás. La producción de biogás es un proceso complejo formado por cuatro etapas, en cada etapa participan diferentes especies de bacterias transformando por diversas vías metabólicas la materia orgánica en biogás. Las reacciones que se presentan en la digestión anaerobia son: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis estas reacciones se realizan simultáneamente. Una vez efectuadas las etapas anteriores se produce el biogás mezcla de gases compuesta esencialmente por metano y dióxido de carbono, en menores cantidades nitrógeno, sulfuro de hidrogeno, vapor de agua. En proceso de digestión anaerobia debe de tomarse en cuenta diversos factores: temperatura, pH, tipo de sustrato, inóculo, tamaño de partícula, con la finalidad de obtener buenos rendimientos.

El objetivo de este estudio es evaluar el potencial bioquímico de metanización de los residuos de paja generados por el cultivo de *Pleurotus ostreatus*.

PARTE EXPERIMENTAL

Potencial Bioquímico de Metanización

Para determinar la producción de biogás y el potencial bioquímico de metanización de los residuos de paja de trigo generados por *Pleurotus ostreatus*, se caracterizó fisicoquímicamente el inóculo y el sustrato.

El BMP de los residuos generados por *Pleurotus ostreatus* así como de los controles se hizo con una relación 1:1 de SV del inóculo y del sustrato haciendo los cálculos a partir de los resultados de la caracterización (Tabla 1). El inóculo y el sustrato fueron colocados en viales de 125ml, después se le colocó una tapa de goma con un septo de aluminio tapadas a presión con un sellador, de esta manera se impide la salida o entrada de aire. Una vez sellados los viales éstos se purgaron con gas helio para de esta manera garantizar las condiciones anaerobias del sistema. Los viales se colocaron dentro de la incubadora marca Daihan Labtech a 55°C con agitación constante de 60 rpm. Se midió la producción de CH₄ y CO₂ tomando muestra del espacio de cabeza del vial a través del septo para después ser inyectado (1 ml) en el cromatógrafo de gases. Para la cuantificación del volumen generado en el sistema se utilizó una jeringa de 10 o 3 ml y por desplazamiento del embolo de la jeringa se midió el volumen generado en el vial. El análisis de la producción de gas se hizo dos veces por semana durante 51 días (1). El diseño de los grupos experimentales se muestra en la Tabla 2.

Tabla 1 Caracterización del sustrato e inóculo.

Parámetros	Estiércol de vaca	Paja s/t	Residuos de <i>Pleurotus</i>	Celulosa (papel filtro)
Humedad %	82.70 ± 1.04	5.09 ± 0.56	50.51 ± 0.03	3.933 ± 0.32
Sólidos Totales %	17.29 ± 1.04	94.91 ± 0.56	49.49 ± 0.03	96.067 ± 0.32
Sólidos Volátiles %	75.17 ± 0.24	91.50 ± 0.26	92.60 ± 0.18	95 ± 0.23
pH	7.85 ± 0.23	9.34 ± 0.11	7.23 ± 0.33	-----

Tabla 2 Diseño de los grupos experimentales

Grupos			
Control (-)	Control (+)	Paja sin tratamiento	Residuos de paja de <i>Pleurotus ostreatus</i>
Estiércol de vaca	estiércol de vaca / celulosa	Estiércol de vaca / paja sin tratamiento (paja s-t)	Estiércol de vaca / residuos de paja de <i>Pleurotus ostreatus</i> (RPP)

Inóculo

Como inóculo se utilizó estiércol de vaca, se obtuvo del establo San Simón en el Estado de México, después de la recolección, las muestras fueron transferidas al laboratorio y almacenadas en obscuridad en una incubadora Shell lab SL a 55°C. Se almacenó en la incubadora por algunos días con la finalidad de lograr que los microorganismos se adapten a la temperatura termófila así como para descomponer la materia orgánica que pudiera quedar en el inóculo.

Sustrato

Como sustratos se utilizaron los residuos de paja de trigo provenientes del cultivo de *Pleurotus ostreatus* y paja sin tratamiento. Los residuos así como paja sin tratamiento fueron proporcionados por el laboratorio de Bioconversiones de la UPIBI, IPN. Una vez recolectadas las muestras se redujeron de tamaño de partícula 2-5 mm para enseguida realizar un muestreo por cuarteo. Una parte de la muestra se almacenó fresca a 4°C, y otra se secó en la estufa a 75 ± 5°C durante 48 hr para análisis posteriores.

Métodos analíticos

Para la caracterización del inóculo, y sustrato se evaluaron los parámetros: humedad, sólidos totales (ST), sólidos volátiles (SV), y pH, de acuerdo al manual de Sadzawka et al. (2). Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

Para el análisis cuantitativo y cualitativo del biogás se utilizó un CG marca Perkin Elmer Autosystem, equipado con una columna empacada marca Alltech elaborada de Parapack QS con 0.085" de diámetro interno y 12' de longitud. El equipo trabaja con un detector de conductividad térmica (TCD) funcionando a 220°C, el puerto inyector a 150°C, y el horno a 110°C. El gas de soporte empleado fue gas helio con un flujo de 30 ml min⁻¹ y una presión de 39 psi proporcionados por Praxair. El CG está conectado a un UPAD-2 (datos Apex) y los datos se procesaron con la versión Clarity Chromatograph Station versión 2.8.1.584, lanzado en el 2009 por Data Apex Ltd.

Tratamiento de los datos

La producción de metano y biogás a partir de cada tratamiento se restó a la producción de metano y biogás producida por el blanco negativo (vial solamente con inóculo), de esta manera se representa la producción neta de metano y de biogás de los tratamientos con sustrato.

Tomando en cuenta que las condiciones de temperatura y presión del experimento se realizaron a 55°C y 0.77 atm, fue necesario normalizar los datos esto es, hacer la equivalencia del volumen de gas obtenido a 25°C y 1 atm, para ello se hizo uso de la siguiente ecuación:

$$1) X_{STP} = X_m * \frac{T_{Standard} * P_m}{T_m * P_{Standard}}$$

Donde: X_{STP}= Volumen de metano o biogás a condiciones de temperatura y presión estándar, X_m = Temperatura experimental, P_m = Presión atmosférica, T_{Standard} = Temperatura de 25°C, P_{Standard} = Presión de 1 atm (3).

RESULTADOS

Los datos obtenidos de la acumulación de biogás y metano para los distintos tratamientos fueron analizados con el programa estadístico SigmaPlot 12.0. Los resultados se muestran abajo.

Producción de biogás

Los datos obtenidos de la producción de biogás en los distintos tratamientos se ajustaron a una distribución normal al pasar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, obteniendo una probabilidad de $P=0.915$. Una vez pasada la prueba de normalidad se aplicó el análisis de variancia de una vía (Tabla 3) con los datos de los volúmenes acumulados de biogás. Una vez demostrado que había diferencia significativa entre los grupos se hizo una comparación de medias por el método de Student-Newman-Keuls (Tabla 4) para determinar en qué tratamientos se presentó diferencia significativa. Los resultados muestran que hay diferencia significativa en todos los grupos experimentales al mostrar diferencia significativa indica que los RPP producen mayor cantidad de biogás que la paja s-t, esto es, el tratamiento con el hongo tiene efecto favorable en la producción de biogás.

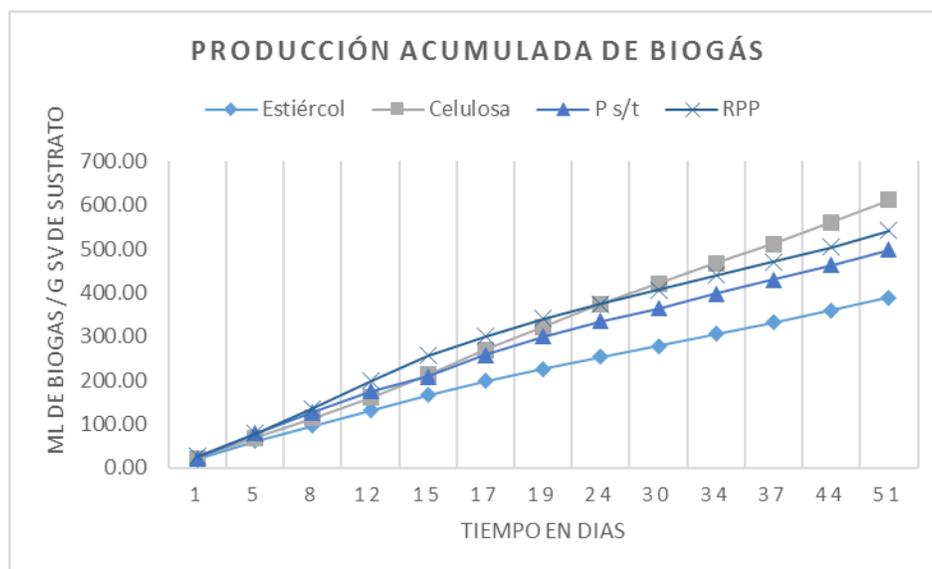
Tabla 3 Análisis de variancia de una vía para los distintos tratamientos en la producción de biogás

Fuente de variación	Grados de libertad	SCx	S ²	F	P
Entre grupos	3	79095.196	26365.065	103.944	<0.001
Residuo	8	2029.184	253.648		
Total	11	81124.380			

Tabla 4 Comparación de medias por el método de Student-Newman-Keuls en la producción de biogás.

Comparación	Diferencia de medias	p	q	P	p<0.050
Celulosa vs. Estiércol	223.555	4	24.312	<0.001	Si
Celulosa vs. Paja s/t	114.596	3	12.463	<0.001	Si
Celulosa vs. RPP	69.956	2	7.608	<0.001	Si
RPP vs. Estiércol	153.599	3	16.705	<0.001	Si
RPP de vs. Paja s/t	44.641	2	4.855	0.009	Si
Paja s/t vs. Estiércol	108.958	2	11.850	<0.001	Si

Gráfica 1 Producción acumulada de biogás



Producción de metano

Los datos obtenidos de producción de metano en los distintos tratamientos se ajustaron a una distribución normal al pasar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, obteniendo una probabilidad de $P=0.821$. Una vez pasada la prueba de normalidad se aplicó el análisis de variancia de una vía (Tabla 5) con los datos de los volúmenes acumulados de metano. Una vez demostrado que había

diferencia significativa entre los grupos se hizo una comparación de medias por el método de Student-Newman-Keuls (tabla 6). Lo que determina esta prueba es que existe diferencia significativa en la producción de metano entre todos los grupos; indica una diferencia significativa entre el grupo paja s-t y RPP indicando que el tratamiento con *Pleurotus ostreatus* aumenta la producción de metano con respecto a la paja s-t.

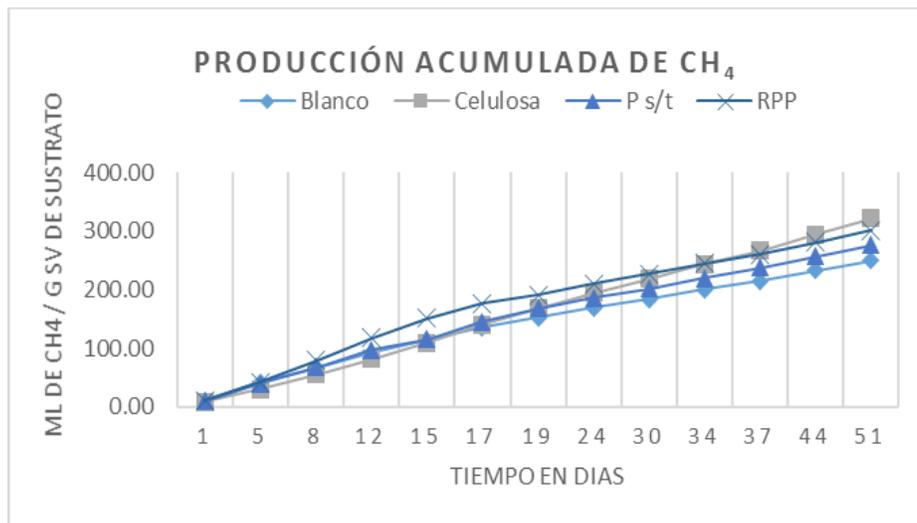
Tabla 5 Análisis de variancia de una vía para los distintos tratamientos en la producción de metano

Fuente de variación	Grados de libertad	SCx	S ²	F	P
Entre grupos	3	8877.959	2959.320	28.452	<0.001
Residuo	8	832.087	104.011		
Total	11	9710.046			

Tabla 6 Comparación de medias por el método de Student-Newman-Keuls en la producción de metano

Comparación	Diferencia de medias	p	q	P	p<0.050
Celulosa vs. Estiércol	72.419	4	12.299	<0.001	Si
Celulosa vs. Paja s/t	45.353	3	7.702	0.002	Si
Celulosa vs. RPP	Estiércol	2	3.378	0.044	Si
RPP vs. Estiércol	52.529	3	8.921	<0.001	Si
RPP vs. Paja s/t	25.463	2	4.324	0.016	Si
Paja s/t vs. Estiércol	27.066	2	4.597	0.012	Si

Gráfica 2 Producción acumulada de metano



La Tabla 7 muestra los ml netos de biogás y metano por g SV de sustrato acumulado en los 51 días (no se muestra el control estiércol porque se considera que ya se ha restado a los otros grupos experimentales).

Tabla 7 Mililitros de biogás y metano neto acumulado

Sustrato	Vol. Biogás	Vol. Metano
	ml de biogás / g SV de sustrato	ml de CH ₄ / g SV de sustrato
Celulosa	223.55 ± 24.35	72.41 ± 14.52
Paja s / t	108.95 ± 13.528	27.06 ± 12.08
RPP	153.59 ± 15.33	52.52 ± 7.80

Se observó un incremento en el volumen de biogás de los RPP del 40% comparado con la productividad de biogás de la paja s-t (de 108.95 ml a 153.59 ml de CH₄ / g SV de sustrato). En la producción del volumen de metano se obtuvo un incremento del 94% en la producción de metano en los RPP con respecto a la paja s-t (de 25.06 ml a 57.52 ml de CH₄ / g SV de sustrato). El porcentaje de metano obtenido en este estudio está muy por arriba de lo que reportan otros investigadores por lo que es necesario realizar más pruebas.

CONCLUSIONES

Los resultados generados al momento indican que los residuos de paja generados por el cultivo de *Pleurotus ostreatus* utilizando como inóculo estiércol de vaca favorece la producción de metano con respecto a la paja sin tratamiento. De esta manera es posible darle un valor añadido a este tipo de residuos contribuyendo a la producción de energía y a la conservación del medio ambiente.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Hansen, T. L., Schmidt, J. E., Angelidaki, I., Marca, E., Jansen, J., Mosbaek, H., & Christensen, T. (2004). Method for Determination of methane potentials of solid organic waste. *Waste Management*, 24, 393-400. doi:10.1016/j.wasman.2003.09009
- 2) Sadzawka R., A., Carrasco R, M., Grez Z, R., & Mora G, M. (2005). *Métodos de Análisis de Compost*. Santiago de Chile.
- 3) Angelidaki, I., Alves, M., Borzacconi, L., Campos, J., Guwy, A., Kalyuzhnyi, K. S., van Lier, J. (2009). Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. *Water Science & Technology-WST*, 59(5), 927-934. doi:10.2166/wst.2009.040

COMPARATIVO DE DOS FUENTES DE CARBONO EN LA GENERACIÓN DE ELECTRICIDAD EN UN SISTEMA DE CELDAS DE COMBUSTIBLE

Monica Margarita Rodríguez Garza, Claudia Gabriela Cuellar Gaona , José Antonio Rodríguez de la Garza, Alma Idalia Soria Ortiz, Yolanda Garza García

Universidad Autónoma de Coahuila , Saltillo, Coah., monica.rodriguez@uadec.edu.mx , gabriela.cuellar17@hotmail.com, antonio.rodriguez@uadec.edu.mx, aso12390@hotmail.com, ygarza@uadec.edu.mx

RESUMEN

Todo Los mayores desafíos que se tienen en la actualidad son el agotamiento de combustibles fósiles , la contaminación ambiental y el desarrollo de fuentes de energía renovables . Uno de los enfoques más prometedores es el uso de microorganismos para convertir la biomasa en energía . Las celdas de combustible microbiano son biorreactores que utilizan microorganismos , generalmente bacterias para oxidar sustratos orgánicos y generar energía eléctrica durante la transferencia de electrones hacia un aceptar final; lo que las convierten una tecnología prometedora para la producción directa de energía eléctrica a partir de diferentes tipos de sustratos , en esto radica la mayor importancia de este tipo de método. Algunas de las aplicaciones de este tipo de tecnología , son el tratamiento de agua residual, la producción de hidrogeno, desalinización de agua marina y la biorremediación de ecosistemas naturales. El objetivo de este trabajo fue probar glucosa y acetato como sustratos orgánicos diferentes, para le generación de energía eléctrica mediante microorganismos anaerobios en un sistema de celdas de combustible microbianas de dos cámaras. El monitoreo de este sistema se realizó durante 173 horas de trabajo, registrando el voltaje de la celda y monitoreando la demanda química de oxígeno de la cámara anódica. Observamos que en un sistema de celda de combustible microbiano la generación de voltaje depende de la oxidación efectiva de la fuente de carbono .

Se demostró que la glucosa tuvo un mejor rendimiento en cuanto a la generación de electricidad en CCM, en comparación con el acetato . Esto se certifica , porque el rendimiento energético en ATP de la glucosa es mucho mayor en comparación con el acetato.

INTRODUCCIÓN

Las celdas de combustible microbianas (CCM) son birreactores que convierten la energía química de los enlaces en los compuestos orgánicos a través de reacciones catalíticas en los microorganismos, bajo condiciones anaerobias [1].

La creciente demanda de energía en el mundo y el uso excesivo de combustibles fósiles han provocado serios problemas de contaminación ambiental y el calentamiento global de la tierra . Por lo que en la actualidad, numerosos grupos de investigación a nivel mundial se han enfocado en la búsqueda de fuentes alternativas de energía que contribuyan de manera sustentable a mitigar dicha demanda .

Este método es relativamente nuevo y ha tomado auge en los últimos 25 años debido a que los microorganismos pueden ser usados en estos sistemas para generar electricidad mientras llevan a cabo la biodegradación de materia orgánica o residuos presentes principalmente como contaminantes es agua. El hecho de que las bacterias pueden generar corriente eléctrica se conoce desde 1910 y fue reportado por primera vez por Potter en 1912. Teóricamente , la mayoría de los microbios, pueden

potencialmente , ser usados como catalizadores de en celdas de combustible microbianas , CCM (MFC siglas en ingles). Esto no generó mucho interés sino hasta la década de los 80's, cuando se descubrió que la densidad de corriente y la potencia podían mejorarse en gran medida con la adición de mediadores de electrones. El interés real en las celdas de combustible microbianas ha crecido enormemente en años recientes, tanto en términos de número de investigadores como en número de aplicaciones de estos sistemas .

Las celdas de combustible microbianas , conocidas también como MFC por sus siglas en inglés (Microbial Fuel Cell), resultan ser una opción prometedora para la generación de energía renovable y proporcionando nuevas oportunidades para desarrollo sustentable³¹ .

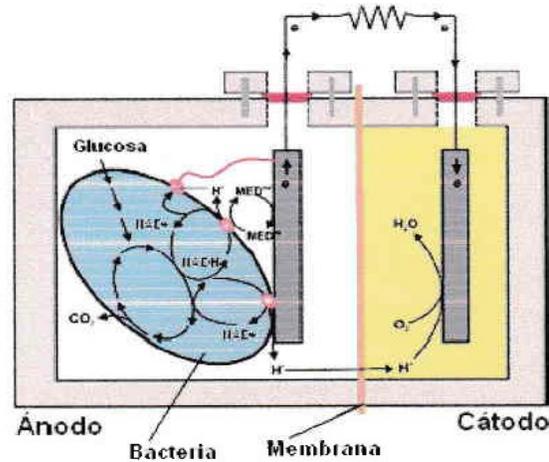


Figura1. Esquema de una celda de combustible microbiana de dos cámaras

Se han empleado una gran variedad de sustratos en el ánodo para la generación de energía, incluyendo acetato, celulosa , aguas residuales municipales e industriales, etc. Se ha mejorado la tecnología y funcionamiento de la celda misma, sin embargo un factor común y que tiene gran relevancia , es la formación de la biopelícula microbiana en el ánodo.⁴¹

PARTE EXPERIMENTAL

Se utilizó un sistema de celda de combustible microbiana de dos cámaras de Nylamid con un volumen de trabajo de 200 ml, conectadas , usando membrana de intercambio catiónico Ultrex® C-7000. Los electrodos usados en las CCM fueron de acero inoxidable recubiertos de grafito en ánodo y cátodo . Las CCM's se trabajaron en modo Batch y semicontinuo con recirculación y condiciones anaerobias en la cámara anódica, usando acetato y glucosa como donadores de electrones a pH7, y a temperatura ambiente.

Para el cátodo se usaron 100mL de una solución de Ferricianuro de Potasio $1 \times 10^{-3} \text{M}$ de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en O.SM, para cada celda.

El contenido de la cámara anódica de cada celda se describe a continuación

Celda #1, Blanco: En la primera celda se usó 20% (v/v) de lodo anaerobio y 80% (v/v) de agua destilada.

Celda #2, Acetato: En la segunda celda se usó 20% (v/v) de lodo anaerobio, y 80% (v/v) de una solución que contenía 3g/L de acetato como fuente de carbono y medio mineral.

Celda #3, Glucosa: En la tercera celda se usó 20% (v/v) de lodo anaerobio y 80% (v/v) de una solución que contenía 3g/L de glucosa como fuente de carbono y medio mineral.

Las celdas se monitorearon por 24 horas a circuito abierto y posteriormente se colocó en el sistema una resistencia de 62.3MO (megaohms) durante 172 hrs de trabajo efectivo en las CCM.

Observamos en la Figura 2, el voltaje generado por las 3 celdas montadas. En un sistema de celda de combustible microbiano la generación de voltaje depende de la oxidación de la fuente de carbono. De manera muy clara, el voltaje registrado para la celda alimentada con acetato como fuente de carbono podemos observar que el máximo de voltaje se presenta aproximadamente a las 120 horas de trabajo en las celdas. La generación de voltaje en la celda alimentada con glucosa alcanza una tendencia de aumento exponencial a partir de 35 horas y se mantiene así hasta alcanzar un estado estable de generación de voltaje de 730 mV a partir de las 125 horas de trabajo.

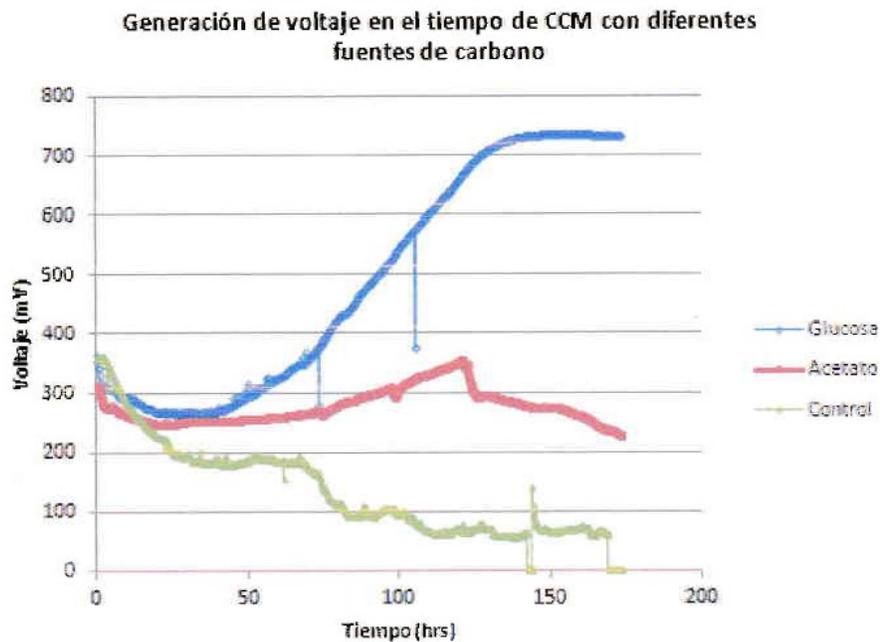


Figura 2. Generación de voltaje en las CCM con diferentes fuentes de carbono .

El período de adaptación de los microorganismos en todas las celdas fue de 35 horas en modo Batch. Después de este período adaptación de los microorganismos al medio, conforme avanzaba el tiempo se observa que la glucosa en comparación con el acetato tiene un incremento exponencial en corriente y potencia hasta alcanzar una potencia máxima normalizada de 0.043mW/m. Figura 3 y 4.

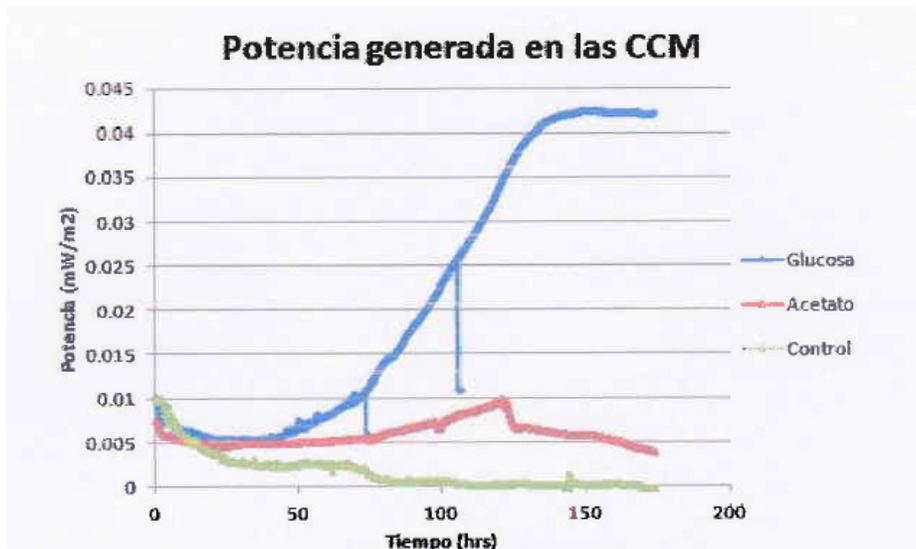


Figura 3. Potencia generada en las CCM.

Con los datos obtenidos durante la cinética en las diferentes celdas se calculó la Corriente (Amperes) y la Potencia (mW/m^2) generada normalizada al área del ánodo en las CCM. La potencia generada por las CCM se midió en mW/m^2 usando la ecuación de potencia para obtener los datos correspondientes a cada celda.

La figura No.3 nos muestra que al usar una resistencia de 62.3MO , la máxima potencia generada fue de $0.0423 \text{ mW}/\text{m}^2$ con un voltaje de 732 mV para la glucosa y $0.0396 \text{ mW}/\text{m}^2$ con un voltaje de 224mV para el acetato.

La densidad de corriente más alta obtenida en la celda que contenía glucosa fue de $1.17\text{E}-7$ y para el acetato $3.59\text{E}-8$, esta diferencia de corriente se aprecia muy bien en la figura 4.

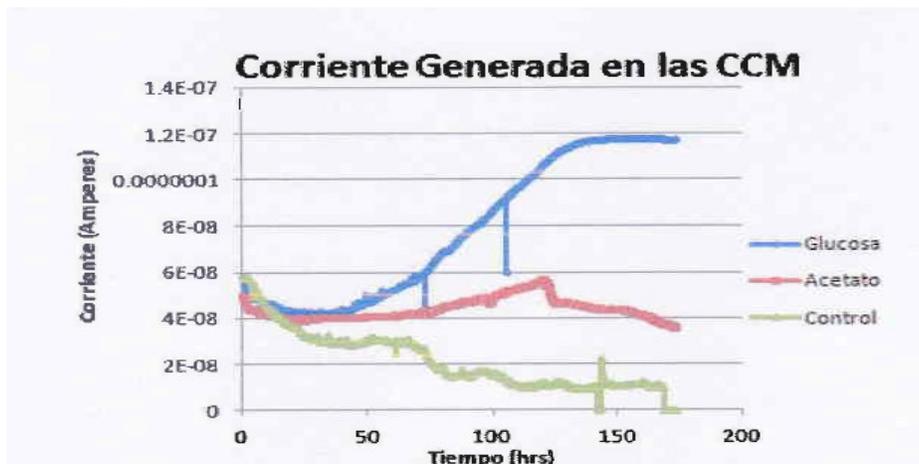


Figura 4. Corriente generada en las CCM.

CONCLUSIONES

Se demostró que la glucosa tuvo un mejor rendimiento en cuanto a la generación de electricidad en CCM, en comparación con el acetato .

Esto se certifica , porque el rendimiento energético en ATP de la glucosa es mucho mayor en comparación con el acetato .

Se probó que una Celda de Combustible Microbiana genera electricidad a través de microorganismos , por medio de la alimentación de estos, a través de diferentes sustratos orgánicos.

Con los resultados obtenidos Se puede observar como dependiendo del sustrato varia la eficiencia en cuanto a la generación de electricidad de las CCM.

El lodo anaerobio en una fuente de bacterias para CCM que se obtiene fácilmente p.ej, de una planta de tratamiento de aguas residuales, este tipo de lodo contiene un consorcio de microorganismos electroquímicamente activos.

Este tipo de celdas no requiere esterilización , la generación de electricidad depende de: la capacidad de adaptación microbiana , debido a la diversidad de microorganismos presentes en el consorcio, y de los sustratos utilizados , como fuentes de carbono.

Se demostró que la glucosa tuvo un mejor rendimiento en cuanto a la generación de electricidad en

CCM, en comparación con el acetato . Esto se certifica , porque el rendimiento energético en ATP de la glucosa es mucho mayor en comparación con el acetato.

BIBLIOGRAFIA

1. Zhou M, Wang H, Hassetb DJ, Guc T: Recent advances in microbial fuel cells (MFCs) and microbial electrolysis cells (MECs) for wastewater treatment, bioenergy and bioproducts , J Chem Technol Biotechnol. 2012 wileyonlinelibrary .com, DOI10.1002/jctb.4004
2. Lovley DR: Microbial fuel cells: novel microbial physiologies and engineering approaches , Elsevier , Curr. Biotech. 2006, 17:327-332.
3. Rabaey K, Clauwaert P, Aelterman P, Verstraete W: Tubular microbial fuel cells for efficient electricity generation , Environ. Sci. Technol 2005 , 39:8077-8082.
4. Rabaey K, Boon N, Hofte M, Verstraete W: Microbial phenazine production enhances electron transfer in biofuel cells. Environ. Sci. Technol 2005 , 39: 3401-3408 .
5. Rabaey K, Lissens G, Verstraete W : Microbial fuel cells: performances and perspectives . Chap.20.
6. Rabaey K, Lissens G, Steven D, Verstraete W and Verstraete S: A microbial fuel cell capable of converting glucose to electricity at high rate and efficiency . Biotech. letters 2003 , Kluwer academic publishers, 25:1531-1535.
7. Cheng S, Liu H, Logan BE: Increased performance of single-chamber microbial fuel cell using an improved cathode structure . Electrochem. commun . 2006. 8:489-494 .
8. Gorby YA, Yanina S, Mclean JS, Rosso KM, Moyles D, Donhalkova A, Beveridge TJ, Chang IS, Kim BH, Kim KS, Culley DE, Reed SB, Romine MF, Saffarini DA, Hill EA, Shi , Ellas EA, Kennedy DW, Pinchuk G, Watanabe K, Ishii S. Logan B, Nealsqf t<H. Fr drickson JK: Electrically conductive bacteria! nanoWires produced by Shewan oneidensis strain MR-1 and other microorganism. PNAS 2006 : V.103 No.30:11358-11363 .

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA LECHE DE CABRAS LECHERAS SUPLEMENTADAS CON ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO (CLA) EN LA RACIÓN

Velázquez GD², Delgado HA¹, Gaspar SD², Rodríguez GJA², Bernal SMG¹, De La Isla HG¹, Domínguez HYM², Pulido AAR²

¹Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro, Qro., dalia@uaq.mx

²CEIEPAA-FMVZ-UNAM, Tequisquiapan, Qro.

RESUMEN

Con objeto de evaluar los cambios en la composición química de la leche de cabras de las razas Alpino Francés y Toggenburg, suplementadas con CLA, se emplearon 40 animales distribuidos completamente al azar entre dos tratamientos: 1) control, sin CLA y 2) suplementación de 30 g de CLA/animal/d. El CLA fue incluido en el concentrado comercial (21% de PC) al ser extrudido. Los animales fueron alojados en grupos de 10 en 4 corrales con piso de tierra, cuelleras individuales y bebedero, recibiendo heno de alfalfa en greña a libertad en la mañana y en la tarde, y 600 g de concentrado/animal/d solamente por la tarde, registrándose el consumo de ambos. El CLA se suplementó a partir de las dos semanas previas a la fecha probable de parto y continuó hasta los 120 días de la lactancia. Los animales fueron ordeñados una vez al día por la mañana. Semanalmente se registró la producción individual de leche, muestreándose la leche cada dos semanas para determinar su contenido de % de proteína cruda, % de grasa, % de lactosa, % de sólidos no grasos y conteo de células somáticas (CCS/ml). No se encontraron diferencias entre tratamientos en los componentes analizados ($P > 0.1$), siendo las medias (\pm EE), para proteína cruda de $3.3 \pm 0.06\%$, grasa $4.27 \pm 0.18\%$, lactosa $4.61 \pm 0.05\%$, sólidos no grasos $8.74 \pm 0.10\%$ y conteo de células somáticas $10999341.65 \pm 223705.96$. Bajo las condiciones del presente estudio, la suplementación de CLA a cabras lecheras durante el primer tercio de la lactación, no afectó la composición de la calidad química de la leche.

INTRODUCCIÓN

El ácido linoleico conjugado (CLA), se encuentra en varios alimentos de origen animal ya sean carne, leche o quesos el cual se ha evaluado desde diferentes puntos de vista tanto de la alimentación humana como en la animal. En estos últimos diversos estudios han demostrado que en animales productores de leche incrementan la producción sin menoscabo de la salud animal; (O'kinn *et al.*, 2000; Lock *et al.*, 2008; Fernandes *et al.*, 2014); mientras tanto, con la alimentación de estos productos ya sea leche o carne por el humano se ha reportado que tiene efecto anticancerígeno, previene la arterioesclerosis y reduce el colesterol sanguíneo. (Campbell and Kreider, 2008; Koba and Teruyodhy, 2014). Esto puede explicarse por la acción de los ácidos grasos insaturados que en las dietas de los rumiantes promueven la formación de intermediarios que inhiben la síntesis de grasa, los cuales son cis-9, trans - 11, y cis-12, trans - 10 (López *et al.*, 2013), los estudios en caprinos lecheros son mínimos por lo cual se planteó esta investigación.

TEORÍA

En la leche los lípidos son los componentes más importantes en términos de costo de producción, calidad y rendimiento, estos factores se ven afectados tanto por la calidad de la dieta de los animales que van influir directamente en las características físicas, químicas y sensoriales que adquirirán los productos elaborados a partir de la leche como es el queso (Park *et al.*, 2007). La concentración de CLA en la leche en diferentes especies de rumiantes varía con la temporada principalmente debido a las variaciones en los factores de alimentación. El interés en aumentar el contenido de CLA y cambiar el perfil de ácidos grasos en la leche mediante la manipulación de la dieta es que puede proporcionar un alimento al humano de valor añadido en cuestiones de salud pública; aunque, el contenido de CLA en los productos lácteos se ve afectada por muchos factores, establecer estrategias de alimentación que conlleven a productos de calidad nutricional reduciendo factores de riesgo en la salud de las personas es una práctica de manejo en la alimentación que se

debe establecer (Haenlein, 2004; Park *et al.*, 2007). La composición nutricional de la leche de la cabra difiere de la leche de vaca y se caracteriza por sus altos niveles de grasa y proteína, así como por su mayor digestibilidad; sin embargo, la calidad de la leche no sólo depende de la especie o de la raza de los animales, sino que también se ve influenciada en gran medida por la dieta que se les suministra. La leche de cabra se diferencia en contenido de sus ácidos grasos significativamente de la media de grasa de leche de vaca, siendo valores mayores en los ácidos butírico, caproico, caprílico, cáprico, láurico, mirístico, palmítico, linoleico y en menor proporción los ácidos esteárico y oleico. (Park *et al.*, 2007; Bedoya, 2012).

PARTE EXPERIMENTAL

El experimento se llevó a cabo en las instalaciones del CEIEPAA-FMVZ-UNAM, en Tequisquiapan Qro. Se utilizaron 40 cabras lecheras multíparas en producción, distribuidas en dos tratamientos: a) control, sin CLA y 2) suplementación con CLA, a razón de 30 g animal/d, los animales fueron alojados en corrales de tierra con bebedero automático, se alimentaron con alfalfa henificada dos veces al día a las 08:00 y 13:00 horas, además de alimento concentrado comercial a razón de 600g/animal suministrado a las 16:00 horas, en este fue incorporado el CLA. El período de investigación tuvo una duración de 120 días a partir de la fecha de parto más 15 días previos considerados como período de adaptación al concentrado, en donde los animales fueron ordeñados una vez al día y se tomó muestra de leche cada 15 días para medir su composición química, para lo cual se emplearon las técnicas descritas por la AOAC (1990) empleando un equipo MILKOSCANT, y el contenido de células somáticas empleando un contador células somáticas (DeLaval ®). Los animales fueron distribuidos al azar para un diseño experimental completamente aleatorio (Cochran and Cox, 1990), siendo las variables de respuesta el porcentaje de: grasa, proteína, lactosa, sólidos no grasos y cuenta de células somáticas (unidades/ml). Los resultados se analizaron empleando los procedimientos PROC GLM y lsmeans del paquete estadístico de SAS (2001).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 1 se presenta la composición química de la leche de los animales del grupo control y los que recibieron la suplementación del CLA.

Cuadro 1: Composición química de la leche en cabras suplementadas con CLA¹

Componente	Control	Tratamiento	Pr>F
Grasa %	4.27 ± 0.18	4.38 ± 0.17	0.67
Proteína %	3.29 ± 0.06	3.32 ± 0.06	0.76
Lactosa %	4.63 ± 0.05	4.60 ± 0.05	0.71
Sólidos no grasos %	8.73 ± 0.10	8.75 ± 0.10	0.89
Células somáticas (CCS/ml)	1067611 ± 231171	1131072.13±216240	0.84

¹Los valores representan la media ± error estándar.

Como se observa en el Cuadro 1, no existió diferencia entre tratamientos, lo cual resulta contrario a lo reportado por Lock *et al.*, (2008) quienes encuentran una reducción significativa en la cantidad de grasa en cabras suplementadas con 30 o 60 g/CLA/día; de igual manera que lo reportado por Fernandes *et al.*, (2014) quienes utilizando un grupo control y tratamientos con 15, 30 y 45 g/día de CLA, en cabras lecheras encuentran que se deprime la producción de grasa en leche.

Por otra parte, en lo referente a la composición de la calidad fisicoquímica de la leche, los niveles de grasa, proteína, lactosa y sólidos no grasos, se encuentran dentro de los establecidos en la norma oficial mexicana NMX-F-7278-COFOCALEC-2007, la misma que establece que por conteo de células somáticas en leche se encuentra en la clase 3, siendo apta para consumo humano y sin ningún proceso infeccioso en los animales.

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones del presente estudio, la suplementación con 30g/animal/día de CLA en cabras lecheras durante el primer tercio de lactación no afectó la composición química ni la calidad sanitaria de la leche de cabras.

Se agradece a Grupo NUTEC, Querétaro, Qro., BASF Mexicana, S.A. de C.V., y Fondo para el Fortalecimiento de la Investigación en la Universidad Autónoma de Querétaro-2013, por el patrocinio recibido para llevar a cabo este estudio.

BIBLIOGRAFÍA

1. AOAC. "Official Methods of analysis. Association of official analytical chemists". 1990.
2. A.L. Lock, M. Rovai, T.A. Gipson, M.J. De Veth and D.E. Bauman. 2008. "A Conjugated Linoleic Acid Supplement Containing Trans-10, Cis-12 Conjugated Linoleic Acid Reduces Milk Fat Synthesis in Lactating Goats", 2008, *Journal of Dairy Science*. 91, pp. 3291-3299.
3. B. Campbell and R.B. Kreider, "Conjugated Linoleic Acids", *American College of Sports Medicine*, 2008, pp. 237-241.
4. D. Fernandes, M.A.S. Gama, C.V.D. Ribeiro, F.C.F. Lopes and D.E. De Oliveira, "Milk fat depression and energy balance in stall-fed dairy goats supplemented with increasing doses of conjugated linoleic acid methyl esters", 2014, *Animal*. 8(4); pp. 587-595.
5. G.F.W. Haenlein, "Goat milk in human nutrition", 2004, *Small Ruminant Research* 51, pp. 155-163.
6. K. Koba and Y. Teruyodhi, "Health benefits of conjugated linoleic acid (CLA)", 2014, *Obesity Research and Clinical Practice*, 8, pp. 525-532.
7. M.O Bedoya, R.R Noguera y S.L Posada, "Composición de la leche de cabra y factores nutricionales que afectan el contenido de sus componentes", *Corporación Universitaria Lasallista*, 2012, pp. 93-110.
8. O.R. López, G.G. Muñiz, A. E. Islas, R.R. Valverde, R.A. Flores y C.I. Ponce, "Los isómeros CIS-9, TRANS -11 y TRANS-10, CIS-12 de ácido linoleico conjugado y su relación con producción de leche de vacas holstein – Fresian", *Rev. Méx. De Ciencias Pecuarias*, Vol. 4(3), pp. 339 – 360.
9. P.R. O'Quinn, J.L. Nelssen, R.D. Goodband and M.D. Tokach, 2000. "Conjugated linoleic acid" *Animal Health Research Reviews* 1 (1) pp. 35-46.
10. W. G. Cochran y M.G. Cox, M. G. "Diseños Experimentales". 2ed. (Editorial Trillas. México, 1990).
11. Y.W. Park, M. Juárez, M. Ramos and G.F.W. Haenlein, "Physico-chemical characteristic of goat and sheep milk", *Small Ruminant Research* 68, pp. 88-113.

PRODUCCIÓN DE PROTEÍNA MICROBIANA UTILIZANDO NOPAL COMO SUSTRATO EN FERMENTADORES EN ESTADO SÓLIDO PARA LA ALIMENTACIÓN ANIMAL

H. Cabrera ^a, A. Aguilera ^a, T. Reis ^a, M. G. Bernal ^a y K. Escobar ^b

^a Maestría en Recursos Bióticos. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Autónoma de Querétaro. hector.cabrera90@gmail.com, araba@uaq.mx, tercia@uaq.mx, dalia@uaq.mx

^b Doctorado en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Autónoma de Querétaro. konisgmar.escobar@uaq.mx.

RESUMEN

En el presente trabajo se implementó un sistema de fermentación en estado sólido (FES) para nopal forrajero (*Opuntia ficus indica*) a través del crecimiento aeróbico de levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*) para obtener un producto proteico para consumo animal. El nopal molido aproximadamente a 2.5 mm² fue inoculado para su FES aeróbica con 0, 0.25, 0.5 y 1% de levadura seca de panificación en recipientes de 1.5 kg de capacidad por triplicado. A las 0, 6, 12, 18, 24, 30 y 36 horas de fermentación el material se agitó durante 5 segundos, se registró el pH y se tomó muestra para determinar el contenido de materia seca y proteína cruda (PC). Se observó un efecto directamente proporcional ($P < 0.05$) del nivel de levadura sobre el contenido de PC (26 a 63% incremento). El tiempo óptimo de fermentación donde se alcanzó el máximo contenido de PC fue a partir de las 6 horas ($P < 0.05$), permaneciendo constante hasta las 36 h. Para mejorar el crecimiento de levaduras a una concentración de 0.75% se incluyó urea como fuente de nitrógeno a diferentes niveles (0, 0.5, 1 y 1.5%), la FES aeróbica también se llevó a cabo en recipientes de 1.5 kg de capacidad por triplicado. Los muestreos se realizaron a las 0, 6, 12, 18 y 24 horas. Se observó un efecto directamente proporcional ($P < 0.05$) del nivel de urea sobre el contenido de PC (incremento de 200 a 500%). El tiempo óptimo de fermentación donde se alcanzó el máximo contenido de PC (55% en BS) fue a las 3 horas ($P < 0.05$), disminuyendo paulatinamente hasta las 24 h ($P < 0.05$). La FES es un sistema rápido, económico y adecuado para incrementar el contenido proteico del nopal para consumo animal que puede ser realizado por pequeños productores de zonas semiáridas de México, favoreciendo la producción animal y mejorando su poder adquisitivo.

INTRODUCCIÓN

El nopal se puede considerar un alimento base de la alimentación de rumiantes en el semidesierto, ya que es un cultivo que está distribuido en una gran parte de la república, tiene características importantes como son la resistencia a las condiciones climatológicas extremas y escasas de lluvia durante periodos prolongados, teniendo la función también de ser un cuerpo captador de agua. Entre los factores de importancia que tiene el nopal para la alimentación de rumiantes son: mayor eficiencia productiva que muchas gramíneas o pastos forrajeros de hoja ancha, precocidad de crecimiento y alta producción, resistencia a plagas y enfermedades y buena aceptación por el ganado (Rodríguez, 2012). En la región semiárida del país existen pocas alternativas de producción de forrajes en condiciones de temporal por la escasez de agua, erosión de suelos y altos costos de producción, donde se encuentran el incremento constante del precio de los insumos (diesel, semilla, fertilizante, etc.). Uno de los factores que más impacta en el aumento de los costos es el incremento del precio del diesel ya que de diciembre del 2009 a octubre de 2013 pasó de 8.16 a 14.20 pesos por litro, lo cual representa un aumento de cerca de 74.01% (PEMEX,

2015). El contenido de proteína del nopal es bajo, 3.4 - 4% en base seca, por lo que ésta se convierte en la principal limitante para llenar los requisitos de los animales cuando se alimentan con nopal (Aguilera *et al.*, 2001; Flores y Suassuna, 2006), por lo cual es primordial incrementar este nutrimento. Para incrementar el contenido de la proteína en el nopal se pueden utilizar levaduras, hongos y bacterias mediante fermentación aeróbica (Flores y Suassuna, 2006). En la bibliografía se reporta el uso de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* que permite el incremento de proteína desde un 7.8 a 41.13% en harina de maíz precocida (Gualtieri y Sánchez, 2003). El uso de *S. cerevisiae* como suplemento en dietas fibrosas produce modificaciones en los patrones de fermentación en el rumen como la mejora en la utilización de la fibra y disponibilidad de los nutrientes, aumento en el número de bacterias celulolíticas y disminución en la concentración de ácido láctico (Rodríguez, 2012).

PARTE EXPERIMENTAL

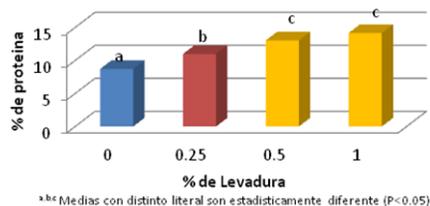
Etapa 1: Evaluación de la inclusión de levadura (*Saccharomyces cereviceae*) a diferente concentración sobre la eficiencia en la producción de proteína empleando nopal como materia prima a diferentes tiempos de FES. El nopal se corto en trozos de aproximadamente 1 cm² y se molió a razón de obtener partículas de 2.5 mm. Posteriormente se adiciono el inóculo de levadura (*Saccharomyces cereviceae*) en la concentración correspondiente (0, 0.25, 0.5 y 1% en base a materia húmeda). La mezcla se deposito en recipientes de PVC con capacidad de 1.5 kg, previamente bien lavados. Los fermentadores en estado sólido (FES) aerobios se taparon con gasa y se colocaron en condiciones de temperatura ambiente permaneciendo bajo estas condiciones durante 36 horas. Cada tratamiento se hizo por triplicado. Los muestreos se realizaron a las 0, 6, 12, 18, 24, 30 y 36 horas de fermentación aerobia. En cada hora de muestreo se agitó durante 5 segundos el producto fermentado, se tomó aproximadamente 100 g del material fermentado, e inmediatamente se tomo el pH por potenciometría. A la muestra colectada se le determinó el contenido de materia seca por secado en estufa de aire forzado a 95°C y proteína cruda por el método de Kjeldahl (AOAC, 2002). Los resultados se analizaron aplicando un diseño factorial completamente aleatorio mediante el análisis de ANOVA aplicando el paquete estadístico SAS (2008). La comparación entre medias se realizó con la prueba de Tukey (P < 0.05).

Etapa 2: Con respecto a los resultados obtenidos de la prueba 1, se evaluó la inclusión de 0.75% de levadura (*Saccharomyces cereviceae*) y diferentes niveles de urea como fuente nitrogenada sobre la eficiencia en la producción de proteína empleando nopal como materia prima para reducir costos de producción. El nopal se corto en trozos de aproximadamente 1 cm² y se molió a razón de obtener partículas de 2.5 mm. Posteriormente se adicionó el inóculo de levadura (*Saccharomyces cereviceae*) a una concentración de 0.75% en base a materia húmeda y urea a diferentes concentraciones (0, 0.5, 1 y 1.5%). La mezcla se depositó en recipientes de PVC con capacidad de 1.5 kg, previamente bien lavados. Los fermentadores en estado sólido (FES) aerobios se taparon con gasa y se colocaron en condiciones de temperatura ambiente permaneciendo bajo estas condiciones durante 24 horas. Cada tratamiento se hizo por triplicado. Los muestreos se realizaron a las 0, 6, 12, 18 y 24 horas de fermentación aerobia. En cada hora de muestreo se agitó durante 5 segundos el producto fermentado, se tomaron aproximadamente 100 g del material fermentado, e inmediatamente se tomó el pH por potenciometría. A la muestra colectada se le determinó el contenido de materia seca por secado en estufa de aire forzado a 95°C y proteína cruda por el método de Kjeldahl (AOAC, 2002).

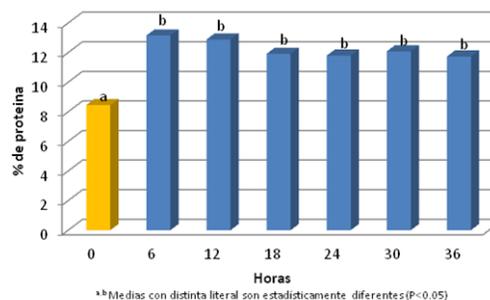
Los resultados se analizaron aplicando un diseño factorial completamente aleatorio mediante el análisis de ANOVA aplicando el paquete estadístico SAS (2008). La comparación entre medias se realizó con la prueba de Tukey ($P < 0.05$).

RESULTADOS

Etapa 1. El contenido de proteína cruda mostró diferencias significativas ($P < 0.05$) por el tratamiento (niveles de levadura) (Gráfica 1) y por el tiempo de fermentación (Gráfica 2). La proteína cruda se incrementó con respecto al nivel de levadura, teniendo concentraciones iguales con 0.5 y 1% de levadura. La proteína cruda aumentó ($P < 0.05$) de las 0 a las 6 h de fermentación, permaneciendo constante ($P > 0.05$) su concentración de las 6 a las 36 h.



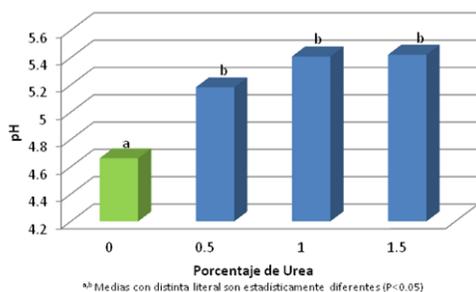
Gráfica 1. Efecto del nivel de levadura sobre el contenido de PC



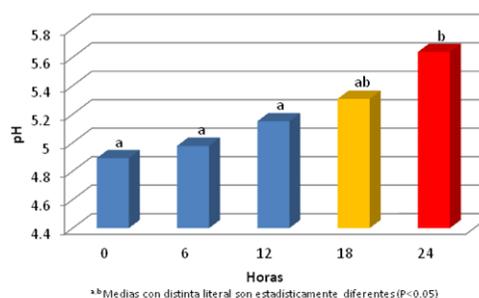
Gráfica 2. Efecto del tiempo de fermentación sobre el contenido de PC

Etapa 2. La decisión de incluir 1% de urea en esta etapa y no de 1.5% fue por el riesgo de intoxicación debido al exceso de nitrógeno no proteico al utilizarlo como alimento en ovinos y caprinos.

El pH del nopal fermentado mostró diferencias significativas ($P < 0.05$) con respecto a las concentraciones de urea y al tiempo de fermentación (Gráfica 3 y 4, respectivamente). El pH se incrementó ($P < 0.05$) de 0 a 0.5 % de urea, permaneciendo constante ($P > 0.05$) hasta el 1.5% de urea debido a la naturaleza básica de la urea. El pH se mantuvo constante de las 0 a las 12 hrs ($P < 0.05$) incrementándose hasta las 18 y a las 24 hrs ($P > 0.05$).

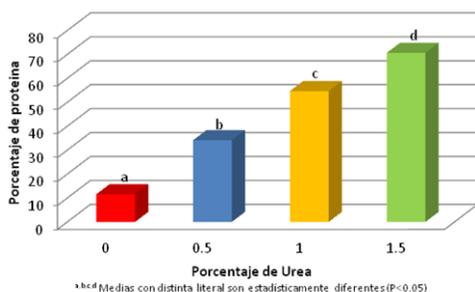


Gráfica 3. Efecto del nivel de urea sobre el pH

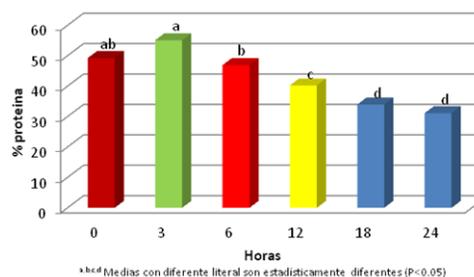


Gráfica 4. Efecto del tiempo de fermentación sobre el pH

El contenido de proteína cruda del nopal fermentado mostró diferencias significativas ($P < 0.05$) con respecto a las concentraciones de urea y al tiempo de fermentación (Gráfica 5 y 6, respectivamente). El contenido de PC fue directamente proporcional al nivel de urea, mostrando una máxima concentración a las 3 h.



Gráfica 5. Efecto del nivel de urea sobre el contenido de PC



Gráfica 6. Efecto del tiempo de fermentación sobre el contenido de PC

CONCLUSIONES

La inclusión de 0.75% de levadura y de 1% de urea en base húmeda con 3 horas de fermentación aeróbica en estado sólido del nopal se obtiene el mayor contenido de proteína posiblemente derivado del crecimiento de levaduras dentro del fermentador. Este alimento enriquecido en su contenido de proteína cruda y económicamente viable es una opción como fuente de fibra enriquecida en proteína para la alimentación animal en zonas semiáridas.

Proyecto financiado por FOFI – UAQ 2013

BIBLIOGRAFÍA

1. S.J.I. Aguilera, L.R.G. Ramírez, L.F. Méndez, "Utilización de nopal como alimento animal. In: *Opuntia as Forage*". FAO (2001. ed.), pp. 45-52.
2. A.O.A.C.. Official Methods of Analysis. 14th Edition. "Association of Official Analytical Chemist", Washington, 1984, DC. pp. 152-157.
3. V.C. Flores, A. Suassuna, "Experiencias en el enriquecimiento proteico del nopal en Brasil y México". Centro de Investigaciones Económicas, Sociales y Tecnológicas de la Agroindustria y la Agricultura Mundial. 2006, Chapingo, México.
4. M. Gualtieri, C.J.A. Sánchez, "Producción de proteína unicelular de levaduras crecidas en desechos de harina de maíz precocida (*Zea mays*)". Rev. Fac. Farmacia 45, 2003, pp.17-22.
5. O.E. Gutiérrez, A. Elías, H.A. Santos, A. Facundo, T.H. Morales, B.H. Bernal, "Uso del nopal nativo y cultivado en la alimentación de rumiantes". VIII Simposio Taller Nacional y 1er internacional "Producción y aprovechamiento del nopal", 2008, pp. 66-74.
6. Petróleos Mexicanos. 2014. Obtenido de: http://ri.pemex.com/files/dcpe/petro/epublico_esp.pdf. Consultado [12/01/15].
7. M.C. Rodríguez, "Tecnologías para la suplementación del ganado en épocas críticas", 2012. Obtenido de: http://www.uach.mx/noticias/2012/03/20/expogan_panelistas/. Consultado [01/03/15].
8. SAS, SAS/STAT® 9.2 User's Guide. SAS Institute Inc., Cary, NC, 2008.

DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE LA HARINA DE SEMILLAS DE GUAYABA (*Psidium guajava*)

Rubén M. Aguirre-Alcalá^a, P. Maldonado^a, Joanna L. Jara^a,

^aCentro Universitario de los Altos, Benemérita Universidad de Guadalajara, madguirre@cualtos.udg.mx, pedroalos14@hotmail.com, yojarli@hotmail.com.

RESUMEN

En el procesamiento industrial de la guayaba solamente se utiliza la pulpa (epicarpio y mesocarpio), la cual representa aproximadamente el 40% del fruto maduro (pericarpio y semilla), quedando el 60% restante como co-producto (endocarpio y semilla) derivado del proceso agroindustrial. Por su parte, la semilla de guayaba en estado fresco contiene 80% de fibra, misma que es subutilizada en la cadena agroalimentaria respectiva.

Es en dicho contexto que el planteo metodológico y técnico incursiona en la investigación aplicada respecto de las propiedades físico-químicas de la harina de semillas de guayaba para determinar su aplicabilidad industrial, hecho que nos permitirá corroborar la factible comercial del aprovechamiento integral del fruto.

La materia prima se obtiene mediante operaciones unitarias básicas que van desde la deshidratación de las semillas hasta su ulterior pulverización, donde los conceptos relevantes validados fueron; tamaño de partícula (1mm), cantidad de humedad extraída (70%), materia seca (30%), propiedades organolépticas (sabor y aroma característicos) y nutraceuticas (fibra 38% y vitamina C).

En este estudio fue observada poca variabilidad (4.93%) en cuanto al contenido de fibra de las harinas de semillas de los frutos con diferentes estados de madurez de consumo (sazón y maduro), fluctuando entre 32.90 y 37.83%, siendo su valor promedio del orden de 35.37%.

Por tanto, la harina de semillas de guayaba adicionada con gluten (brinda mayor amalgamado), además que preserva las propiedades organolépticas típicas (sabor y olor) del fruto, es un producto viable para consumo humano por las bondades de la fibra que contiene (10.8%), posicionándose como la harina con mayor contenido de fibra entre las harinas comerciales existentes (Gottau, 2013).

Otro aspecto a favor, lo constituye la disponibilidad de materia prima (semillas), ya que dicho co-producto se descarta de las plantas procesadoras de frutas al considerarlo residuo de desecho utilizados en primera instancia como abono orgánico.

PALABRAS CLAVE: Co-producto, propiedades nutraceuticas y organoléptica.

INTRODUCCION

Principalmente el fruto de la guayaba es consumido en estado fresco, sin embargo en épocas de abundancia se industrializa gran parte de la cosecha, sobre todo los frutos que no cumplen con los estándares de mercado nacional e internacional, dichos excedentes son canalizados a procesos agroindustriales para elaboración de una versátil gama de productos y derivados (jugo, néctar, ate, mermelada, licor de guayaba y dulces diversos). Durante su procesamiento solamente se utiliza la pulpa (epicarpio y mesocarpio) la cual represente aproximadamente el 40% del pericarpio (fruto y semilla), quedando el 60% restante como co-producto (endocarpio y semilla) derivado del proceso agroindustrial.

Las semillas contienen cantidades variables de compuestos esenciales que las plantas utilizan para su germinación y establecimiento en el sustrato mineral. Estos compuestos nutricios pueden ser utilizados por el hombre en lugar de ser desechados sin ninguna utilidad (Lawrence *et al*, 1990); para conocer su posible utilidad es importante estudiar la composición y cantidad de nutrientes tales como proteínas, carbohidratos, lípidos y fibra, y en base a las cantidades y características propias que presenten buscarles alguna posibilidad de uso (Vasco-Méndez *et al*, 2005)

La semilla de guayaba es una parte de la fruta que contiene grandes cantidades de fibra (80%), que en la industria alimentaria no siempre se utiliza para la elaboración de productos con valor agregado; lo cual abre un nicho de oportunidad para la elaboración de harina y así contribuir a la optimización de su uso como fibra dietética:

- Mejora de la función intestinal, regulando la digestión, previniendo el estreñimiento y la enfermedad diverticular.
- Mejora la absorción de hidratos de carbono.
- Reduce los niveles de glucosa y mejora los perfiles de lípidos.
- La fibra aumenta el volumen de la dieta sin añadir calorías, lo que puede tener un efecto saciante y ayudar así a controlar el peso

Esta harina es un producto que puede contar con aceptación no solo del público en general, sino también en la industria panificadora, añadiendo valor agregado a los productos que elaboran, hecho que nos permite corroborar la factibilidad del aprovechamiento integral del fruto.

El producto comercial generado se obtiene mediante operaciones unitarias básicas que van desde la deshidratación de la materia prima hasta su ulterior envasado, donde los aspectos relevantes considerados fueron; tamaño de partícula (1mm), cantidad de humedad extraída y propiedades organolépticas y nutricionales.

MARCO TEORÍCO

Conforme a resultados del análisis proximal practicado por Vasco-Méndez y colaboradores (2005) a 12 selecciones de semillas y un testigo, muestra que la semilla de guayaba tiene un alto contenido de materia seca que va de 88 a 92% y que básicamente es 80% fibra, 11% aceite, 9% proteína y 1.5% cenizas. La fibra total ésta compuesta de lignina (25%) y hemicelulosa (65%), lo que la hace una fibra poco digerible, datos muy similares a los obtenidos por otros investigadores (El y Yassen, 1997; Bernardino *et al*, 2001). La semilla de guayaba es básicamente fibra que según Jiménez-Escrig y col., (2001) es fibra dietaria antioxidante, por lo que se considera podría ser incluida en alimentos para aumentar la cantidad de fibra en la dieta.

El estudio de los diferentes tipos de fibra, constata que la fibra digerible es aproximadamente el 20% (la diferencia a completar 100% de la fibra detergente neutro), el 80% corresponde a fibra detergente neutro que es fibra no digerible para organismos monogástricos como los humanos, pero es fácilmente digerible por rumiantes, de la misma forma la fibra detergente ácido que en este caso alcanza porcentajes del 70%. La lignina detergente ácido corresponde a la fracción de fibra que no es digerible ni por los rumiantes y alcanza porcentajes del 30%. Bourgeois y col. (1998) mencionan en su artículo, que si se elimina la parte fermentable de la fibra queda un polvo fino parecido a sílice que podría ser utilizado como abrasivo en productos cosméticos para la piel. Básicamente se puede mencionar que el 80% de la fibra de la semilla de guayaba no es digerible para el humano, por lo cual se podría emplear como fibra en la elaboración de productos con contenidos variables de fibra. El 70% de la fibra es digerible por los rumiantes, por lo que podría constituir una fuente de fibra en la elaboración de alimento para rumiantes (Vasco-Méndez *et al*, 2005).

Existen pocas referencias documentales sobre investigación aplicada a cerca de semilla de guayaba, cabe enunciar las propuestas de El & Yassen (1997), donde proponen que la harina de la molienda de semilla de guayaba se utilice en la preparación de galletas sustituyendo parte de la harina de trigo; Bourgeois y col., (1998) que estudiaron el aceite de la semilla, proponiendo su utilización en la elaboración de jabones, productos de baño y productos de belleza; Jiménez-Escrig y col., (2001) que indican que la fibra de la semilla de guayaba es una fuente de fibra dietaria con actividad antioxidante; Bernardino-Nicanor y col., (2001) reportan una caracterización bioquímica de la proteína de la semilla y sus características funcionales; Vasco-Méndez y col., (2002) reportan el perfil de ácidos grasos de la semilla de guayaba e indican que es una buena fuente de ácido linoléico, ya que es el ácido graso que se encuentra en mayor cantidad (80%) en la semilla.

Por otra parte, según datos del EUFIC (2014) el consumo de fibra dietética (producto etiquetado como agente terapéutico para diabéticos y personas con problemas digestivos) ha aumentado en los últimos años, ya que la adición de fibra en alimentos, ayuda a mejorarlos dándoles propiedades benéficas para la salud, y bien, la semilla de guayaba es una parte de la

fruta con grandes cantidades de fibra no digerible, y que en la industria alimentaria tiene poca o nula utilización; es en este contexto que el susodicho proyecto agroindustrial incursiona en la investigación aplicada respecto de las propiedades nutraceuticas de la harina de semilla de guayaba para su aplicación en la industria panificadora, hecho que nos permite corroborar la factible del aprovechamiento integral del fruto.

MATERIALES Y METODOS

En virtud a sus excelentes características físico-químicas, el fruto del guayabo (*Psidium guajava* L.) dispone de un amplio potencial de aplicaciones, por tanto, esta investigación se enfoca en el estudio sobre las propiedades intrínsecas de la semilla, las cuales pueden llegar a constituir hasta el 10 % del peso del fruto (Quijada *et al*, 2007), misma que contiene el 80% de fibra (Castro *et al*, 2010), pudiendo por consiguiente, ser incluida en los alimentos como fibra dietaria antioxidante (Jiménez-Escrig *et al*, 2001), siendo el criterio de aplicabilidad industrial la harina de la molienda de semilla de guayaba, a efecto de que se utilice en la preparación de galletas sustituyendo parte de la harina de trigo (El & Yassen, 1997). Lo anterior con el propósito de proponer alternativas que fortalezcan la respectiva cadena productiva, al plantear posibles usos de dicho residuo agroindustrial (Castro *et al*, 2010).

De tal forma que las semillas de guayaba con diferentes estados de madurez de consumo (fruto sazón y maduro) fueron sometidas a técnicas clásicas de trituración, donde las operaciones unitarias del proceso (Tabla 1) son: 1. Extracción y lavado de materia prima (semillas de guayaba); 2. Pesaje de materia prima utilizando balanza analítica; 3. Descolado y despulpado de manera manual; 4. Deshidratación en estufa a 60°C hasta eliminar el 75% de agua para obtención de granulometría recomendada; 5. Molienda y tamizado hasta un tamaño de partícula de 1mm; 6. Mezclado de gluten de trigo con harina de semilla de guayaba en una relación de 1.0 a 0.33; 7. Almacenamiento de la harina bajo refrigeración en contenedor hermético.

Tabla 1. Diagrama de flujo OTIDA (Operación, Transporte, Inspección, Demora, Archivo).

OPERACIÓN UNITARIA	O	T	I	D	A	OBSERVACIONES
Recepción de materia prima		X				Verificar que la semilla esté libre de impurezas
Deshidratación	X					Eliminar 70%-75% de agua.
Molienda	X					Obtener partículas de 1mm.
Tamizado			X			Inspeccionar granulometría.
Mezclado	X					Proporcionar gluten.
Almacenamiento	X					Control de humedad ambiental.
Empaquetado	X					Verificar pesos (kg).

Se comenzó con los análisis proximales de las harinas de semilla de guayaba de acuerdo a la metodología de la AOAC (1995), obteniendo un concentrado de fibra como principal componente de las semillas deshidratadas, donde se realizó un estudio de los porcentajes permisibles de amalgamado con gluten de trigo, y por ende determinar la relación idónea de la mezcla para panificación.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en el presente estudio (Tabla 2), permiten considerar a la semilla de guayaba en diferentes estados de madurez de consumo (sazón y maduro), no solo como

fuentes alternativas de fibra dietética, al contener entre 33 y 38% de concentrado de fibra bruta (Aguirre-Alcalá *et al*, 2015), sino como una fuente importante de compuestos fenólicos con actividad antioxidante (Castro *et al*, 2010).

Tabla 2. Rendimiento de la semilla en dos diferentes estados de maduración del fruto.

Guayab a	Estado de madurez	Peso fresco (gramos)	Peso seco (gramos)	Porcentaje de materia seca	kg materia prima requerida para un kg harina	% de fibra
Semilla	sazón	1000	314.9	31.49606299 %	3.175	32.90
Semilla	madura	1000	302.1	30.21978022 %	3.309	37.83

Así mismo se determinó el porcentaje permisible de amalgamado con gluten de trigo (Tabla 3), que en suma establece la relación idónea de la mezcla para panificación.

Tabla 3. Propiedades nutricionales estudiadas

HARINA	% total de concentrado y gluten	CONCEPTO	% Total aportado
Semilla guayaba	33.33	Proteínas	16.32
+	+	Lípidos	1.30
gluten	66.66	Fibra	10.80

En un análisis comparativo con las harinas comerciales existentes (Gottau, 2013), ésta mezcla de harina presenta dos puntos porcentuales más en contenido de fibra (Tabla 4).

Tabla 4. Comparativo de harinas atendiendo a la cantidad de fibra.

Harina	Contenido en fibra (por 100 g)
Harina de trigo estándar	4.58
Harina de trigo integral	9.00
Harina de maíz	9.40
Harina de arroz	2.40
Harina de centeno	8.50
Harina de papa	5.90
Harina de trigo adicionada con semilla de guayaba (Goyave)	10.80

Fuente: propia a partir de Gottau, Gabriela (2013)

CONCLUSIONES

La harina de semilla de guayaba adicionada con gluten (mayor propiedad en maleabilidad) es un producto viable para consumo humano por las bondades de la fibra que contiene (11%), además que preserva las propiedades organolépticas típicas (sabor y olor) del fruto sin tener que agregar ningún tipo de aditivo sintético. Otro aspecto a favor, lo constituye la disponibilidad de materia prima (semilla), ya que dicho co-producto se deja de lado y en alguno de los casos se considera como producto de desecho de las plantas procesadoras de frutas.

BIBLIOGRAFIA

1. Association of Official Analytical Chemists, *Official Methods of Analyses* (AOAC, Arlington, Va. USA, 1995).
2. Castro H., Restrepo L. P. y F. Parada, "Semillas de guayaba: ¿Residuo o subproducto?", en *Desarrollo de productos funcionales promisorios a partir de la guayaba (Psidium guajava L.) para el fortalecimiento de la cadena productiva* (Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia, 2010), Parte 03, Capítulo 8, pp.

- 189-198. Recuperado a las 10:00 horas del 10 de Octubre de 2014, de http://www.bdigital.unal.edu.co/8536/10/10_Parte03_Cap08.pdf
3. Consejo Europeo de Información sobre la Alimentación, "Fibra alimentaria – su función en una dieta sana", en FoodToday (EUFIC, Bruselas, Bélgica, 2005), Boletín junio 6, 2 pp. Recuperado a las 11:00 horas del 10 de octubre de 2014, de <http://www.eufic.org/article/es/nutricion/fibra/artid/fibra-alimentaria-funcion-dieta-sana/>
 4. D. M. H. A. S. El, A. A. E. Yassen. Evaluation of utilization of guava seed meal (*Psidium guajava* L.) in cookies preparation as wheat flour substitute. Nahrung, Vol. 41, 6, 1997, pp. 344-348.
 5. G.E. González *et al*, Guayaba su cultivo en México (INIFAP, Centro de Investigación Regional Norte Centro, Campo Experimental Pabellón, Aguascalientes, México, 2002), Libro Técnico 1, pp. 26-27
 6. G. Sánchez, La red de valor guayaba en el oriente de Michoacán: Bases para un desarrollo regional competitivo y sustentable (Fundación PRODUCE Michoacán A.C., Morelia, Michoacán, México, 2007), Serie Sistemas de Inteligencia de Mercados para el Desarrollo Competitivo del Sector Agropecuario del Estado de Michoacán, Vol. 4, pp. 59-62. Recuperado a las 12:00 horas del 10 de octubre de 2014, de <http://www.siac.org.mx/tecnos/16mich.pdf>
 7. Gottau Gabriela (2013) Análisis nutricional de diferentes tipos de harinas. Recuperado de Vitónica el 28 de octubre de 2014 en <http://www.vitonica.com/alimentos/analisis-nutricional-de-diferentes-tipos-de-harina>
 8. N. L. Vasco-Méndez, I. Guevara-Romero, M. G. Acero-Godínez, J. F. Toro-Vázquez. Chemical composition of seeds and oil of guava (*Psidium guajava* L.). Scientia Naturae, Vol. 4, 2, 2002, pp. 25-32.
 9. N. L. Vasco-Méndez, J. F. Toro-Vázquez, S. Padilla-Ramírez, "Composición química de la semilla de guayaba" en Memorias del II Encuentro: Participación de la Mujer en la Ciencia (Centro de Investigaciones en Óptica A. C., León, Guanajuato, México, 2005), 5 pp. Recuperado a las 13:30 horas del 10 de octubre de 2014, de http://www.congresos.cio.mx/2_enc_mujer/Extenso/Posters/S1-QUI07.doc

GERMINACIÓN Y TRASPLANTE DE MORINGA (*MORINGA OLEIFERA*) EN EL ESTADO DE QUERÉTARO

Eduardo Morales Osornio^a, Araceli Aguilera Barreyro^a, Tércia Reis de Souza^a, Ma. Guadalupe Bernal Santos^a y Konisgmar Escobar García^a

^aMaestría en Salud y Producción Animal Sustentable, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro, eduardomosornio@gmail.com, araba@uaq.mx, dalia@uaq.mx, tercia@uaq.mx, konisgmar.escobar@uaq.mx

RESUMEN

Moringa oleifera es una planta originaria del norte de India, que recientemente ha sido estudiada por su contenido de proteína cruda (17-19%) y su resistencia a la sequía, como forraje para la alimentación animal en México. Con el objetivo de conocer la viabilidad de producir este forraje en el estado de Querétaro, se realizaron pruebas de germinación en tres tipos de recipientes para posteriormente trasplantar a campo. Para la germinación de las semillas se utilizó una mezcla de sustrato compuesta por 50% de peat moss, 33.3% de tezontle en polvo y el 16.6% de una mezcla de vermiculita, dolomita, limestone y sphagnum moss. El sustrato se revolvió y se humedeció para colocarlo dentro de los recipientes elegidos. El primer recipiente fue una charola plástica con volumen de cavidad de 50 ml, el segundo recipiente fueron bolsas negras de plástico con volumen de 500 ml y el tercer recipiente fueron charolas forestales de plástico con volumen de cavidad de 200 ml. La profundidad de siembra fue de 1 cm, en todos los recipientes, cubriendo la semilla con el sustrato. Posteriormente se introdujeron los recipientes en una cámara de germinación manteniendo una temperatura de 28°C y una humedad relativa del 70%. Seis días después de la siembra, se realizó el conteo de las plántulas y se observó una germinación del 90.27, 86.95 y 89.93% en los volúmenes de 50, 500 y 200 ml, respectivamente. Las plántulas permanecieron dentro de un invernadero durante 60 días, donde se perdieron el 7.69, 0 y 0.77% en los volúmenes de 50, 500 y 200 ml, respectivamente. A los siete días después del trasplante se perdieron el 8.33, 0 y 0% de las plántulas en los volúmenes de 50, 500 y 200 ml, respectivamente. Por lo anterior se relaciona una mayor sobrevivencia de las plantas sembradas en cavidades con volumen de 500 y 200 ml en comparación con el volumen de 50 ml.

INTRODUCCIÓN

Moringa oleifera es originaria del norte de India y el noreste de Pakistán, de donde se ha esparcido al sudeste de Asia, a la península Arábiga, al este y oeste de África, y en América, desde México hasta Perú, Paraguay y Brasil (Parotta, 1993). Es probable que esta planta haya llegado a territorio mexicano a bordo del Galeón de Manila, debido al uso comestible que la daba la tripulación, y está presente a lo largo de la costa del Pacífico, desde Sonora hasta Chiapas (Olson y Fahey, 2011). *Moringa oleifera* pertenece a la familia Moringaceae, y por lo tanto se encuentra dentro del orden de las Brassicales, al que pertenecen también el brócoli, el rábano y la col (Olson y Fahey, 2011). La altura máxima alcanzada es de 10 a 12 metros, con un rápido crecimiento, debido a que se reportan crecimientos de hasta 4 metros en un año (Pérez *et al.*, 2010). Tiene una raíz pivotante, escamosa y en forma de globo, dichas características le permiten resistir temporadas con falta de agua. Las ramas son inclinadas y forman una copa abierta. El tallo tiene una corteza gruesa de aspecto corchoso y color blanquecino. Las hojas son compuestas, pinadas, aproximadamente de 20 cm de largo, y los folíolos son ovales de entre 1 y 2 cm de largo con color verde claro (Alfaro, 2008). Las

flores son de color crema, con longitud de 0.7 a 1 cm, con mucho aroma. Las semillas de moringa provienen de una vaina alargada, entre 20 y 45 cm de longitud, de color café, que alcanza la madurez en 3 meses. La semilla es alada, con una cubierta de color café, con un diámetro de 1 cm y con endospermo oleaginoso (Figura 1) (Parotta, 1993). *Moringa oleifera* ha sido estudiada recientemente por su contenido de proteína cruda (17-19%) y su resistencia a la sequía, como un forraje alternativo para la alimentación animal en México (Pérez *et al.*, 2010). Con el objetivo de conocer la viabilidad de producir este forraje en el estado de Querétaro se realizaron dos pruebas de germinación para posteriormente trasplantarlas a campo.



Figura 1. Semillas de *Moringa oleifera*.

PARTE EXPERIMENTAL

En la primera prueba de germinación se utilizaron un total de 95 semillas de moringa. Para la germinación de las semillas se utilizó una mezcla de sustrato compuesta por 50% de peat moss, 33.3% de tezontle en polvo y el 16.6% de una mezcla de vermiculita, dolomita, limestone y sphagnum moss. El sustrato se revolvió y se humedeció, aproximadamente con 250 ml de agua por cada 1000 ml de la mezcla de sustrato, para luego colocarlo dentro de los dos tipos de recipientes elegidos para la primera siembra. Uno de los recipientes consistió en una charola plástica de 72 cavidades con volumen de 50 ml cada una (Figura 2a). El otro recipiente fueron 23 bolsas negras de plástico con volumen de 500 ml (Figura 2b). La profundidad de siembra fue de 1 cm, en ambos recipientes, cubriendo la semilla con el sustrato. Posteriormente se introdujeron los recipientes en una cámara de germinación donde se mantuvo una temperatura de 28°C y una humedad relativa del 70%.

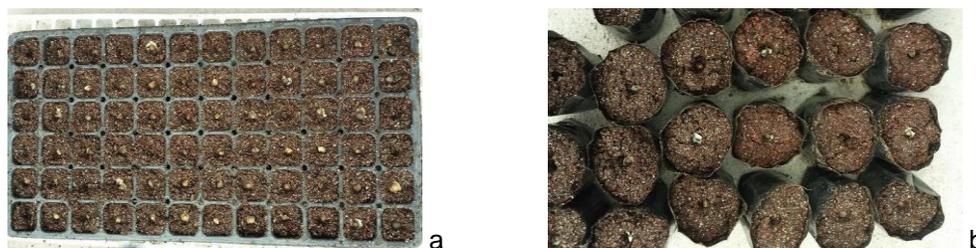


Figura 2. (a) Siembra en charola plástica de 50 ml y (b) siembra en bolsas plásticas de 500 ml.

Seis días después de la siembra, se realizó el conteo de las plántulas que habían emergido y se calculó el porcentaje de germinación. Las plántulas permanecieron dentro de un invernadero durante 60 días, con una temperatura promedio de 23.8°C y humedad relativa promedio de 53.4%, y se registró el número de plántulas existentes al término de este periodo para calcular el porcentaje de pérdida en invernadero. A los 60 días se realizó el trasplante a campo en el terreno destinado para

esta actividad, localizado en el municipio de Colón, Querétaro, contando con una altura de 1974 msnm, temperatura promedio de 16.7°C, temperatura mínima de -2.7°C, temperatura máxima de 32.9°C, humedad relativa promedio de 64.9% y precipitación anual de 371.1 mm, de acuerdo con los datos de la estación climatológica más cercana al terreno de plantación, ubicada en las instalaciones de la CEA del mismo municipio (CEA-Colón, 2014). La distancia entre plantas fue de 20 cm y la distancia entre hileras de 20 cm, para tener una distribución acorde a una densidad de plantación de 250 mil plantas por hectárea (Pérez *et al.*, 2010). A los siete días posteriores al trasplante se contabilizaron las plantas existentes para calcular el porcentaje de pérdida después del trasplante.

En la segunda prueba de germinación se utilizó un recipiente con un volumen de cavidad intermedio, respecto a los recipientes utilizados en la primera germinación. El recipiente elegido fue una charola plástica de uso forestal con un volumen de cavidad de 200 ml (Figura 3). Las condiciones de la profundidad de siembra, la mezcla de sustrato y de la cámara de germinación fueron las mismas que se utilizaron en la primera prueba de germinación. Se sembraron un total de 288 semillas y se introdujeron en la cámara de germinación. Al pasar seis días se realizó el conteo de las plántulas que habían emergido y se calculó el porcentaje de germinación.

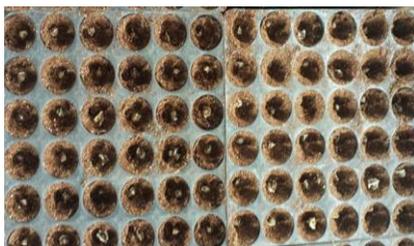


Figura 3. Siembra en charola plástica de 200 ml.

Al término del periodo de 60 días que las plantas permanecieron dentro del invernadero, se registró el número de plántulas existentes para calcular así el porcentaje de pérdida en invernadero. A los 60 días después de la segunda siembra se realizó el trasplante en campo de 225 plantas, en el mismo terreno de la primera prueba. A los siete días posteriores al trasplante se contabilizaron las plantas existentes para calcular el porcentaje de pérdida después del trasplante. Las proporciones de germinación, pérdida de plantas en el invernadero y pérdida de plantas después del trasplante se analizaron estadísticamente siguiendo la metodología de prueba de hipótesis para la diferencia entre las proporciones de dos poblaciones, empleando el paquete estadístico Minitab versión 16 con un nivel de significancia de 95% (Daniel, 2009).

RESULTADOS

El porcentaje de germinación observado seis días después de la siembra fue de 90.27, 86.95 y 89.93% en los volúmenes de 50, 500 y 200 ml, respectivamente (Figura 4). Las plántulas permanecieron dentro de un invernadero durante 60 días, donde se perdieron el 7.69, 0 y 0.77% en los volúmenes de 50, 500 y 200 ml, respectivamente. A los siete días después del trasplante se perdieron el 8.33, 0 y 0% de las plántulas en los volúmenes de 50, 500 y 200 ml, respectivamente. Los resultados del análisis estadístico de la comparación de proporciones de germinación, pérdida en invernadero y pérdida después del trasplante, para cada uno de los volúmenes de cavidad utilizados, se muestran en el Cuadro 1. Los porcentajes de germinación de la charola con volumen de cavidad de 50 ml, de la charola con volumen de cavidad de 200 ml y de la bolsa con volumen de

500 ml no resultaron estadísticamente diferentes ($P>0.05$). El porcentaje de pérdida en invernadero observado en el volumen de cavidad de 50 ml resultó estadísticamente diferente ($P<0.05$) tanto al porcentaje de pérdida del volumen de cavidad de 200 ml, como al de 500 ml, mientras que los porcentajes de pérdida del volumen de cavidad de 200 ml y de 500 ml no fueron estadísticamente diferentes ($P>0.05$). La otra diferencia significativa ($P<0.05$) se observó entre el porcentaje de pérdida después del trasplante del volumen de cavidad de 50 ml en comparación con el porcentaje de pérdida del volumen de cavidad de 200 ml y el de 500 ml, resaltando que el porcentaje antes mencionado no resultó estadísticamente diferente entre los volúmenes de 200 ml y 500 ml ($P>0.05$).

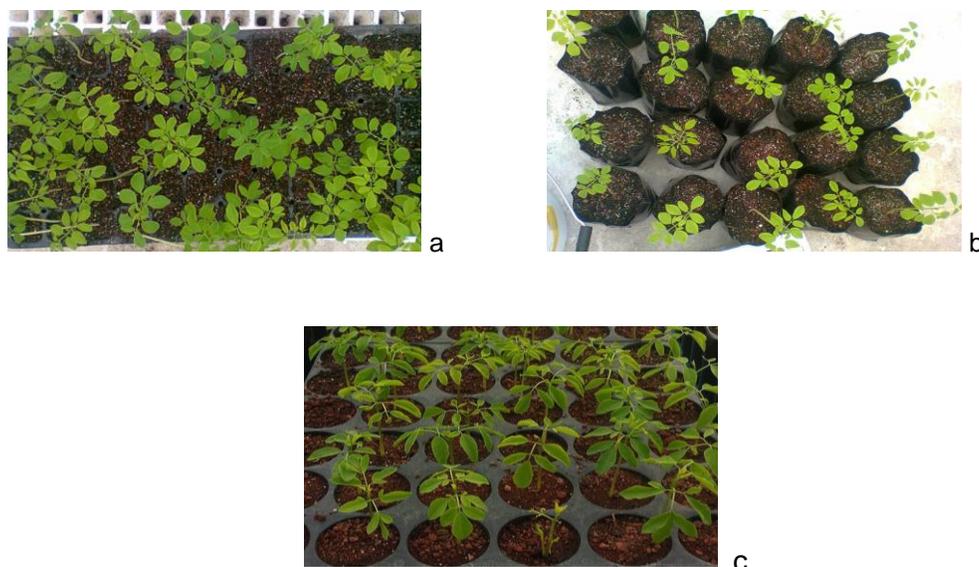


Figura 4. (a) Plántulas de *Moringa oleifera* en charola de 50 ml, en (b) bolsas de 500 ml y (c) en charola plástica de 200 ml.

Cuadro 1. Proporciones de germinación, pérdida en invernadero y pérdida después del trasplante de cada recipiente utilizado.

Volumen de cavidad del recipiente	n	% germinación	% pérdida en invernadero	% pérdida después del trasplante
50 ml	72	90.27 ^a	7.69 ^a	8.33 ^a
500 ml	23	86.95 ^a	0 ^b	0 ^b
200 ml	288	89.93 ^a	0.77 ^b	0 ^b

^{a,b} Proporciones con diferente literal por columna son estadísticamente diferentes ($P<0.05$).

n = Número de semillas

De acuerdo a los datos obtenidos se relaciona una menor pérdida de las plantas sembradas en la charola forestal y en bolsa plástica, con volumen de cavidad de 200 ml y de 500 ml respectivamente, en comparación con la pérdida de las plantas de la charola con volumen de cavidad de 50 ml, esto tanto en la pérdida dentro del invernadero, como en la pérdida posterior al trasplante. Lo anterior

concuenda con lo descrito por Dominguez-Lerena *et al.* (2006), sobre una relación positiva entre el volumen de la cavidad y la concentración de nitrógeno y potasio en la plántula, como indicadores del desarrollo, esto a consecuencia de la restricción física de contenedores pequeños sobre las raíces, lo que afecta la disponibilidad de agua y de nutrientes para la planta y compromete su desarrollo. Al no existir diferencia estadística entre la germinación y la pérdida registradas en las bolsas con volumen de cavidad de 500 ml y la charola con volumen de cavidad de 200 ml, se sugiere utilizar la segunda para la germinación de *Moringa oleifera*, por requerir un menor volumen de sustrato, disminuyendo la cantidad requerida en un 60%.

CONCLUSIONES

La germinación de semillas de *Moringa oleifera* no se vio afectada por el volumen de cavidad del recipiente utilizado en este trabajo. Se obtuvieron menos pérdidas de plantas en invernadero y después del trasplante, en los recipientes con volúmenes de cavidad de 200 y de 500 ml. Se recomienda el uso del recipiente con volumen de cavidad de 200 ml por requerir menor volumen de sustrato y así reducir los costos por concepto de sustrato hasta en un 60%.

Se agradece a FOPER 2015 de la UAQ por el financiamiento del proyecto.

BIBLIOGRAFÍA

1. CEA-Colón, "Datos históricos para Colón, Querétaro [IQUERETA16]", 2014. Obtenido de: <http://www.wunderground.com/personal-weather-station/dashboard?ID=IQUERETA16#history/s20140101/e20141231/mcustom>. Consultado [16/03/15].
2. J. Parotta, "*Moringa oleifera* Lam. Resedá, árbol de rábano", 1993, USDA, Forest Service, Southern Experiment Station.
3. M. E. Olson y J. W. Fahey, "*Moringa oleifera*: un árbol multiusos para las zonas tropicales secas", *Rev. Mex. Biodivers.*, 82, 4, 2011, pp. 1071-1082.
4. N. C. Alfaro, "Rendimiento y uso potencial de Paraíso Blanco, *Moringa oleifera* Lam. en la producción de alimentos de alto valor nutritivo para su utilización en comunidades de alta vulnerabilidad alimentario-nutricional de Guatemala", 2008, CONCYT: SNCT: FONACYT.
5. R. Pérez, J. De la Cruz, E. Vázquez, y O. Francisco, "*Moringa oleifera*, una alternativa forrajera para Sinaloa". Resultados de Proyectos; Fundación Produce Sinaloa A. C., 2010.
6. S. Dominguez-Lerena, N. Herrero, I. Carrasco, L. Ocaña, J.L. Peñuelas, J.G. Mexal, "Container characteristics influence *Pinus pinea* seedling development in the nursery and field", *Forest and Ecology Management*, 221, 2006, pp. 63-71.
7. W.W. Daniel, "Bioestadistics: A Foundation Analysis in the Health Sciences", 9th edition, 2009, pp. 262-265.

Bioactividades de cuatro tipos de chile consumidos en México

Leticia Xochitl Lopez-Martinez^a, Alejandra N. Alvarado-López, Paola Fabila-García^a, Diana K. Ocaña Arce^a

^a Departamento de Alimentos. Facultad de Química. Universidad Autónoma del Estado de México. Paseos Colon y Tollocan. 50000. Toluca, Estado de México, México. lomartleticia@gmail.com

RESUMEN

El chile (*Capsicum annuum*) es ampliamente utilizado en la preparación de los alimentos de los mexicanos y su elección se basa en las preferencias sin considerarse los posibles beneficios a la salud que estos pudieran proporcionar. Se prepararon extractos acuosos de cuatro tipos de chiles (Jalapeño, chipotle, poblano y ancho) y se determinó el contenido de compuestos fenólicos totales, la actividad antioxidante por los métodos de DPPH[•] e inhibición de la oxidación de β -caroteno y la habilidad de inhibir *in vitro* dos enzimas claves ligadas a la diabetes tipo 2 (α -amilasa y α -glucosidasa). El contenido de compuestos fenólicos totales de los extractos se encontró de 122 a 544 mg/100 g de muestra. Todos los extractos a concentración de 2 mg/mL mostraron actividad inhibitoria sobre el radical DPPH[•] y la oxidación de β -caroteno. La inhibición de las actividades de α -glucosidasa varió de 12.5 % a 88.4% y para el efecto inhibitorio de la actividad α -amilasa se mostró de 0 % a 18.2%. Los extractos de chile jalapeño presentaron la mayor capacidad inhibitoria contra la acción de α -glucosidasa y no mostraron capacidad de inhibición contra la actividad α -amilasa. La inhibición de las enzimas α -glucosidasa y α -amilasa es una de las formas terapéuticas para retardar la digestión y absorción de los carbohidratos y en consecuencia la reducción de glucosa postprandial en sangre. Este estudio propone la importancia de consumir chiles debido a sus posibles propiedades benéficas para la salud.

INTRODUCCIÓN

Las frutas son consumidas comúnmente crudas, sin embargo los vegetales usualmente sufren algún tipo de procesamiento antes de ser ingeridos, estos tratamientos pueden cambiar no solo sus características físicas si no también su composición y puede resultar en pérdidas en la disponibilidad de compuestos con capacidad antioxidante como los compuestos de naturaleza fenólica. Estudios previos de diferentes vegetales después de ser procesados mostraron que la capacidad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos totales pueden ser mayor o menor en comparación con los vegetales crudos.

Los cambios en los fitoquímicos que ocurren durante el procesamiento y el efecto resultante en sus actividades biológicas son importantes para las consideraciones dietéticas que pueden afectar el consumo de distintos tipos de chiles.

METODOLOGÍA

Los chiles (Jalapeño, chipotle, poblano y ancho) fueron obtenidos en diferentes mercados del Estado de México, en el año 2013.

Determinación de compuestos fenólicos totales

Se adoptó del método de de Folín-Ciocalteu, se determinó la absorbancia a 765 nm y fueron expresados como mg ácido gálico/100 g en base a una curva estándar de 0 a 600 mg.

Inhibición de DPPH-

Fue analizada por el método de Ranilla y col. (2010) con algunas modificaciones: 100 μ L de los extractos acuosos (estandarizados a 0.25 mM de compuestos fenólicos totales) fueron transferidos a tubos de polipropileno, donde se adicionaron 2.8 mL de una solución del radical DPPH- disuelto en metanol (98.9 μ M). Se agitaron en un vórtex durante 15 s y se mantuvieron en ausencia de luz durante 30 min; después de ese tiempo, se determinó la absorbancia a 515 nm. Se utilizó metanol como blanco, una solución de Trolox 0.02 mM como control positivo antioxidante, y el control fue una mezcla de 2.8 mL de DPPH- y 100 μ L de metanol.

Inhibición de oxidación de β -caroteno

Se adaptó de Miller (1971). 1 mL de una solución de β -caroteno (0.2 mg/mL en cloroformo) fue adicionada a un matraz de fondo plano de 50 mL que contenía una solución de 0.2 mL de Tween 20 y 0.02 mL de ácido linoléico, se agitó la mezcla y se le agregaron los extractos. La mezcla se agitó manualmente y se evaporó hasta sequedad bajo vacío a 25 °C, posteriormente se le agregó 50 mL de una solución de H₂O₂ al 3% y se agitó vigorosamente por 45 s hasta formar un liposoma. Las muestras fueron incubadas a 50 °C, se tomaron lecturas de absorbancia a 470 nm cada 10 minutos hasta 2 horas a partir del momento de la adición del H₂O₂. La actividad antioxidante fue expresada como porcentaje de retención de β -caroteno relacionado al testigo.

Actividad inhibitoria de la enzima α -glucosidasa y α -amilasa

Se adaptó de la metodología de Yuan y col., (2012). Los cambios en la absorbancia fueron monitoreados inicialmente antes de la incubación y después de 30 min a 405 nm. La determinación de α -amilasa fue adaptado de [4], se utilizó α -amilasa pancreática porcina y se determinaron los cambios de absorbancia a 540 nm Se utilizó una solución de 0.44 mg/mL de acarbose como inhibidor positivo.

RESULTADOS

Compuestos fenólicos totales

El contenido de compuestos fenólicos totales de los extractos acuosos muestran diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). En general, el contenido de compuestos fenólicos varió en el orden de 122.30, 216.71, 284.61, 544.22 mg/g para chile Jalapeño, chipotle, poblano y ancho respectivamente. En general parece que el someter a los chiles jalapeño a ahumado (chipotle y el chile poblano a secado (ancho) producen un aumento en el contenido de compuestos fenólicos esto podría ser debido a que el tratamiento de calor estresa la pared celular y permite a liberación de mayor contenido de los compuestos fenólicos durante la extracción (Cervantes-Paz y col., 2012).

Actividad antioxidante

La actividad antioxidante de las variedades de chile es atribuida principalmente a fitoquímicos de naturaleza fenólica presentes en ellas. Se encontró que todos los extractos presentaron actividad antioxidante basada en la capacidad de donar un átomo de H, y por lo tanto neutralizar los radicales DPPH- Esta habilidad varió de 37.6 al 54.8% y del 20.7 al 46.3 % en la inhibición de la oxidación del ácido linoleico (Figura 1A) respectivamente. Los extractos acuosos de la variedad chipotle y ancho presentaron la mayor actividad antioxidante, no se encontró una relación entre el contenido de compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante ($r^2=0.50$), lo que indica que otro tipo de compuestos solubles en agua pudieron presentar actividad antioxidante como carotenos o vitamina C.

Aunque la actividad antirradical de los extractos acuosos fue menor que el presentado por el Trolox (98% de inhibición), el estudio revela que estos extractos actúan como antioxidantes primarios.

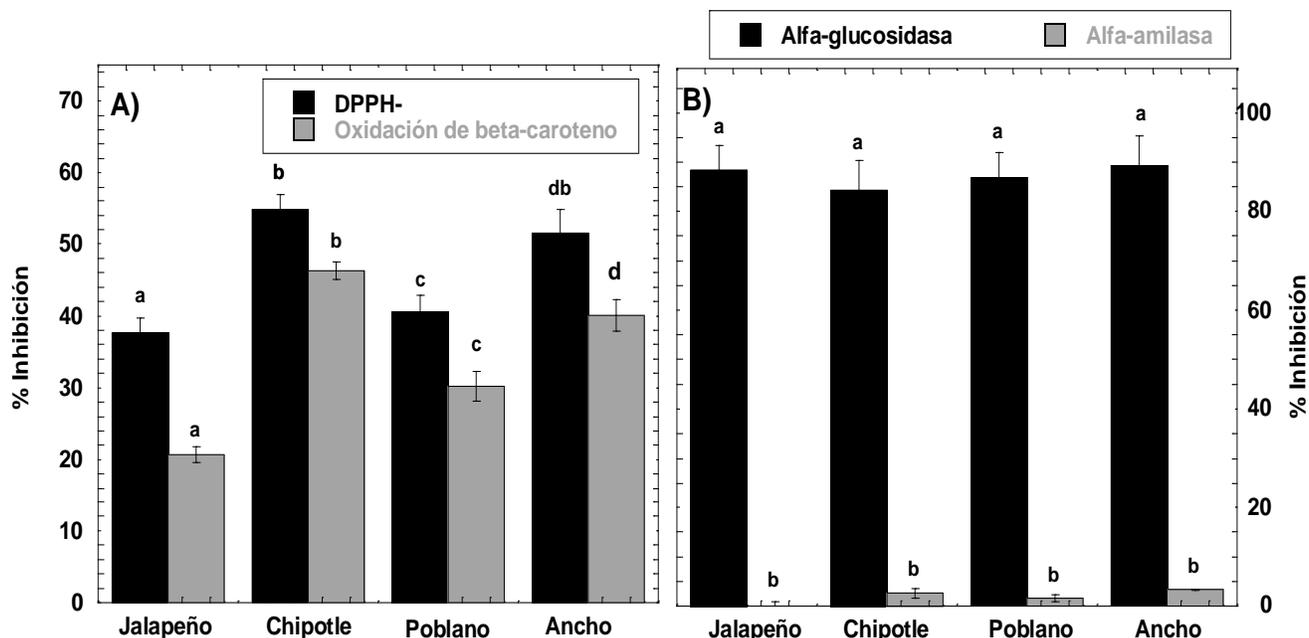


Figura 1. Inhibición de los extractos acuosos de los distintos tipos de chiles, Cambray A) DPPH; oxidación de ácido linoleico. B) α -amilasa, α -glucosidasa.

Actividad inhibidora

Los extractos acuosos de las diferentes variedades de chiles exhibieron actividades inhibitoras de α -glucosidasa aproximadamente del 85 % (Figura 1b). Se ha demostrado los flavonoides inhibidores de esta enzima, pueden actuar como inhibidores de α -glucosidasa debido a la similitud estructural entre sus sustratos y los azúcares que se unen a la antocianinas a través del enlace β -glucosídico, esto podría explicar el hecho de que la el chile jalapeño con mayor concentración de compuestos fenólicos totales presente actividad inhibitora cercana al resto de las variedades. Todos los extractos fueron menos efectivos comparados con la droga terapéutica acarbosa que presento una inhibición de 98% (a una concentración de 8 mg/mL).

Los extractos acuosos exhibieron mínima capacidad de inhibir la actividad de la enzima α -amilasa. El porcentaje más elevado se observó en los extractos acuosos de chile ancho (3.3%), (Figura 2).

También estos extractos fueron menos efectivos comparados con la droga terapéutica acarbosa (87% de inhibición).

La mayor capacidad de inhibir la actividad de α -glucosidasa comparada con α -amilasa, exhibida por los extractos acuosos, podría evitar los efectos secundarios de los medicamentos utilizados para la inhibición de α -glucosidasa y α -amilasa como distensión abdominal, flatulencia, meteorismo y diarrea (Bischoff, 1994). Estos efectos pueden ser causados por la excesiva inhibición de la amilasa intestinal, lo que provoca fermentación bacteriana anormal de los carbohidratos no digeridos en el colon.

Por lo tanto, este estudio confirma el hecho, de que los inhibidores originarios de especias poseen baja actividad inhibitoria contra α -amilasa, y fuerte actividad inhibitoria contra α -glucosidasa, y puedan ser utilizadas para el manejo de la hiperglicemia postprandial con efectos secundarios mínimos (Oboh y col., 2007).

CONCLUSIONES

El chile jalapeño mostro la mayor concentración de compuestos fenólicos totales pero no la capacidad de inhibir a los radicales DPPH \cdot y oxidación del ácido linoleico, la mayor actividad se presentó en el chile chipotle que es un chile jalapeño sometido a ahumado, lo que indica que no hay una relación entre el contenido de estos compuestos y las actividades antioxidantes, eesto soporta que no necesariamente al someter a los vegetales a diversos métodos de procesamiento estos pierdan su características antioxidante comparadas con el vegetal fresco.

La actividad inhibitoria de enzimas que hidrolizan carbohidrato de los extractos acuosos tampoco presenta una correlación entre el contenido de compuestos fenólicos totales y su actividad, además, la fuerte inhibición de α -glucosidasa y la débil inhibición de α -amilasa indican que los chiles utilizados en este estudio podría ser una opción para la reducción de glucosa postprandial en sangre.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ranilla, L. G., Kwon, Y. I., Apostolidis, E., and Shetty, K. Phenolic compounds antioxidant activity and in vitro inhibitory potential against key enzymes relevant for hyperglycemia and hypertension of commonly used medicinal plants, herbs and spices in Latin America. *Bioresource Technology*. 101: (12), 2010, pp. 4676–4689.
2. Miller H.E. A simplified method for evaluation of antioxidants. *Journal of American Oil Chemists Society*, 1: 1971, pp48-91.
3. Yuan, T., Wan, C., Liu, K., and Seeram, N.P. New maplexins FI and phenolic glycosides from red maple (*Acer rubrum*) bark. *Tetrahedron*. 68 (4), 2012, pp. 959–964.
4. Cervantes-Paz, B., Yahia, E. M., Ornelas-Paz, J.D.J., Gardea-Béjar, A.A., Ibarra-Junquera, V., & Pérez-Martínez, J.D. Effect of heat processing on the profile of pigments and antioxidant capacity of green and red jalapeño peppers. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(43), 2012, pp. 10822-10833.
5. Bischoff, H. Pharmacology of glucosidase inhibitor. *European Journal of Clinical Investigation*. 24, 1994, ppS3–10.
6. Oboh, G., Puntel, R. L., and Rocha, J.B.T. Hot pepper (*Capsicum annum*, Tepin and *Capsicum chinese*, Habanero) prevents Fe $^{2+}$ induced lipid peroxidation in Brain: *in vitro*. *Food Chemistry*. 102, 2007, pp. 178-185.

SBA-15 COMO SOPORTE EN LA INMOVILIZACIÓN DE IBUPROFENO

Gabriela Porras Quevedo¹, Antonio Campero², Irinea Yañez-Sánchez¹, Celso Velásquez¹ y María Luisa Ojeda¹

¹Centro de Investigación en Nanociencia y Nanotecnología Universidad de Guadalajara,

²Departamento de Química, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. gporrasq@gmail.com

Resumen

En este trabajo se logró la inmovilización de ibuprofeno en una estructura de sílice mesoporosa de tipo SBA-15, encapsulado utilizando dos métodos diferentes, el primero a través de la adsorción física de ibuprofeno dentro de los poros de SBA-15. El segundo método consiste en la formación de un enlace covalente, haciendo reaccionar los grupos silanol de la superficie interna de la red del sólido mesoporoso SBA-15, con los grupos etoxi de la organosílice 3-aminopropiltrietoxisilano (APTES), cuyo grupo amino reacciona posteriormente a través de una reacción de condensación con el grupo carboxilo del ibuprofeno. La caracterización de los materiales se realizó por diferentes técnicas DRX, TEM, adsorción de nitrógeno, FTIR y Uv-vis. Los resultados muestran que se mantiene la estructura de los materiales después de encapsular el ibuprofeno y se observa que la presencia del grupo amino mejora notablemente la capacidad de adsorción del medicamento.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad se han evaluado novedosos sistemas para probar el suministro de medicamentos hidrofóbicos; un sistema ideal sería aquel que no tenga efectos sobre la actividad del medicamento, que sea capaz de suministrar dosis terapéuticas adecuadas, y que permita la adsorción y liberación homogénea de medicamento. Los materiales mesoporosos son buenos candidatos para ser utilizados como plataforma en la inmovilización, estabilización y encapsulamiento de moléculas como ibuprofeno y otros fármacos debido a sus propiedades, como: estructura mesoporosa regular estable, alta área superficial, estrecha distribución de tamaño de poros, tamaño de poro controlable, naturaleza no tóxica, biocompatibilidad, buena resistencia mecánica y estabilidad térmica⁽¹⁾. Además, la química de la superficie de los materiales mesoporosos se puede modificar mediante la adición de grupos funcionales, como complejos de aminas, que los haga más efectivos según la molécula que se quiera encapsular. Los primeros reportes de los materiales mesoporosos como sistemas de suministro de medicamentos surgen en 2001, en donde se utiliza MCM-41 con ibuprofeno⁽²⁾. El grado de adsorción depende de muchos factores entre ellos, el tamaño del poro, el procedimiento de carga y el solvente utilizado⁽³⁻⁵⁾. El estudio de la carga y liberación de medicamentos dentro y fuera de los materiales mesoporosos tiene una alta demanda de usos como la regeneración de tejidos, la terapia transdérmica y la regulación celular. Además la vida media de estos medicamentos en condiciones fisiológicas se puede prolongar encapsulándolos en una red de sílice inerte. En este trabajo se muestra la metodología para encapsular el ibuprofeno utilizando como soporte el material mesoporoso SBA-15.

PARTE EXPERIMENTAL

El ibuprofeno se encapsuló dentro de los poros del SBA15 por medio de dos métodos diferentes, para el método químico se funcionalizó la matriz de sílice con 3-aminopropiltrietoxisilano (APTES). **Método 1. Método físico:** 0.1g del SBA-15 se ponen en remojo con 3ml solución de ibuprofeno en hexano al 3.3% y se deja en agitación por 3 días a 35°C, pasado el tiempo se evaporó el hexano a

temperatura ambiente y se repite el proceso otras dos veces. El sólido resultante se lava con 5ml de ETOH y se deja secar a condiciones ambientales; a este producto se le denominó IbSB15.

Método 2. Método químico: 0.25g de SBA-15 se desgasifica al vacío y 250°C por 4h; una vez que el material se ha enfriado a temperatura ambiente se agregan 15 ml de tolueno anhidro y 1.5 ml de APTES; se deja en agitación a reflujo por 24h bajo atmósfera de N₂. Se deja enfriar a temperatura ambiente, se filtra y se lava con EtOH; a este material se le denominó ApSB15. Posteriormente 0.1g de este material se ponen en remojo en una solución de ibuprofeno en hexano al 3.3% y se deja en agitación por 3 días a 35°C. Pasado el tiempo se deja evaporar el hexano a sequedad a temperatura ambiente, este último proceso se repite otras dos veces. Finalmente el sólido se lava con 5ml de ETOH y se deja secar; a este producto se le llamó IbApSB15.

Los materiales obtenidos se caracterizaron por DRX, TEM, FTIR y Uv-Vis y adsorción de nitrógeno. Los resultados mostraron que el método 2 es más eficiente en inmovilización de ibuprofeno.

RESULTADOS

Difracción de rayos X (DRX)

Los patrones de DRX, fueron obtenidos en un equipo Siemens D-5000 utilizando radiación Cu K α , con incrementos de 0.02° y con una medida de frecuencia de 2.4s⁻¹, en el intervalo 2 θ entre 0.5° y 5°. En la [Figura 1](#) se presentan los difractogramas de los materiales obtenidos antes y después de encapsular el ibuprofeno dentro de los poros de la matriz del SBA-15. Los patrones de DRX son característicos de materiales mesoporosos ordenados y podrían asociarse a un ordenamiento hexagonal de mesoporos característico del SBA-15. Para todos los materiales se pueden identificar el pico de primer orden que corresponden al plano de difracción (100). Para el SBA-15 sin funcionalizar se puede ver el plano (200). La intensidad del pico d₁₀₀ para los materiales con ibuprofeno disminuye un poco debido probablemente a que hay alguna distorsión del arreglo hexagonal de los poros de SiO₂ cuando las moléculas de ibuprofeno se introducen dentro de los poros, sin embargo la estructura mesoporosa se conserva.

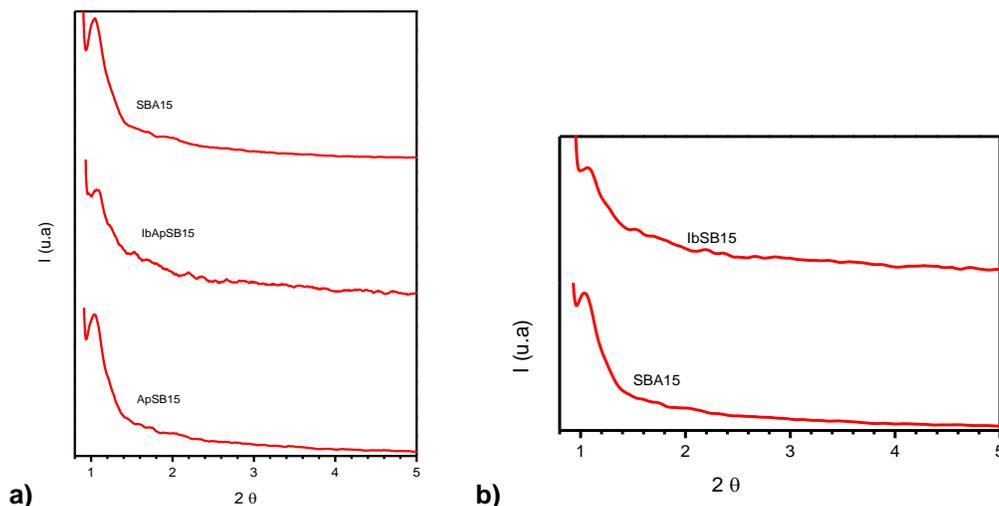


Figura 1. Patrones de DRX para los productos obtenidos por a) método químico y b) método físico

Adsorción de nitrógeno

En la [Figura 2](#) se presentan las isotermas de adsorción y desorción de los materiales obtenidos por el método 2, las isotermas de los materiales utilizando el método 1 son semejantes (no presentadas aquí). Para ambos casos se obtienen isotermas tipo IV de acuerdo con la clasificación de la IUPAC y lo cual es característico de materiales mesoporosos tipo SBA-15; además, se puede observar un evidente ciclo de histéresis tipo H1. La condensación capilar se realiza a presión relativa entre 0.45 a 0.7.

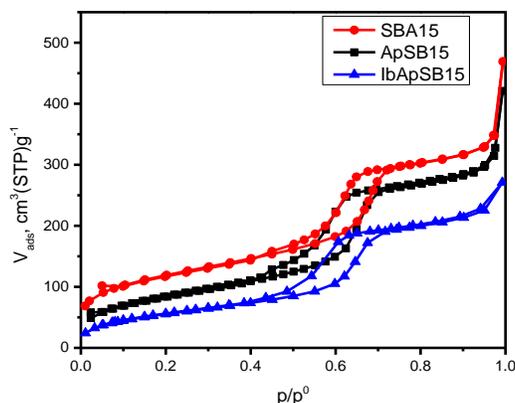


Figura 2. Isotermas de adsorción-desorción de N₂ para el SBA-15, funcionalizado con APTES y con APTES e Ibuprofeno

Los materiales funcionalizados con APTES e ibuprofeno se tienen isotermas similares a las de SBA-15 puro, sin embargo la cantidad de N₂ adsorbida disminuye de acuerdo a la secuencia SBA-15 > ApSB15 > IbApSB15. Esto indica la presencia de moléculas del APTES y del Ibuprofeno dentro de los poros cilíndricos del material mesoporoso de SiO₂.

En la siguiente tabla se muestran los valores obtenidos tanto del área específica BET como del diámetro de poro del sistema.

	SBA15	ApSB15	IbApSB15
ÁREA (m ² /g)	408.7	303.3	206
DIÁMETRO(nm)	6.83	5.06	3.04

Esta disminución en el área sugiere que las moléculas de ibuprofeno están empaquetadas dentro de los canales cilíndricos y ocupando parte del espacio disponible en los mesoporos.

En el caso de la fisisorción del ibuprofeno en el SBA-15 (método 1), los resultados de área específica BET y del diámetro de poro del sistema, se muestran en la tabla siguiente, mostrando el mismo comportamiento de disminución de área y diámetro de poro que en el método químico:

	SBA15	IbSB15
ÁREA (m ² /g)	408.7	266.6
DIÁMETRO(nm)	6.83	4.55

3.3 Microscopia Electrónica de Transmisión (TEM)

Las imágenes de microscopia electrónica de transmisión para los materiales SBA15 e IbuApSB15 se muestran en la [Figura 3](#), estas imágenes se tomaron en un microscopio de 100 eV. Las

micrografías describen en gran detalle la presencia de poros cilíndricos y se puede distinguir entre la boca de los poros y la pared del tubo. Se confirma con esto que los materiales obtenidos tienen una estructura hexagonal en dos dimensiones $6\mu\text{m}$, con ello se confirma que la estructura de los mesoporos no se altera con la inmovilización del ibuprofeno, ya sea por el método químico o físico.

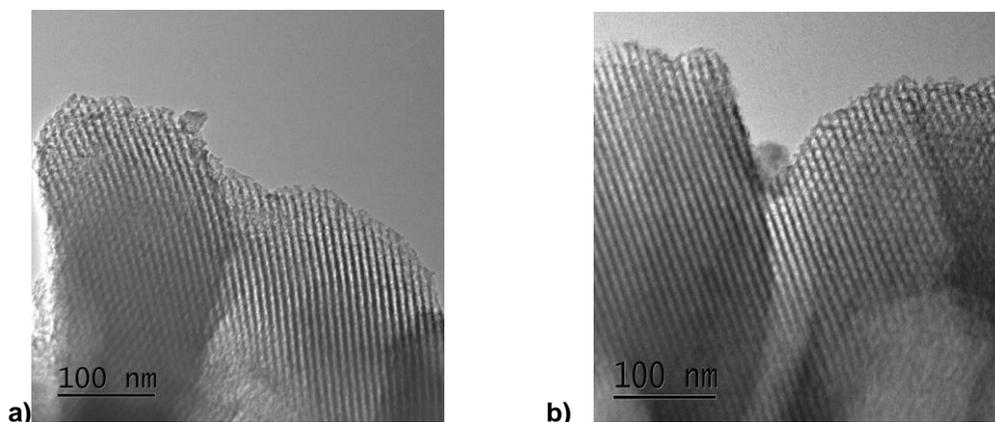


Figura 3. TEM para a) SBA15 y b) IbApSB15

Espectroscopia uv-vis

En la [Figura 4](#) se pueden observar los espectros correspondientes al sistema mesoporoso SBA-15 con el ibuprofeno tanto fisisorbido en los poros como anclado químicamente en ellos. Para eliminar el ibuprofeno depositado en la superficie ambos materiales se lavaron con EtOH.

En ambos espectros se pueden observar claramente los picos que corresponden al ibuprofeno, en 224.5; 264 y 272 nm, cuando está fisisorbido en los poros y ligeramente recorridos en 224.4; 264.6 y 272.4 nm cuando se encuentra unido químicamente a los grupos silanol del SBA-15. Esto nos confirma la presencia del medicamento en la superficie mesoporosa, ya que de acuerdo con la literatura los picos representativos del ibuprofeno en la espectroscopia uv-vis se encuentran en 220; 264 y 272nm⁽⁶⁾.

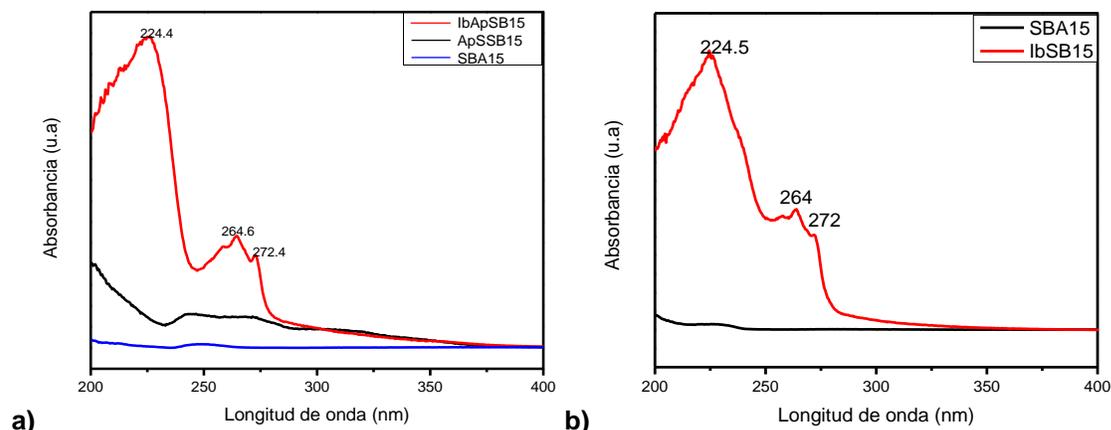


Figura 4. a) Espectro de uv-vis de SBA-15 con ibuprofeno funcionalizado químicamente b) Espectro de uv-vis de SBA-15 con ibuprofeno fisisorbido

Espectroscopia FTIR

En la [Figura 5](#) se pueden observar los espectros correspondientes a la caracterización por FTIR, en el espectro obtenido para SBA-15 se observa una banda estrecha a 3745 cm^{-1} y una banda ancha

alrededor de 3440 cm^{-1} . La banda a 3745 cm^{-1} es típica de vibraciones de alargamiento del enlace O-H de los grupos silanol (Si-OH) mientras que la segunda es debida a moléculas de agua, que están ocluidas en el sólido. Esta banda estrecha desaparece para todos los casos en donde el grupo silanol se enlaza ya sea de forma covalente o por puentes de hidrógeno con el ibuprofeno o el APTES respectivamente.

La banda a 1631 cm^{-1} es debida a la vibración de flexión del enlace OH, esta banda disminuye al funcionalizar con APTES e ibuprofeno indicándonos que hay una interacción con estos compuestos. Las bandas a 1082 y 804 cm^{-1} se deben a vibraciones simétricas y antisimétricas de los enlaces Si-OH. Finalmente, las bandas observadas a 560 y 451 cm^{-1} son asignadas a la vibración de flexión del enlace O-Si-O.

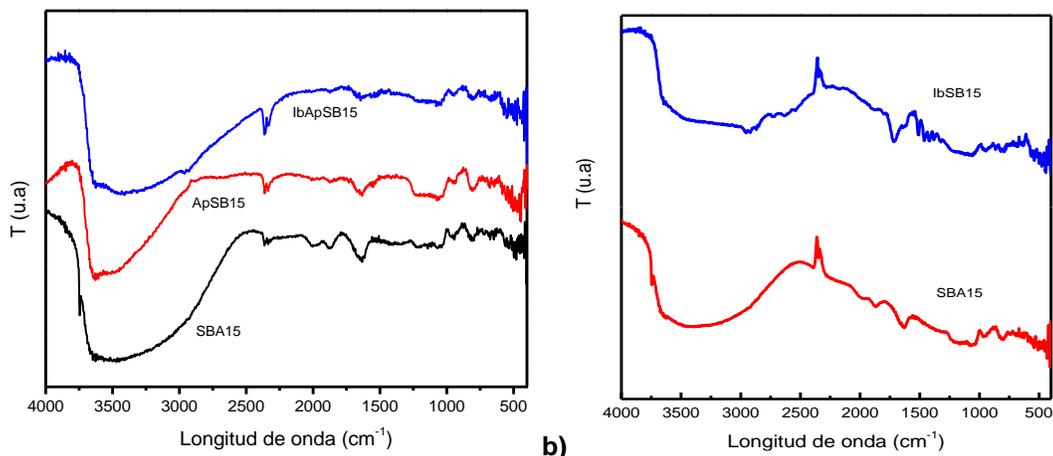


Figura 5. a) Espectro de FTIR de SBA-15 con ibuprofeno funcionalizado b) Espectro de FTIR de SBA-15 con ibuprofeno fisisorbido

CONCLUSIONES

Se logró la inmovilización del ibuprofeno en la matriz mesoporosa SBA-15 tanto química como físicamente, lo cual se comprobó a través de diferentes técnicas de caracterización los resultados mostraron que el método químico es más eficiente para encapsular el ibuprofeno comparada con el método físico. Se comprobó también que la estructura hexagonal de los mesoporos no se rompe con la inmovilización del fármaco

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Kwon, S.; Singh, P.; Perez, R.; Neel, E.; Kim, H.; Chrzanowski, W. *J. Tissue Eng.* **4** (2013) 1-18
- [2] M. Vallet-Regí, A. Rùmila, R.P. del Real, J. Pérez-Pariente, *Chem. Mater.* **13** (2001) 308– 311.
- [3] Y. Lang, D.P. Finn, A. Pandit, P.J. Walsh, *J. Mater Sci: Mater Med.* **23** (2012) 73-80.
- [4] N.H.N. Kamarudin, et al, *J. of Colloid and Interface Science.* **421** (2014) 6-13.
- [5] B. Zijun. T. Jing, H. Jun. L. Jinxia, X. Shouhong, L. Honglai, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects.* **436** (2013) 1021-1026.
- [6] H.R. Buser, T. Poiger, M.P. Muller. *Environ. Sci. Technol.* **33**, (1999), 2529.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos el apoyo de la red “Diseño Nanoscópico y Textural de Materiales Avanzados” y a P. Castillo del Laboratorio Central de Microscopía Electrónica de la UAM-I por las imágenes de microscopía.

EL SUR VA AL NORTE: LA EXPANSION DE EMPRESAS AVICOLAS DE PAISES EMERGENTES (MEXICO) HACIA LOS ESTADOS UNIDOS”

Cristina Sosa Zepeda ^a, Francisco Martínez Gómez ^a

^a Centro de Investigaciones Socioeconómicas. csz_15@yahoo.com
francisco.martinez@uadec.edu.mx

RESUMEN

El caso de estudio determina los factores que condicionaron la expansión de la firma avícola mexicana Bachoco hacia los Estados Unidos. La inversión extranjera directa (IED) es mostrada de forma clara como método de expansión hacia los Estados Unidos, al tiempo que se determinan los factores que condicionaron dicha expansión. El caso revela que la estrategia de expansión de la firma rompe con el patrón norteamericano avícola “norte-sur” de Boyd y Watts (1997) configurando una forma diferente de expansión productiva, es decir: “países del sur” hacia “países del norte”

INTRODUCCIÓN

La inversión extranjera directa (IED) es una de las variables internacionales en fuerte debate académico, entre otras cosas, se le relaciona a crecimiento económico, a transferencia de tecnología, a generación de empleo y a encadenamientos productivos (Dunning, 1993), sin embargo para las firmas muestra ser una de las estrategias corporativas de expansión en fuerte crecimiento, particularmente en el sector de alimentos (Matsso y Koo, 2002; Bollin et al, 1998), el uso de ésta variable como método de entrada a mercados es presentado de forma clara en el presente caso de estudio, sin embargo, el documento también deja en la mesa de la discusión el rompimiento del modelo de expansión avícola norteamericano estipulado por los autores Boyd y Watts (1997). El periodo de análisis se centra en la década de los ochentas hasta el año 2011 y dada la complejidad de la investigación la metodología usada es la denominada *Grounded Theory* al tiempo que se usaron diversas fuentes de información electrónica. El análisis sugiere que a pesar de mostrar que la firma se ha caracterizado por ser una empresa con estrategias conservadoras, muestra acciones de expansión agresivas, el uso de recursos propios en la adquisición de la firma OK Industries es determinante para su consolidación. El documento se encuentra dividido en tres partes, de las cuales la primera se ocupa del desarrollo teórico de expansión de las firmas avícolas, el segundo muestra los factores de investigación claves en la expansión de la firma y finalmente una sección de conclusiones.

TEORÍA: EXPANSION DE LAS GRANDES FIRMAS AVÍCOLAS; PERSPECTIVA TEORICA Y EMPÍRICA

Las Corporaciones Transnacionales (CTNs) enmarcadas en el proceso de globalización diseñan estrategias de expansión y de producción cada vez más complejas caracterizadas por la expansión de los diferentes circuitos de capital. El comportamiento de las CTNs puede ser explicado como un reflejo de las tendencias de la expansión de los diferentes circuitos de capital (Dicken, 2011), entendiendo por circuitos de capital a los flujos de Inversión Extranjera Directa (IED). El uso de la inversión extranjera directa de estas CTN's en el sector avícola se ha incrementado de forma impensable. Dada la capacidad con la que cuentan las CTN's en la flexibilización de sus proceso productivos y formas de organización (Ionescu y Raducan, 2003) y como consecuencia de los cambios tecnológicos y de los cambios en políticas nacionales encaminadas a la desregulación de mercados es que ha existido un fuerte crecimiento de IED (Dicken, 2011; Ionescu y Raducan, 2003), por ejemplo en el 2011 las filiales extranjeras de las CTNs emplearon a aproximadamente 69 millones de trabajadores y generaron 7 billones de pesos en valor añadido (UNCAD, 2012) y muchas veces su producción es equiparable con lo que produce una nación (CEPAL, 2004)

Las firmas toman diversos caminos para el logro de los objetivos de expansión, particularmente para el caso de las CTNs avícolas, es recurrente tomar como base de discusión el proceso de industrialización y producción avícola del modelo norteamericano desarrollado por Boyd y Watts (1997). Este modelo nace en 1950 y establece que el sistema de integración se caracteriza por la integración vertical de varios factores de producción bajo el control de corporaciones agroindustriales, así como una creciente concentración económica a través de fusiones y adquisiciones cuya dinámica espacial responde de norte a sur y bajo la utilización de acuerdos contractuales (Bonanno y Constance, 2008), con un sistema altamente integrado y con una serie de oligopolios y oligopsonios (Hendrickson et al, 2008), cuyo modo de expansión ha adoptado a la IED como forma predilecta de entrada debido a cinco razones principales: la primera está relacionada con el término costo-efectividad, esto es muchas veces el exportar implica mayores costos en transporte y almacenamiento relativos al valor del producto, por tanto cuando los costos de comercio resultan altamente significativos, las firmas optan por la IED; la segunda está relacionada con el salto o evasión de barreras al comercio, cuando un mercado se encuentra protegido con barreras al comercio, la IED significa para las firmas una opción viable de entrada; la tercera razón está relacionada con la optimización mercadológica, esto es los anuncios publicitarios globales están enfocados a productos globales creando con ello una marca de alimentos reconocida a nivel mundial, así al entrar una IED al mercado doméstico, la firma de IED puede alcanzar economías de escala en mercadotecnia y publicidad. La cuarta razón está relacionada con la lógica de teoría de juegos, las firmas utilizan la IED como un trampolín o catapulta hacia posiciones de líderes (Hawkes, 2005). Finalmente la quinta razón responde

al hecho del acceso a activos intangibles derivados de las compañías locales como condiciones y gustos locales, preferencias entre otros (Hawkes, 2005) ¹

PARTE EXPERIMENTAL: EXPANSION DE BACHOCO

La firma Bachoco cuenta con sesenta años de experiencia en su ramo, fundada en 1952 ha logrado posicionarse como líder nacional y se había caracterizado por el desarrollo de estrategias encaminadas a enfrentar los retos de la apertura comercial y la llegada de otras grandes firmas avícolas, sin embargo en años recientes la firma ha mostrado diversas acciones que sugieren un cambio en el diseño de la expansión nacional encaminada hacia mercados extranjeros. La figura del ANEXO 1 sintetiza las expansiones nacionales así como el cambio en la orientación de sus estrategias hacia mercados internacionales. La expansión de la firma Bachoco hacia el mercado estadounidense se materializa al adquirir la firma norteamericana OK Foods Inc. en el 2011. La consolidación de la adquisición se encontró determinada por diversos factores, dentro de los cuales se sugieren los más relevantes: **La fuerte diversificación espacial productiva** marcado desde 1950 hasta antes del año 2000 provocó posicionarse como marca líder en el mercado nacional; el **capital y financiamiento** que la firma ha logrado a partir del año de 1997 (año de despegue financiero al iniciar operaciones en la Bolsa de valores de México y en el NYSE de Nueva York); los **nuevos conocimientos y tecnología**² que OK Foods (subsidiarias de OK industries) a través de su centro de I&D transferirá a la cadena productiva de Bachoco; **el reconocimiento hispano** de la marca Bachoco en los Estados Unidos; **la estructura de costos** de los insumos de producción pues el 70 por ciento de sus costos de producción corresponden a las materias primas en granos y pasta de soya de las cuales el 55.4 por ciento se adquieren de los EUA, el **tamaño de mercado** que representan los consumidores de los Estados Unidos; **la localización geográfica** de OK industries, pues ésta se localiza en una de las entidades con mayor valor agregado dentro de la producción norteamericana de aves de corral y huevo y por último la más relevante **el declive financiero y organizativo de la firma OK Industries INC**³

CONCLUSIONES

Las estrategias desarrolladas por las corporaciones transnacionales enmarcadas por los retos de la globalización se tornan cada vez más complejas, el uso de la Inversión Extranjera Directa fue abordada como el método de entrada al mercado norteamericana por parte de la firma mexicana Bachoco, sin embargo existieron una amalgama de elementos que condicionaron la expansión de la firma a través de la IED, dentro de los cuales sin duda los más relevantes son el poder

¹ Connor (1983) realiza un extenso *survey* de trabajos empíricos y separa los factores que influyen en la decisión de las industrias de alimentos en "factores propios de la firma o del país de origen de la IED" como tamaño de la firma, diversificación de la firma, concentración de ventas e I&D y factores de la "localización objetivo" como barreras al comercio, tamaño de la firma/país, concentración de ventas, crecimiento y ganancias - beneficio

² El papel de la innovación, tecnológica, personal calificado y capacidades creativa han adquirido un papel central en las estrategias de las firmas (Christopherson y Clark, 2007),

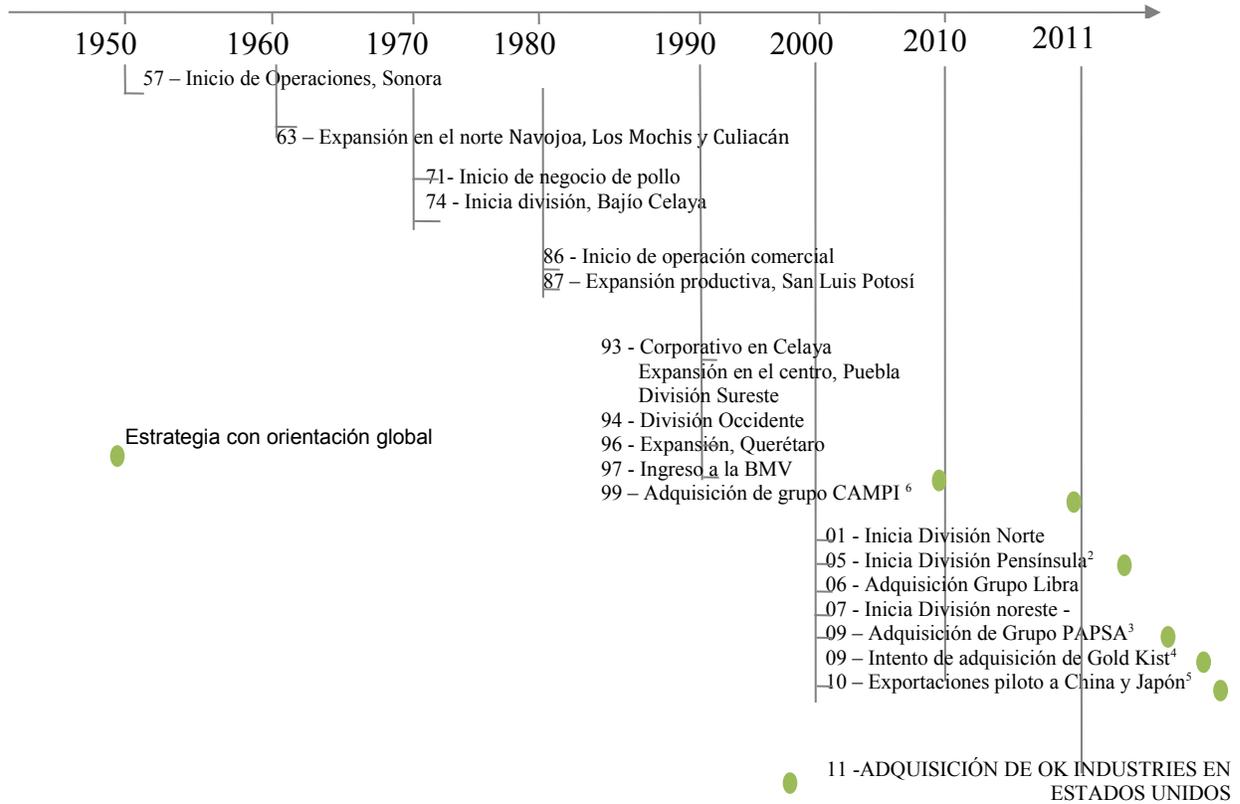
³ El año 2011 marcó la caída directiva de su fundador al tiempo que se encontraba en serios problemas financieros.

financiero en capital de la firma Bachoco que logró observar que ante el declive financiero de la firma OK Industries podría obtener la oportunidad idónea para la adquisición de ésta al tiempo que podría adquirir diversos beneficios. La forma en cómo la firma Bachoco logra su expansión rompe con el modelo Tradicional de expansión avícola norteamericano, pues con este hecho CTNs de países emergentes se posicionan en países desarrollados.

BIBLIOGRAFÍA

- BOLLING**, H. C., NEFF, S. & HANDY, C. R. 1998. *US foreign direct investment in the western hemisphere processed food industry*, US Department of Agriculture, Economic Research Service.
- BONANNO**, A. & CONSTANCE, D. H. 2008. *Stories of globalization: Transnational corporations, resistance, and the state*, Penn State Press.
- BOYD**, W. & WATTS, M. 1997. The chicken industry and postwar American capitalism. *Globalising food: Agrarian questions and global restructuring*, 139.
- DUNNING**, J. H. & LUNDAN, S. M. 2008. *Multinational enterprises and the global economy*, Edward Elgar Publishing.
- HAWKES**, C. 2005. The role of foreign direct investment in the nutrition transition. *Public Health Nutrition-Wallingford*, 8, 357-365.
- HENDRICKSON**, M., WILKINSON, J., HEFFERNAN, W. & GRONSKI, R. 2008. The global food system and nodes of power. *Available at SSRN 1337273*.
- IONESCU** ROMEO Y RADUCAN OPREA. 2003. "Multinational Corporations and the Global Economy" Dunarea de Jos University, Romania
- MATTSON**, J. W. & KOO, W. W. 2002. US processed food exports and foreign direct investment in the Western Hemisphere. North Dakota State University, Department of Agribusiness and Applied Economics.
- CEPAL** 2004 Globalización y empresas Transnacionales, artículo disponible en www.eclac.org/ddpe/agenda/4/19724/Globalizaci%25C3%25B3nEmpTrans1.pdf
- El Economista** (2010), noticia disponible en <http://eleconomista.com.mx/corporativos/2010/03/23/bachoco-vendera-pollo-japon>
- Reforma** (Mayo 24, 2005) Noticia disponible en www.reforma.com
- UNCTAD** 2012. www.unctad-docs.org/files/UNCTAD-WIR2012-Full-en.pdf
- Informes anuales de Bachoco**. Informes disponibles en www.bachoco.com.mx
Informe anual 2006, 2007, 2008, 2009, 2010 y 2011

ANEXO 1



⁴ Creación de dos complejos catalogadas por la USDA como libres de enfermedad aviar (Periódico Reforma, 2005)

⁵ Compra un rastro en Monterrey a Grupo Papsa (Periódico El Economista, 2010)

⁶ Intento de adquirir Gold Kist (firma estadounidense que en 2009 se encontraba en quiebra), sin embargo la firma JBS (empresa Brasileña) desembolsó 800 millones de dólares por los activos y 1.500 millones de dólares por sus deudas (Periódico El Economista, 2010)

⁷ Exportaciones de pollo a Japón bajo la marca "Golden Chiken" desde la planta de Sinaloa (Periódico El Economista, 2010)

LA PERCEPCIÓN DEL CONSUMIDOR LOCAL DE LA BARCA, JALISCO ANTE LA CARNE DE CERDO CERTIFICADA TIF.

Aurora Abigail Águila Zendejas^a, Ma. Carmen Castillo Martín^a, Yazmin Manzo Pérez^a, Alicia Escoto Sierra^a

^aCentro Universitario de la Ciénega, Universidad de Guadalajara, boris_cange@hotmail.com

RESUMEN

En vista de los problemas cruciales del mundo para abastecer de alimentos a una población mundial en expansión continua, se puede prever que en el futuro se producirá un creciente interés por obtener el máximo rendimiento de productos alimenticios animales y vegetales, por minimizar las pérdidas derivadas de los insectos, roedores, microorganismos, etc. Estos desarrollos representan un reto para los mercados de los productos alimentarios animales.

La certificación de un rastro-obrador tipo TIF TIF (Tipo Inspección Federal) permite no solo a la empresa sino al sector agropecuario garantizar al mercado la calidad, higiene e inocuidad de la carne, además de ser reconocido también a nivel internacional incluso con los países de mayor exigencia en regulaciones sanitarias.

La percepción del mercado local de la barca Jalisco ante la carne de cerdo certificada TIF es muy importante debido a que la información que pudiera tener o no acerca de los productos cárnicos porcinos es determinante al momento de realizar su compra y por ende contribuir el posicionamiento de la carne certificada en dicha ciudad.

El diseño utilizado de investigación es el exploratorio, ya que reúne datos preliminares que arrojan luz sobre la verdadera naturaleza del problema sugiriendo ideas e hipótesis.

El método de investigación es a través de encuestas aplicadas a una muestra poblacional en la ciudad de La Barca, Jalisco.

Algunas de las conclusiones son:

- El nivel de conocimiento del mercado local acerca de la existencia de la certificación TIF en la carne de cerdo que consume es muy bajo.
- El mercado local no sabe identificar las características de la carne de cerdo con certificación TIF.
- El mercado local desconoce las ventajas de consumir carne de cerdo certificada TIF, así como las desventajas de no consumir carne de cerdo certificada TIF.

INTRODUCCIÓN

En vista de los problemas cruciales del mundo para abastecer de alimentos a una población mundial en expansión continua, se puede prever que en el futuro se producirá un creciente interés por obtener el máximo rendimiento de productos alimenticios animales y vegetales, por minimizar las pérdidas derivadas de los insectos, roedores, microorganismos, etc.

Estos desarrollos representan un reto para los mercados de los productos alimentarios animales.

Cuando se habla de calidad de carne, se refiere a un conjunto de propiedades inherentes, que le confieren la capacidad de hacerla deseable y por ende de satisfacer al consumidor (independientemente de que sea un obrador, un procesador, un chef o un comensal).

Algunos de estos atributos pueden ser organolépticos (color, jugosidad, sabor, terneza) o tecnológicos (cantidad de grasa intramuscular, pH, capacidad de retención de agua).

Aunque las reglamentaciones para la industria cárnica varían entre países, estados, municipios y empresas cárnicas, la mayoría de los programas de inspección derivan del programa USDA (U.S. Department of Agriculture) que ha sido adaptado en México por la SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, desarrollo Rural, Pesca y Alimentación) a través de la Ley Federal de Sanidad Animal y el sistema TIF (Tipo Inspección Federal) para mejorar los aspectos zoonosarios (enfermedades de los animales) y de higiene y así poder comercializar productos cárnicos de alta calidad sanitaria dentro y fuera del país con el objetivo de garantizar el proceso sanitario de los productos cárnicos destinados para el consumo humano.

La oportunidad que ofrecen la SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, desarrollo Rural, Pesca y Alimentación) y SENASICA (Servicio nacional de sanidad, inocuidad y calidad agroalimentaria) a un rastro-obrador de certificarse TIF (Tipo Inspección Federal) permite no solo a la empresa sino al sector agropecuario garantizar al mercado la calidad, higiene e inocuidad de la carne, además de ser reconocido también a nivel internacional incluso con los países de mayor exigencia en regulaciones sanitarias.

EVOLUCION Y DESARROLLO DEL SECTOR AGROPECUARIO

La agricultura y ganadería intensivas nacieron por necesidad. Después de la segunda guerra mundial los recursos eran extremadamente escasos, la agricultura y por consecuencia la ganadería tenían que ser muy económicas.

Las personas tuvieron entonces que aprender a partir de eso a optimizar el sistema, ahora se pueden producir granos con menos, semillas, se puede criar más ganado en espacios cada vez más pequeños.

Uno de los efectos secundarios de este tipo de prácticas optimizadoras en el sector pecuario son las enfermedades, debido al gran número de animales en espacios tan reducidos. El 50% de los antibióticos en el mundo se usan en las granjas.

Como la ganadería se ha vuelto más eficiente, los médicos veterinarios, agricultores, científicos y demás especialistas involucrados han incorporado nuevas tecnologías y métodos en sus prácticas llamándolo progreso agroalimentario y cuando se está comercializando en el mercado se le da énfasis a la palabra innovación en su publicidad.

Cuando la gente está en el supermercado realmente no desea saber de dónde provienen los alimentos, no quieren pensar o no piensan en cómo han sido tratados y alimentados los animales durante su crianza, no quieren saber o no saben cómo ha sido la matanza de los mismos, bajo que estándares de higiene e inocuidad han sido sacrificados, despiezados y almacenados para su posterior comercialización y consumo, es el poder de la ignorancia voluntaria.

Ninguna estrategia de marketing hará que la producción industrial de cárnicos mejore su proceso completo, esto es, mejorar el ciclo de producción generando una cadena de valor desde la elección de una buena genética en las granjas, su buena gestión en la crianza, alimentación y salud, así como la matanza certificada, las buenas prácticas en el manejo de la carne, la garantía de la cadena de frío en almacenes, transportación y punto de venta o transformación en subproductos cárnicos a través del valor agregado y su adecuado etiquetado, para que entonces, sea más aceptable.

TEORÍA

La industria empacadora de carnes en México, data de fines del siglo XIX y principios del siglo XX, cuando adquirió mayor importancia después de que se detectó el brote de fiebre aftosa en bovinos en algunos Estados en 1946-1947.

Los primeros datos que se tienen de su existencia refieren a la empacadora de San Lázaro con capital sueco y la empacadora Popo con capital inglés establecidas alrededor del año 1900. La empacadora San Lázaro sacrificaba e industrializaba cerdos y la Popo (que operó hasta septiembre de 1914) sacrificaba y beneficiaba ganado bovino y porcino.

Independientemente por esta época (1900), ya operaba el primer rastro municipal de la Ciudad de México, llamado el rastro de San Lucas, localizado en lo que fue el cine colonial por la Av. Fray Servando Teresa de Mier. Otros establecimientos de principios de siglo XX fueron el que empezó a construir la Compañía Ganadera de Cananea, S.A en 1903 y cuya edificación fue suspendida en 1907 y la Empacadora del Pacífico, S.A que se fundó en Guadalajara, Jalisco en 1910 y que operó años después.

El movimiento revolucionario de 1910 interrumpió la corriente de la industrialización de la carne en gran escala y al reanudarse la vida normal del país en 1918 la industria adoptó menores proporciones con carácter de pequeñas empacadoras, obradores y de ocupación casi doméstica. En este periodo se establecieron la Empacadora Menen, la Salchichonería Francesa, la Suiza, la Ibérica y otras. En el gobierno del General Manuel Ávila Camacho (1944) se proyectaron nuevas empacadoras para aprovechar el ganado que otra manera moría por la sequía o que exportaban en pie las entidades norteñas como Chihuahua, Sonora y Coahuila.

Las primeras empacadoras con una estructura definida por planos arquitectónicos fueron: La Empacadora Juárez Meat Products Co., cuya construcción se inició en 1943 operando en un principio con carne de caballo, cambió más tarde a carne de bovino, le siguió la Empacadora de Tampico posteriormente conocida como la Empacadora Lucio Blanco e inició operaciones el 8 de mayo de 1947 con ganado bovino huasteco y esta fue la primera empacadora autorizada para operar bajo los lineamientos Tipo Inspección Federal, dado que la Ley de la Industrialización Sanitaria de la Carne decretada el 31 de diciembre de 1949 fue publicada en el Diario Oficial de la Federación el 17 de Enero de 1950 y su Reglamento del 30 de Enero de 1950 fue publicado en el Diario Oficial de la Federación el 13 de febrero de 1950 por lo tanto la Empacadora de Tampico fue la que recibió el No. 1

Estas nuevas disposiciones oficiales, derogaron las descritas en el Código sanitario del 20 de agosto de 1934 y del Reglamento de carnes propias para el consumo y preparados que de ellas se derivan de fecha 24 de febrero de 1927.

Fue así como aparecen las primeras plantas siguientes:

TIF No. 1	Industria Empacadora de Tampico, S.A. (otorgado el 8 de mayo de 1947)	Tampico, Tamaulipas
TIF No. 2	Frigorífica de Guaymas, S.A.	Guaymas, Sonora
TIF No. 3	Enlatadora de Magdalena, S.A.	Magdalena, Sonora
TIF No. 4	Productos de Cananea, S.A.	Sonora
TIF No. 5	Empacadora de Chihuahua, S.A.	Chihuahua, Chihuahua
TIF No. 6	Empacadora de Ciudad Juárez, S.A.	Ciudad Juárez, Chihuahua
TIF No. 7	Empacadora de Casas Grandes, S.A.	Casas Grandes, Chihuahua
TIF No. 8	Empacadora de Camargo, S.A.	Ciudad Camargo, Chihuahua

TIF No. 9	Empacadora de Piedras Negras, S.A.	Empacadora de Piedras Negras, S.A.
TIF No. 10	Empacadora y Ganadera de la Unión Ganadera Regional de Coahuila, S.A.	Piedras Negras, Coahuila
TIF No. 11	Refrigeradora Lagunera de Productos Alimenticios, S.A.	Torreón, Coahuila
TIF No. 12	Frigorífica y Empacadora, S.A.	Hermosillo, Sonora
TIF No. 12	Frigorífica y Empacadora, S.A.	Suc. Agua Prieta, Sonora
TIF No. 13	Empacadora de Xalostoc, S.A.	Xalostoc, Estado de México
TIF No. 14	Empacadora de Durango, S.A.	Gómez Palacio, Durango
TIF No. 15	Empacadora Treviño, S.A.	Monterrey, Nuevo León
TIF No. 16	Juárez Packin, Company	Juárez Packin, Company
TIF No. 17	Empacadora de Tijuana, S.A.	Tijuana, Baja California
TIF No. 18	Abastecedora de Carnes del Norte, S.A.	Ciudad Juárez, Chihuahua
TIF No. 19	Empacadora Cuauhtémoc, S.A.	Cuauhtémoc, Chihuahua

Éstos fueron los establecimientos que se consideran de la primera etapa y que iniciaron la industrialización de la ganadería en México, con las técnicas más avanzadas que había en el momento, para los enlatados de productos cárnicos de la más alta calidad y bajo los preceptos de la Ley y Reglamento de la Industrialización de la carne, fines de diciembre 1949 y 30 de enero de 1950 respectivamente, en donde tenemos que reconocer en forma muy especial la intervención del Dr. Gabriel Atristain quien redactó y elaboró, éstos preceptos legales que obligan a la rigurosa inspección de los técnicos, aprobados por la Secretaría de Agricultura y Ganadería, Subsecretaría de Ganadería, que intervienen en los establecimientos donde se sacrifican con fines industriales animales de las especies: bovina, porcina, equina, ovina, caprina, aves o cualquier otra que se destine al consumo humano y cuyos cuerpos, partes de los mismos, carne y demás derivados que se empaquen, enlaten, congelen, refrigeren, desequen, curen, fríen, ahúmen salen, escabechen o de cualquier otro modo se preparen para el transporte o venta, como artículos de comercio en la República o para su exportación.

Así también podrán hacer la industrialización de las partes no comestibles, hasta su transformación en artículos alimenticios, industriales o medicinales. Harinas de carne y hueso.

La economía de México no puede ser saludable, si no hay un campo tranquilo y próspero, para quienes viven directamente del producto de la tierra.

Donde se instala una industria TIF se nota una eficiente y mayor productividad ganadera y agrícola.

Muchas de las empacadoras cuentan con sus corrales de engorda, para producir cortes finos y cortes comerciales. Los cortes finos es sabido que compiten con los mejores a nivel mundial (Baez, 2009).

En la actualidad la industria transformadora de los cárnicos ha venido creciendo de manera importante, desde el proceso de embutidos hasta la preparación de comidas, por personas visionarias que inicialmente desde sus lugares de origen trajeron consigo sus recetas de preparación artesanal de diferentes productos, para procesarlos de manera industrial en México, como lo han sido Pablo Brener, Adolfo Ramírez Díaz, José Ramírez García, Guillermo Wunsch Felgueres, Ricardo Vergara Ochoa, Rafael Rion, Angel Santiste-ban Ardura, Andreas Bosshard y otros que convirtieron sus pequeñas industrias en grandes corporativos procesadores de productos cárnicos.

En el 2012 el sistema cuenta con 574 establecimientos TIF repartidos en la República Mexicana de los cuales 137 son de sacrificio, 156 de corte y deshuese, 95 frigoríficos y 186 acreditados como plantas de transformación o procesamiento de cárnicos. De los 137 Establecimientos de sacrificio, 45 son de bovinos, 28 de porcinos, 34 de aves, 4 de equinos, 4 de ovinos, 2 de cabritos, 1 de conejos, 1 de codornices y 18 sacrifican más de una especie animal.

En los establecimientos TIF se cuenta con 583 MVZ Responsables Autorizados para la inspección de la carne y su procesamiento y 217 Médicos Veterinarios Oficiales que firman la documentación oficial de exportaciones, ya que actualmente México exporta a 47 Países.

En 2012 los Estados de la República como Aguascalientes, Baja California, Chihuahua, Coahuila, Durango, México, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Nuevo León, Querétaro, Sinaloa, San Luis Potosí, Sonora, Tabasco, Tamaulipas, Veracruz, Yucatán y Zacatecas exportaron diversos productos derivados de ganado bovino, porcino, equino, caprino, ovino y aviar tales como cortes de carne congelada, carne empacada al vacío, despojos y vísceras, entre otros, además se exportaron comidas preparadas, carne molida para hamburguesas, productos marinados, embutidos, cochinita pibil, y carne procesada y envasada como carnitas, barbacoa y chilorio (Escutia, 2013).

La certificación TIF (Tipo de Inspección Federal) es un reconocimiento que la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) otorga a las plantas procesadoras de carnes que cumplen con todas las normas y exigencias del Gobierno Mexicano, en cuanto a su tratamiento y manejo de sanidad se refiere.

Esta certificación trae consigo una serie de beneficios a la industria cárnica, ya que le permite la movilización dentro del país de una manera más fácil ya que cuenta con la garantía de la calidad sanitaria con la que fue elaborado el producto.

Del mismo modo, abre la posibilidad del comercio internacional, ya que los establecimientos TIF son los únicos elegibles para exportar.

Los establecimientos TIF se apegan a normas nacionales e internacionales de sanidad e higiene. Entre las normas nacionales a las cuales se deben apegar de manera cabal son la NOM-008-ZOO-1994 y NOM-009-ZOO-1994, las cuales marcan la pauta para construir y equipar los establecimientos y procesar la carne.

El sello TIF, que es un sinónimo de excelencia, significa que el producto que se está adquiriendo y consumiendo es auténtica garantía de calidad y salud. Para las marcas productoras y comercializadoras de cárnicos, dicha certificación representa, pues, un orgullo obtenerlo, pues confirma que cumplen con la normatividad internacional de procesado y empaque en sus productos, todo esto representa un gran esfuerzo que se traduce en grandes beneficios, cuyo resultado son la reducción de microorganismos indeseables, garantía en ofrecer productos excelentes y, con ello, protección al consumidor.

Con la certificación TIF el cliente o consumidor final puede tener la seguridad que tanto la carne como todos aquellos productos que tengan este sello cumplen con todas las medidas de higiene y control sanitario, así como que los productos no provienen de animales portadores de enfermedades hacia otros animales de la misma especie o relacionada.

Existen muchos establecimientos que se dedican al sacrificio de animales, a la producción de embutidos o a la elaboración de alimentos enlatados, pero "no tienen el nivel que tiene el sistema TIF"; el cual tiene su regulación en la Ley Federal de Sanidad Animal y en las normas correspondientes.

Hasta Octubre del 2009 conformaban la lista de Rastros-Obradores TIF en el estado de Jalisco: Agropecuaria El Gran Chaparral, S.A. de C.V. TIF 217 en Tepatitlán de Morelos, Granja El Rincón,

S. de P.R. de R.L. TIF 238 en Zapopan y Rastro Porcicola Azteca, S.A. de C.V. TIF 435 en Tlajomulco de Zúñiga.

Se suma a la lista Grafoler S. de P.R. de R.L. con la certificación TIF número 494 en Carr. La Barca – Guadalajara Km. 3.5 obtenida a partir de enero de 2010.

La implementación TIF en un rastro-obrador porcino tiene una doble naturaleza y se puede expresar básicamente como una relación costo-beneficio y no en todos los establecimientos se considera importante dicha certificación.

En la última década, especialmente, se ha incrementado la demanda de nuevas tecnologías y nuevos productos a la industria procesadora de alimentos. Los patrones de consumo de alimentos han cambiado fuertemente en la sociedad actual.

La disponibilidad de ciertos productos, los gustos del consumidor, los estilos de vida, el poder de compra, la presión de los medios de comunicación, la percepción de los consumidores sobre seguridad alimentaria – inocuidad, en relación con la presencia de contaminantes de diversa naturaleza -, son algunos de los factores que han influenciado ese cambio.

En este sentido, se ha cambiado el énfasis desde la provisión y disponibilidad de nutrientes y calorías a calidad y conveniencia (Fischer, 2010).

El sistema alimentario, en sus cadenas de valor, se puede dividir en subsistemas que incluyen la entrada de materiales proceso y salida del producto terminado; la logística externa y almacenaje; la producción, cosecha, condiciones socioeconómicas, políticas, de mercado y leyes regulatorias y, el último, el empleo, desarrollo social y mejoramiento nutricional.

La calidad se refiere a la combinación de caracteres críticos que establecen los consumidores para aceptar los productos, para los alimentos, esta es una mezcla de pureza, sabor, textura, color, apariencia y proceso de elaboración, la calidad está asociada con la percepción de los consumidores, del valor de un producto en términos de que el cliente esté preparado para pagar lo que puede ser subjetivo (Ranken, 2011).

Se recomienda a la industria agroalimentaria como estrategia para la calidad cumplir con los siguientes pasos que son el resultado del conjunto de propuestas de diferentes autores (Ockerman y Steffanson, 2009).

- a) Fortalecer las capacidades técnicas, de dirección, y comerciales de los actores de la cadena alimentaria y todos los aspectos relacionados con la calidad y la competitividad incluyendo el desarrollo de información que soporte la toma de decisiones.
- b) Incrementar la productividad a través del uso correcto de la tecnología disponible y desarrollar cadenas con ventajas y beneficios entre productores, industriales y comerciantes y con otros actores de los subsistemas alimentarios.

PARTE EXPERIMENTAL

Objetivo General: Identificar las ventajas competitivas que otorga la certificación TIF en un rastro-obrador a través de un estudio de caso.

Objetivos Particulares:

1. Conocer la adaptación del proceso administrativo a las normas y procedimientos TIF.
2. Identificar las estrategias de comercialización del rastro - obrador porcino TIF con otras empresas TIF.

3. Identificar las estrategias de comercialización del rastro – obrador porcino TIF con establecimientos no certificados (carnicerías, restaurantes, empacadoras, particulares, etc.)

Forma de abordar el tema: Inductivo.

Según el tema que sustenta el método: dialéctico.

El diseño utilizado de investigación es el exploratorio, ya que reúne datos preliminares que arrojan luz sobre la verdadera naturaleza del problema sugiriendo ideas e hipótesis.

El método de investigación es a través de encuestas aplicadas a una muestra poblacional en la ciudad de La Barca, Jalisco.

Hipótesis explicativas: causa-efecto.

CONCLUSIONES

El método de investigación es a través de encuestas aplicadas a una muestra poblacional en la ciudad de La Barca, Jalisco. Algunas de las conclusiones son:

- El nivel de conocimiento del mercado local acerca de la existencia de la certificación TIF en la carne de cerdo que consume es muy bajo.
- El mercado local no sabe identificar las características de la carne de cerdo con certificación TIF.
- El mercado local desconoce las ventajas de consumir carne de cerdo certificada TIF, así como las desventajas de no consumir carne de cerdo certificada TIF.

BIBLIOGRAFÍA

Baez, J., (2009). *La industria de la carne en México*. SENASICA. México, D.F. Recuperado de www.senasica.gob.mx/includes/asp/download.asp?IdDocumento

FAO, (2007). *Laboratory handbook of methods of food analysis*. CRC Press, Boca Ratón, Fla.

Fischer, R., (2010), *Industrias cárnicas (cálculos de costes y rendimientos)*, España, Edit. Acribia.

Forrest, S., (2009), *Fundamentos de ciencia de la carne*, España, Edit. Acribia.

Ockerman y Steffanson., (2009), *Industrialización de subproductos de origen animal*, España, Edit. Acribia.

Ranken, M., (2011), *Manual de industrias de los alimentos*, España, Edit. Acribia.

Robledo, J., (2005), *Análisis de diez sistema-producto del sector Agroindustrial en la Región Centro Occidente*, México, Edit. Gerco.

U.S. Dept. Agriculture (2008). Food safety and inspection service, quality control in small plants. *A guide for meat and poultry processors*. Agriculture Handbook. Washington.

TRATAMIENTO PRE-GERMINATIVO CON LÁSER HELIO-NEÓN PARA FAVORECER CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE *STENOCACTUS MULTICOSTATUS*

Brenda Yuliana Ramos Gómez^a, Sofía Loza Cornejo^a, Martín Ortiz Morales^b,

^aCentro Universitario de los Lagos (Universidad de Guadalajara), brendrago@hotmail.com,
sofialo@culagos.udg.mx

^bCentro de Investigaciones en Óptica, unidad Aguascalientes, maortiz@cio.mx

RESUMEN

La familia Cactaceae representa un grupo importante por su diversidad, propiedades medicinales, alimenticias y ornamentales (1). Los métodos aplicados hasta ahora para estimular su germinación, incluyen diferentes tipos de escarificación y aplicación exógena de reguladores de crecimiento (auxinas y giberelinas sintéticas) (2). Para contribuir a su conservación se debe tomar en cuenta el lento crecimiento que estas presentan y las condiciones adversas a las que sobreviven por lo que implementar procedimientos que favorezcan el crecimiento de los individuos en los primeros meses de vida es fundamental para su crecimiento y desarrollo. La aplicación de métodos físicos, como el tratamiento pre-germinativo de semillas con láser Helio-Neón, tiene la ventaja de incrementar el crecimiento de las plantas (3). Por lo anterior el objetivo del presente trabajo fue aplicar dicho método y analizar su efecto sobre el crecimiento inicial de plántulas de *Stenocactus multicosatus* (Cactaceae), especie con potencial en diversos aspectos debido a su riqueza fitoquímica (4). Se utilizó un diseño estadístico de bloques al azar, con tres repeticiones, incluyendo diferentes frecuencias de irradiación láser He-Ne de baja intensidad (B: 60, C: 90, D: 120 y E: 150 segundos), longitud de onda 632.8 nm, potencia 10mW, comprendido en la zona del espectro de luz visible, y un control (A) sin irradiación. Se registraron los caracteres morfológicos: altura total, diámetro, longitud de raíz y peso fresco de las plántulas provenientes de dichos experimentos. Los valores más altos se obtuvieron con 120 segundos de frecuencia. Para todos los caracteres se obtuvieron diferencias estadísticas significativas en el ANDEVA, con respecto al control. Se concluye un efecto positivo de la irradiación láser sobre el crecimiento de plántulas de *S.multicosatus*.

INTRODUCCIÓN

La gran diversidad y distribución de especies de cactáceas en México, la importancia ecológica que desempeñan en las zonas áridas y semiáridas, así como el papel económico que representan en el país por sus propiedades medicinales alimenticias y ornamentales (5,6) debería estar asociado con el estudio de métodos que contribuyan a su conservación esto por el lento crecimiento que presentan y las condiciones adversas a las que sobreviven, como lo es la destrucción de sus hábitat natural provocado principalmente por el desarrollo de actividades agrícolas y ganaderas o por la demanda de las plantas para diversos fines (7). Por lo que implementar procedimientos que favorezcan el crecimiento de los individuos en los primeros meses de vida es fundamental para su crecimiento y desarrollo. Cabe mencionar que algunas especies silvestres presentan dificultades para su propagación vegetativa, debido a la poca o nula producción de hijuelos, crecimiento lento, y en algunos casos el tamaño reducido de sus semillas y bajos índices de viabilidad (8). Los métodos aplicados hasta ahora para estimular la germinación de cactáceas, incluyen diferentes tipos de escarificación y aplicación exógena de reguladores de crecimiento (auxinas y giberelinas sintéticas) lo cual está documentado para algunas especies (9, 10,11). La aplicación de métodos físicos como el tratamiento pre-germinativo con láser Helio-Neón tiene la ventaja de inducir la germinación e incrementar favorablemente el crecimiento de las plantas (12), por tanto puede ser aplicado para proyectos de propagación y conservación de la especie ya que esta técnica favorece

también la resistencia de las plantas y semillas frente a condiciones de estrés (13). En estudios previos se ha demostrado que las plantas provenientes de semillas irradiadas son menos susceptibles a enfermedades y a otras condiciones ambientales desfavorables (14,15). En lo que se refiere a la productividad de los cultivares, también hay evidencias del efecto benéfico de la irradiación láser (16). Con base a lo anterior, en el presente proyecto de investigación, se aplicó el pre-tratamiento láser Helio-Neón en semillas de *S. multicosatus*, especie con potencial en diversos campos de estudio por su riqueza fitoquímica, para posteriormente evaluar su efecto en el crecimiento inicial de las plántulas resultantes.

PARTE EXPERIMENTAL

Metodología.

Se seleccionaron semillas procedentes de frutos recolectados de *Stenocactus multicosatus* en sus diferentes áreas de distribución en la región Altos Norte de Jalisco. Las semillas fueron seleccionadas cuidadosamente bajo un microscopio estereoscópico de campo claro (STEMI 2000), siendo descartadas aquellas que mostraron algún daño visible a nivel de la testa (17). Se aplicó un diseño estadístico de bloques al azar con las diferentes frecuencias de aplicación, utilizando tres repeticiones de 40 semillas para cada una, además del control. Las frecuencias de irradiación fueron B-60, C-90, D-120 y E-150 segundos de aplicación laser He-Ne de baja intensidad (longitud de onda 632.8 nm, potencia 10mW), comprendido en la zona del espectro de luz visible, y un control (A). Se procedió a la siembra de semillas *in vitro* en cajas de petri estériles con agua destilada. Las variables ambientales (temperatura, porcentaje de humedad relativa e intensidad luminosa), durante los experimentos, se registraron con un datalogger DICKSON y un luxómetro portátil HANNA y tuvieron un promedio de 24.4 °C, 39%, 0.16 Lux, respectivamente. Las plántulas resultantes se colocaron en contenedores con una mezcla de agrolita y vermiculita (1:1) en un invernadero, con riego dos veces por semana con agua destilada. Se registraron los caracteres morfológicos del crecimiento inicial de las mismas al segundo mes de edad; dichos caracteres incluyeron: incremento en biomasa (peso fresco), altura total, diámetro basal y longitud de la raíz de la plántula, utilizando para ello un vernier digital MITUTOYO y una balanza analítica SCIENTECH 200. Los parámetros de la estadística descriptiva de las variables de crecimiento se determinaron mediante el procedimiento *proc means* y *proc univariate*, así como con una prueba de comparaciones múltiples de Tukey ($P < 0.001$) con el programa de análisis estadístico SAS (18).

Resultados y discusión

El incremento en el tamaño de las plántulas provenientes de semillas irradiadas fue evidente, por ejemplo con las frecuencias D y E se observó un mayor crecimiento de la porción aérea y de la raíz (Fig.1). Para las plántulas control (sin irradiar) no se observan espinas ni aréolas a los dos meses de edad de la plántula, no hay diferenciación aún de epicótilo y la raíz principal es de menor longitud. Las plántulas cuya frecuencia de aplicación fue de 60 segundos (B), presentan aréolas en la región lateral y apical con espinas y un incremento en longitud de hipocótilo y epicótilo con respecto al control. Por otro lado, con 90 segundos de aplicación se observan aréolas con espinas pequeñas en la parte apical, y el hipocótilo y epicótilo no muestran incremento notorio con respecto al control (Fig. 11). En contraste con la frecuencia D, en el que se observan aréolas en la región lateral y apical, con espinas alargadas sobre todo en la parte apical, así como un incremento notorio en la longitud del hipocótilo, epicótilo, de los cuales el hipocótilo está más alargado y delgado que el epicótilo, así mismo, se observan dos raíces principales alargadas. Por último con la frecuencia mayor aplicada (E), se observa una raíz principal un poco más gruesa que las de los otros tratamientos y espinas pequeñas solo en el centro de la parte apical (Fig.1). Los resultados obtenidos de la estadística descriptiva y el ANDEVA, mostraron diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P < 0.001$) al comparar los valores de la media para los caracteres morfológicos (diámetro, altura total, longitud de raíz y peso fresco) de las plántulas procedentes de semillas irradiadas. El diámetro y peso fresco incrementaron de manera drástica con respecto al control. Destaca entre los valores más altos para todos los caracteres morfológicos el tratamiento de 120 segundos; en contraste, los valores más bajos se registraron en el Control. (Tabla 1).



Figura 1. Plántulas de *Stenocactus multicostatus* provenientes del experimento de germinación, a dos meses de edad. **A**-Control; **B**-60, **C**-90, **D**-120 y **E**-150 segundos de aplicación láser He-Ne. Escala = 1cm.

Tabla 1. Caracteres morfo-anatómicos de plántulas de *Stenocactus multicostatus*, provenientes de semillas irradiadas.

Frecuencias	ALTURA (mm)	DIAMETRO (mm)	RAIZ (mm)	PESO FRESCO (mg)
Control (A)	7.36 ± 0.01	2.62 ± 0.05	4.97 ± 0.19	0.14 ± 0.002
B	8.23 ± 0.26	3.23 ± 0	5.36 ± 0.33	0.043 ± 0.004
C	7.43 ± 0.19	2.75 ± 0.06	5.96 ± 0.17	0.033 ± 0.008
D	10.14 ± 0.06	5.93 ± 0.03	6.68 ± 0.13	0.045 ± 0.005
E	8.01 ± 0.28	3.1 ± 0.19	6.3 ± 0.16	0.38 0.002

A-control, **B**-60, **C**-90, **D**-120 y **E**-150 segundos de aplicación láser He-Ne.

Nuestros hallazgos son similares a lo mencionado por Szajsner y Drozd (19) en sus estudios en cuatro cultivares de cebada y de Soliman y Harith (20) en *Acacia farnesiana*. Se conoce que las cactáceas globosas presentan semillas fotoblásticas positivas (21) por lo tanto, se podría sugerir que la germinación fue probablemente inducida por la irradiación con láser He-Ne de 632.8 nm debido a que su longitud de onda se encuentra próxima a la longitud de onda de absorción de fitocromo rojo (Pr). El Pr es responsable de la transformación de la energía absorbida, éste es sintetizado en el citoplasma de la célula en ausencia de luz y al ser estimulado con luz roja (irradiación láser He-Ne), éste se convierte en fitocromo rojo lejano (Pfr) y migra al núcleo donde se cree que puede tener interacción con proteínas nucleares, modulando así, la transcripción de genes responsables de la síntesis de reguladores de crecimiento endógenos como auxinas y giberelinas. Cabe mencionar además que Metwally y col. (22), sugieren que la irradiación láser promueve la biosíntesis de giberelinas, y estas pueden causar la elongación celular por inducción de enzimas que debilitan las pared celular de la semilla promoviendo así la germinación, así mismo Hwida (23) menciona que la mejora en la formación de giberelinas fomenta la liberación de IAA, promoviendo entonces el crecimiento de las raíces y estas su vez incrementan la captación de nutrientes y agua. Lo cual se refleja en crecimiento de la plántula y su estructura anatómica.

CONCLUSIONES

- El tratamiento pre-germinativo de semillas con irradiación láser He-Ne (632.8 nm) tiene un efecto favorable sobre el crecimiento de plántulas de *Stenocactus multicostatus*.
- Particularmente el diámetro y el peso fresco tuvieron un incremento notable por efecto de la irradiación láser He-Ne.

BIBLIOGRAFÍA

1. F. A Jiménez y C. Jiménez-Sierra. "Uso y manejo de las cactáceas en la Reserva de la Biosfera Barranca de Metztlán, Hidalgo, México". *Sitientibus Série Ciências Biológicas*. Vol. 7 (1): 2007, pp. 78-85.
2. K.A. Amador-Alfárez; J. Díaz-González; S. Loza-Cornejo; E.Y. Bivián-Castro, "Efecto de diferentes reguladores de crecimiento vegetal sobre la germinación de semillas y desarrollo de plántulas de dos especies de *Ferocactus* (Cactaceae)", *Polibotánica*. Vol.35, 2013, pp.109-131.
3. R. Perveen, Q. Ali, M. Ashraf, F. Al-Qurainy, Y. Jamil and A.M Raza, "Effects of different doses of low power continuous wave He-Ne laser radiation on some seed, thermodynamic and germination parameters, and potential enzymes involved in seed germination of sunflower (*Helianthus annuus L.*)". *Photochemistry and Photobiology*. Vol. 86: 2010, pp. 1050–1055.
4. N. Almaraz-Abarca, M. de G. Campos, A. Delgado-Alvarado, J.A. Ávila-Reyes, N. Naranjo-Jiménez, J. Herrera-Corral, A.F Tomatas and A.J. Almadia, "Fenoles del polen de *Stenocactus multicostatus*, *Echinocereus* y *Mammillaria* (Cactaceae)". *Polibotánica*. Vol. 23: 2007, pp. 37-55.
5. D. S. Basurto, M. Lorenzana-Jimenez y G.A Magos, "Utilidad del nopal para el control de la glucosa en la diabetes mellitus tipo 2". *Revista Facultad de Medicina UNAM*, Vol.49: 2006, pp.157-161.
6. A. Andrade-Cetto and H. Wiedenfel, "Anti-hyperglycemic effect of *Opuntia streptacantha Lem.*". *Journal of Ethnopharmacology*. Vol.133: 2011, pp. 940-943.
7. G.J Alanis-Flores, C.G. Velazco-Macías, "Importancia de las cactáceas como recurso natural en el noroeste de México". *Ciencia Universidad Autónoma de Nuevo León*. Vol. XI (1): 2008, pp. 5-11.
8. R. Soltero-Quintana, "Micropropagación de dos especies de la línea *B Stembocacti* (Cactaceae)". Tesis de Maestría en procesos biotecnológicos. CUCEI, Universidad de Guadalajara, pp. 1-51.
9. M.A Ogawa, Y. Hanada, A. Yamauchi, Y. Kuwahara, Y. Kamiya and S. Yamaguchi, "Gibberellin biosynthesis and response during *Arabidopsis* seed germination". *Plant Cell*. Vol.15: 2003, pp. 1591-1604.
10. E. A. Da Silva, P.E Toorop, J. Nijse, J.D Bewley and H.W.M Hilhorst, "Exogenous gibberellins inhibit coffee (*Coffea arabica cv. Rubi*) seed germination and cause cell death in the embryo". *J. Exp. Bot.* Vol.56: 2005, pp. 1029-1038.
11. A. Barker, I. Rani, S. Hayat and A. Ahmad, "Effect of 4-Cl-indole-3-acetic acid on the seed germination of *Cicer arietinum* exposed to cadmium". *Acta Bot. Croat.* Vol.66: 2007, pp. 57-65.
12. L. Barbatni, A. Monti and G. Venturi, "Nitrogen dynamics and fertilizer use efficiency in leaves of different ages of sugar beet (*Beta vulgaris*) at variable water regimes". *Annals of Applied Biology*. Vol.150: 2007, pp. 197-205.
13. J. Podleony, "Effect of laser light on morphological features formation and *Faba bean* yielding". *Pamiętnik Puawski*. Vol. 144: 2007, pp. 115-129.
14. Y.P Chen, M. Yue and X. Wang, "Influence of He-Ne laser irradiation on seeds thermodynamic parameters and seedlings growth of *Isatis indigotica*". *Plant Science*, Vol.168: 2005, pp. 601-606.

15. A. Muthusamy, P. Kudwa, V. Prabhu, K. Mahato, V. Sankar, M. Radhakrishna, P. Mandyat and K. Satyamoorthy, "Influence of helium-neon laser irradiation on seed germination in vitro and physico-biochemical characters in seedlings of brinjal (*Solanum melongena L.*)". *Photochemistry and Photobiology*, Vol. 88: 2012, pp. 1227-1235.
16. A.C Hernández, P.A Domínguez, O.A Cruz, R. Ivanov, C.A Carballo and B.R Zepeda, "Laser in agricultura". *International Agrophysics*. Vol. 24: 2010, pp. 407-422.
17. V.E Emongor, T. Mathowa and S. Kabelo, "The effect of hot water, sulphuric acid, nitric acid, gibberellic acid and ethephon on the germination of Corchorus (*Corchorus tridens*) seed". *J. Agronomy*. Vol.3 (3): 2004, pp. 196-200.
18. SAS, "SAS User's Guide Statistics". 2002. SAS Inst. Inc.
19. H. Szajsner and D. Drozd, "Feasibility of the pre-sowing biostimulation to increase the sowing value of spring barley cultivars". *Acta Agrophysica*. Vol. 98: 2003, pp. 851-856.
20. A.S.H Soliman and M.A Harith, "Effects of laser biostimulation on germination of *Acacia farnesiana (L.) Willd*". *Acta Hort*. Vol.854: 2010, pp. 41-50.
21. P. Guerrero, L. Álvarez-Burgos, F. Peña Gómez and R. Bustamante R., "Positive photoblastic response of seed germination in *Eriosyce* subgen. *Neoporteria* (Britton & Rose) Helmut Walter (Cactaceae)". *Gayana Botánica*. Vol.68 (1): 2011, pp. 110-113.
22. S. A. Metwally, M. Abou-Ellail, B.H. Abo-Leila, K.A. "Aboud. Effect of laser radiation on the growth, anatomical and biochemical genetic markers of *Celosia argentea* plants". *International Journal of Academic Research Part A*. Vol. 5(3): 2013, pp. 200-206.
23. M. F. Hwida, S.A. Metwally, S.T Lobna. "*In vitro* growth behavior and leaf anatomical structure of *Balanites aegyptiaca* and *Cotoneaster horizontalis* affected by different types of laser radiation". *Journal of Applied Sciences Research*. Vol. 8(4): 2012, pp. 2386-2396.

EFFECTO DE LA COMBINACIÓN DE AUXINAS Y SILICIO EN LA INDUCCIÓN DE RAÍCES ADVENTICIAS EN BROTES DE AGUACATE CRIOLLO *IN VITRO*

Rene de Jesús Rodríguez Hernández¹., Voleta Tovar Rocha¹, José López Medina, *Ma. del Carmen Rocha Granados¹

¹Facultad de Agrobiología "Presidente Juárez", Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Av. Lázaro Cárdenas S/N, Esq. Berlín. Col Viveros. C.P. 60190. Uruapan, Mich. E-mail: crochagra05@gmail.com (*Autor responsable)

RESUMEN

El silicio, un elemento químico fisiológicamente no activo en las plantas, en combinación con las auxinas tienen un gran efecto sobre la formación de raíces adventicias en brotes de aguacate criollo cultivados *in vitro*. Brotes de aguacate criollo, raza Mexicana, cultivados *in vitro*, fueron colocados en un medio MS suplementados con AIB en concentraciones de 0, 2 y 6 mg.L⁻¹ y silicio a 0, 100, 250 y 500 µM solas o en combinación por espacio de 45 días. Los resultados obtenidos demostraron que los explantes crecidos en el medio que contenía una combinación de 6 mg L⁻¹ de AIB y 100 µM de silicio, presentaron una mayor formación y elongación radical con respecto al testigo. Por tanto, en este estudio se demostró que el enraizamiento *in vitro* de aguacate criollo fue más efectivo utilizando una combinación de hormonas de crecimiento (IBA) y silicio, siendo el primer estudio en el cual se demuestra que el silicio, un elemento mineral; tienen un gran influencia sobre la formación de raíces adventicias en una planta leñosa, actuando como sinergista de las auxinas.

Palabras claves: aguacate *in vitro*, auxinas Acido indol-butírico, silicio.

INTRODUCCIÓN

Entre las platas criollas que más rápidamente han desaparecido en el estado de Michoacán, se encuentran los aguacates, los cuales son de suma importancia para los productores e investigadores, debido principalmente a que estos materiales son esenciales como portainjertos de los cultivares comerciales como el Hass; por lo tanto, es de primordial importancia el mantenerlos como fuentes de variabilidad genética (Vidales, 2002; Scocchi *et al.*, 2004). Una de las alternativas para su reproducción y subsecuente conservación, como reserva genética, es mediante el cultivo *in vitro* (Scocchi *et al.*, 2004). No obstante que esta ha sido una técnica sumamente utilizada en una gran variedad de plantas leñosas, en el caso del aguacate este ha sido un proceso de poco éxito debido a que es una planta difícil de cultivar *in vitro* pues es muy sensible al proceso de oxidación y con poca respuesta a la formación de brotes laterales y raíces adventicias (Simon *et al.*, 2005).

Las auxinas son ampliamente utilizadas y promueven, principalmente en combinación con las citocininas, el crecimiento de callo, suspensiones celulares y órganos, además de regular los procesos de morfogénesis (George *et al.*, 2008). Los estudios sobre la fisiología de la acción de las auxinas demuestran que el ácido indol-butírico (AIB) y el ácido naftalenacético (ANA) son auxinas que regulan la promoción y alargamiento de raíces adventicias de varios tipos de platas (Sharma *et al.*, 1999) incluyendo el aguacate (De la Viña *et al.*, 2001).

Recientes investigaciones en aguacate han demostrado que el silicio influye de manera directa en el combate de infecciones fúngicas, contra *Phytophthora cinnamomi* Rans, en donde la adición de silicato de potasio redujo la pudrición de raíces y aumentó la masa radical de las plantas infectadas de aguacate Duke 7 (Bekker *et al.*, 2006). En el cultivo *in vitro* de aguacate pocos han sido los trabajos realizados en enraizamiento de variedades criollas con la utilización de la combinación de hormonas vegetales y elementos minerales, como el silicio, la mayoría de las investigaciones se han enfocado principalmente a las variedades mejoradas debido a la importancia económica de estas, así como a la dificultad que conlleva trabajar con variedades criollas (Witjaksono y Litz, 1999a), de ahí la importancia de esta investigación, donde se planteó como objetivo el determinar el efecto de la combinación de ácido indol-butírico (IBA) y silicio en la formación del sistema radical en brotes de aguacate criollo cultivados *in vitro*.

MATERIALES Y METODOS

Material vegetativo. Para la presente investigación se utilizaron brotes de aguacate criollo raza Mexicana (*Persea americana* Mill. *Var. drymifolia*) accesión 542, provenientes del banco de germoplano del INIFAP-Uruapan, previamente establecidos *in vitro*, y obtenidos de la fase de multiplicación de yemas axilares en un medio MS suplementado con 0.6 mg.L⁻¹ de benciladenina (BA).

Preparación de los medio de cultivo. Para el establecimiento de los brotes se utilizó el medio de cultivo básico MS, suplementado con 0, 2 y 6 mg.L⁻¹ de ácido 3-indol butírico (AIB) y 0, 100, 250 y 500 µM de metasilicato de sodio (SiCO₃), solo o en combinación. El ph fue ajustado a 5.7 Para solidificar los medios se utilizaron 8 g L⁻¹ de agar-agar.

Establecimiento de los tratamientos. Brotes de aguacate de 1.5 cm de longitud, provenientes de la fase de multiplicación *in vitro*, fueron sembrados en el medio de cultivo con y sin AIB, colocando cinco explantes por frasco y puestos en un cuarto de crecimiento a una temperatura de 25 °C y una luminosidad de 2,200 Lux, con un fotoperiodo de 16 horas luz 8 oscuridad. Bajo estas condiciones se mantuvieron por espacio de 45 días.

Diseño experimental. El diseño experimental utilizado en la investigación fue completamente al azar y constó de 3 tratamientos, Incluyendo el testigo. Cada tratamiento contó de 10 repeticiones cada una y 5 explantes por repetición. Las variables que se evaluaron fueron: 1) Número de explantes que formaron raíz, 2) longitud de raíces y 3) longitud de las plántulas. Los datos obtenidos de las variables evaluadas fueron sometidos a análisis de varianza (ANOVA), utilizando el programa JMP del SAS institute V.7 y posteriormente a la prueba de comparación de medias (Tukey $P \leq 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ácido Indol-Butírico. En este experimento se utilizó el AIB en concentraciones de 0, 2 y 6 mg.L⁻¹ al medio nutritivo de los cuales el mejor tratamiento que favoreció notablemente el crecimiento y desarrollo del sistema radicular de los explantes de aguacate fue el de 6 mg L⁻¹, el cual mostro los mejores resultados, con respecto al resto de los tratamientos que solo contenían este regulador y al testigo (Figura 1).

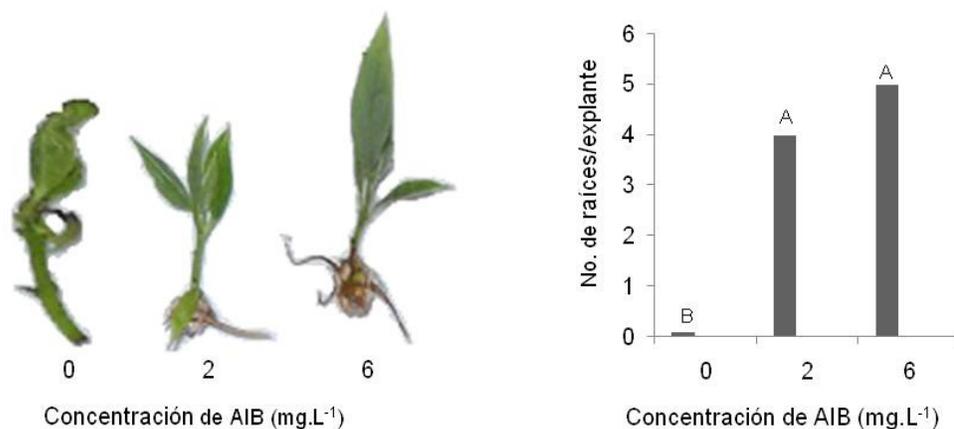


Figura 1. Efecto del ácido indol-butírico (AIB) en la formación de sistema radical de brotes de aguacate.

Actualmente se sabe que las auxinas se generan principalmente en las partes jóvenes de las plantas, por ejemplo, ápices, frutos tiernos y hojas en desarrollo, además se sabe que participan en la regulación de algunos procesos que ocurren en los tejidos vegetales como el crecimiento celular, la acidificación de la pared celular, la formación de los tejidos no diferenciados (tejido calloso), la diferenciación del tejido vascular (Leszerek, 2003).

El Silicio en la formación de raíz de brotes en aguacate criollo. Con la adición de silicio, se encontró que los mejores resultados fueron aquellos en los que se utilizaron 250 $\mu\text{M.L}^{-1}$ de silicio, mientras que dosis por debajo (100 $\mu\text{M.L}^{-1}$) o mayores (500 $\mu\text{M.L}^{-1}$) a ésta no mostraron efecto sobre los brotes (Figura 2).

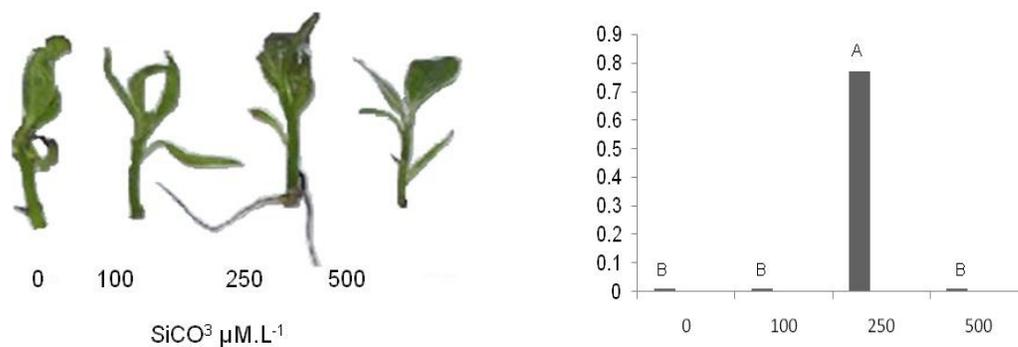


Figura 2. Influencia del silicio en la formación del sistema radicular en brotes de aguacate criollo.

En aguacate se han realizado experimentos con silicio para controlar enfermedades de la raíz (Bekker *et al*, 2006), los resultados obtenidos en estos experimentos demostraron que el tratamiento a base de silicato de potasio soluble contra *P. cinnamomi* redujeron notablemente la pudrición de las raíces, además produjo mayor masa radical comparado con otros tratamientos donde se utilizó fosfanato de potasio, estos experimentos demostraron que tres aplicaciones de abundante silicato de potasio sobre el suelo, lograron una mayor densidad radicular con respecto al testigo no tratado al igual que el tratamiento en base a fosfonato de potasio, demostrando que aplicaciones repetidas abundantes de silicato de potasio sobre el suelo son una potencial alternativa como medida de control de la pudrición de raíces del aguacate. El uso del silicato de

potasio brinda protección a las raíces bajo presión de la infección, e induce nuevo crecimiento de la raíz (Bekker *et al*, 2006).

BIBLIOGRAFÍA

Bekker, T., Labuschagne, N., Aveling, T., y Kaiserli, C. 2006. Department of plant production and soil Science, Department of microbiology and plant pathology, University of Pretoria, South Africa.

De la Viña, G., Barceló-Muñoz, A. y Pliego-Alfaro, F. 2001. Effect of cultura media and irradiance level on growth and morphology of *persea Americana* Mill. microcuttings. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 68: 229-237.

George, E., Hall, M. y Klerk, G. 2008. Plant growth regulators III: Gibberellins, Ethylene, Abscisic Acid, their analogues and inhibitors; Miscellaneous compounds. In: plant propagation by tissue culture. 3th. Edition. Springer Netherlands. Pp. 227-281.

Leszerk, S. J. 2003. Reguladores de crecimiento, desarrollo y Resistencia en plantas. Propiedades y acción. Ed. Mundi-Prensa. Universidad Autonoma de Chapingo. México, D. F. Pp. 86.

Sharma, A. K., Prasad, R. N. y Chaturvedi, H. C. 1999. Clonal propagation of *Bougainvillea glabra* 'Magnifica' through shoot apex culture. *Plant Cell and Tissue Culture*. 1: 33-38.

Simon, H. T., Raharjo and Litz, E. R. 2005. Micrografting and *ex vitro* grafting for somatic embryo rescue and plant recovery in avocado (*Persea americana*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 82: 1-9.

Scocchi, A. y Rey, H. 2004. Conservación de germoplasma *in vitro*. En: Biotecnología y mejoramiento vegetal. Editorial ANITA. Buenos Aires, Argentina. Pp. 179-185.

Vidales, F. I. 2002. Recursos genéticos de aguacate en México: colecta, caracterización y conservación de germoplasma. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y pecuarias (INIFAP). Centro Regional de Investigación del Pacífico Centro.

Witjaksono, y Litz, R. E. 1999. Induction and growth characteristics of embryogenic avocado cultures. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 58: 19-29.

CARACTERÍSTICAS FÍSICAS Y QUÍMICAS DE LA CARNE DE BOVINOS QUE RECIBIERON ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO (CLA) DURANTE LA ETAPA DE FINALIZACIÓN

García VA^{1*}, Partida PJA², Bernal SMG¹, Díaz VJJ¹, Núñez PR³, Garza FJD³, Ríos SA², Jáuregui AM¹, Betancourt LCA¹, Aguilera BA¹

¹Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro, Qro., ²CNIDFYMA-INIFAP, Ajuchitlán Qro., ³Rancho El 17, Hermosillo, Son.
dalia@uaq.mx

RESUMEN

Con objeto de evaluar el efecto de la inclusión del CLA en la ración de finalización de bovinos productores de carne sobre las características físicas y químicas de su carne, se emplearon 200 toretes de tipo comercial, con un peso inicial promedio de 488 ± 1.5 kg distribuidos por bloques al azar en dos tratamientos: 1) 0 g CLA, y 2) 150 g de CLA por animal/día. Los toretes se distribuyeron en grupos de 25 animales en ocho corrales, haciendo un total de cuatro repeticiones por tratamiento. Al cabo de 30 días de experimentación 12 animales por tratamiento (tres por corral) fueron sacrificados para evaluar grasa renal (GR), grasa dorsal (GD), madurez (MAD), marmoleo (MAR), pH, color (L, a, b) y fuerza de corte (Warner-Bratzler). No se encontraron diferencias entre tratamientos para ninguna de las variables evaluadas ($P > 0.05$), siendo las medias \pm error estándar las siguientes: GR = 2.6 ± 0.4 kg, GD = 6.7 ± 3.6 kg, MAD = 1.2 ± 0.4 , MAR = 2.3 ± 0.4 , pH = 5.3 ± 0.3 , L = 35.4 ± 0.2 , a = 14.0 ± 0.8 , b = 13.0 ± 2.1 , fuerza de corte 5.7 ± 0.2 kgf, PROT = 21.2 ± 0.2 , GRA = 4.0 ± 0.1 , CRA = 26.2 ± 1.7 . Bajo las condiciones del presente estudio la suplementación de CLA a bovinos en engorda no afectó la calidad de su carne.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad ha aumentado el interés por alimentos que sean benéficos en la salud humana; este es el caso del ácido linoleico conjugado (CLA). El cual se encuentra naturalmente en varios alimentos; fuente principal son los productos lácteos y otros alimentos derivados de animales rumiantes (Bauman et al., 2008, Bauman y Griinari 2001). El ácido linoleico conjugado (CLA) es grupo de isómeros de ácidos grasos que presentan en su estructura dos dobles enlaces adyacentes, se producen de manera natural por la fermentación ruminal siendo los más importantes los isómeros cis-9,trans-11 y el trans-10,cis-12. El cis-9,trans-11 es el principal isómero producido pero sus concentraciones en los productos lácteos o en la carne varían dependiendo de la dieta de los bovinos. Demostrándose que el contenido de grasa de leche y la grasa corporal de CLA también se puede aumentar por la suplementación de CLA en la dieta.

El CLA se encuentra en la leche y la grasa de la carne de los rumiantes originarse a partir de dos fuentes (Griinari y Bauman, 1999) una fuente de CLA se forma durante la biohidrogenación ruminal de ácido linoleico. La segunda fuente de CLA se sintetiza en los tejidos del animal a partir de trans-11 C18: 1, otro intermediario en la biohidrogenación de ácidos grasos insaturados. Por lo tanto, la singularidad de CLA en productos derivados de rumiantes se refiere a la biohidrogenación incompleta de los ácidos grasos insaturados de la dieta en el rumen.

Se ha demostrado que el isómero cis-9,trans-11 puede suprimir el desarrollo de cáncer en numerosos sitios en modelos animales e inhibir el crecimiento de una gran selección de células de cáncer, incluyendo la glándula mamaria, piel, colon, de próstata, y de las ratas, los seres humanos,

ratones, y hamsters.. El isómero trans-10, cis-12 CLA ejerce efectos específicos sobre los adipocitos, en particular sobre la reducción de la absorción de lípidos mediante la inhibición de la lipogénesis. Además se ha demostrado que el CLA es igualmente eficaz como las tiazolidinedionas, una clase de agentes sensibilizadores a la insulina orales que mejoran la utilización de la glucosa sin estimular la liberación de insulina, en la reducción de la glucosa en ayunas en ratas diabéticas Zucker, para combatir la diabetes tipo 2.

PARTE EXPERIMENTAL

La primera parte del experimento se realizó en Rancho El 17, en Hermosillo, Sonora, donde se emplearon 200 toretes de tipo comercial, con un peso inicial promedio de 488 ± 1.5 kg. los animales se distribuyeron por bloques al azar en dos tratamientos: 1) 0 g CLA, y 2) 150 g de CLA por animal/día. Los toretes se distribuyeron en ocho corrales en grupos de 25 animales, haciendo un total de cuatro repeticiones por tratamiento. El manejo y la alimentación de los animales se llevó a cabo conforme se describe por Díaz et al. (2015). Al cabo de 30 días de experimentación 12 animales por tratamiento (tres por corral) fueron sacrificados para evaluar grasa renal (GR), grasa dorsal (GD), madurez (MAD), marmoleo (MAR), pH, color (L, a, b) y fuerza de corte (Warner-Bratzler).



Figura 1. Corrales Rancho el 17

La segunda parte del experimento que consistió en hacer las evaluaciones físicas y químicas de la carne, se llevó a cabo en las instalaciones del CNIDFYMA-INIFAP, Ajuchitlán en Querétaro así como en el Laboratorio de Nutrición Animal en la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro. Los siguientes parámetros físicos se llevaron a cabo de acuerdo a la metodología descrita por (Cañeque et al., 2005):

pH.- El pH se mide normalmente en el M. *Longissimus dorsi* a las 24 horas postmortem en tomas consecutivas en el ojo de la costilla, aunque si no se ha cortado la canal se puede medir en el semimembranoso, músculo que asoma en la cara interna de la pierna.

Color.- La medición colorimétrica de la carne se realiza con un colorímetro. Dicho instrumento convierte todos los colores comprendidos, en los rangos de percepción humana. Se pueden utilizar diferentes sistemas de medición, aunque lo más común es el sistema CIELAB donde L*, a*, b*, C* se definen como:

L* o luminosidad o claridad. Sus valores van de 0 (negro) a 100 (Blanco)

a* o índice de rojo. Sus valores en la carne varían desde 0 hasta 60

b* o índice de amarillo. En la carne sus valores se encuentran desde 0 hasta 60. C* o croma. Significa la intensidad del color (pálido, luminoso, saturado ó vivo, profundo, oscuro y grisáceo ó débil), se calcula como la raíz cuadrada de la suma de a* al cuadrado más b* al cuadrado.

Fuerza de corte.- La evaluación se efectúa ya sea con un equipo Warner-Brazler o con una adaptación de un accesorio de Warner-Brazler a un texturómetro, donde se obtienen los valores de resistencia al corte (kg, N), de una muestra de carne en forma de prisma o cilindro. El corte se realiza perpendicularmente a las fibras con la ayuda de dos cuchillas, una de ellas en forma triangular. Este aparato realiza una simple medida de la fuerza máxima de corte ejercida durante la ruptura completa de la muestra.

De cada canal muestreada, se utiliza un pedazo de cada músculo, libre de hueso, cortado en forma perpendicular a la dirección de las fibras musculares, y de aproximadamente 2.5 cm de espesor, al cual previamente se le remueve la grasa subcutánea o de cobertura. La muestra se cocina hasta que el centro alcance una temperatura de 70 °C y se cortan trozos de 1cm por 1 cm, colocándose en el equipo perpendicular a la dirección de la fibras musculares.

Capacidad de Retención de Agua.- para esta determinación se utilizó el método de prensa para cuantificar el exudado de la carne. Muestras pequeñas de carne (0,3 gr) son prensadas sobre un papel filtro con una presión de 35kg/cm² entre dos placas. Tras su retirada transcurridos cinco minutos, las áreas cubiertas por la carne aplastada y la mancha proveniente de la muestra de carne, son marcadas y medidas. Tras restar el área cubierta por la carne de la del total del área manchada obtenemos un área humedecida y puede calcularse el contenido de agua.



Figura2. Colorímetro y Texturómetro empleados en el estudio.

Las determinaciones de proteína cruda y de extracto etéreo se llevaron a cabo de acuerdo a la AOAC (1990). Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza de acuerdo a un diseño por bloques al azar, empleando los procedimientos PROC GLM y lsmeans del paquete estadístico del SAS (1998).

CONCLUSIONES

En el Cuadro 1 se presentan las medias mínimas cuadradas de cada tratamiento. No se encontraron diferencias estadísticas en ninguna de las variables de respuesta evaluadas. Por tanto, la suplementación de CLA en la ración de finalización durante los últimos 30 días de engorda no tuvo efectos negativos sobre las características fisicoquímicas de la carne.

Cuadro 1. Características físicas y químicas de la carne de bovinos recibiendo CLA en la dieta de finalización.

Variable de respuesta	Tratamiento			P
	Control	CLA	EEM	
pH	5.3	5.3	0.2	0.9
Color:				
L	37.4	35.4	0.2	0.1
a	14.9	14.0	0.7	0.6
b	11.8	13.0	2.2	0.8
Capacidad de retención de agua, %	21.1	26.2	1.7	0.3
Fuerza de corte, kgf	7.5	5.7	0.2	0.1
Proteína cruda, %	20.9	21.2	0.2	0.6
Extracto etéreo, %	3.1	4.0	1.3	0.1

Se agradece al Rancho El 17, Hermosillo, Son., a su personal administrativo y de campo, por permitir el desarrollo del trabajo experimental con sus animales y en sus instalaciones, a BASF Mexicana, S.A. de C.V. por proporcionar el CLA empleado en el estudio y al programa Fondo de Proyectos Especiales de Rectoría (FOPER) de la Universidad Autónoma de Querétaro por el patrocinio del trabajo experimental.

BIBLIOGRAFÍA

1. AOAC. "Official Methods of analysis. Association of official analytical chemists". 1990.
2. D.E. Bauman, and A.L. Lock, Conjugated linoleic acid biosynthesis and nutritional significance. *Advanced Dairy Chemistry, Volume 2: Lipids*, 3rd Edition. 2006 pp. 93-136.
3. V. Cañeque y C. Sañudo, "Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa en los rumiantes)" Madrid: Monografías INIA Serie Ganadera, 2005, No. 3.
4. J.M. Griinari, and D.E. Bauman, "Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants", In *Advances in conjugated linoleic acid research*, Vol. 1 (ed. M.P. Yurawecz, M.M. Mossoba, J.K.G. Kramer, M.W. Pariza and G.J. Nelson). 1999, Pp.180-200. AOCS Press, Champaign, IL
5. R. C. Khanal,. Potential Health Benefits of Conjugated Linoleic Acid (CLA):A Review. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 2004 Vol 17, No. 9. pp. 1315-1328
6. P. R. O'Quin,. Conjugated linoleic acid. *Animal Health Research Reviews*. 2000, Vol. 1. pp 35-46.
7. Pariza, M.W. and Y. Park, "The biologically active isomers of conjugated linoleic acid", *Progress in Lipid Research*, 2001, Vol. 40.pp. 283-298.

INFLUENCIA DEL INHIBIDOR ENZIMÁTICO Y TRATAMIENTO DE DESHIDRATACIÓN OSMÓTICA SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS Y TEXTURALES DE MANZANA (*Pyrus malus*).

Alejandra N. Alvarado-López^a, Octavio Dublan-García^a, Ofelia Marquez-Molina^b, Leticia X. López-Martínez^a,

^aUniversidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Química, Departamento de Alimentos, lomarleticia@gmail.com

^bUniversidad Autónoma del Estado de México, Centro Universitario UAEM Amecameca

RESUMEN

En la actualidad, la osmo-deshidratación es uno de los métodos de conservación de alimentos más ampliamente utilizados para el aprovechamiento de frutas, siendo un rubro de importancia económica para los países en vías de desarrollo. Cubos de manzana (*Pyrus malus*) fueron tratados con disoluciones de ácido ascórbico 1% osmodeshidratados en disoluciones concentradas (40, 50 y 60°Bx) de azúcar refinado, estándar y mascabado. Se les determinó humedad, pH, acidez, % de sólidos solubles, azúcares totales, color y textura. El porcentaje de humedad se encontró de 5 al 10% observándose que la humedad disminuye al aumentar la concentración de las disoluciones osmóticas y con la temperatura de secado. Todos los tratamientos presentan un pH de 4 a 5, por lo que es posible que la alta acidez del alimento retrase el crecimiento microbiano y con ello aumente la vida útil del producto. Las muestras tratadas con azúcar estándar y refinado presentaron el mayor contenido de sólidos solubles (27.48 y 27.92°Bx respectivamente) existiendo relación directa con el contenido de azúcares totales. El sistema CIE-L*a*b*, indicó que las muestras tratadas con azúcar mascabado presentan valores positivos de a* en comparación con las muestras de azúcar estándar y refinado indicando así tonalidades rojizas. Este estudio pretende establecer las condiciones que aseguren la obtención y estabilidad de los productos deshidratados generando así alternativas de consumo.

INTRODUCCIÓN

La mayoría de las verduras y frutas contienen más de 80% de agua y por lo tanto son altamente perecederos. Debido al proceso de putrefacción, el almacenamiento a largo plazo de verduras y frutas frescas no es posible. El secado es una alternativa para reducir las pérdidas post-cosecha de frutas, y un proceso de conservación común, mediante la remoción de casi la totalidad del agua de un alimento, que permite convertir los alimentos perecederos en productos estabilizados, haciendo posible su almacenamiento durante largos periodos de tiempo (Kowalski et al., 2013). La deshidratación osmótica promueve la eliminación parcial de agua de los alimentos por inmersión en una disolución hipertónica. La fuerza impulsora para la difusión de agua desde el tejido de la planta en la solución concentrada es proporcionada por la alta presión osmótica de la disolución.

La difusión de agua es acompañada por la simultánea contra-difusión de soluto(s) de la disolución osmótica en el tejido. Puesto que la membrana responsable del transporte osmótico no es perfectamente selectiva, otros solutos presentes en las células también pueden ser lixiviados en la disolución osmótica (Chow et al., 2011; Kowalski et al., 2013).

La aplicación del pre-tratamiento osmótico reduce el tiempo de procesado, inhibe la actividad enzimática, ayuda a preservar el sabor, aroma, y color de las frutas y reduce considerablemente los cambios químicos, físicos y biológicos adversos que se producen durante el secado por convección de larga duración (Urfalino y Quiroga, 2011; Kowalski et al., 2013).

El pardeamiento enzimático es el proceso que le ocurre al alimento de origen vegetal, cuando es sometido a un proceso mecánico como pelado, corte o golpe; se debe a la presencia en los tejidos vegetales de enzimas del tipo polifenoloxidasas, cuya proteína contiene cobre, que cataliza la oxidación de compuestos fenólicos a quinonas. Estas prosiguen su oxidación por el O₂ del aire sobre el tejido en corte reciente, para formar pigmentos oscuros, melanoides, por polimerización. Los compuestos de la reacción no son tóxicos, pero la preocupación de los tecnólogos es el aspecto, color y presentación de frutas y verduras, que indudablemente tienen gran importancia comercial y culinaria (Fennema, 2000). Los métodos más aplicados para inhibir el pardeamiento son la inactivación de la enzima mediante calor (escaldado), utilizando inhibidores químicos como derivados de azufre o ácidos orgánicos y la eliminación parcial o total del oxígeno aplicando atmósferas modificadas (Chow et al., 2011).

MÉTODOS

Manzanas (*Pyrus malus*) de tamaño uniforme y madurez comercial se obtuvieron del mercado local y fueron refrigeradas hasta su uso. Las muestras frescas presentaron las siguientes características iniciales: humedad (84.63±0.42%), pH (4.27±0.06), acidez titulable (0.70±0.02%), azúcares totales (11.5g.100g⁻¹), sólidos solubles (10.4°Bx), color (L* 83.62±1.53, a*-6.64±0.33, b* 26.2±1.91) y textura por una prueba de penetración (Fuerza: 1540±51N).

Para llevar a cabo la deshidratación osmótica, las manzanas se lavaron en agua de grifo y se cortaron en cubos de 1 cm³, los que fueron tratados con ácido ascórbico al 1%. Posteriormente las frutas se sumergieron durante 2h en disoluciones osmóticas a base de azúcar refinada, estándar y mascabado a 40, 50 y 60° Brix. El secado de las muestras se llevó a cabo a 40, 50 y 60° C durante 6 h. Los experimentos se realizaron por triplicado. A las muestras deshidratadas de manzana se les determinó humedad (NOM-116-SSA1-1994), pH (NMX-F-317-S-1978), acidez titulable (NMX-F-102-S-1978), azúcares totales (Nelson y Ting, 1956), sólidos solubles (NMX-F-103-1982), color (colorímetro Minolta) y textura (Stable Micro System). Para determinar el grado de pardeamiento enzimático se cuantificó la actividad residual de la polifenoloxidasa (Rocha y Morris, 2001) para la totalidad de los tratamientos. Se realizó un análisis de varianza o ANOVA.

RESULTADOS

Luego de la deshidratación osmótica, los frutos modificaron su humedad, perdieron alrededor de 80%. Debido al bajo contenido de humedad los tratamientos a 60°Bx y secados a 60°C serán menos susceptibles al ataque microbiano y disminuirán la actividad de las enzimas fenólicas reduciendo la susceptibilidad a la oxidación enzimática.

Conforme la temperatura de secado aumenta se produjo un aumento continuo en la pérdida de peso, así mismo, existe relación directa con la concentración de sacarosa presente en las disoluciones osmóticas. La figura 1 presenta los resultados de humedad de la manzana en respuesta a los tratamientos de secado a 40, 50 y 60°C y a las concentraciones de la disolución osmótica.

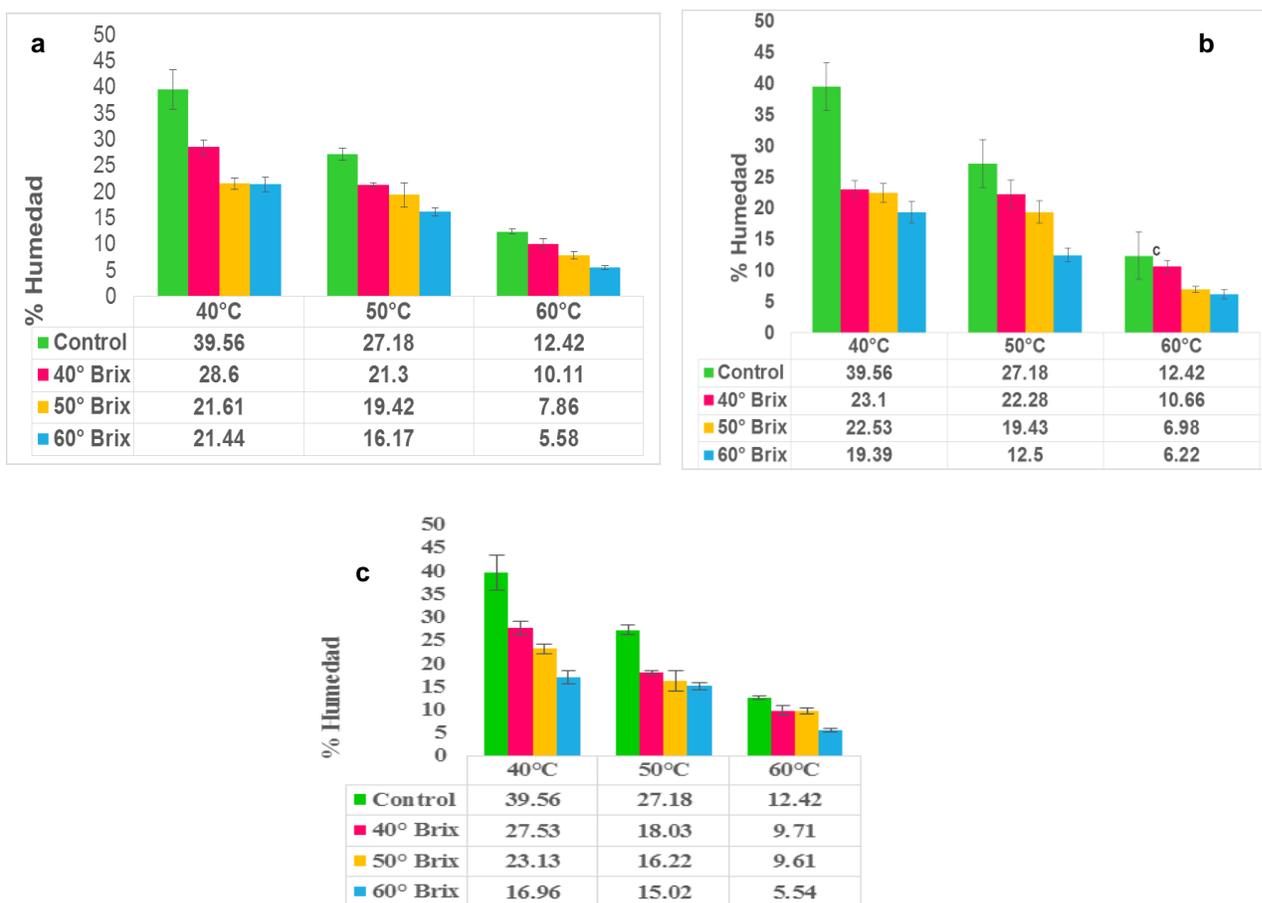


Figura 1. Humedad para las muestras de manzana osmo-deshidratadas a 40, 50 y 60° Brix con a) azúcar mascabado, b) azúcar estándar y c) azúcar refinado respectivamente.

Todas las muestras disminuyeron el valor de acidez hasta 0.32% posiblemente debido a la lixiviación de los ácidos orgánicos durante el tratamiento osmótico; el pH de las frutas no se vio afectado por las condiciones del proceso.

Durante la deshidratación osmótica, el agente osmótico normalmente penetra en la fruta mientras que el agua fluye desde el fruto a la disolución, por tal motivo los tratamientos con mayor concentración de sacarosa (60°Bx) mostraron el mayor contenido de azúcares totales siendo de $21.05g \cdot 100^{-1}$.

Para la manzana deshidratada con azúcar mascabado a las diferentes temperaturas se tiene que los sólidos solubles incrementan con la concentración de la disolución osmótica. El mismo comportamiento se observa para azúcar estándar y refinado; por lo que la concentración y tipo de azúcar favorecen la difusión de solutos aumentando la cantidad de sólidos solubles en las muestras (figura 2). La temperatura de secado no tiene efecto sobre los sólidos solubles.

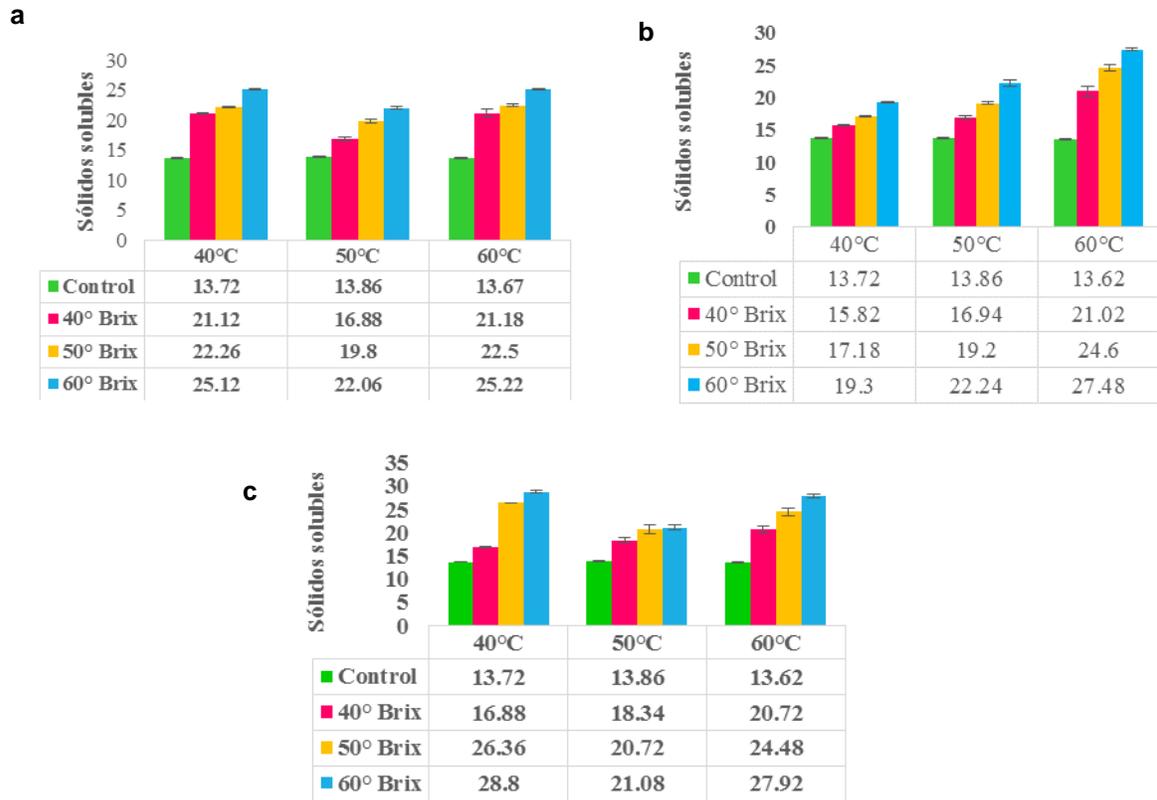


Figura 2. Sólidos solubles para las muestras de manzana osmo-deshidratadas a 40, 50 y 60° Brix con a) azúcar mascabado, b) azúcar estándar y c) azúcar refinado.

Respecto a la firmeza, posiblemente en las muestras con alto contenido de azúcares se produjo la contracción natural de la célula (plasmolisis) generando mayor firmeza en éstas muestras, 1510, 1490 y 1475N para los tratamientos con azúcar refinado, estándar y mascabado respectivamente.

Las características de color para la manzana deshidratada bajo los diferentes tratamientos se presentan en la tabla 1. Después del proceso de secado, se observa una disminución en el valor de L^* para las muestras con azúcar mascabado pudiendo verse afectadas por el color intenso que el jarabe le confiere durante el tratamiento osmótico. Existe diferencia significativa para los valores de a^* y b^* entre tratamientos, pudiendo ser causados por la exposición al tratamiento osmótico. Finalmente las muestras con azúcar mascabado expresan un color naranja-amarillo, en comparación con las muestras con azúcar estándar, refinada y control que presentan un color amarillo-verde.

Respecto a la actividad de la polifenoloxidasa se observó que los tratamientos con azúcar estándar y refinado a 60°Bx muestran mayores porcentajes de actividad residual (52.63 y 57.89% respectivamente), posiblemente debido a que durante el secado con la temperatura y el tiempo de exposición se reduce la actividad inicial de la enzima. El tratamiento sin exposición al inhibidor enzimático presentó actividad enzimática del 54.92% existiendo relación directa con los valores de color

Tabla 1. L*, a*, b*, cromaticidad y tonalidad para manzana osmo-deshidratada con azúcar mascabado, estándar y refinado secado a 60°C

Tratamiento	L*	a*	b*	Tonalidad	Cromaticidad
Mascabado	68.17±2.78 ^c	5.09±1.83 ^c	41.31±4.2 ^b	80.14±3.83 ^a	41.68±4.2 ^b
Estándar	80.53±5.64 ^a	-2.93±1.99 ^b	33.2±2.46 ^a	93.96±3.79 ^b	33.38±2.54 ^a
Refinado	85.18±4.25 ^{a,b}	-3.8±1.8 ^b	35.8±3.94 ^a	92.5±3.67 ^b	36.05±2.57 ^a
Control	81.02±2.17 ^a	-1.31±1.18 ^a	46.52±4.6 ^c	97.64±1.94 ^{b,c}	46.56±4.55 ^{b,c}

CONCLUSIONES

-La deshidratación osmótica es un método de conservación adecuado para extender la vida útil de las frutas y con ello disminuir las pérdidas pos-cosecha.

-A mayor concentración de la disolución osmótica (60°Bx) y temperatura de secado (60°C) se obtienen muestras con mayor contenido de sólidos solubles y azúcares totales y menor contenido de humedad.

-El tratamiento de deshidratación osmótica no tiene efecto sobre el pH de las frutas, pero sí sobre la acidez que se ve disminuida.

-La tonalidad y cromaticidad de las frutas con azúcar estándar y refinada no son afectadas por el proceso de osmo-deshidratación, no siendo así para los tratamientos con azúcar mascabado.

-El empleo de inhibidores enzimáticos condiciona la actividad de la enzima con lo que se disminuye la aparición de pigmentos oscuros favoreciendo así la presentación final de las muestras.

BIBLIOGRAFÍA

1. Chow, Yin-Nai, Loïc Louarme, Catherine Bonazzi, Jacques Nicolas, Catherine Billaud. "Apple polyphenoloxidase inactivation during heating in the presence of ascorbic acid and chlorogenic acid". *Food Chemistry* Vol. 129, 2011, pp. 761–767.
2. Fennema, O. *Química de los alimentos*. Acribia, España. 2000. pp. 189-249.
3. Kowalski S.J., Łechtańska, J.M., Szadzińska, J. "Quality aspects of fruit and vegetables dried convectively with osmotic pretreatment". *Chemical and Process Engineering*, Vol. 34, 1, 2013, pp. 51-62
4. Urfalino, D.P. y Quiroga, A. "Desarrollo de técnicas combinadas de secado para la obtención de duraznos deshidratados con bajo contenido de sulfites". *RIA*. Vol. 37, 2, 2011, pp.165-171.

Fermentación aparente en mezclas de maltas de triticale (*X Triticosecale* Wittmack) y cebada (*Hordeum vulgare* L.) para uso como mosto cervecero

Ambriz-Vidal, T.N.^a, López-Perea, P.^a; Mariezcurrena-Berasain, M.D.^a;
Mariezcurrena-Berasain, M.A.^b

^a Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma del Estado de México, engovi17@hotmail.com, plopezp@uaemex.mx, nekkane16@hotmail.com

^b Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México, maria_mariezcurrena@hotmail.com

RESUMEN

La malta de cebada ha sido tradicionalmente el grano de elección de la industria cervecera, sin embargo económicamente no siempre es viable para la producción de cerveza usar 100% malta de cebada. En estudios recientes se ha encontrado que algunas líneas de triticale poseen altos niveles de actividad amilolítica que pueden ser usadas para la sacarificación, también contiene enzimas proteolíticas que son importantes para la degradación del grano. Por lo tanto el objetivo de esta investigación fue evaluar el potencial del poder de fermentación en mezclas de triticale con cebada para la producción de mostos cerveceros; para lo cual se contó con 10 líneas de triticale proporcionadas por el CIMMYT, a las que se le realizó un análisis proximal en donde solo se seleccionaron 4 de esas líneas; posteriormente se determinó la calidad maltera en esas 4 líneas; seleccionando nuevamente las 2 mejores líneas; se realizó una microscopía electrónica de barrido (SEM) en 350x, se realizaron mezclas (100/0, 80/20, 70/30, 50/50, 30/70, 0/100) de malta de triticale en conjunto con malta de cebada para saber cuál tenía mejor fermentación. La metodología que se utilizó fue ASBC y EBC. De acuerdo a los resultados de calidad maltera presentan una calidad media, que es comparable con algunas variedades de cebada maltera mexicana, en las micrografías obtenidas de SEM se observó que la capa de aleurona donde se desarrollan los sistemas enzimáticos es de mayor tamaño en triticale que la de cebada maltera. En cuanto a fermentación en las mezclas el AAL va de 72% a 85% de forma que los azúcares obtenidos si son fermentables y aprovechados por la levadura por lo tanto la fermentación presente demuestra que no hay diferencia en usar malta de triticale o cebada; concluyendo que las líneas de triticale usadas en esta investigación, son una alternativa para la elaboración de mostos cerveceros debido al contenido de azúcares fermentables presentes.

Palabras clave: triticale, malta, fermentación

INTRODUCCIÓN

Actualmente la sustitución de diversos cereales no malteados como maíz, trigo y arroz en los procesos de cervecería se ha convertido en un procedimiento estándar, debido a que no es viable producir 100% malta de cebada; se estima que pueden combinarse la malta y los adjuntos hasta un 90% (Ande *et al.*, 1998; Bamforth, 1999). A pesar del indiscutible papel económico que juega la utilización de los adjuntos (Aastrup and Hannemann, 1999; Canales, 1979; Lloyd, 1986), la calidad de la cerveza está basada sobre la composición del mosto no en el precio de este. Por lo tanto los cerveceros necesitan estar seguros que el mosto preparado a partir de mezclas de grits, de malta de cebada y de diferentes cereales adjuntos no disminuyen los tradicionales estándares de alta calidad.

El triticale (*X Triticosecale* Wittmack) representa una tecnología en la cual existe un desconocimiento y poca difusión de las bondades y usos. Este cereal muestra prometedoras propiedades cerveceras ya que las características importantes de este cereal es que posee sus propias enzimas para degradar el almidón, que considerablemente disminuyen costo, por lo cual no es necesaria la aplicación de enzimas exógenas. Algunas líneas de triticale poseen altos niveles de actividad amilolítica que pueden ser usadas para la sacarificación de otras materias primas. También contiene enzimas proteolíticas que son importantes para la degradación del grano (Lloyd, 1986). En combinación con bajo rango de gelatinización del almidón (53 a 64 °C), el triticale podría ser usado en el macerado con los intervalos usados para la malta de cebada. Actualmente el grano de triticale es utilizado en mezclas de harina de trigo sin gluten fuerte, en la elaboración de diferentes tipos de panes, pero la manera empírica el uso que se le da a nivel productor es semejante al trigo. Otra parte del triticale producido se utiliza a nivel industrial como ingrediente en la elaboración de alimentos balanceados, principalmente para bovinos para producción de carne y leche, ovinos, cerdos y aves (Santoyo y Quiroz, 2010).

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron 10 líneas de triticale proporcionadas por el Centro de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMyT), sembradas en el municipio de Polotitlán, Estado de México, en el ciclo verano 2013.; las cuales cuentan con un pedigree establecido, que para efectos de identificación se utilizó una abreviatura como lo muestra el cuadro 1 .

Cuadro 1. Pedigree de las 10 líneas de triticale utilizadas para esta investigación

Línea	PEDIGREE
PM-1	BAT*2/BCN//CAAL3/ERIZO_7/BAGAL_2//FARAS_1
PM-2	BW32-1/CENT.SARDEV7//LIRON_2/5/DIS B5/3/SPHD/PVN//YOGUI_6/4/KER_3/6/BULL_10/MANATI_1/8/MERINO/JLO//REH/3/HARE_267/4/ARDI_4/5/ PTR/CSTO//BGLT/3/RHINO_4-1/4/HARE_7265/YOGUI_3/6/BULL_10/MANATI_1
PM-3	SN64/EER/3/ERIZO_15/FAHAD_3//POLLMER_2.1/5/PRESTO//2*TESMO_1/MUSX 603/4/ARDI_1/TOPO 1419//ERIZO_9/3/SUSI_2
PM-4	FD-693/2*FAHAD_4//POLLMER_4/3/POLLMER_2.1/4/FARAS/CMH84.4414/6/RHINO_3/BULL_1- 1/5/CMH77.1135/CMH77A.1165//2*YOGUI_1/3/IBEX/4/JLO 97/CIVET
PM-5	POPP1_2//TAHARA/4/DAHBI_6/3/ARDI_1/TOPO 1419//ERIZO_9
PM-6	POLLMER_2.2.1*2//FARAS/CMH84.4414/4/DAHBI_6/3/ARDI_1/TOPO 1419//ERIZO_9
PM-7	POLLMER_2.2.1*2//FARAS/CMH84.4414/5/BANT_4//HARE_7265/YOGUI_1/3/SUSI_2/4/MASSA/NIMIR_3/3/ YOGUI_1/TARASCA 87_3//HARE_212
PM-8	POLLMER_3.5.1//ERIZO_15/FAHAD_3/3/POPP1_1/4/POLLMER_2.2.1*2//FARAS/CMH84.4414
PM-9	GAUR_2/HARE_3//JLO 97/CIVET/5/DIS B5/3/SPHD/PVN//YOGUI_6/4/KER_3/6/150.83//2*TESMO_1/MUSX 603/7/POPP1_1/8/BULL_10/MANATI_1*2//FARAS/CMH84.4414
PM-10	LIRON_2/5/DIS B5/3/SPHD/PVN//YOGUI_6/4/KER_3/6/BULL_10/MANATI_1*2/7/TUKURU

Calidad maltera de triticale

Para determinar la calidad de la malta de triticale que se obtuvo, se determinó humedad al término del secado empleando el método 935.29 de la AOAC (2000); extracto de malta (Figuerola, 1985; Método 935.30 AOAC, 2000; Método 4.5.1 EBC, 2003); poder diastásico bajo condiciones estandarizadas. La cantidad de azúcares reductores formados por la acción amilolítica será estimada por yodometría; empleando el Barley Method 8 ASBC, 2004; viscosidad del mosto empleando un viscosímetro de Ostwald bajo el método 4.8 de la EBC (2003), y nitrógeno total en malta y soluble en mosto por el método de Kjeldahl empleando un equipo de micro-Kjeldahl. Las muestras de malta y mosto (Método 4.3.1 y 4.9.1 EBC, 2003).

Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Tres granos de cada una de las líneas fueron fracturados con un punzón obteniéndose el grano en dos partes. Se colocaron en una placa de aluminio de 5 cm x 5 cm x 4 cm. Se observaron por medio del Microscopio Electrónico de Barrido (SEM) Philips model XL30 (Gaytán *et al.*, 2006).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el cuadro 3 se muestran los resultados obtenidos del perfil de calidad maltera en las cuatro líneas previamente seleccionadas con el análisis proximal en donde se muestra una gravedad específica de 1.04g/ml que es similar a lo reportado por Domínguez en 2015 (1.03g/ml – 1.04g/ml); en cuanto a grados plato están por encima 10.63 – 11.85 de lo reportado por Domínguez en 2015 (8.3 – 9.13), con respecto a viscosidad los valores obtenidos que son de 2.05cp - 2.06cp similares a lo reportado por Olgica, *et al.*, 2007(1.87cp – 2.01cp), y por lo reportado por Glatthar *et al* 2005(1.78cp – 2.38cp); si bien algunos resultados difieren de la literatura, los parámetros que se tienen para calidad maltera nacional entran dentro de calidad aceptable, resultados que sirvieron para seleccionar nuevamente las dos mejores líneas con calidad maltera que fueron PM-1 y PM-3,

Cuadro 2. Análisis estadístico de calidad maltera en mosto de triticales

LÍNEA	GRAVEDAD ESPECÍFICA A 20°C	°p	%H	%E	VISCOSIDAD	PD
PM-1	1.040 ^a	11.85±0.06 ^a	8.19±0.07 ^a	118.38±0.86 ^a	2.06 ^a	190.18±13.69 ^a
PM-3	1.040 ^c	10.96±0.01 ^c	8.39±0.06 ^a	108.68±0.19 ^c	2.05 ^c	168.98±16.56 ^a
PM-6	1.040 ^b	11.17±0.00 ^b	8.13±0.14 ^a	110.70±0.27 ^b	2.05 ^b	72.48±13.74 ^b
PM-8	1.040 ^d	10.63±0.01 ^d	7.50±0.02 ^b	103.85±0.06 ^d	2.05 ^d	145.97±14.12 ^a

± Desviación estándar
Diferentes letras, muestran diferencia significativa entre muestras

En las siguientes microscopías se muestra el tamaño de la capa de aleurona del grano de triticales en comparación con la capa de aleurona de cebada, en donde se puede apreciar que es de mayor tamaño la capa del triticales (99.56 - 73.59µm), de tal forma que las líneas investigadas cuentan con propiedades similares a las de cebada para poder ser un cereal malteado.

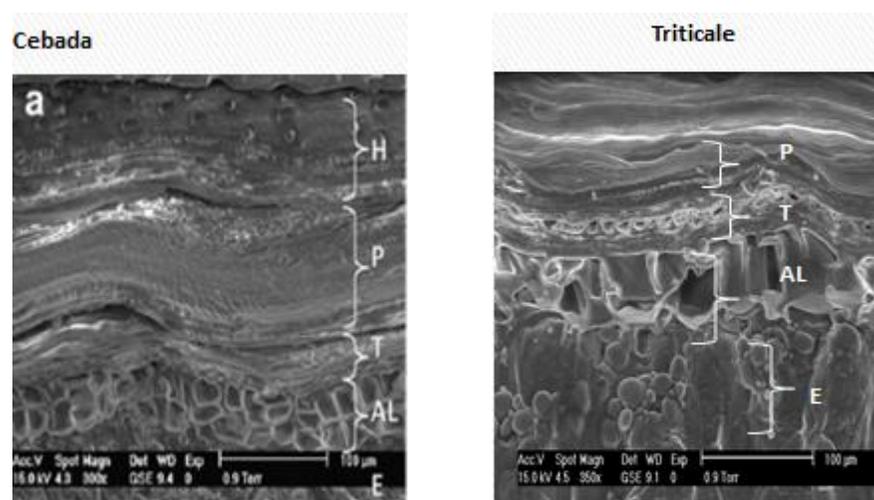


Figura 1. Micrografías del grano de cebada maltera y grano de triticales; endospermo (E), aleurona (AL), testa (T), pericarpio (P), cascarilla (H).

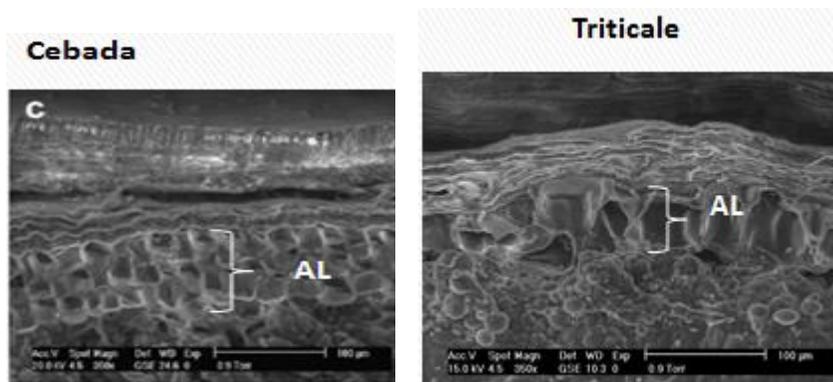


Figura 2. Micrografías del grano de cebada forrajera y grano de triticales; aleurona (AL).

En el cuadro 4 se muestra las mezclas realizadas a partir de malta de las líneas PM-1 y PM-3 de triticales y malta de cebada comercial, las cuales obtuvieron un % de AAL que va de 73.84% - 83.78% resultados que están por encima de lo reportado por Grujic *et al*, 2009(63.09% - 73.12%) y similares a lo reportado por Olgica *et. al*. 2007(71.28% - 83.45%) mismos resultados que demuestran que no hay diferencias significativas en utilizar malta obtenido en las mezclas de triticales y cebada el cual como se puede observar es por encima del 70% los que sugiere que gran parte de los azúcares obtenidos si son fermentados por la levadura.

Cuadro 3. Grado de fermentación (%) en el mosto de malta de triticales, malta de cebada y mezclas de ambas.

Muestra	% triticales	% cebada	AAL
PM-1	100	0	72.230.15b
PM-1	80	20	76.61±9.37a
PM-1	70	30	78.00±2.12a
PM-1	50	50	79.90±1.77a
PM-1	30	70	81.28±2.17a
PM-3	100	0	72.631.14b
PM-3	80	20	73.84±1.02a
PM-3	70	30	78.95±1.08a
PM-3	50	50	79.61±0.49a
PM-3	30	70	83.79±1.74a
Cebada	0	100	77.070.15ab

La letra dentro de la misma columna indica que no hay diferencias estadísticas significativas a $p > 0.05$

± Desviación estándar

CONCLUSIONES

De acuerdo a este trabajo de investigación se sugiere utilizar la línea PM-1 para la elaboración de malta para sustituirla total o parcialmente con malta de cebada para la elaboración de mosto cervecero debido a que es la mejor línea en cuanto a, calidad maltera y fermentación aparente debido al contenido de azúcares fermentables presentes.

REFERENCIAS

1. Aastrup, S., and Hannemann, W. 1999. Cost effective choice of raw materials for beer. *Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am.* 36:195-197.
2. Ande, A., Pieper, H. J., and Senn, T. 1998. Production of glucose syrup by direct accharification from triticale with high amylolytic activity. *Starch* 50:518-523
3. Analytica EBC. European Brewery Convention. 2003. Published by Fachverlag Hand Carl Nürnberg. Germany.
4. AOAC. 2000. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists (15 Th Edition). Vol. II. Edited by Kenneth Helrich.
5. ASBC Methods of Analysis. American Society of Brewing Chemists. 2004. Vol. I. St. Paul, MN. USA.
6. Bamforth, C. W. (1999). Beerhaze. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 57:81-90
7. Canales, A. M. (1979). Unmalted grains in brewing. In: *Brewing Science*. J. R. A. Pollock, Ed. Academic Press, London. Vol. 1, Pp. 233-278
8. Darvey, N. L., Naeem, H., and Gustafson, J. P. 2000. Triticale: Production and utilization. In: *Handbook of Cereal Science and Technology*, 2nd ed. K. Kulp and J. G. Ponte, Eds. Marcel Dekker, New York, pp. 257-274
9. Dewar, J., Taylor, J. R. N. and Berjak, P. 1997. Determination of improved steeping conditions for sorghum malting. *J. Cereal Sc.* 26: 129-136.
10. Figueroa, J. D. C. 1985. Métodos para evaluar la calidad maltera en cebada. Ed. SARH INIA. México. p. 13-61.
11. Figueroa, J. D. C., Madson, M. A. and D'Appolonia, B. L. 1989. The malting and brewing quality of crosses of barley anthocyanogen-free mutants. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 47 (2): 44-48.
12. JMP by SAS, Statistical Analysis System. 2006. User's Guide Version 5.3, SAS Institute Inc. Cary, NC. 2006.
13. Glatthar, J., Heinisch, J. and Senn, T. 2002. A Study on the Suitability of Unmalted Triticale as a Brewing Adjunct. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 60(4):181-187
14. Lloyd, W. J. W. (1986). Centenary review: Adjuncts. *J. Inst. Brew.* 92:336-345
15. López-Perea, P., Figueroa, J. D. C., Sevilla, P. E., Roman, G. A., Reynoso, R. and Martinez, P. R. 2008. Changes in barley kernel hardness and malting quality by microwave irradiation. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 66(4):203-207.
16. Megazyme, McCleary Method. 2006. Megazyme International Ireland Ltd. Bray business Park, Bray, Co. Wicklow, Ireland.
17. Molina-Cano, J. L., Sopena, A., Polo, J. P., Bergareche, C., Moraleja, M. A., Swanston, J. S. and Glidewell, S. M. 2002. Relationships between barley hordeins and malting quality in a mutant of cv. Triumph. II. Genetic and environmental effects on water uptake. *J. Cereal Sc.* 36:39-50.

18. NMX-FF-043-SCFI-2003. Norma Mexicana Productos alimenticios no industrializados para consumo humano -cereal- cebada maltera (*Hordeum vulgare L.* y *Hordeum distichum L.*). Especificaciones y métodos de prueba. Distrito Federal, México.
19. Pomeranz, Y., Burkhart, B. A. and Moon, L. C. 1970. Triticale in malting and brewing. Proc. Am. Soc. Brew. Chem. 40-4
20. Pomeranz, Y. 1971. Functional characteristics of triticale a man-made cereal. Wallerstein Lab. Commun. 34(115):175-186
21. Ruíz, Y. S. 2006. Tesis: Elaboración y evaluación de maltas cerveceras de diferentes variedades de cebada (*Hordeum vulgare L.*) producidas en los estados de Hidalgo y Tlaxcala. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca, México. pp. 45-48.
22. Santoyo, C. M., y Quiroz, M. J. (2010). Guía para el cultivo de cereales en el Estado de México. Instituto de Investigación y Capacitación Agropecuaria, Acuícola y Forestal del Estado de México, ICAMEX. SEDAGRO. Metepec, Edo. de México. Pp. 10.

CLONACIÓN Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR *IN-SILICO* DE DOS FRUCTOSILTRANSFERASAS EN *DAHLIA SPP*

Ismael de Jesús Román-Guzmán^a, R.Torres-Villanueva^a, V. A. Rodríguez-Andrada^a, J. A. Qui-Zapata^a, E. Tapia-Campos^a, Patricia Dupré^a,

^aCentro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C., Guadalajara, Jal., romangij@gmail.com, ing.torres.roy@gmail.com, anais.rodriguez@hotmail.com, jqui@ciatej.mx, etapia@ciatej.mx, pdupre@ciatej.mx

RESUMEN

Las fructosiltransferasas son enzimas de la familia 32 de las glicosil-hidrolasas y están encargadas de la síntesis de fructanos. Específicamente las enzimas 1-SST y 1-FFT están encargadas de la síntesis de inulina, fructano lineal con enlaces $\beta(2-1)$. Hasta la fecha poco se sabe acerca de la regulación genética de los fructanos, sin embargo, estudios recientes sugieren una regulación principalmente de tipo transcripcional. Por lo tanto, para aumentar nuestro entendimiento de la regulación y los factores que modifican la síntesis de inulina, aislamos de plántulas de dalia los genes correspondientes a las enzimas involucradas en su producción, también analizamos a nivel *in-silico* sus secuencias.

La extracción de RNA total se realizó con TRIzol en plántulas de dalia (*Dahlia variabilis*). Posterior a la RT-PCR se aislaron secuencias parciales de cDNA con 658 y 433pb (1-SST y 1-FFT respectivamente) utilizando primers degenerados diseñados sobre regiones conservadas en secuencias homologas de otras asteráceas. A partir de ellas se hallaron los extremos restantes utilizando la técnica de RACE. Finalmente dos secuencias completas de cDNA se obtuvieron para las enzimas 1-SST y 1-FFT, con 1988 y 1808 pb respectivamente.

Se encontró una identidad de 88% para 1-SST y 79% para 1-FFT respecto a secuencias homologas de *Helianthus tuberosus* usando el algoritmo blastx. Seguido se identificó un posible ORF de 621 y 601aa (1-SSTy 1-FFT). Con esta información se logró identificar en cada una de ellas tres dominios reportados para las enzimas fructosiltransferasas y tres motivos que permiten su identificación. Utilizando diferentes servicios bio-informáticos (clustal, Protparam, etc) las propiedades teóricas de las secuencias halladas fueron determinadas.

INTRODUCCIÓN

Las fructosiltransferasas (FT) son enzimas de la familia GH-32 encargadas de sintetizar en algunas plantas, bacteria y hongos, carbohidratos derivados de la sacarosa llamados fructanos. Actualmente se sabe que los fructanos actúan como carbohidratos de reserva en plantas, así mismo existe un creciente consenso sobre sus funciones como osmoregulador y protector frente a diferentes tipos de estrés como la sequía, salinidad, bajas temperaturas y ROS.

A la fecha se han encontrado e identificado diferentes tipos de FTs así como se han reportado diferentes tipos de fructanos. De entre este grupo de fructanos encontramos a la inulina, un fructano lineal con enlaces $\beta(2-1)$ sintetizado por la acción de dos FT's (Sacarosa: sacarosa 1-fructosiltransferasa "1-SST" y Fructano: fructano 1-fructosiltransferasa "1-FFT") y principalmente acumulada por las plantas que pertenecen al orden de las Asterales, como es el caso del topinambur, achicoria, alcachofa, girasol, dalia, etc.

Aunque mucho se ha estudiado sobre la actividad de estas enzimas y las condiciones en que producen acumulación de fructano poco se ha investigado de los mecanismos moleculares que intervienen en su regulación. Los primeros indicios apuntan a una regulación principalmente transcripcional, sin embargo, los factores transcripcionales implicados no son todavía conocidos. En el presente estudio se reporta las secuencias del cDNA completo que codifican para la 1-SST y la 1-FFT de dalia, esto como primer paso para un estudio de la regulación transcripcional de la biosíntesis de los fructanos.

TEORÍA

Los Fructanos

Los fructanos son polímeros de fructosa derivados de la sacarosa. Existen diferentes tipos que se pueden distinguir dependiendo del tipo de enlace glicosídico, de la presencia de glucosa al extremo o dentro de la cadena, de la estructura lineal o ramificada y del grado de polimerización. Estos diferentes fructanos se encuentran en función de la especie vegetal que los produce. Relevantes a este trabajo son las inulinas, fructanos con enlaces lineales del tipo β (2-1) y con glucosa al extremo. Las inulinas son halladas principalmente en las especies pertenecientes al orden de los asterales.

Las fructosiltransferasas

Los fructanos suelen acumularse en diferentes tejidos almacenadores como las hojas y los tubérculos (Vijn y Smeekens, 1999) siendo la sacarosa el sustrato para su síntesis. La producción de fructano se lleva a cabo mediante la acción de enzimas llamadas fructosiltransferasas (EC 2.4.1.x), las cuales tienen como sustratos la sacarosa y/u otros fructanos. Estas enzimas realizan reacciones de transfructosilación, en la cual se transfiere un grupo fructosil de un donador (molécula de sacarosa o de fructano) a un aceptor (otra molécula de sacarosa o de fructano) produciendo largas cadenas de carbohidratos. Dichas enzimas funcionan debido a una actividad modificada de invertasa (Vijn y Smeekens, 1999).

Las FTs pertenecen a la familia 32 de las glicosil hidrolasas (GH) y comparten diferentes dominios conservados. En 1968, Edelman y Jefford, presentan un modelo de la ruta de biosíntesis de fructano en planta. En dicho modelo se postula que la síntesis de la inulina es realizada por la acción secuencial de dos enzimas. La primera reacción es iniciada por una 1-SST (Sacarosa: sacarosa 1-fructosiltransferasa (1-SST, EC 2.4.1.99), la cual cambia una molécula de fructosa de una sacarosa y la une a otra molécula de sacarosa, la elongación de la cadena iniciada es realizada por la enzima 1-FFT (Fructano: fructano 1-fructosiltransferasa (1-FFT, EC 2.4.1.100), la cual agrega unidades fructosilo al final de la cadena generando inulina (Edelman y Jefford, 1968, Banguela y Hernandez, 2006).

El primer reporte de aislamiento de secuencias de FTs en planta fue de Sprenger et al. (1995) quienes aislaron el primer gen FT en cebada. Este fue el punto de partida para los estudios moleculares que permitieron analizar y comparar las secuencias de enzimas vegetales en el contexto de las FT en general. Al respecto se encontró que éstas conservan en sus secuencias ciertos dominios catalíticos y motivos con otras enzimas de la familia GH32 y GH68, relacionando con las FTs de bacterias y hongos y encontrando aquellas diferencias específicas que permiten discriminar entre enzimas.

Sobre esta línea se han reportado 7 dominios que pueden ser identificados en ambas familias de GH y por lo consiguiente en las FTs (Yuan et al., 2006) así como la presencia de ciertos aminoácidos en ciertas posiciones que permiten identificar las secuencias de las FTs (Alméciga-Díaz et al., 2011). Las secuencias consenso para los dominios o motivos pueden ser consultadas en la Tabla 1.

PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal

El material vegetal usado en este estudio proviene de un stock de plántulas de *Dahlia sp.* Cv. Unwin estresadas durante diez días a partir de su trasplante añadiendo PEG 8000 en el medio de cultivo (estrés hídrico). Cada frasco contuvo 4 plántulas de dalia las cuales permanecieron 6 días en estrés antes de ser cosechadas para la extracción de RNA.

Aislamiento del cDNA de 1-SST

La extracción de RNA total de las plántulas antes mencionadas, fue realizado usando TRIzol (Invitrogen, cat. 15596-026). Posteriormente se obtuvieron fragmentos de cDNA mediante el uso de cebadores degenerados diseñados sobre dominios conservados de secuencias FT de otras Asteráceas. A partir de ellos se obtuvieron los extremos 5' y 3' faltantes utilizando el kit RLM-RACE (AMBION, cat. AM1700).

Con las secuencias aisladas se construyeron secuencias completas putativas y sobre ellas se diseñaron cebadores en ambos extremos que permitieron el aislamiento de la secuencia completa. Todos los fragmentos fueron clonados en el vector pGEM-T Easy (Promega) usando *E. coli* DH5 α . Los plásmidos fueron extraídos mediante protocolo de miniprep QIAprep Spin Miniprep (Qiagen, cat. 27104). Finalmente los plásmidos de interés se enviaron al laboratorio de LANGEBIO (Guanajuato, Mx) para su secuenciación por el método Sanger. La secuenciación recibida fue procesada con el programa CLC Workbench (CLC Bio).

Tabla 1. Dominios y motivos identificados en las secuencias aisladas de 1-SST y 1-FFT de dalia (según lo reportado por Alméciga-Díaz et al., 2011)

	1-SST	1-FFT
	Dominios	
Dominio A	HFQPDKNFIS D PDG	HFQPAKNFIY D PNG
Dominio B	YHLFYQ	YHLFYQ
Dominio C	MTGSAT	LSGSTT
Dominio D	LKDFR D PSALW	LKDYR D PSAVW
Dominio E	TGMW E CVD	TDMW E CVD
Dominio F	GIGLRY	GIGLRC
Dominio G	IVEGF	IVEAF
	Motivos	
SST vs FFT	D EDRH	E GHGT
Fructosa vs Sacarosa	FYASK	FFASK
Hidrolasa vs Transferase	LWGYV	TWAYV

En las secuencias de los dominios se resalta en negritas el aminoácido ácido altamente conservado. En las secuencias de los motivos se encuentra resaltado en negritas los aminoácidos responsables de la característica observada.

Análisis *in-silico* del gen aislado

Para conocer la identidad de todos los fragmentos aislados se utilizó el programa Blastx (Blast tool, NCBI), posteriormente se realizó la traducción de los nucleótidos utilizando el programa CLC Workbench (CLC bio), con el mismo programa se realizó la alineación de aminoácidos de la secuencia putativa comparándola con las demás secuencias reportadas para 1-SST y 1-FFT alojadas en la base de datos del NCBI, se generó un árbol filogenético por el método de "neighbor joining" utilizando los parámetros por default del programa. Así mismo utilizando la alineación se buscaron dominios y motivos reportados para la familia GH32. Finalmente el peso molecular y el punto isoelectrico de cada proteína putativa fueron determinados utilizando ProtParam.

Resultados y discusiones

Para obtener la secuencia de cDNA de la 1SST y 1FFT de dalia (*Dahlia variabilis*), se expuso plántulas de dalia cultivadas *in vitro* a un estrés hídrico vía PEG, ya que se ha reportado esta condición como inductora de la acumulación de inulina en dalia (Román-Guzmán, 2012). A partir del RNA total de estas plantas, se aislaron secuencias parciales de cDNA de 658pb y 433pb (1-SST y 1-FFT respectivamente) utilizando cebadores degenerados. Aprovechando dichas secuencias intermedias se diseñaron cebadores con los que se hallaron los extremos mediante la técnica de RACE. Para el gen de 1-SST se aisló un fragmento 5' con 768pb y un 3' con 1,081pb. Para el gen 1-FFT se aisló un extremo con 678pb y otro con 844pb (5' y 3' respectivamente). Utilizando el programa informático CLC Workbench se obtuvo una secuencia consenso para cada gen integrando las secuencias del fragmento intermedio y de los dos extremos hallados mediante RACE, y se diseñaron cebadores específicos para el aislamiento de los cDNA completos

Dos secuencias de 1,988pb y 1,808pb para los secuencias codificantes de la 1-SST y de la 1-FFT respectivamente fueron obtenidas. Con el programa Blastx encontramos una identidad de 88% para 1-SST y 79% para 1-FFT respecto a las secuencias homologas de *H. tuberosus*.

Seguido se tradujeron las secuencias aisladas usando el programa CLC Workbench y se identificó un posible ORF de 621 y 601aa (1-SSTy 1-FFT). Utilizando las traducciones de los posibles ORF y recabando de la base de datos de NCBI todas las secuencias reportadas para 1-SST y 1-FFT en dicotiledoneas (Fig. 1), se construyo un arbol filogenetico. En esté se puede observar que las secuencias de las 1-FFT aparecieron primero que las 1-SST tal como encontraron Alméciga-Díaz et al. (2011). Así mismo se confirma que las secuencias de dalia están estrechamente relacionadas con las de *H. tuberosus*, lo cual es consistente con los resultados del Blast previamente presentados.

Se generó una alineación de aminoácidos para comparar entre FTs del tipo 1-SST y entre las del tipo 1-FFT. En esta alineación se pudieron identificar los 7 dominios reportados para la familia GH32 (Tabla 1), esto es consistente con lo reportado por Yuan et al. (2006) y Velazquez-Hernandez et al. (2009) quienes reportan un total de 7 dominios altamente conservados en las FTs y relacionados en los sitios de actividad catalítica, de entre los cuales, los dominios A, D y E son especialmente importantes porque poseen residuos ácidos altamente conservados en las regiones catalíticas de la familia GH32.

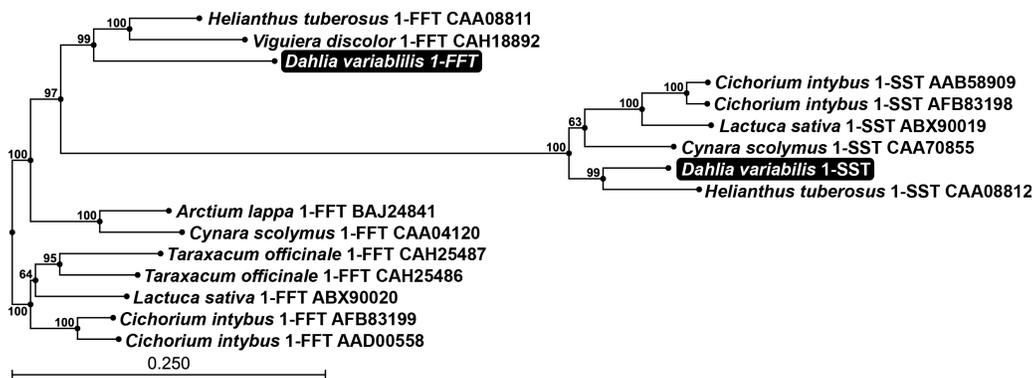


Figura 1. Árbol filogenético de las enzimas que codifican para 1-SST o 1-FFT en monocotiledoneas, resaltadas se encuentran las secuencias de dalia aquí reportadas. Cada secuencia se presenta con su número de accesoión en el GenBank.

Así mismo, se identificaron los tres motivos reportados para las FTs que permiten una identificación más puntual (Tabla 1): Un motivo corresponde al tipo de molécula donadora (sacarosa o fructosa) dependiendo de si posee un aminoácido Tyr para la sacarosa o Asp para la fructosa (Schroeven et al., 2009); otro motivo se refiere a la actividad de la enzima como hidrolasa contra la función de esta como transferasa ya que el motivo W(A/S/G)W es típico para hidrolasas mientras que el motivo H(A/G)Y/F es típico de las FTs (Ritsema et al., 2006), o la identidad de enzima tipo F (6G-FFT/1-FFT) contra la identidad de enzima tipo S (1-SST) relacionando la Asn y el Trp como aminoácidos responsables de la actividad de las FFTs mientras que Asp y la Arg son responsables de la actividad de las SSTs (Lasseur et al., 2009).

Utilizando el programa ProtParam (expasy) se encontró que la secuencia de 1-SST codifica para una proteína putativa con un peso molecular aproximado de 69.67 kDa y un punto isoeléctrico aproximado de 5.28. Para la secuencia de 1-FFT se encontró un peso molecular aproximado de 67.33 kDa y un punto isoeléctrico de 5.05 para la proteína putativa que codifica, ambos resultados concordantes con otras enzimas de otras especies (Sprenger et al., 1995, Van den Ende et al., 1996, Van den Ende et al., 1996, Kawakami y Yoshida, 2002).

CONCLUSIONES

El presente estudio se presenta el trabajo del aislamiento de las secuencias completas de cDNA putativas que codifican para las enzimas 1-SST y 1-FFT de la planta *D. variabilis*. Dichos cDNAs fueron confirmados mediante un estudio *in-silico* de sus secuencias donde se encontró una identidad mayor a 88% con los genes homólogos respectivos de *H. tuberosus*.

Así mismo se pudo identificar en ambas secuencias los dominios reportados para las enzimas de la familia GH32 a la que pertenecen ambas FT, así como los motivos que las distinguen entre sí.

Finalmente se pudo calcular algunos parámetros físico-químicos de las proteínas putativas que codifican ambos genes, así como su relación filogenética con otras enzimas 1-SST y 1-FFT previamente reportadas en la literatura.

El presente trabajo de investigación fue apoyado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CB2010/153816), IRG fue apoyado con una beca de maestría de CONACYT, RTV fue apoyado con una beca SEP-CONACYT (N. 20111)

BIBLIOGRAFÍA

1. Alméciga-Díaz, C. J., Gutierrez, A. M., Bahamon, I., Rodríguez, A., Rodríguez, M. A. y Sánchez, O. F. (2011). Computational analysis of the fructosyltransferase enzymes in plants, fungi and bacteria. *Gene*, 484, 26-34
2. Banguela, A. y Hernández, L. (2006). Fructans: from natural sources to transgenic plants. *Biocnología Aplicada*, 23, 202-210
3. Edelman, J. y Jefford, T.G. (1968). The mechanism of fructosan metabolism in higher plants as exemplified in *Helianthus tuberosus*. *New Phytologist*, 67, 517-531
4. Kawakami, A. y Yoshida, M. (2002). Molecular characterization of sucrose:sucrose 1-fructosyltransferase and sucrose:fructan 6-fructosyltransferase associated with fructan accumulation in winter wheat during cold hardening. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 66, 2297-305
5. Lasseur, B., Schroeven, L., Lammens, W., Le Roy, K., Spangenberg, G., Manduzio, H., Vergauwen, R., Lothier, J., Prud'homme, M. P. y Van den Ende, W. (2009). Transforming a fructan:fructan 6G-fructosyltransferase from perennial ryegrass into a sucrose:sucrose 1-fructosyltransferase. *Plant Physiology*. 149, 327–339
6. Ritsema, T., Hernández, L., Verhaar, A., Altenbach, D., Boller, T., Wiemken, A. y Smeekens S. (2006). Developing fructan-synthesizing capability in a plant invertase via mutations in the sucrose-binding box. *Plant Journal*. 48, 228–237
7. Román, I. J. (2012). Efecto del estrés hídrico sobre el contenido de inulina y otros carbohidratos en dalia (*Dahlia* sp). Tesis de Licenciatura, Universidad Tecnológica de la Costa, Santiago Ixcuintla, Nayarit, México.
8. Schroeven, L., Lammens, W., Van Laere, A., Van den Ende, W., (2008). Transforming wheat vacuolar invertase into a high affinity sucrose:sucrose 1-fructosyltransferase. *New Phytologist*. 180, 822–831
9. Sprenger, N., Bortlik, K., Brandt, A., Boller, T. y Wiemken, A. (1995). Purification, cloning, and functional expression of sucrose:fructan 6-fructosyltransferase, a key enzyme of fructan synthesis in barley. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92, 11652–11656
10. Valluru, R. y Van den Ende, W. (2008). Plant fructans in stress environments: emerging concepts and future prospects. *Journal of Experimental Botany*, 59, 2905–2916
11. Van den Ende, W., Van Laere, A. (1996). De-novo synthesis of fructans from sucrose in vitro by a combination of two purified enzymes (sucrose:sucrose fructosyl transferase and fructan:fructan fructosyl transferase) from chicory roots (*Cichorium intybus* L.). *Planta*, 200, 335-342
12. Velázquez, M. L., Baizabal, V. M., Bravo, A., Cajero, M., Chávez, M. P. Y Valdez J. J. (2009). Microbial fructosyltransferases and the role of fructans. *Journal of Applied Microbiology*, 106, 1763-78
13. Vijn, I. y Smeekens, S. (1999). Fructan: more than a reserve carbohydrate?. *Plant physiology*, 120, 351-350
14. Yuan, X. L., Goosen, C., Kools, H., van der Maarel, M. J., van den Hondel, C. A., Dijkhuizen, L. y Ram, A. F. (2006). Database mining and transcriptional analysis of genes encoding inulin-modifying enzymes of *Aspergillus niger*. *Microbiology*. 152, 3061-3073

Estudio preliminar sobre la decoloración de cristal violeta por una cepa de *Citrobacter freundii*. Influencia del pH y la temperatura.

Diana G. Sánchez Valdés ^a; Yolanda Garza García ^a, Gerardo J. Sosa Santillán ^a.

^a Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila, d_sanchez_valdes@uadec.edu.mx, ygarza@uadec.edu.mx, gdejsosa@uadec.edu.mx.

RESUMEN

La presencia de colorantes en las aguas residuales representa un grave problema ambiental, ya que este tipo de compuestos no puede eliminarse con los métodos de tratamiento convencionales. La mayoría de los sistemas de tratamiento basados en métodos químicos o físicos son costosos y requieren de gran cantidad de energía y reactivos, la biotecnología ofrece una alternativa de tratamiento. Una de las ventajas de este tipo de tecnologías es que, además de la decoloración, se puede alcanzar la completa mineralización del colorante. En este trabajo se realizó un estudio preliminar sobre la capacidad de biodegradación de colorantes de una cepa de *Citrobacter freundii* utilizando como modelo de estudio al colorante cristal violeta, el cual ha sido ampliamente usado en la industria textil. Se realizaron cinéticas de biodegradación a diferentes pH's y temperaturas, a fin de determinar el porcentaje de decoloración y verificar el incremento en la cantidad de biomasa como indicativo de que el cristal violeta estaba siendo utilizado como fuente de carbono por el microorganismo.

INTRODUCCIÓN

La industria textil es uno de los sectores industriales con mayor producción a nivel mundial, pero el uso de colorantes para los procesos de teñido genera gran cantidad de residuos impregnados de colorante, los cuales son vertidos en el agua de forma indiscriminada y usualmente sin ningún tipo de tratamiento¹.

La composición química de los colorantes favorece la fijación de las fibras a teñir, para que estos sean capaces de resistir los diversos factores que afectan su composición y de esa forma mantener integro su color. Y es esta composición química la que los hace tóxicos y peligrosos para el medio ambiente, pues una vez que se encuentran en el agua impiden el paso de la luz, dificultando el proceso fotosintético que llevan a cabo muchos organismos, además su presencia representa un problema estético y un gran foco de contaminación². Se han utilizado distintos métodos, tanto físicos como químicos para eliminar el color del agua, sin embargo dichos métodos no son tan específicos y conllevan altos costos. Los procesos biotecnológicos resultan una alternativa favorable para resolver este problema de contaminación al ser más dirigidos y tener un enfoque más propicio para el medio ambiente³.

Una de las ventajas de este tipo de tecnologías es que, además de la decoloración, se puede alcanzar la completa mineralización del colorante. Existe un gran número de microorganismos con la capacidad de eliminar el color de las aguas residuales mediante mecanismos como: la biosorción, la biodegradación aeróbica o anaeróbica y la producción de enzimas que catalizan la decoloración. Una de las aplicaciones de la biotecnología es la caracterización, aislamiento y aplicación de nuevas cepas microbianas, éstas pueden constituir la base de tecnologías novedosas para la remediación de compuestos xenobióticos que no son fácilmente degradados con los métodos convencionales. Por ello en esta investigación se presenta un estudio preliminar para la decoloración de cristal violeta, a través de la biodegradación por acción de una cepa bacteriana de *Citrobacter freundii*. Esta metodología representa un proceso biológico factible para

eliminar el color del agua biodegradando el colorante, pues se fundamenta en que los microorganismos utilicen como fuente de carbono la sustancia o compuesto a degradar.

PARTE EXPERIMENTAL

Cepa Bacteriana. Se utilizó una cepa de *Citrobacter freundii* perteneciente a la colección del Departamento de Biotecnología.

Precultivo. El inóculo inicial de la cepa se obtuvo realizando un precultivo bajo condiciones aerobias en un medio de cultivo de referencia por un tiempo de 12 horas.

Colorante a utilizar. Como modelo de estudio para probar la capacidad biodegradativa de *C. freundii*, se utilizó cristal violeta; un colorante de amplio uso en actividades de teñido textil.

Cinéticas de decoloración. Las células fueron crecidas aeróbicamente en un medio mineral, adicionado con una concentración definida del colorante, por un período de 5 horas. Las cinéticas ~~se realizaron en matraces de~~ 250 mL conteniendo 40 mL del medio mineral inoculado con 10 mL de suspensión de *C. freundii* proveniente del precultivo, e incubados a 30°C con una agitación de 250 rpm.

La reacción de biodegradación fue monitoreada a 4 pH's diferentes (6.0, 7.0, 8.0, 9.0) y 3 temperaturas diferentes temperaturas (30 °C, 35 °C y 40 °C). Todos los ensayos fueron hechos por triplicado. La actividad de decoloración se expresó en términos del porcentaje de decolorización. Cada hora se tomó una muestra del reactor la cual fue centrifugada a 5,000 rpm por 10 minutos. El sobrenadante fue utilizado para determinar la decolorización de los colorantes monitoreando la disminución en absorbancia al máximo valor de longitud de onda del cristal violeta (590 nm). La actividad de decoloración fue calculada como sigue:

$$\text{Decolorización(\%)} = \frac{(\text{absorbancia inicial}) - (\text{absorbancia observada})}{(\text{absorbancia inicial})} \times 100$$

El paquete celular obtenido de cada muestra fue lavado un par de veces y utilizado para la determinación de proteína por el método de Peterson modificado.

RESULTADOS y DISCUSIONES

En la Figura 1 se observa el comportamiento de la absorbancia en función del tiempo para cada uno de los cuatro niveles de pH probados. Esta figura, junto con los valores expresados en la Tabla 1 demuestran que bajo un pH cercano a la neutralidad, se obtiene mayor porcentaje de decoloración, pues representa el nivel óptimo en el que muchos microorganismos se desarrollan y en el que se llevan a cabo múltiples reacciones.

Tabla 1. Porcentaje de decoloración en el proceso de degradación de cristal violeta bajo la influencia del pH

pH	% Decoloración.
6.0	78.8
7.0	67.42
8.0	75.92
9.0	54.94

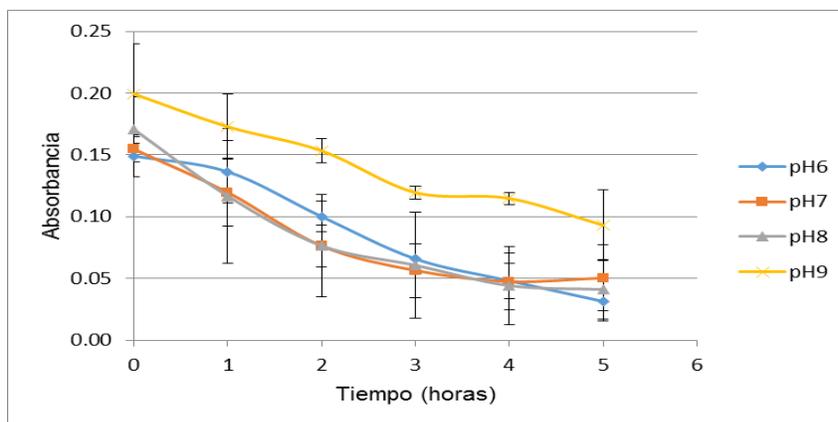


Figura 1. Influencia del pH sobre la actividad de biodegradación.

La Figura 2 muestra resultados visuales de las cinéticas de biodegradación a diferentes pH's. Si se analiza esta imagen en conjunción con los porcentajes de decoloración puede observarse que el comportamiento de decoloración es mejor en los pH's de 7.0 y 8.0, ya que se alcanza un mejor tratamiento.

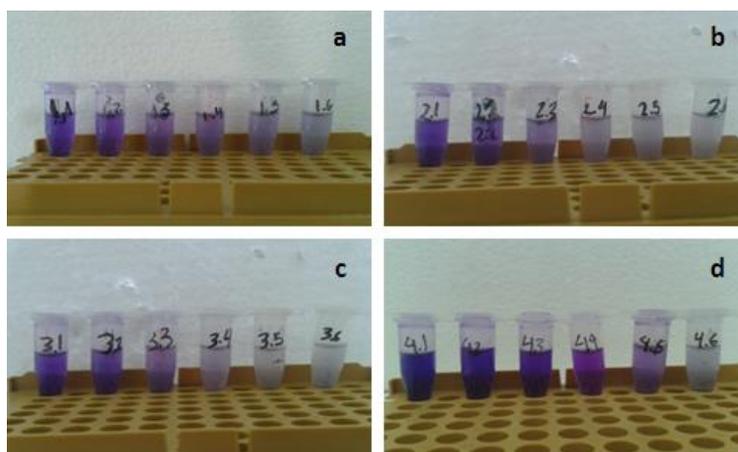


Figura 2. Resultados visuales de las cinéticas de decoloración de cristal violeta por *C.freundii*. a) pH 6.0, b) pH 7.0, c) pH 8.0, d) pH 9.0 .

La Figura 3 muestra la influencia de la temperatura sobre la actividad de biodegradación del cristal violeta. Los resultados obtenidos para estas cinéticas demuestran que la temperatura óptima fue de 40 °C, con un porcentaje de degradación del 86.13 % (Tabla 2). Resultado que es muy aceptable, pues estudio realizados por otros autores para la degradación de colorantes azo y

trifenilmetano mediante *Citrobacter* mencionan que el mayor porcentaje de decoloración se obtuvo a una temperatura de 35-40 °C (An *et al.*, 2002).

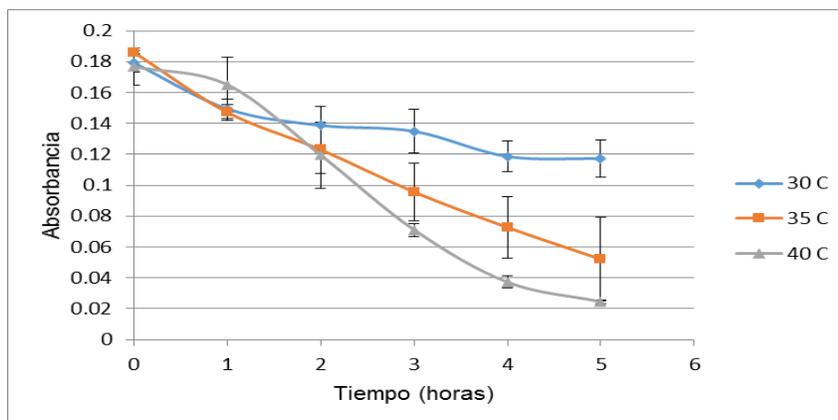


Figura 3. Influencia de la temperatura sobre la actividad de biodegradación

Tabla 2. Porcentaje de decoloración en el proceso de degradación de cristal violeta bajo la influencia de la temperatura.

Temperatura °C	% Decoloración
30	34.5
35	71.97
40	86.13

Resulta interesante, que este microorganismo cuya temperatura óptima de crecimiento se encuentra alrededor de los 37° C, demuestre resultados favorables de decoloración a una temperatura superior, como se muestra en la Tabla 2 y la Figura 4, revelando que la cepa de *Citrobacter freundii* tiene la capacidad de decolorizar el cristal violeta presente en las soluciones de prueba.

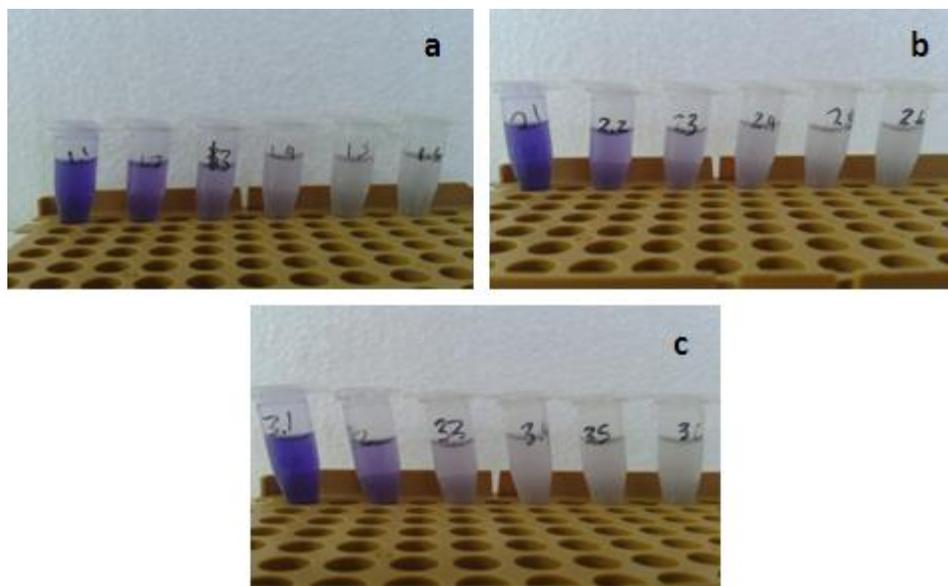


Figura 4. Resultados visuales de las cinéticas de decoloración de cristal violeta por *C.freundii*. a) Temperatura 30 °C, b) Temperatura 35 °C, c) Temperatura 40 °C.

CONCLUSIONES

Los procesos biológicos son una opción para el tratamiento de efluentes contaminados. Este estudio preliminar muestra el potencial que la cepa de *Citrobacter freundii* tiene para ser utilizado en procesos de tratamiento de aguas contaminadas con colorante. En base a los resultados obtenidos en este trabajo, se establece que las condiciones óptimas para la decoloración del cristal violeta por actividad biodegradativa de *Citrobacter freundii* se da bajo las siguientes condiciones: el nivel de pH de 7.0 y la temperatura de 40°C. Bajo estas condiciones fue posible alcanzar un porcentaje de decoloración de hasta 86 %.

BIBLIOGRAFÍA

1. Muñoz Rábago Edwin de Jesús, Vicente Rodríguez Ortiz. 2008. Cinética de la decoloración de colorantes en una muestra modelo en presencia de un catalizador. Tesina Universidad Veracruzana. Facultad de Ciencias Químicas. Veracruz, México.
2. Soares GMB, Hrdina R, Pessoa de Amorim MT, Costa-Ferreira M (2002) "Studies on biotransformation of novel disazo dyes by laccase". Proc. Biochem. 37:581–587.
3. Cortazar-Martinez A, González Ramírez CA, Coronel-Olivares C, Escalante-Lozada JA. 2012. "Biotecnología aplicada a la degradación de colorantes de la industria textil. Universidad y Ciencia. 28(2):187-199.
4. An Sun-Young, Min Sang-Ki, Cha In-Ho, Choi Yong-Lark, Cho Young-Su, Kim Cherol-Ho y Choon Lee Young. 2002. Decolorization of triphenylmethane and azo dyes by *Citrobacter* sp. Biotechnology Letters. Vol (24):1037-140.

EL APROVECHAMIENTO DE DESECHOS DEL SECTOR ACUÍCOLA COMO ÁREA DE OPORTUNIDAD EN MÉXICO

Ana G. Fracchia-Durán^a, A.R. Malpica-Sánchez^b, L.A. Ayala-Pérez^b, M. González-Ibarra^b

^aUniversidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, D.F., Maestría en Ecología Aplicada, ana0qurban@gmail.com

^bUniversidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, D.F., Departamento El Hombre y su Ambiente, aidamalpicas@gmail.com, luayala@correo.xoc.uam.mx, mgibarra@correo.xoc.uam.mx

RESUMEN

El rápido crecimiento de la acuicultura, en la escala global y nacional, ha producido una serie de problemas de impacto ambiental entre los que sobresale el volumen de agua empleado por el sector y su descarga sin tratamiento, lo cual ha generado un deterioro en la calidad del agua y en la estabilidad ecosistémica de cuerpos hídricos receptores. Debido a esto, se ha recalcado la importancia de que la acuicultura se lleve a cabo de forma sustentable. En este sentido, la disminución de productos de desecho acuícola (efluentes y lodos), su tratamiento y/o reutilización son ejes centrales en el manejo técnico de las Unidades de Producción Acuícolas (UPAs), en materia de cuidado ambiental y eficiencia productiva. En el presente trabajo se realizó una revisión bibliográfica para identificar el grado actual de aprovechamiento o reutilización de los desechos acuícolas en el país, y de la abundancia de granjas integrales (acuapónicas o que implementen sistemas de agro-acuicultura integrada). También se analizan los beneficios que se pueden generar tanto en el sector acuícola como en el agrícola con el aprovechamiento de los efluentes y lodos acuícolas, considerando las principales tendencias productivas del país. Se identificó que la reutilización de desechos acuícolas, y la implementación de granjas integrales, son prácticas poco diseminadas en México. Estas alternativas representan un área de oportunidad para el sector acuícola para incrementar su eficiencia productiva, diversificar la producción, y obtener ganancias adicionales a partir de productos de desecho. El efluente acuícola y los lodos generados se pueden aprovechar con esta finalidad dentro de la misma UPA, o en vinculación con el sector agrícola; el cual también se beneficiaría de presentar una fuente adicional de riego, rica en nutrientes, y abonos orgánicos derivados de los lodos acuícolas.

INTRODUCCIÓN

Actualmente en la escala mundial, la acuicultura es el sector de producción de alimentos con mayor crecimiento (Dediu *et al.*, 2012). Mientras que México, en el periodo 2004- 2006, alcanzó el décimo lugar dentro de los países con mayor tasa de crecimiento en este sector (FAO, 2008), y en el 2007, fue el décimo-noveno país con mayor participación acuícola en el contexto mundial (CONAPESCA, 2010). El rápido crecimiento de la acuicultura, en ambas escalas, ha producido una serie de problemas de impacto ambiental entre los que sobresale los volúmenes de agua empleados y su descarga sin tratamiento, lo cual ha generado un deterioro en la calidad del agua y en la estabilidad ecosistémica de cuerpos hídricos receptores (Crab *et al.*, 2007).

Se han realizado estudios comparativos de las concentraciones de sólidos suspendidos, demanda bioquímica de oxígeno, nitrógeno amoniacal total, nitrógeno y fósforo total, en fuentes de agua para el sector acuícola, y diversos efluentes, entre ellos: acuícolas, agrícolas, industriales, municipales, así como escorrentías rurales y urbanas. Se ha observado que en general, las concentraciones de estos parámetros en efluentes acuícolas son menores que en escorrentías rurales y urbanas, y mucho menores que en efluentes agrícolas, municipales e industriales sin tratamiento. Sin embargo, el impacto deriva del total de materia orgánica y nutrientes que son vertidos a los cuerpos hídricos receptores, y para ello hay que considerar no sólo las concentraciones de estos indicadores de la calidad del agua, sino también los volúmenes totales de agua descargados

durante la producción. Aunque no se cuentan con datos estadísticos específicos de la extracción de agua por parte del sector acuícola, se ha reportado que sobresale en la tasa de gasto de agua por tonelada de producto cosechado, cuando se compara con otras actividades del sector primario, industrias químicas y de manufactura (Yeo *et al.*, 2004). Finalmente, es importante considerar que el 75% del nitrógeno y fósforo otorgado a los peces a través de alimento peletizado no es aprovechado y se queda en el agua como producto de desecho (Piedrahita, 2003; Gutierrez-Wing y Malone, 2006).

Los lodos acuícolas son otro producto de desecho derivado de esta actividad. Aproximadamente 36% del alimento suministrado a los peces se pierde en forma de materia orgánica y se deposita como lodos o sedimentos (Brune *et al.*, 2003). Debido a ello, la relación del volumen de heces generadas por tonelada de organismos producidos, es similar a lo generado por especies pecuarias importantes, a pesar de la diferencia en tamaños. También se observan concentraciones de nitrógeno total similares (Yeo *et al.*, 2004).

En este sentido, la disminución de productos de desecho acuícola (efluentes y lodos), su tratamiento y/o reutilización son ejes centrales en el manejo técnico de las Unidades de Producción Acuícolas (UPAs), en materia de cuidado ambiental y eficiencia productiva.

METODOLOGÍA

En el presente trabajo se realizó una revisión bibliográfica para identificar el grado actual de aprovechamiento o reutilización de los desechos acuícolas en el país, y de la abundancia de granjas integrales (acuapónicas o que implementen sistemas de agro-acuicultura integrada). También se analizan los beneficios que se pueden generar tanto en el sector acuícola como en el agrícola con el aprovechamiento de los efluentes y lodos acuícolas, considerando las principales tendencias productivas del país.

RESULTADOS

A pesar del crecimiento acuícola que ha presentado el país en las últimas décadas, la acuicultura en México se caracteriza por presentar baja tecnificación, capitalización, capacitación, asistencia técnica y rendimientos productivos (sobre todo en el sector rural, DeWalt *et al.*, 2002; INEGI, 2011; Segovia-Quintero, 2011; Norzagaray-Campos *et al.*, 2012). Esto conlleva a que se dependa de altos recambios de agua para mantener la calidad de ésta. Estas prácticas son comunes en el debido a la falta de regulación, desconocimiento y/o imposibilidad de invertir en tecnologías más intensivas, sustentables, y de mayor eficiencia productiva, donde exista un manejo de la calidad del agua sin depender de altos recambios para mantener una calidad adecuada para el cultivo.

Los datos anteriores evidencian que en el país la acuicultura descarga grandes volúmenes de efluentes por la baja eficiencia productiva, capacitación y tecnificación. Sin embargo, existen poca información del grado actual de aprovechamiento de estos desechos acuícolas, y de la abundancia de granjas integrales y acuapónicas. Las estadísticas oficiales y bibliografía, no abarcan estos puntos.

A modo de antecedente, Martínez-Torres y Abrego-Ayala (1988), reportan que dentro de Latinoamérica, México fue el país pionero en adoptar e implementar policultivos (sistemas integrales de acuicultura, agricultura y ganadería). Estos cultivos se basan en el aprovechamiento de los subproductos, o productos de desecho de los componentes del sistema productivo, como materia prima para otro co-cultivo, aumentando así la producción total, optimizando los insumos, y minimizando el impacto ambiental. Sin embargo, su fomento tuvo un alcance limitado. En 1980, el Departamento de Pesca (FONDEPESCA) empezó a promover estos sistemas e inclusive se planteaba que los policultivos podrían representar el eje principal para producción piscícola en el país. Fue así como se inició con el establecimiento de varias cientos de granjas integrales en la República. Sin embargo, posteriormente, por falta de fondos para el programa, el gobierno no dio apoyo substancial en la continuidad de estos proyectos, lo cual limitó la capacidad de dar asesoría

a los productores. Se reporta que por el inadecuado financiamiento institucional y falta de asistencia técnica, muchas de las granjas establecidas no sobrevivieron (Simonian, 1999).

Los sistemas acuapónicos a escala comercial posiblemente están delimitados en el sector privado, ya que en México se ha observado una relación entre el nivel de tecnificación, productividad y la tenencia de la tierra; donde el sector privado suele presentar cultivos más intensivos que el ejidal (DeWalt *et al.*, 2002).

Aunque no se cuentan con estadísticas de la abundancia de granjas integrales y sistemas acuapónicos en el país, es evidente, que dichos sistemas aún están poco diseminados en México. Estas alternativas representan un área de oportunidad para el sector acuícola, para incrementar su eficiencia productiva, diversificar la producción, y obtener ganancias adicionales a partir de productos de desecho. El efluente acuícola y los lodos generados se pueden aprovechar con esta finalidad dentro de la misma UPA, o en vinculación con el sector agrícola.

La agricultura en México se desarrolla predominantemente en condiciones de temporal (81.6% de la superficie agrícola; INEGI, 2009), lo cual en el país genera rendimientos en toneladas por hectáreas 2.2 a 3.6 veces menores que los cultivos de riego (CONAGUA, 2011). Sin embargo, ya existe un alto gasto de agua dulce superficial y subterránea por parte del sector agropecuario, extrayendo el 77% del total nacional (AQUASTAT, 2012). Por lo cual, el sector agrícola se podría beneficiar de presentar una fuente adicional de riego, rica en nutrientes, en vez de ser vertida como producto de desecho.

En cuanto a los fertilizantes, en México la agricultura emplea grandes volúmenes anuales (37.6 toneladas/mil Ha; FAOSTAT, 2015), sin embargo, estos son utilizados principalmente por el subsector comercial altamente capitalizado, y en menor medida por los pequeños productores y de subsistencia (OCDE, 2011); ya que sólo el 37.23% de las unidades de producción reporta su aplicación, mientras que únicamente el 8.33 % reporta el empleo de abonos naturales (INEGI, 2009). En este sentido, los lodos derivados del sector acuícola pueden ser aprovechados con fines agrícolas.

CONCLUSIONES

Debido a que la acuicultura en México presenta baja tecnificación, capitalización, capacitación, asistencia técnica y rendimientos productivos en México, suele depender en altos recambios de agua para mantener la calidad de los cultivos. Existen poca información del grado actual de aprovechamiento de los efluentes, y de la abundancia de granjas integrales y acuapónicas

La reutilización de desechos acuícolas, y la implementación de granjas integrales, son prácticas poco diseminadas en México.

En otras palabras, existe por un lado desperdicio de agua y lodos ricos en nutrientes por parte del sector acuícola, y una necesidad de dichos insumos por parte del sector agrícola, así como la necesidad de minimizar el impacto ambiental, y la huella hídrica por parte de estos sectores, la competencia por agua, e incrementar la eficiencia productiva por unidad de superficie y volumen de agua empleados.

BIBLIOGRAFÍA

1. AQUASTAT, 2012. Water withdrawal by sector, around 2006. FAO, AQUASTAT database.
2. Brune, D.E., Schwartz, G., Eversole, A.G., Collier, J.A., Schwedler, T.E., 2003. Intensification of pond aquaculture and high rate photosynthetic systems. *Aquac. Eng.* 28, 65–86.
3. CONAGUA, 2011. Estadísticas del agua en México, edición 2011. México, D.F., 185 p.
4. CONAPESCA, 2010. Anuario estadístico de acuicultura y pesca 2008. 207 p.

5. Crab, R., Avnimelech, Y., Defoirdt, T., Bossier, P., Verstraete, W., 2007. Review article: Nitrogen removal techniques in aquaculture for sustainable production. *Aquaculture* 270: 1-14.
6. Dediu, L., Cristea, V., Xiaoshuan, Z., 2012. Waste production and valorization in an integrated aquaponic system with bester and lettuce. *African Journal of Biotechnology* 11(9), 2349-2358.
7. DeWalt, B.R., Ramírez Zavala, J.R., Noriega, L., González, R.E., 2002. Shrimp Aquaculture, the People and the Environment in Coastal Mexico. Report prepared under the World Bank, NACA, WWF and FAO Consortium Program on Shrimp Farming and the Environment. Work in Progress for Public Discussion. Published by the Consortium. 73 p.
8. FAO, 2004. *State of World Fisheries and Aquaculture*. Roma, Italia.
9. FAO, 2008. Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura. Factores que afectan su sustentabilidad en America Latina. Taller técnico regional de FAO. Puerto Montt, Chile. 377 p.
10. Gutierrez-Wing, M.T., Malone, R.F., 2006. Biological filters in aquaculture: trends and research directions for freshwater and marine applications. *Aquac. Eng.* 34, 163–171
11. INEGI, 2009. Estados Unidos Mexicanos. Censo Agropecuario 2007, VIII Censo Agrícola, Ganadero y Forestal. Aguascalientes, Ags., 193 pp.
12. INEGI, 2011. Pesca y acuicultura. Censos Económicos 2009. México, 83 p.
13. Martínez-Torres, Z., Abrego-Ayala, J.O., 1988. Modelo mexicano de policultivo: una alternativa de desarrollo rural. Secretaría de Pesca, Fideicomiso Fondo Nacional para el Desarrollo Pesquero, Fondepesca.
14. Norzagaray- Campos M., Muñoz-Sevilla P., Sánchez-Velasco L., Capurro-Filograsso L., Liánes- Cárdenas O., 2012. Acuicultura: estado actual y retos de la investigación en México. *Revista AquaTIC* 37: pp. 20-25
15. OCDE, 2011. Análisis del extensionismo agrícola en México. Reporte para la SAGARPA. Paris, 72 p
16. Piedrahita, R.H., 2003. Reducing the potential environmental impact of tank aquaculture effluents through intensification and recirculation. *Aquaculture* 226, 35–44.
17. Segovia-Quintero, M., 2011. An overview on desert aquaculture in Mexico. In V. Crespi & A. Lovatelli, eds. *Aquaculture in desert and arid lands: development constraints and opportunities*. FAO Technical Workshop. 6–9 July 2010, Hermosillo, Mexico. FAO Fisheries and Aquaculture Proceedings No. 20. Rome, FAO. 2011. pp. 187–202.
18. Simonian, L., 1999. La defensa de la tierra del jaguar. Una historia de la conservación en México. SEMARNAP, 352 p.
19. Yeo, S.E., Binkowski, F.P., Morris, J.E., 2004. Aquaculture effluents and waste by-products. Characteristics, potential recovery, and beneficial reuse. Publicación de North Central Regional Aquaculture Center (NCRAC), EUA, 47 p.

IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPUESTOS ACTIVOS DE LA PULPA Y CASCARA DE *PERSEA AMERICANA* PARA LA PRODUCCIÓN DE CONSERVADOR NATURAL DE ALIMENTOS

Luis A. Santiago-Santiago^a, Evelin Munive^a, Ma. Fernanda Mendez A^a, José A. Muñoz R^a, G. Vargas Oliver, Lagunez Rivera L. ^b

^aUniversidad Politécnica de Tlaxcala, Avenida Universidad Politécnica #1, San Pedro Xalcaltzinco, Tepeyanco Tlaxcala, C.P. 9018, Tlaxcala. luisalberto.santiago@uptlax.edu.mx, evelyn.munive@hotmail.com, dins14@hotmail.com, gabriela.vargas@uptlax.edu.mx

^bInstituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario para el Desarrollo Integral Regional – Unidad Oaxaca, Hornos No. 1003, Sta. Cruz Xoxocotlan, Oaxaca, C.P. 71230, México. llagunez@hotmail.com

RESUMEN

Con el fin de tener un mejor aprovechamiento del aguacate *Persea Americana* de la familia de aguacate hass, se realizó una extracción del aceite de la pulpa y cascara con un equipo Soxhlet, utilizando hexano como solvente y su posterior eliminación por destilación a vacío con rotavapor, la composición del aceite se determinó por cromatografía de gases acoplado a masas. La actividad antimicrobiana del extracto se evaluó por el método Kirby Bauer utilizando como agente microbiano cepas de *E. coli* y *S. aureus* en agar Triptona de caseína de soya y Mueller Hinton. Los resultados obtenidos de ambos extractos de pulpa y cascara muestran que los componentes principales en el aceite esencial es el Estragol, α y β -Pino en diferentes concentraciones. Se determinó que presentaron inhibición ante *S. aureus* obteniendo halos de inhibición de 1 a 10 mm comparables con presentados por antibióticos. Estos resultados muestran que el aceite de la cascara y pulpa de aguacate presentan actividad antimicrobiana importante y que podrían utilizarse como conservador natural en alimentos.

Palabras clave: actividad antimicrobiana, aceite esencial, *Persea americana*.

INTRODUCCIÓN

El aguacate es un árbol originario de Mesoamérica, su origen tuvo lugar en la parte centro de México y en algunas partes altas de Guatemala, donde ya se cultivaba con anterioridad a la llegada de los españoles. El nombre del aguacate proviene del náhuatl (*Ahuacatl*), palabra que significa "testículos del árbol". Su nombre científico es *Persea Americana* y proviene de la familia laurácea. (SAGARPA, 2011)

De acuerdo con las investigaciones, se considera una de las plantas que más beneficios nos ha proporcionado. En la actualidad el aguacate es utilizado en diversos países y de formas muy variadas debido a la amplia gama de propiedades que tiene esta planta.

El ácido oleico o aceite que contiene el aguacate es un tipo de grasa monoinsaturada típica de los aceites vegetales como el aceite de oliva. Su fórmula química es $C_{18}H_{34}O_2$ y su nombre IUPAC es ácido cis-9-octadecadienoico. (Calderón, 2007)

Para el proceso de conservación de alimentos y extender lo más posible su vida de anaquel se utilizan una gran variedad de conservadores químicos al igual que en campos de cultivo, algunos o muchos de ellos nocivos para la salud, pueden ser cancerígenos o mutagénicos, los cuales se utilizan indiscriminadamente.

Se buscan alternativas naturales e inocuas al ser humano, una de estas alternativas es la utilización de aceites esenciales o principios activos de plantas, como la del aguacate. Que se ha reportado que presenta actividad antifúngica y antimicótica, así como anti-bacterial en alimentos.

Para ello se propone en este trabajo realizar el proceso de extracción del aceite de aguacate, de la pulpa y la cascara del fruto. Con una posterior evaluación antimicrobiana con cepas de *E. Coli* y *S.*

aureus, con una posterior caracterización de los principios activos contenido en el aceite por cromatografía de gases acoplado a masas.

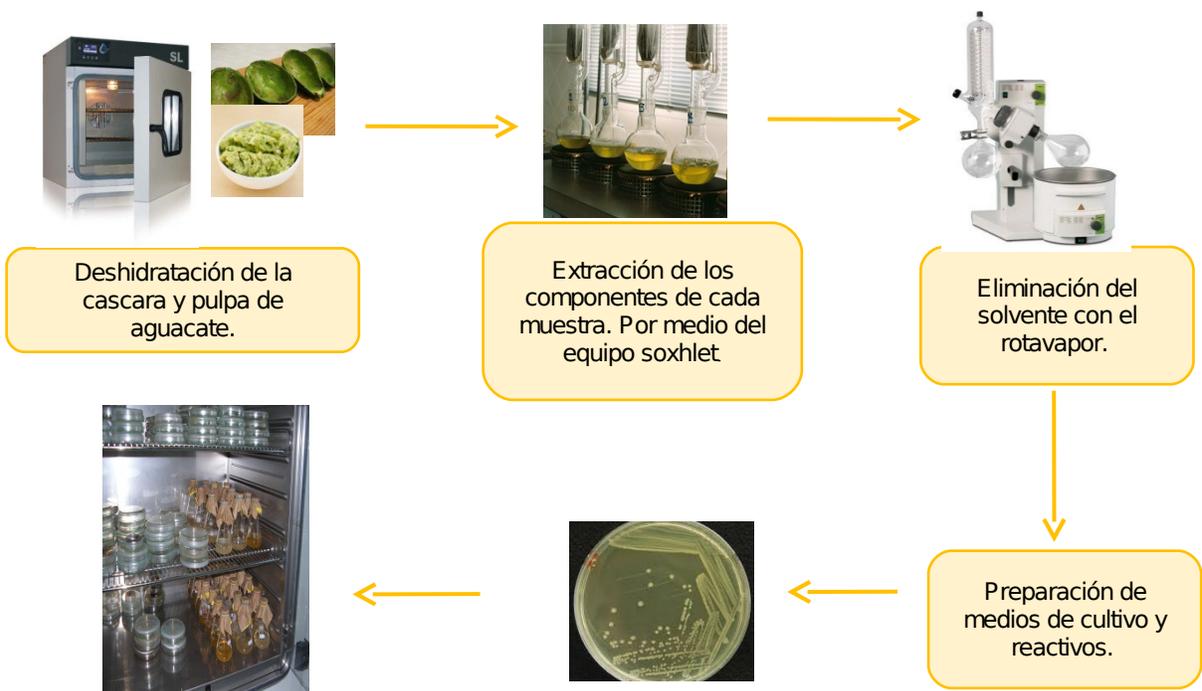
TEORÍA

Se utilizaron dos variedades de aguacate hass y fuerte en estado de maduración aceptable. Para eliminar la concentración de agua presente en las muestras, estas se mantuvieron por 3 días en la estufa de secado a 45° C para así obtener el peso seco.

La extracción de los compuestos de la pulpa y la cascara de aguacate de los dos diferentes tipos, se realizó a través del equipo soxhlet, donde por medio de la evaporación con ayuda de un solvente se extrajeron los compuestos de las cuatro muestras. El solvente de las muestras se evaporo con ayuda del rotavapor.

Una vez obtenido los cuatro extractos se esterilizaron a 15 Lb por 15 minutos, para después realizarles la prueba de inhibición microbiana. Para esta prueba se utilizaron *E. coli* y *S. aureus* en agar tripton de caseína de soya y mueller hinton, colocando 5 discos dispersos en cada caja petri inoculadas con el extracto, dejándolas en incubación por 24 horas, obteniendo resultados positivos para dos muestras que es la pulpa y cascara del aguacate hass.

De acuerdo al análisis realizado en el equipo de cromatografía de gases, el cual tiene como fundamento “El análisis de muestras (solutos) de estado líquido convirtiéndolos a estado gaseoso en componentes individuales para su identificación” y a los 3 tipos de detectores con los que cuenta el equipo, (FID, TSD Y ECD), se puede determinar que existen una gran variedad de compuestos, en los que solo se tomaron en cuenta los picos presentes del minuto 6 al minuto 35, debido a que estudios previamente realizados muestran que los compuestos activos que muestran actividad antimicrobiana debido a sus características químicas están presentes en dicho tiempo de retención. Se realizó un análisis en cromatografía de gases al aguacate de variedad hass, ya que fue el que tuvo mejores resultados, mezclando 80µl con 20µl de hexano grado HPLC para el análisis de la muestra inyectándolos con el Split de forma automática por el equipo extrayendo 2µl y realizando el análisis por duplicado. Se empleó una columna capilar modelo DB-WAX utilizando como fase móvil He a una temperatura de 240°C en el horno del equipo de GC. Algunos de los compuesto que se obtuvieron durante el análisis no resultaron relevantes para recopilación de datos debido a que dichos picos fueron trazas del hexano o suciedad de la misma columna por lo cual se tomó como referencia el estudio de análisis previamente realizados así como la inyección de muestras por duplicado.



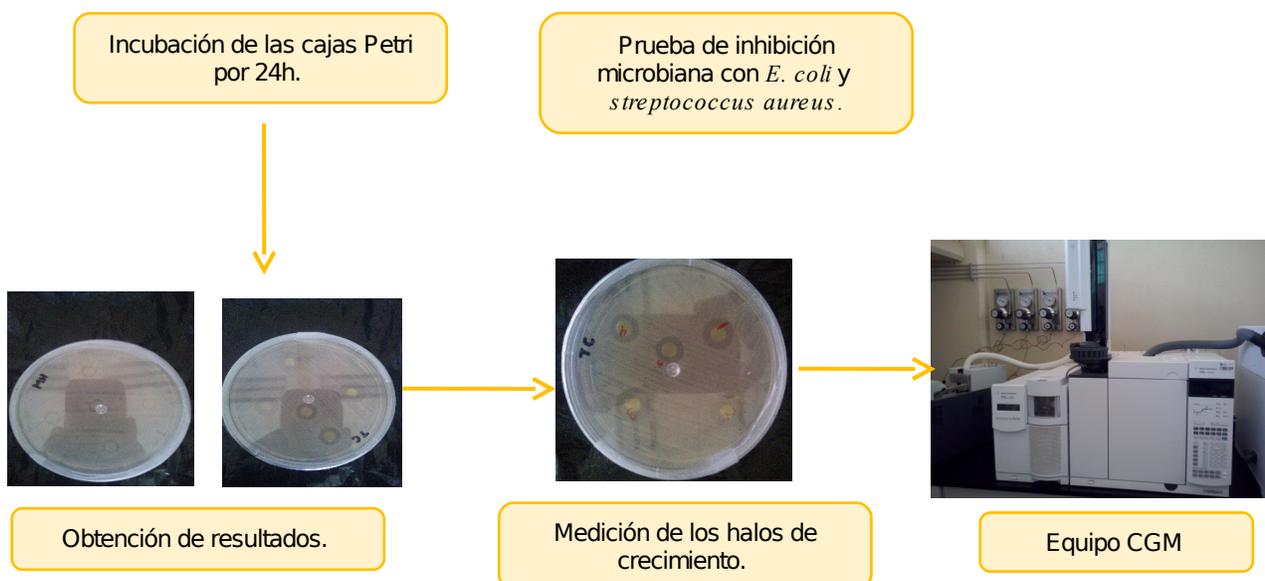


Figura 1.- Metodología del proceso de análisis de los aceites esenciales.

PARTE EXPERIMENTAL

Los extractos del aguacate hass (muestra 2 y cascara 2) en medio agar triptona de caseína y el extracto de aguacate fuerte (solo muestra 1) en agar mueller hinton, mostraron un halo de inhibición ante el crecimiento de *S. aureus*, presentando mayor inhibición los extractos del aguacate fuerte, como se muestra en la tabla 1. Todas las pruebas realizadas con *E. coli* fueron negativas, ya que ningún extracto pudo inhibir su crecimiento.

Disco	AGUACATE FUERTE		AGUACATE HASS	
	Muestra 1	Cascara 1	Muestra 2	Cascara 2
1	0.05	No presento inhibición	0.05	8
2	1	No presento inhibición	3	9
3	1	No presento inhibición	3	10
4	0.05	No presento inhibición	2	6
5	2	No presento inhibición	5	5

Tabla 1. Resultados de inhibición microbiana con *S. aureus*, en milímetros.

Los análisis de los aceites de la muestra 2 y cascara 2 correspondiente al aguacate has obtenidos en cromatografía de gases acoplado a masas son los siguientes.

Tiempo de retención	Nombre del compuesto	Porcentaje (%)	Formula
6.100	2-nitrohep-2-en-1-ol	14.8	C7H13NO3

6.373	2-nitrohep-2-en-1-ol	13.7	C7H13NO3
6.999	2-cyclopenten-1-one,2-hydroxy-3-methyl-	44.3	C6H8O2
7.168	Nonanal	13.2	C9H18O
7.922	1,2,4a,4b,7,8,8a,8b-octahydrobiphenylene	46.8	C12H16
8.237	2-cyclopenten-1-one,2-hydroxy-3-methyl-	16.9	C6H8O2
8.617	1,2,4a,4b,7,8,8a,8b-octahydrobiphenylene	33.3	C12H16
11.127	2-decenal,(Z)-	38.5	C10H18O
11.952	2,4-decadienal,(E,E)-	63.1	C10H16O
12.522	2,4-decadienal,(E,E)-	53.9	C10H16O
13.371	2-pentadecyn-1-ol	7.11	C15H28O
13.721	2-undecenal	49.9	C11H20O
14.825	2-methyl-4-octenal	4.62	C9H16O
15.050	Caryophyllene	11.1	C15H24
17.158	Cycloheptasiloxane,tetradecamethyl-	73.5	C14H42O7Si7
18.926	Caryophyllene oxide	59	C15H24O
19.354	Hexadecane	24.3	C16H34
20.885	5-heptadecene,1-bromo-	7.42	C17H33Br
21.045	9-octadecenal,(Z)-	10.4	C18H30O
21.556	Tetradecane,2,6,10-trimethyl-	26	C17H36
23.366	Cis,Cis-7,10,-hexadecadienal	14.8	C16H28O
23.657	Tetradecane,2,6,10-trimethyl-	27.5	C17H36
25.396	9,17-octadecadienal,(Z)-	28.9	C18H32O
26.678	Z-(13,14-hepoxy)tetradec-11-en-1-ol acetate	7.66	C16H28O3
26.862	1,2-bezenedicarboxylic acid,butyl octyl ester	8.01	C20H30O4
28.898	9,17-octadecadienal,(Z)-	8.59	C18H32O
29.052	1-heptatriacotanol	8.82	C37H76O
29.788	8,11,14-eicosatrienoic acid,(Z,Z,Z)-	6.29	C20H34O2
30.352	Xolestan-3-ol,2-methylene-,(3B,5&)-	5.03	C28H48O
31.99	Androstan-17-one,3-ethyl-3-hydroxy-,(5&)-	6.88	C21H34O2
33.183	4,8,13-cyclotetradecatriene-1,3-diol,1,5,9 trimethyl-12-(1-methylethyl)-	7.77	C20H30O2
35.302	Squalene	33.9	C30H50
36.762	3',8,8'-trimethoxy-3-piperidyl-2,2'-binaphthalene-1,1',4,4'-tetrona	26.4	C28H25NO7
37.711	9,12,15-optadecatrienoic acid,2,3-dihydroxypropyl ester,(Z,Z,Z)-	7.29	C21H36O4

Tabla 2. Contenido de Muestra 2 (pulpa) aguacate has obtenido por CGM.

Tiempo de retención	Nombre del compuesto	Porcentaje (%)	Formula
7.02	2-Cyclopenten-1-one, 2-hydroxy-3-methyl-	34.9	C6H ₈ O2
11.139	2-Decenal,(Z)-	38.3	C ₁₀ H ₁₈ O
12.581	2,4-Decadienal,(E,E)-	10.3	C ₁₀ H ₁₆ O
13.745	2-Pentadecyn-1-ol	7.51	C ₁₅ H ₂₈ O
17.199	Cycloheptasiloxane,tetradecamethyl-	88.9	C ₁₄ H ₄₂ O ₇ Si ₇
20.897	5-Heptadecene, 1-bromo-	7.89	C ₁₇ H ₃₃ Br
21.021	Cyclooctasiloxane,hexadecamethyl-	90	C ₁₆ H ₄₈ O ₈ Si ₈
24.375	Cyclononasiloxane,octadecamethyl-	91.7	C ₁₈ H ₅₄ O ₉ Si ₉
26.88	Phthalic acid, butyl undecyl ester	11	C23H36O4

27.378	Cyclodecasiloxane, eicosamethyl-	83.9	C ₂₀ H ₆₀ O ₁₀ Si ₁₀
28.915	E,E,Z- 1,3,12-Nonadecatriene-5,14-diol	9.44	C ₁₉ H ₃₄ O ₂
30.144	Cyclodecasiloxane, eicosamethyl-	36.6	C ₂₀ H ₆₀ O ₁₀ Si ₁₀
30.785	1-Heptatriacotanol	26.8	C ₃₇ H ₇₆ O
32.868	7-Methyl-Z-tetradecen-1-ol acetate	15.3	C ₁₇ H ₃₂ O ₂
33.563	9,12,15-Octadecatrienoic acid, 2,3-dihydroxypropyl ester, (Z,Z,Z)	6.74	C ₂₁ H ₃₆ O ₄
35.385	1-Heptatriacotanol	11.7	C ₃₇ H ₇₆ O

Tabla 3. Contenido de cascara 2 (cascara) aguacate has obtenido por CGM.

CONCLUSIONES

Está claro que los compuestos presentes en el aguacate Hass, tienen propiedades que favorecen la inhibición microbiana ante el crecimiento de algunos microorganismos como lo fue de *S. aureus* pero al no presentar inhibición contra *E. coli*, significa que hay una clara diferencia entre estos dos, lo que provoca que solo inhiba uno. Para determinar esta diferencia se tiene que profundizar tanto en el estudio de los componentes del extracto así como las propiedades morfológicas de los microorganismos, así como en la variación de la concentración de aceite.

Los análisis preliminares obtenidos por cromatografía de gases acoplado a masas indican la presencia de 33 compuestos mayoritarios entre los cuales se encuentra el caripillenos y algunos otros que actualmente se están analizando.

BIBLIOGRAFÍA

1. Lagunez-Rivera Luicita and et al (2014). Antimicrobial activity of essential oil from wild avocado leaves (*Persea americana* Mill.) from México. *1st Biotechnology World Symposium & 9° Encuentro Nacional de Biotecnología del IPN.*
2. Calderón, M. C. (2007). *Catálogo de propiedades nutrimentales, nutracéuticas y medicinales del aguacate.* Obtenido de: <http://sena.blackboard.com/bbcswebdav/institution/Semillas%20contenidos/72210077/Documentos%20de%20Apoyo/4-%20Materiales%20de%20apoyo%20unidad%204/Propiedades%20Medicinales%20del%20Aguacate.pdf>
3. SAGARPA. (Noviembre de 2011). *Aguacate.* Obtenido de: <http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Documents/pablo/Documents/Monografias/Monograf%C3%ADa%20del%20aguacate.pdf>

EFFECTO DE HORMONA FINGLY COMO POSIBLE REGULADOR DEL CRECIMIENTO VEGETAL SOBRE LA GERMINACION DE LAS SEMILLAS Y DESARROLLO DE PLÁNTULAS DE MAMMILLARIA UNGINATA (CACTACEAE).

Herlinda C. Pérez-Vivero, Carolina Rangel-Gómez, Eglá Yareth Bivián-Castro y Sofía Loza-Cornejo

Centro Universitario de los Lagos, Universidad de Guadalajara, Departamento de Ciencias de la Tierra y de la Vida, linda_aar15@hotmail.com, las-isc@hotmail.com, ebivian@culagos.udg.mx, sofialo@culagos.udg.mx

RESUMEN

Se evaluó el efecto de la adición de una hormona indólica (FINGLY) y una hormona comercial (ácido indolacético) sobre la respuesta germinativa y crecimiento de plántulas en la especie *Mammillaria uncinata* (Cactaceae). Grupos de 90 semillas se germinaron con la adición de diferentes concentraciones (125 y 250 ppm) de ácido indolacético (AIA) y hormona FINGLY, mientras que otras semillas (control) se sembraron con agua destilada solamente. Todos los días y durante 21 días se llevó a cabo el registro de porcentaje de germinación (%G) de las semillas, así como la luz, temperatura y humedad a la que estaban expuestas. Las plántulas provenientes de dichos experimentos se sembraron en semilleros con una mezcla de sustrato y se mantuvieron en un invernadero para continuar su crecimiento.

Los resultados demostraron que los porcentajes más altos de germinación se registraron en los tratamientos de AIA en concentraciones de 125 y 250 ppm con valores de germinación semejantes, seguidos por el grupo control. Los porcentajes más bajos de germinación se obtuvieron con el tratamiento de FINGLY de 125 ppm y por último el grupo de FINGLY 250 ppm presentó una germinación casi nula con este tratamiento. Se concluye sobre la baja actividad de la hormona FINGLY como regulador de crecimiento vegetal para esta especie de Cactaceae.

INTRODUCCIÓN

Las hormonas de las plantas, como ocurre con las de los animales y otros organismos, influyen en el crecimiento y desarrollo, así como la respuesta a estímulos ambientales. Aunque las plantas carecen de un sistema que ayude a responder a dichos estímulos, utilizan sus hormonas de manera notoria.

El efecto de una determinada hormona puede variar, dependiendo de su concentración o del tipo y localización de las células sobre las que actúa. Una hormona es una molécula pequeña que transporta información desde la célula donde se elaboró hasta determinadas células destinatarias, originando un cambio en respuesta a las necesidades internas o a los estímulos externos. En la mayoría de las ocasiones, las hormonas actúan en unión con una proteína, originando así una ruta de transducción de señales, una serie de acontecimientos cuyo fin es estimular o inhibir una respuesta celular. La mayoría de las respuestas de desarrollo o de crecimiento que se producen en las plantas integran la acción de varias hormonas y fotorreceptores, donde cada uno actúa a través de una ruta de transducción de señales. Cada hormona o fotorreceptor puede afectar de manera diferente a un determinado acontecimiento del desarrollo, como la germinación o floración ⁽¹⁾.

Las hormonas son sustancias orgánicas cuya función la ejercen en un lugar diferente al que fueron sintetizadas y que se encuentran en concentraciones relativamente bajas. Mientras que los reguladores de crecimiento se definen como sustancias sintéticas que pueden ser o no homólogas a las hormonas y que cumplen funciones parecidas a éstas. En cuanto a reguladores de crecimiento se refiere, hasta el momento se han clasificado en cinco grupos: auxinas, citocininas, etileno, ácido abscísico y giberelinas. Las auxinas provocan el alargamiento del vástago y las citocininas promueven la división celular. El etileno es producido en los frutos y es responsable de la abscisión de las hojas. El ácido abscísico determina el crecimiento y puede estar involucrado en la dormancia de las yemas. Por último las giberelinas estimulan el alargamiento del vástago,

inducen el repentino crecimiento y floración de muchas plantas y también están implicadas en el crecimiento del embrión y de la plántula ⁽²⁾.

De manera general puede argumentarse que los reguladores de crecimiento producidos en una planta pueden tener efecto en otra por lo que se puede asegurar que no son específicos. De igual manera, de la cantidad total de reguladores de crecimiento producida en una planta no toda es activa, solo una pequeña parte lo es, mientras que el resto se encuentra fija o permanece en forma de precursores ⁽³⁾.

La concentración de muchos reguladores de crecimiento es crítica, en cantidades pequeñas son efectivos como estimuladores del crecimiento, mientras que en concentraciones mayores tienen un efecto contrario, es decir lo inhiben. Es tal la importancia que presentan estas sustancias, que la formación de tejidos y órganos depende de la presencia e interacción entre ellas ⁽⁴⁾.

En la presente investigación, se llevó a cabo el análisis del efecto de hormonas tipo auxina (FINGLY y AIA) sobre la germinación y crecimiento de plántulas de *Mammillaria uncinata*. Esta especie tiene una amplia distribución en varios estados de nuestro país ⁽⁵⁾.

El objetivo del proyecto es evaluar el efecto de la hormona FINGLY como hormona reguladora de crecimiento vegetal sobre la germinación y crecimiento de plántulas de *Mammillaria uncinata*.

PARTE EXPERIMENTAL

Para este proyecto se utilizaron alrededor de 450 semillas de *Mammillaria uncinata*, para experimentos de germinación in vitro. Para evaluar la actividad como regulador de crecimiento de ácido indolacético (AIA) y FINGLY y su comparación con el control (sin adición de hormona).

Previo a la preparación de las hormonas se seleccionaron las semillas viables para este experimento, para esto se contaron las semillas a utilizar y se observaron bajo el estero microscopio para detectar cualquier daño visible. Las semillas viables se separaron en grupos de 90 semillas para cada tratamiento y concentración respectiva, se lavaron en una solución de cloro comercial (hipoclorito de sodio 4-6%, hidróxido de sodio 0.05-0.010%) al 10%. Se prepararon dos soluciones de las fitohormonas AIA y FINGLY en etanol a concentraciones de 250 y 125 ppm para cada una de las hormonas, además se utilizó agua para el grupo de semillas catalogadas como control. Posterior a esto se sumergieron 90 semillas en cada tratamiento de AIA (125 y 250 ppm), FINGLY (125 y 250 ppm) y solución control (agua destilada) por 30 minutos. El diseño experimental consistió en una distribución al azar de tratamientos (concentraciones de hormonas). Se hicieron tres repeticiones de 30 semillas cada uno para cada tratamiento (AIA, FINGLY) y el control. Transcurrido este tiempo se realizó la siembra en cajas de petri bajo condiciones estériles (grupos de 30 semillas por caja). Se adicionó agua destilada suficiente para mantener la semilla en condiciones de germinación, las cajas se sellaron con plástico adherible, y se mantuvieron en la campana con luz blanca por 21 días.

Se llevó un registro diario de la luz, temperatura y humedad relativa, durante el experimento de germinación hasta que se sembraron en tierra (previamente esterilizada), donde también se siguió llevando este registro; y se mantuvieron en un invernadero.

Transcurrido un mes de crecimiento se registró la altura total de la raíz, su longitud total y la longitud de la raíz y se procesaron los datos (variables) estadísticamente.

CONCLUSIONES

Se observó que el proceso de germinación para el AIA y control inició el tercer día. Para el AIA fue de un 30% en 125 ppm y un 26.7% para 250 ppm, mientras que para control fue de 16.7% de germinación. Por el contrario para FINGLY se observó que su proceso de germinación inició el día 5 con un porcentaje de 16.7% de 125 ppm y el día 7 con un porcentaje de 3.3% en 250 ppm.

Ninguno de los tratamientos con los reguladores de crecimiento AIA o FINGLY produjo incrementos significativos en los porcentajes de germinación, velocidad de germinación y crecimiento de plántulas en comparación con el control, de hecho la adición de la hormona FINGLY no produjo ningún incremento y algunas de las semillas no lograron germinar, sobre todo en la concentración más alta, por lo que se concluye que las semillas de *Mammillaria uncinata* no tienen requerimientos especiales para la germinación; y además la hormona FINGLY no favorece la germinación de la semilla y crecimiento de la plántula.

BIBLIOGRAFÍA

1. Nabors M. W. Introducción a la botánica. 2006, Pearson, 268.
2. Vanneste, S. y Friml, J. 2009. Auxin: A trigger for change in plant development. *Cell* 136:1005-1016.
3. Parry, G. y Estelle, M. 2006. Auxin receptors: a new role for F-box proteins. *Current Opinion in Cell Biology*, 18:152-156.
4. Ramírez-Luna, E.; Castillo-Aguilar, C. de la C.; Aceves-Navarro, E.; Carrillo-Avila, E. Efecto de productos con reguladores de crecimiento sobre la floración y amarre de fruto en chile 'habanero' *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 11 (1), 2005, 93-98.
5. Bravo-Hollis H. y H. Sánchez-Mejorada, 1991. *Las Cactáceas de México*. Vol. 3 2da. ed. UNAM, México.

PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE LA FRACCIÓN HEXÁNICA DE SEMILLAS DE PLANTAS NATIVAS DEL ESTADO DE VERACRUZ

Diana Janeth Pérez Juárez^a, Karla Lizzeth Morales Cano^a, Francisco Abelardo Cen Pacheco^a, María Remedios Mendoza López^b y María Guadalupe Sánchez Otero^a.

^a Facultad de Bioanálisis, Universidad Veracruzana, djpi_92@hotmail.com, kalilmc92@gmail.com, fcen@uv.mx, guadsanchez@uv.mx.

^b Unidad de Servicios de Apoyo en Resolución Analítica, SARA, Universidad Veracruzana, remendoza@uv.mx.

RESUMEN

Debido a factores tales como el estilo de vida sedentario, factores genéticos, el tipo de alimentación la sociedad se encuentra predispuesta al desarrollo de enfermedades crónico degenerativas. El perfil de ácidos grasos que el humano consume en su dieta tiene efectos relevantes en su salud, por ello es necesaria la búsqueda de nuevas fuentes de ácidos grasos con mayor impacto nutraceúutico.¹ Veracruz es uno de los estados del país más ricos en diversidad vegetal, debido a ello, el objetivo del presente trabajo fue determinar el perfil de ácidos grasos provenientes de la fracción hexánica de semillas de: *Litchi chinensis*, *Momordica charantia*, *Ensete ventricosum*, *Inga jinicuil*, *Salvia hispanica*.

El material vegetal fue recolectado en diversas regiones del estado de Veracruz, despulpado, secado a la sombra o liofilizado y molido. Los extractos hexánicos fueron obtenidos mediante un proceso de maceración en frío; una vez libres de disolvente se procedió a su transformación a metil ésteres. El análisis del perfil de ácidos grasos se realizó por cromatografía de gases (Packard Model 61800B, GCD) acoplado a espectrometría de masas (Agilent Technologies 5975 inertXL model).²

INTRODUCCIÓN

Los aceites y grasas son biomoléculas que han demostrado tener un impacto significativo en la salud de quien los consumen.³ Gran cantidad de ácidos grasos participan en el metabolismo humano jugando un papel importante en la síntesis de hormonas y otras moléculas de gran importancia en el organismo. Uno de los retos en la alimentación humana es reducir la cantidad de triglicéridos, colesterol de baja densidad, colesterol total y el índice glucémico para mejorar la calidad de vida de los seres humanos.⁴ Es bien sabido que el aumento del contenido de ácidos grasos saturados aumenta el contenido de la susceptibilidad a la oxidación, por ello el interés en encontrar nuevas fuentes alimenticias ricas en ácidos grasos insaturados.⁵ El análisis de los lípidos en muestras vegetales es bastante complicado debido al alto grado de complejidad y gran variedad de sus componentes, sin embargo estas características los hacen interesantes objetos de estudio debido a la gran riqueza de compuestos tales como ácidos grasos insaturados, terpenos, fenoles, entre otros.⁶ La gran mayoría de las fuentes vegetales explotadas comercialmente son las semillas oleaginosas ya que los ácidos grasos, compuestos predominantes en la composición de los aceites comestibles de estos aceites son de gran importancia para cubrir gran parte de las funciones y requerimientos nutricionales de los seres humanos.⁷

Veracruz es uno de los estados de nuestro país que cuenta con una extensa variedad en especies vegetales, y de toda esa riqueza existen especies cuyo contenido de ácidos grasos, particularmente en las semillas no han sido estudiados y que pudiera ser una fuente importante de ácidos grasos insaturados. Por lo que el objetivo del presente trabajo fue analizar el perfil de ácidos grasos de la fracción hexánica de algunas semillas de plantas nativas del estado de Veracruz, algunas de ellas como *Litchi chinensis*, e *Inga jinicuil* pueden ser consideradas residuo agroindustrial ya que lo que se consume es la pulpa de los frutos. También se estudiaron especies como *Salvia hispanica* *Momordica charantia* y *Ensete ventricosum*. Algunas características encontradas en estas especies son:

Litchi chinensis es miembro de la familia *Sapindaceae*, es un fruto de exportación popular debido a su atractivo color y sabor exótico, de la semilla de este fruto cultivado en China fue aislado el ácido 3,12-dihidroxi-cis-3,4-metilendodecanoico 3-O-β-D-glucopiranosido., llamado litchioside C (1), con potente actividad antioxidante.⁸

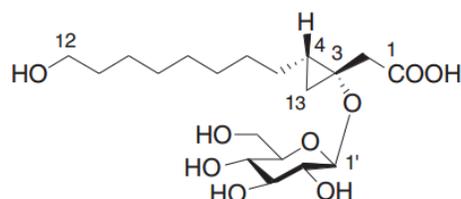


Figura 1. Estructura del ácido 3,12-dihidroxi-cis-3,4-metilendodecanoico 3-O-β-D-glucopiranosido.

Momordica charantia se encuentra dentro de la familia *Cucurbitaceae*, es una planta trepadora que crece en zonas tropicales, Sudamérica, el caribe, Africa y Asia. Se conoce comúnmente como calabaza amarga, los beneficios de esta planta que han sido documentados son amplios desde propiedades antidiabéticas, antivirales, antihelmínticas, antimalárico y antimicrobiano.⁹

Ensete ventricosum es miembro de la familia *Musaceae* cultivado ampliamente en países como Etiopía, se ha reportado la presencia de un grupo de tres fenil fenalenonas, de las cuales se han descrito propiedades antitumorales, antibacterianas, antifúngicas y nematocidas asociadas.¹⁰

Inga jinicuil pertenece a la familia *Mimosoideae*, su cultivo se extiende por México. Ecuador y Guatemala, conocida como algodoncillo, el fruto es comestible.¹¹

Salvia hispanica es una planta herbácea anual perteneciente a la familia *Lamiaceae*, originaria del sur de México y norte de Guatemala, comúnmente es nombrada chia, el aceite de esta semilla contiene la mayor cantidad de omega-3 (ácido linoleico) que cualquier otra fuente conocida, numerosos estudios demuestran que el consumo regular de alimentos con cadena larga de ácidos grasos poliinsaturados previene enfermedades cardiovasculares e inflamatorias.¹²

PARTE EXPERIMENTAL

El material vegetal estudiado fue recolectado en diversas regiones del estado de Veracruz, despulpado, pesado, secado a la sombra o liofilizado y molido, para posteriormente ser sometido a un proceso de maceración en frío con *n*-hexano en agitación durante un día, el solvente fue filtrado y se procedió a obtener el extracto eliminando el solvente a presión reducida con un rota-evaporador (BUCHI®, R-3), el solvente recuperado se agregó nuevamente al material vegetal para

maximizar el rendimiento, el procedimiento se repitió cuatro veces.. Se evaporó el disolvente hasta sequedad y las fracciones fueron pesadas.

Posteriormente 100 mg de cada fracción (por duplicado) fue sometida a metilación con trifluoruro de boro (BF₃), a 70-80 °C en baño María durante 30 minutos, enfriado a temperatura ambiente, y posteriormente fue agregado 1 mL de *n*-hexano grado HPLC para separar los metil ésteres, esta fracción hexánica fue separada por centrifugación (3500 rpm, 5 minutos) la capa superior de ésteres metílicos, se analizó por cromatografía de gases (Hewlett Packard Modelo 61800B, sistema de GCD con columna capilar Carbo-Wax (30 m x 0,25 mm x 0,25 m)), y espectrometría de masas (Agilent Technologies 5975 modelo XL inerte) . La temperatura inicial era 150 °C durante 5 min, aumentó a 210 °C a una velocidad de 30°C / min, a continuación se incrementó a 213 °C a una velocidad de 1 °C / min, finalmente se aumentó a 225 °C a una velocidad de 20 °C / min y se mantuvo durante 40 min. Se utilizó helio como gas portador, y los espectros de masas se obtuvieron por ionización por impacto electrónico a 70 eV. La identificación de los picos de cada ácido graso se realizó comparando los espectros con la biblioteca (HP-ChemStation NIST 05 del espectro de masas Versión del Programa de Investigación 2.0d) y con la (mezcla de FAME

estándar, C8: C22, 18920-1AMP, Sigma-Aldrich) se analizó en las mismas condiciones en la Unidad de servicios de apoyo en resolución analítica, Universidad Veracruzana, Xalapa. En la Tabla 1 se puede observar el perfil de ácidos grasos obtenido por el ensayo, en la Tabla 2 se compara la cantidad de ácidos grasos saturados, monosaturados, poliinsaturados, ciclos y terpenos en el perfil de ácidos grasos de cada una de las fracciones hexánicas de las muestras estudiadas.

Tabla 1. Perfil de ácidos grasos de la fracción hexánica de semillas nativas del estado de Veracruz.

	<i>Litchi chinensis</i>	<i>Ensete ventricosum</i>	<i>Salvia hispanica</i>	<i>Momordica charantia</i>	<i>Inga jinicuil</i>
C15H22 ((-)-Ar-Curcumeno)	1.510 ± 0.239				
C15H24 (Cedreno)	1.322 ± 0.688				
C15H24 (α-Muuroleno)	0.646 ± 0.267				
C15H24 (β-Himachaleno)	1.841 ± 1.210				
C8H8 (Cubeneno)	0.236 ± 0.059				
NI	1.351 ± 0.107			4.405 ± 2.807	
C15H24 (α-Elemeno)	0.223 ± 0.137				
C12:0					0.055 ± 0.007
C14:0	0.253 ± 0.015	0.216 ± 0.011			0.115 ± 0.007
C15:0	0.119 ± 0.018	0.236 ± 0.040			0.110 ± 0.000
C16:1 (7)	0.531 ± 0.058	1.412 ± 0.091			
C16:1 (9)	0.202 ± 0.058				
C16:0	16.797 ± 1.088	29.764 ± 0.196	5.920 ± 0.028	6.900 ± 0.269	28.720 ± 0.800
Ácido 2-hexil-ciclopantanoico	4.947 ± 0.444	0.666 ± 0.099			

C17:0	0.237 ± 0.020				
C18:2 (9,12)	7.984 ± 0.541	9.049 ± 0.668	16.405 ± 0.064	3.305 ± 1.619	26.890 ± 0.403
C18:2 (9,12)		0.639 ± 0.168			
C18:3)			75.295 ± 0.163	0.410 ± 0.184	34.830 ± 0.127
C18:1, cis		48.115 ± 0.735		0.360 ± 0.014	
C18:1, trans		3.156 ± 0.059			
C18:1 (9)	26.361 ± 0.606			2.135 ± 0.191	1.820 ± 0.127
C18:3 (9,12,15)	3.523 ± 0.533			6.395 ± 5.989	
C18:0	3.517 ± 0.762	4.520 ± 0.028	2.385 ± 0.078	74.410 ± 3.932	4.760 ± 0.099
Ácido 2-octilciclopropaneocianoico	27.013 ± 2.191				
C20:1 (11)	0.166 ± 0.033				
C20:0	0.338 ± 0.077	1.165 ± 0.029		0.810 ± 0.028	0.435 ± 0.007
C21:0					0.090 ± 0.000
C22:0	0.326 ± 0.012	0.758 ± 0.042			0.425 ± 0.035
C23:0	0.142 ± 0.018				0.120 ± 0.000
C9H16O4 Ácido acealico		0.306 ± 0.031		0.880 ± 0.962	

^a Los datos son expresados en promedios ± desviación estándar. No identificado (NI)

Tabla 2. Distribución porcentual de ácidos grasos saturados (AGS) monoinsaturados (AGMS), poliinsaturados (AGPS), terpenos y ciclos en las muestras analizadas

Compuestos	<i>Litchi chinensis</i>	<i>Ensete ventricosum</i>	<i>Salvia hispanica</i>	<i>Momordica charantia</i>	<i>Inga jinicuil</i>
Terpenos	7.128				
AGS	21.727	36.963	5.920	86.525	35.067
AGMS	27.679	52.684		2.135	3.080
AGPS	11.507	9.569	94.085	3.715	61.720
Ciclos	31.960	0.800			

^a Los datos son expresados en promedios.

El perfil de ácidos grasos de las fracciones hexánicas obtenidas por el método de maceración en frío del material vegetal estudiado mostraron una gran variedad en su composición, las fracciones de *Litchi chinensis* y *Ensete ventricosum* mostraron mayor cantidad de AGMS, sin embargo *Litchi chinensis* cuenta con una cantidad relevante de ácidos grasos ciclopropanoicos y terpenos, *Ensete ventricosum* también posee este tipo de moléculas cíclicas pero en una proporción menor, de acuerdo a lo reportado en la literatura, *Salvia hispanica* contiene una cantidad importante de AGPS, asimismo *Inga jinicuil* posee un porcentaje interesante de AGPS, en cambio *Momordica charantia* no mostró una cantidad significativa de AGMS y AGPS.

CONCLUSIONES

La importancia del tipo de ácido graso que se ingiere en la dieta hace relevante la búsqueda de nuevas fuentes de ácidos grasos de potencial aplicación nutraceútica. El primer paso para la evaluación de esta potencial aplicación, es la caracterización del perfil. Los perfiles de ácidos grasos de semillas de plantas nativas del estado de Veracruz poseen ácidos grasos esenciales, no esenciales y otros con características estructurales que los hacen candidatos de estudio en modelos murinos para conocer su efecto en el metabolismo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Evans A. G, "Perspectiva on the development of high-toughness ceramics", J. Am. Ceram. Soc., Vol. 73, 2, 1990, pp. 187-206.
2. Kreis T, "Speckle Metrology," in *Holographic Interferometry* (Akademie Verlag Inc., New York, NY, 1996), Chapter 4, pp. 125-149.
3. Sirolia L, Patragnani F, Gardini F, Lanciotti R, "Effects of sub-lethal concentrations of thyme and oregano essential oils, carvacrol, thymol, citral and trans-2-hexenal on membrane fatty acid composition and volatile molecule profile of *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* and *Salmonella enteritidis*", Food Chem, Vol. 182, 2015, pp. 185–192.
4. Soares-Pessoa A. "Extraction of pequi (*Caryocar coriaceum*) pulp oil using subcritical propane: Determination of process yield and fatty acid profile", The Journal of Supercritical Fluids, Vol. 101, 2015, pp. 95-103.
5. Gallardo B, Manca M.G, Mantecón A.R, A. Nuddab, Mansoa T, "Effects of linseed oil and natural or synthetic vitamin E supplementation in lactating ewes' diets on meat fatty acid profile and lipid oxidation from their milk fed lambs", Meat Science, Vol. 102, 2015, pp. 79-89.
6. Villalobos Solis M. I, Patel A, Orsat V, Singh J, Lefsrud M, "Fatty acid profiling of the seed oils of some varieties of field peas (*Pisum sativum*) by RP-LC/ESI-MS/MS: Towards the development of an oilseed pea", Food Chemistry, Vol. 139, 2013, 986-993.
7. Sun X, Zhang L, Li P, Xu B, Ma F, Zhang Q, Zhang W, "Fatty acid profiles based adulteration detection for flaxseed oil by gas chromatography mass spectrometry", LWT - Food Science and Technology, 2015, pp. 1-7.
8. Xu X, Xie H, Xu, Wei X, "A novel cyclopropyl-containing fatty acid glucoside from the seeds of *Litchi chinensis*", Fitoterapia, Vol. 82, 2011, pp. 485-488.
9. Braca A, Siciliano T, D'Arrigo M, Germanó M. P, "Chemical composition and antimicrobial activity of *Momordica charantia* seed essential oil", Fitoterapia, Vol. 79, 2, 2008, pp. 123-125.
10. Hölscher D, Schneider B, "Phenylphenalenones from *Ensete ventricosum*", Phytochemistry, Vol. 49, 7, 1998, pp. 2155-2157.
11. Schltdl, Cham. "*MIMOSACEAE*", A General History of the Dichlamydeous Plants, Vol. 392, 2, 1832, pp. 165-166.
12. Da Silva Marineli R., "Chemical characterization and antioxidant potential of Chilean chia seeds and oil (*Salvia hispanica* L.)" LWT - Food Science and Technology, Vol. 59, 2, 2014, pp. 1304-1310.

CARACTERIZACIÓN DE UNA PELÍCULA COMESTIBLE A BASE DE SUERO DE LECHE, INULINA, GRENETINA Y GLICEROL

Selene E. Herrera-Vazquez^a, Octavio Dublán-García^a, Leticia X. López-Martínez^a, Leobardo Manuel Gómez-Olivan^a

^aUniversidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Química, Departamento de Alimentos, qaselheva@hotmail.com

RESUMEN

En la actualidad, los biopolímeros (proteínas, carbohidratos y lípidos) son ampliamente usados en la elaboración de películas y recubrimientos comestibles para aumentar la vida útil de los alimentos, mantener su calidad o mejorar sus características nutricionales y sensoriales. Se caracterizaron películas comestibles (PC), conformadas por suero de leche (7-13%), inulina (4%), grenetina (3-6%) y glicerol (3-9%), utilizando un modelo de superficie de respuesta Box-Behnken, a las cuales se les evaluó pH, espesor, hinchamiento, solubilidad, color (L, C y h*) y textura (resistencia a la ruptura, módulo de Young y elasticidad). Se obtuvieron PC de 5 cm de diámetro y de 9.5- 14.3µm de espesor, el cual se incrementó con el contenido de glicerol y grenetina, mientras que el pH se encontró en un intervalo de 6.1 a 6.4. La adición de suero de leche aumentó la capacidad de hinchamiento y solubilidad de las películas de 87.6 a 120.9% y de 19.7 a 29.8% (p<0.05), respectivamente, lo cual puede estar asociado al carácter hidrofílico de las proteínas. Las películas presentaron un color con tendencia al amarillo claro entre 95.3 y 96.5° Hue, valores de L de 84.3 a 96.5 y una cromaticidad de 6.0 a 9.3 que varió con la cantidad de suero de leche. En la prueba de textura, se observó que a medida que el glicerol se incrementó, la elasticidad aumentó, mientras que la resistencia a la ruptura disminuyó. Esto debido a las propiedades plastificantes del glicerol que permite que las películas se han más flexibles en concentraciones bajas y quebradizas en concentraciones altas. Este estudio contribuye a la optimización del funcionamiento de PC basado en propiedades fisicoquímicas que permitan la elaboración de empaques biodegradables, de acuerdo a las necesidades de cada alimento, a partir de materiales aceptados y consumidos por la población.

INTRODUCCIÓN

Con el paso del tiempo la creciente demanda de alimentos frescos como las frutas y verduras han llevado a la búsqueda de nueva tecnologías que contribuyan a conservar sus propiedades iniciales por mayor tiempo. Como alternativa han surgido las películas (PC) y recubrimientos comestibles (RC), que se define como la capa delgada de material aplicado en la superficie o entre los componentes de un alimento con el propósito de generar una barrera semipermeable a gases, vapor de agua y compuestos volátiles, para extender su vida útil (Bourbon *et al.*, 2011).

Los materiales para la elaboración de las PC son de origen biológico y puede ser divididos en tres categorías: hidrocoloides, lípidos, y compositos. Los hidrocoloides incluyen a las proteínas y los carbonhidratos; estos presentan buenas barreras contra el O₂ y CO₂, mejoran las propiedades mecánicas y retardan la migración de aceites, grasas y solutos, sin embargo tienen una alta permeabilidad a la humedad y al vapor de agua. Entre ellos están las proteínas de soya, zeína de maíz, gluten de trigo, colágeno, caseínas, albúminas y proteínas de suero de leche y pescado, almidón, alginato, pectina, quitosano, mucílago, carragenatos y carboximetilcelulosa). Los lípidos muestran una baja permeabilidad a la humedad, proporcionan y mejoran el brillo de los alimentos,

son buenos soportes para aditivos liposolubles, retienen compuestos volátiles pero forman películas frágiles como las ceras: de abeja, parafina, candelilla y carnauba; aceites: ácidos grasos y acilglicéridos; y resinas: terpeno y shellac. Los compositos son aquellos que contienen ambos compuestos hidrocoloides y lípidos, con la finalidad de mejorar las propiedades de estos al combinar las ventajas de cada uno (Donhowe y Fennema, 2002; Chiralt et al., 2012; y Viroben et al., 2000).

Entre otras ventajas, las PC mejora las propiedades organolépticas, mecánicas y nutricionales de los alimentos, proveen protección individual, y contribuyen a la reducción de la contaminación ambiental por el uso de envases sintéticos no biodegradables al ser elaborados a partir de materiales eco-amigables, además de brindar la posibilidad de ser aplicados en una gran diversidad de alimentos como frutas, pescados, camarones, productos de confitería y alimentos procesados a base de carnes, leche o cereales (productos de panificación, botanas) y liofilizados.

Aunque el tema de PC y RC así como su aplicación han sido ampliamente estudiados, este trabajo de investigación contribuye a la optimización del funcionamiento de PC basado en propiedades fisicoquímicas que permitan la elaboración de empaques biodegradables, de acuerdo a las necesidades de cada alimento, a partir de materiales aceptados y consumidos por la población.

MATERIALES Y MÉTODO

Para la elaboración de las PC se utilizó grenetina (Duche, 290° Bloom), proteína aislada de suero de leche (Darigold Inc., Seattle, WA, USA, inulina (Frutafit IQ, VA Mexico SA CV) y Glicerol (J.T. Baker Analyzed™, ACS Mexico).

Elaboración de las películas

La disolución formadora de película (DFP) fue preparada siguiendo las concentraciones establecidas en el diseño de superficie de respuesta Box- Behnken (Tabla 1). Se aplicó la técnica referida por García- Argueta *et al.* (2013). Se emplearon 100ml de agua estéril destilada a 70°C y se adicionaron uno a uno en agitación magnética constante cada uno de los componentes hasta lograr su completa disolución. El orden de los componentes fue grenetina, proteína aislada de suero lácteo, inulina y glicerol. Se colocaron 5 mL de DFP a 40°C en cajas Petri de 5cm de diámetro y se secaron en una cámara (Lumistell) a 30°C por 48 horas. Previo a los análisis, las películas obtenidas se acondicionaron en la misma cámara a una humedad relativa del 50% a 20± 2°C por 24 h.

Caracterización de las películas

pH

Se empleó el método ASTM D 1293-84 (ASTM D 1293-84, 1990), utilizando un potenciómetro pHep® modelo HI 98107 (Hanna). El análisis se realizó a 25°C por triplicado.

Espesor

El espesor de las PC se midió con un micrómetro mecánico de mano (Central Tool CO. Crasnston, R.I., USA). Las mediciones se llevaron a cabo en 5 posiciones aleatorias de la película y se calculó la media, el resultado se expresó en µm.

Hinchamiento

El grado de hinchamiento (*GH*) o capacidad de absorción de agua de las películas se determinó como se describe en la norma ASTM D5229, con algunas modificaciones. Las muestras de película se secaron durante 48h a 40°C para obtener un peso constante y posteriormente se pesó. La película fue entonces puesta en 18mL de agua destilada durante 24 h a temperatura ambiente, después fueron secadas sobre papel absorbente para eliminar el exceso de agua y se pesaron nuevamente. Se calculó el *GH* mediante la ecuación (1):

Donde w_2 es el peso húmedo y w_1 es el peso seco de las películas.

Tabla 1. Composición de la PC de acuerdo al diseño de superficie de respuesta Box- Behnken.

Fórmula	Valores codificados			Valores reales			
	Factor A	Factor B	Factor C	% Suero de leche	% Grenetina	% Glicerol	% Inulina
1	0	-1	-1	10	3	3	4
2	1	1	0	13	6	6	4
3	0	0	0	10	4.5	6	4
4	1	0	1	13	4.5	9	4
5	-1	-1	0	7	3	6	4
6	-1	0	1	7	4.5	9	4
7	0	0	0	10	4.5	6	4
8	1	0	-1	13	4.5	3	4
9	0	1	1	10	6	9	4
10	-1	0	-1	7	4.5	3	4
11	0	-1	1	10	3	9	4
12	1	-1	0	13	3	6	4
13	0	0	0	10	4.5	6	4
14	0	1	-1	10	6	3	4
15	-1	1	0	7	6	6	4

-1= nivel mínimo del componente; 1= nivel máximo del componente; 0= nivel medio del componente.

Solubilidad

Se utilizó la metodología propuesta por Wang et al. (2007) con algunas modificaciones. Muestras de película de 3 cm de diámetro fueron secadas en una estufa a 100°C por 24h, con la finalidad de obtener un peso constante. Después cada muestra fue inmersa en 18 mL de agua destilada por 24h. Posteriormente el agua fue removida de las películas por el método de decantación y estas a su vez fueron secadas nuevamente a 100°C por 24 h. La solubilidad fue calculada mediante la ecuación (2)

$$\text{Solubilidad} = \frac{\text{peso}_{18\text{ mL}}^{\text{inicial}} - \text{peso}_{18\text{ mL}}^{\text{final}}}{\text{peso}_{18\text{ mL}}^{\text{inicial}}} \times 100 \quad (\text{Ecuación 2})$$

Colorimetría

El color de la película se determinó con un colorímetro marca Konica Minolta (modelo CR-400 Chroma Meter, Sesing, Inc., Japan), con placa de calibración número 126633047 y estándares de L=97.3, a=0.17, b= 1.9. Se utilizó una escala de color L*C*h* donde L* (luminosidad) tiene valores de 0% = negro a 100% = blanco; C* (cromaticidad) es la intensidad del color y h* representa el ángulo en una rueda de color de 360°, en la que 0°, 90°, 180° y 270° representan el rojo- púrpura, amarillo, verde azulado y azul, respectivamente.

2.2.6. Propiedades mecánicas de las Películas Comestibles

Las propiedades de textura se estudiaron utilizando un Texturómetro modelo TA-XT2 (Texture Analyser, Stable Micro Systems, Texture Technologies, Corp.). La resistencia a la ruptura (RR), módulo de Young (MY) y elasticidad (E) se determinaron de acuerdo con la metodología descrita por García- Argueta *et al.* (2013). El análisis se realizó por quintuplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvieron películas de las 15 formulaciones del diseño de superficie de respuesta de Box Behnken las cuales de acuerdo a su composición mostraron diferentes propiedades fisicoquímicas, de color y de textura que definen las propiedades funcionales de la película. Los resultados se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Propiedades fisicoquímicas, color y textura de las diferentes formulaciones de películas.

PC	pH	Espesor (µm)	GH (%)	%S	L	C	h	RR(N)	E (mm)
1	6.1 ^a	9.5±0.1 ^a	104.5±1.8 ^{bcdde}	23.7±0.3 ^c	87.6±0.6 ^b	6.9±0.1 ^{bc}	95.7±0.6 ^a	19.6±1.2 ^e	15.3±0.1 ^a
2	6.1 ^a	14.3±0.1 ^g	120.9±2.0 ^g	26.0±0.2 ^{ef}	89.0±0.4 ^{cdde}	8.4±0.1 ^e	96.5±0.4 ^b	32.2±1.1 ^f	21.2±0.4 ^d
3	6.1 ^a	12.7±0.1 ^f	114.0±13.9 ^{dfg}	25.0±0.2 ^d	89.8±0.1 ^{defg}	7.6±0.1 ^d	96.3±0.1 ^b	21.1±2.7 ^e	23.1±0.8 ^{ef}
4	6.2 ^b	14.3±0.5 ^g	112.7±5.3 ^{dfg}	27.1±0.4 ^g	86.8±0.4 ^b	8.3±0.1 ^e	95.7±0.1 ^a	13.1±0.7 ^c	20.7±0.2 ^d
5	6.3 ^c	12.6±0.2 ^{ef}	89.8±9.5 ^{ab}	26.6±0.7 ^{fg}	90.9±0.5 ^{gh}	6.2±0.2 ^a	96.5±0.4 ^b	10.1±0.5 ^b	23.3±0.5 ^{efg}
6	6.2 ^b	12.0±0.2 ^{cde}	87.6±4.3 ^a	24.8±0.5 ^d	91.2±0.2 ^h	6.1±0.2 ^a	96.4±0.5 ^b	10.9±0.5 ^{bc}	22.8±0.1 ^e
7	6.1 ^a	12.3±0.2 ^{def}	112.1±7.6 ^{dfg}	24.9±0.6 ^d	88.8±1.7 ^{cd}	7.1±0.2 ^c	96.4±0.4 ^b	20.7±1.5 ^e	23.4±0.4 ^{efg}
8	6.1 ^a	11.6±0.2 ^{bc}	116.3±5.3 ^{dfg}	25.6±0.3 ^{de}	88.7±0.4 ^c	8.2±0.1 ^e	96.4±0.1 ^b	37.3 ±2.8 ^g	18.3±0.7 ^b
9	6.3 ^c	14.3±0.3 ^g	112.9±3.2 ^{dfg}	27.0±0.1 ^g	90.3±0.2 ^{gh}	7.6±0.2 ^d	96.5±0.1 ^b	15.9±0.9 ^d	23.6±0.5 ^{fgh}
10	6.4 ^d	9.6±0.5 ^a	104.9±5.6 ^{cdde}	19.7±0.8 ^a	90.6±0.3 ^{gh}	6.3±0.1 ^a	95.3±0.4 ^a	56.5±2.8 ^h	19.4±0.3 ^c
11	6.3 ^c	11.4±0.6 ^b	93.1±8.2 ^{abc}	29.8±0.5 ^h	90.6±0.2 ^{fgh}	6.9±0.2 ^{bc}	95.6±0.1 ^a	5.7±0.1 ^a	24.3±0.4 ^h
12	6.2 ^b	12.5±0.3 ^{ef}	101.7±11.9 ^{abcd}	29.3±0.3 ^h	84.3±0.4 ^a	9.3±0.2 ^f	95.7±0.3 ^a	6.6±0.1 ^a	19.2±0.1 ^c
13	6.1 ^a	12.6±0.2 ^f	113.0±2.5 ^{dfg}	25.2±0.2 ^{de}	89.6±0.6 ^{cdef}	7.1±0.1 ^c	95.6±0.2 ^a	20.4±0.7 ^e	23.8±0.5 ^{fgh}
14	6.3 ^c	11.8±0.1 ^{bcd}	117.6±9.8 ^g	21.5±0.2 ^b	89.9±0.3 ^{efg}	7.7±0.2 ^d	95.8±0.2 ^{ab}	59.1±3.8 ^h	18.7±0.2 ^{bc}
15	6.4 ^d	12.7±0.4 ^f	94.6±2.1 ^{abc}	21.4±0.3 ^b	90.6±0.3 ^{gh}	6.6±0.1 ^b	95.5±0.3 ^a	32.7±0.9 ^f	23.9±0.6 ^g

El pH de la DFP se incrementó de 6.1 a 6.4 a medida que la concentración de suero de leche disminuyó, debido a que éste componente es ácido lo cual hace que el pH de la disolución descienda. Por otro lado el pH de las DFP se encuentra alejado del punto isoeléctrico de las proteínas, lo que permitió que las proteínas se desplegaran y formaran una matriz proteica estable en conjunto con el resto de los componentes.

En el caso de las PC se obtuvieron muestras de 9.5 a 14.3µm de espesor, el cual se incrementó con la concentración de los componentes, siendo mayor el efecto con el contenido de glicerol, seguido por el de grenetina, y en menor relación con la cantidad de suero de leche, por lo tanto existe una relación directa entre la cantidad de glicerol y el espesor de las películas. Esto se puede deber a la estructura del glicerol que permite su interacción con el resto de los componentes por medio de puentes de hidrógeno reduciendo de esta manera el entrecruzamiento entre las proteínas para crear una red proteica menos compacta. La medición del espesor es importante ya que afecta las propiedades mecánicas y de barrera de las películas.

El hinchamiento de las películas fue diferente ($p < 0.05$) para cada una de las formulaciones, se observó que las altas concentraciones de suero de leche (13%) y grenetina (6%) permitieron un mayor GH de las películas debido a la capacidad de las proteínas para absorber y retener agua dentro de la red que forman por las interacciones proteína- agua, mientras que con el glicerol ocurrió un efecto contrario, el aumento en la cantidad de glicerol de 3 a 9% disminuyó la capacidad de retención de agua de las películas de 120.9% a 87.6%. Dicho comportamiento se debe a que el glicerol interactuó con las proteínas y redujo la superficie de contacto de las proteínas con el agua. Este parámetro nos dice cuánta agua pueden absorber las películas del ambiente o del alimento que recubren.

La solubilidad involucra la penetración de las moléculas de agua en la matriz polimérica, esto es seguido por la ruptura de las fuerzas de Van der Waals entre las cadenas poliméricas (Turhan y Sahbaz, 2004). De acuerdo con los resultados, el contenido de glicerol tuvo un mayor efecto en la solubilidad de las películas, debido a que es una molécula hidrófila, por lo que a mayor concentración de glicerol, la solubilidad de las películas se favoreció de 19.7 a 29.8%.

Las propiedades ópticas de la PC son importantes para la aceptación del producto por parte del consumidor. Las películas exhibieron un color amarillo claro, el cual se refleja en los valores de °Hue entre 95.3 y 96.5°. La cromaticidad y la luminosidad se incrementaron con la concentración de suero

de leche, obteniéndose valores de 6.0 a 9.3 y de 84.3 a 96.5, respectivamente. Esto se debe a que el suero de leche tiene una coloración amarillo claro confiriéndole así el color a las películas.

En la determinación de las propiedades mecánicas de la PC, la resistencia a la ruptura de las películas disminuyó de 59.6 a 5.7N a medida que la concentración del glicerol aumentó, mientras que la elasticidad se incrementó. Esto debido a la disminución de las interacciones proteína-proteína, lo que favoreció un incremento en la movilidad de las cadenas poliméricas (Sobral *et al.*, 2005). Sin embargo, el aumento en el contenido de grenetina mejoró la resistencia de las películas al aumentar entrecruzamiento proteico.

CONCLUSIONES

Se desarrollaron películas comestibles estables a base de suero de leche, inulina, grenetina y glicerol las cuales de acuerdo a su composición mostraron diferentes propiedades fisicoquímicas y mecánicas. Al incrementar la concentración del glicerol mejoró la elasticidad y se favoreció la solubilidad en el agua de las películas, pero disminuyó su capacidad de retención de agua. El aumento del espesor fue relacionado con la disminución de la solubilidad de las películas. Finalmente, las películas pueden ser utilizadas como empaques biodegradables para extender la vida útil de alimentos.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. I. Bourbon, A. C. Pinheiro, M. A. Cerqueira, C. Rocha, M. C. Avides, M. Quintas and A. A. Vicente, "Physico-chemical characterization of chitosan-based edible films incorporating bioactive compounds of different molecular weight" *J. Food Eng.*, 106, 201, pp. 111–118.
1. A. Chiralt, M. Fabra y L. Sánchez. "Propiedades de los recubrimientos comestibles" en *Películas y recubrimientos comestibles* (Clave Editorial, México, 2012) Olivas G., González G., Martín O. & Soliva R, Capítulo 1, pp. 21-57.
2. G. Donhowe and O. Fennema, Edible films and coating: Characteristics, formation, definitions, and testing methods. In: *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality* (Technomic Lancaster, PA, USA, 2002), Capítulo 1, pp. 1-24.
3. I. García- Argueta, O. Dublán- García, B. Quintero- Salazar, A. Dominguez- López, L. M. Gómez- Oliván and S. Abdel-Fattah, "Effect of lactic acid bacteria on textural properties of an edible film based on whey, inulin and gelatin", *Afr. J. Biotechnol.*, Vol. 12 (19), 2013, pp. 2659-2669.
1. P. Sobral, J. Dos Santos and F. García, "Effect of protein and plasticizer concentrations in film forming solutions on physical properties of edible films based on muscle proteins of a Thai Tilapia", *J. Food Eng.*, Vol. 70, 1, 2005, pp. 93-100.
2. K. Turhan and F. Sahbaz, "Water vapour permeability, tensile properties and solubility of methylcellulose based edible films", *J. Food Eng.*, Vol. 61, 3, 2004, pp. 459-466.
3. G. Viroben, et al., "Preparation and characterization of films from pea protein". *J. Agric. Food Chem.*, (48), 2000, pp.1064-1069.
4. L. Wang, L. Liu, J. Holmes, J. Kerry and J. Kerry, "Assessment of film forming potential and properties of protein and polysaccharide- based biopolymer films", *J. Food Sci. Technol.*, (42), 2007, pp. 1128-1138.

ANÁLISIS DE LA FASE RÁPIDA DE LA FLUORESCENCIA DE MICROALGAS *CHLAMYDOMONAS REINHARDTII*.

Hugo E. Lazcano Hernández ^a, Gabriela Aguilar ^b, Gloria V. Vázquez García ^a, Rodrigo Patiño ^b.

^a Centro de Investigaciones en Óptica, 37150, León, Gto. México. hugoelh@cio.mx

^b Cinvestav – Unidad Mérida, Departamento de Física Aplicada. Carretera antigua a Progreso km 6, Apdo. Postal 73, Cordemex, 97310, Mérida, Yuc., México.

RESUMEN

Se discuten mediciones de la primera emisión de fluorescencia de *Chlamydomonas reinhardtii* (entre 20 y 300 μ s), a longitudes de onda de 685 y 740 nm; las cuales corresponden a los dos picos de emisión de fluorescencia de la clorofila. Para estimular la fluorescencia se utilizó radiación láser a 640nm; para pulsar el haz, se utilizó un interruptor óptico (Stanford SR540); para amplificar la señal, se utilizó un monocromador y un fotomultiplicador (Princeton); finalmente, para su visualización y análisis, la señal obtenida se envió a un osciloscopio (Tektronix DPO3032).

Esta investigación propone una técnica alternativa y económica, para medir la fase rápida de la fluorescencia en microalgas. Los resultados obtenidos indican que la fluorescencia a 685 nm presenta mayor intensidad respecto a la que ocurre a 740 nm, lo cual, es consistente con la literatura.

INTRODUCCIÓN

La fotosíntesis es un mecanismo bio-fotónico, mediante el cual las plantas verdes, cianobacterias y algas, utilizan una fracción de la energía solar, para producir sus propios alimentos. Este proceso es la base de la vida en la Tierra. La fotosíntesis se produce al interior del cloroplasto, que es donde se encuentran los pigmentos fotosintéticos (clorofila a, clorofila b, o carotenoides), los cuales absorben la luz y la utilizan como energía para diversas reacciones fotosintéticas. El resultado neto de la fotosíntesis es la producción de hidratos de carbono, liberando oxígeno molecular a la atmósfera. Las moléculas de Clorofila (Chl) se organizan en dos grupos de pigmentos: Fotosistema I (PSI) y Fotosistema II (PSII), ambos ubicados en las membranas del tilacoide pero separados uno del otro (García 2006). Cada fotosistema contiene dos tipos de moléculas: las denominadas “antena”, las cuales son captadoras de luz (LHC por sus siglas en inglés) y los centros de reacción. Los fotosistemas difieren entre sí en sus proporciones de Chl a y Chl b, en las características de los centros de reacción, y en los procesos de transporte de electrones. En el PSI, al centro reactivo se le llama P700 y está formado por dos moléculas de Chl a. En el PSII el centro reactivo se llama P680, y también está formado por dos moléculas de Chl a. La nomenclatura se asocia con la longitud de onda de máxima absorción para cada PS (Gouveia-Neto 2011).

La función principal de las moléculas “antena”, es transferir la energía de excitación a los centros de reacción fotosintéticos. Una parte de la energía de la luz absorbida se disipa en forma de calor o se reemite como fluorescencia (Narayan 2012). Es decir, la molécula de Chl tiene básicamente tres opciones para disipar la energía luminosa que absorbe: (i) que se utilice para conducir las reacciones fotoquímicas (fotosíntesis), (ii) que se disipe como calor (térmica de-excitación), o (iii) que sea reemitida como luz (fluorescencia). Estos procesos se producen en “competencia”, de forma que cualquier aumento en la eficiencia de uno resultará en una disminución en el rendimiento de los otros dos. Por lo tanto, midiendo el rendimiento de la fluorescencia, podemos tener información sobre los cambios en la eficiencia de la fotoquímica y en la disipación de calor (Maxwell 2000, Krause 1984).

A temperatura ambiente (25°C), la fluorescencia de suspensiones de membranas tilacoidales o de cloroplastos aislados, presenta dos máximos, el mayor alrededor de 685 nm y el menor aproximadamente a 740 nm (Krause 1991). La fluorescencia en torno a 685 nm se atribuye a los

complejos antena del PSII y la fluorescencia alrededor de 740 nm a la antena del PSI (Gouveia-Neto 2011). A bajas concentraciones de Chl, las emisiones de fluorescencia aumentan con el incremento de la cantidad Chl. En concentraciones más altas, el aumento de la fluorescencia con el incremento de la cantidad de Chl se detecta principalmente en torno a 740 nm. Para los cultivos *in vivo*, a altas concentraciones, la emisión de fluorescencia a 740 nm se ve favorecida con el incremento de organismos, mientras que la fluorescencia a 685 nm no. Esto se debe a los siguientes factores: (i) re-absorción de fotones provenientes de la fluorescencia por moléculas vecinas, (ii) la interferencia de la luz y (iii) el incremento constante de Chl, pues las nuevas moléculas absorben preferentemente la energía a 685 nm (Gouveia-Neto 2011).

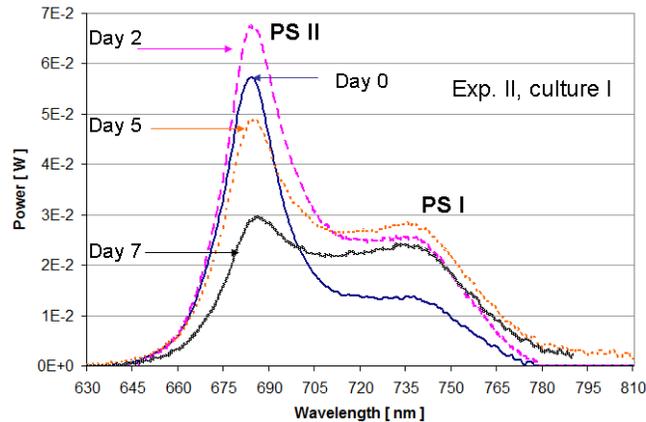


Figura 1. Evolución de la fluorescencia de un cultivo de *C. Reinhardtii*, a temperatura ambiente.

La medida simultánea de Chl fluorescencia a 685 nm (F685) y en 740 nm (F740), permite una determinación aproximada del contenido Chl, de una manera no destructiva usando el cociente: F685 / F740. La cantidad de Chl del cultivo, se puede emplear para estimar el estado fisiológico de los organismos, como va el proceso de desarrollo, el estado de salud y también para detectar enfermedades o deficiencia de nutrientes (Gouveia-Neto 2011, Hak 1990).

En los cultivos maduros de microalgas, la estructura del cloroplasto, la tasa de absorción de CO₂, el metabolismo del carbono, etc., son mejores que en las células más jóvenes. Valores altos de F685 / F740, indica cultivos jóvenes o cultivos con un aparato fotosintético aún no totalmente desarrollado. Los valores bajos indican cultivos maduros con aparato fotosintético completamente desarrollados. En otras palabras, el decremento en el valor F685 / F740 es indicativo de aumento de la actividad fotosintética.

Medido a través de la inducción de fluorescencia, F685 / F740 exhibe una relación curvilínea de la concentración de células (x), que se puede expresar con la Ecuación 1, donde c y d son constantes (HAK 1990):

$$\frac{F 685}{F 740} = c x^{-d} \quad (1)$$

Esta técnica es aplicable a todo tipo de hojas, suspensiones de cloroplastos y extractos de acetona de los pigmentos fotosintéticos. En este trabajo, se demuestra que esta técnica también es aplicable a cultivos de microalgas.

MATERIALES Y METODOS

Las microalgas *C. reinhardtii* (CC-124) se adquirieron el Chlamydomonas Source Center (EE.UU.). Posteriormente se crecieron cultivos en el medio Sueoka (Sueoka 1960). Los experimentos se realizaron usando tres frascos de cultivo planos del tipo Roux 1-L. Cada uno con 0,9 L de cultivo de algas, con burbujeo continuo de aire (1 L / min), bajo condiciones controladas de temperatura (298

$\pm 2K$). Los cultivos se iluminaron de forma continua con dos lámparas fluorescentes (Philips F20T12 / D 20W). En la figura 2, se muestra una fotografía de la microalgas con las que trabajamos.

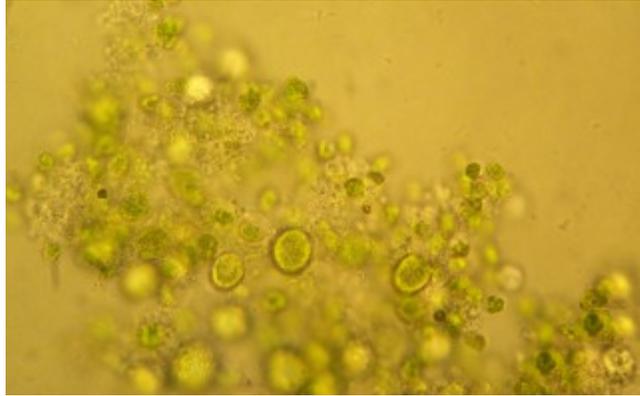


Figura 2. Microalgas *C. reinhardtii* (CC-124)

Para el análisis de la fluorescencia rápida, se implementó el siguiente experimento. Para estimular la fluorescencia se utilizó un láser a 640nm; para pulsar el haz, se utilizó un interruptor óptico (Stanford SR540); para amplificar la señal, se utilizó un monocromador y un fotomultiplicador (Princeton); finalmente, para su análisis, la señal obtenida se envió a un osciloscopio (Tektronix DPO3032). Para el análisis de la fluorescencia se utilizaron muestras de 3 mL.

RESULTADOS

El experimento se inició con una concentración media de microalgas de $33,9 \pm 0,8$ mg / L. Los resultados de la relación de intensidades de la fluorescencia a 685 nm respecto a la fluorescencia a 740 nm son consistentes con lo observado para mediciones de fluorescencia en su etapa estacionaria a temperatura ambiente. En la figura 3, se observan los resultados.

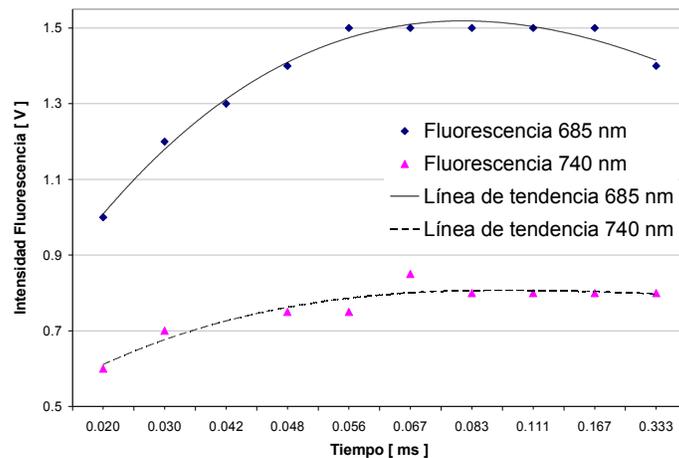


Figura 3. Fluorescencia en función del tiempo para 685 nm y 740 nm.

En la figura 4, se observa que el cociente F_{685}/F_{740} a partir de los 0.07 ms empieza a disminuir, lo que indica que probablemente es en este momento cuando inicia a madurar el sistema fotosintético.

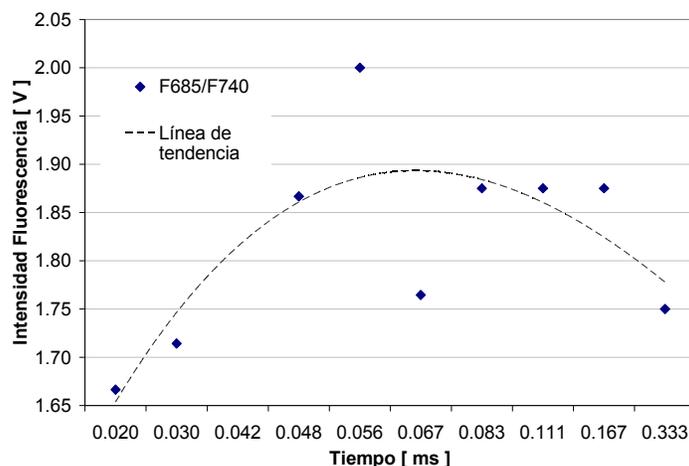


Figura 4. Cociente F685/F740.

CONCLUSIONES

Al igual que en la fluorescencia en el estado estacionario, la *C. reinhardtii* presenta fluorescencia a 685 nm y a 740 nm. La relación de intensidades de la fluorescencia en ambas longitudes de onda, es consistente con lo observado a temperatura ambiente. A pesar de que es un tiempo muy corto de observación, el cociente F685/F740 a partir de los 0.07 ms empieza a disminuir, lo que indica que, probablemente es en este momento cuando inicia a madurar el sistema fotosintético.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Allen** J.F., (1992). "How does phosphorylation regulate photosynthesis?". Trends in Biochemical Sciences. 0968-0004. Vol. 17, No. 1, Pp: 12-17.
2. **García** F.J., Roselló J., (2006). Santamaría M.P.. "La Fotosíntesis". In: F.J. García, editor. *Introducción al Funcionamiento de las Plantas*. Editorial de la Universidad Politécnica de Valencia. ISBN: 84-9705-944. Valencia, España. Chapter I. Pp. 9-42.
3. **Gorbunov** M.Y., Falkowski P.G., (2004). "Fluorescence induction and relaxation (FIRE) technique and instrumentation for monitoring photosynthetic processes and primary production in aquatic ecosystems". In: A. van der Est, D. Bruce, editor. *Photosynthesis: Fundamental Aspects to Global Perspectives*, Proc, 13th International Congress of Photosynthesis, Montreal, August 29–September 3, Allen Press, Springer. Pp. 1029-1031.
4. **Gouveia-Neto** A. S., Arcanjo da Silva E., Cunha P. C., Oliveira-Filho R. A., Silva L. M. H., da Costa E. B., Câmara T. J. R. and Willadino L. G.. (2011). "Abiotic Stress Diagnosis via Laser Induced Chlorophyll Fluorescence Analysis in Plants for Biofuel". In: M. A. dos Santos Bernardes, ISBN: 978-953-307-478-8, editor. *Biofuel Production-Recent Developments and Prospects*. University Campus STeP Ri Slavka Krautzeka 83/A 51000 Rijeka, Croatia. InTech. Chapter 1. Pp. 3-22.
5. **Hak** R., Lichtenthaler H.K., Rinderle U., (1990). "Decrease of the chlorophyll fluorescence ratio F690/F730 during greening and development of leaves". *Radiat. Environ. Biophysics*. 29:329-336.
6. **Krause** G. H., Weis E., (1984). "Chlorophyll fluorescence as a tool in plant physiology II. Interpretation of fluorescence signals". *Photosynth. Res*. 5: 139-157.
7. **Krause** G. H., Weis E., (1991). "Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The Basics". *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*42:313-49.
8. **Maxwell** K., Johnson G. N., (2000). "Chlorophyll fluorescence-a practical guide". *J. Exp. Bot.* Vol. 51, No. 345: 659-668.

9. **Narayan** A., Misra M., Singh R., (2012). "Chlorophyll Fluorescence in Plant Biology". In: A.N. Misra, editor. Biophysics. University Campus STeP Ri Slavka Krautzeka 83/A 51000 Rijeka, Croatia. ISBN 978-953-51-0376-9. Intech. Chapter 7. Pp: 171-192.
10. **Sueoka** N., (1960). "Miotic replication of deoxyribonucleic acid in *Chamydomonas reinhardtii*". Proc Natl Acad Sci. 46(1):83–91.

CONCENTRACIÓN DE AMINOÁCIDOS EN HOJAS E INFLORESCENCIAS DE CEMPASÚCHIL BAJO DIFERENTES NIVELES DE SOMBREADO

María Guadalupe Peralta-Sánchez^a, Libia Iris Trejo-Téllez^a, Fernando Carlos Gómez-Merino^b,
María de las Nieves Rodríguez-Mendoza^a, Miguel Ángel Serrato-Cruz^c y
J. Cruz García-Albarado^b

^aColegio de Postgraduados Campus Montecillo, mgperalta@colpos.mx; tlibia@colpos.mx; marinie@colpos.mx

^bCampus Córdoba, fernandg@colpos.mx; jcruz@colpos.mx;

^cUniversidad Autónoma Chapingo serratocruz@gmail.mx

RESUMEN

En esta investigación se evaluó el efecto de cuatro porcentajes de sombreado (0, 30, 50 y 70%) en la concentración de aminoácidos solubles totales en hojas e inflorescencias de cempasúchil (*Tagetes erecta* L.) var. Inca. El experimento se condujo en invernadero y se empleó como sustrato una mezcla de tezontle:perlita (60:40, v:v). Los tratamientos fueron distribuidos en un arreglo completamente al azar con 20 repeticiones por tratamiento. La unidad experimental estuvo constituida por un grupo de cuatro macetas con una planta cada una. En hojas, la mayor concentración de aminoácidos se registró en plantas sin sombreado, mientras que inflorescencias de plantas con sombreado del 50% presentaron la menor concentración de aminoácidos. En inflorescencias la menor concentración de aminoácidos se tuvo con el sombreado al 70%. Se concluye que la luminosidad afecta de manera diferencial la concentración de aminoácidos libres totales en hojas y flores de cempasúchil.

1. INTRODUCCIÓN

La luz es un factor importante para llevar a cabo los procesos fisiológicos en las plantas, siendo el más importante la fotosíntesis. Así también la luz es la fuente de energía para el ciclo de vida vegetal, desde la germinación, desarrollo de la plántula y la transición al desarrollo productivo (floración) (Caldari, 2007; Chen *et al.*, 2004; Jiao *et al.*, 2007). Muchos de esos procesos se ven influenciados por la irradiación que pueden afectar la supervivencia de la planta, el crecimiento, reproducción y distribución (Keller y Luetgge, 2005; Kumar *et al.*, 2011).

Para contrarrestar los efectos de altas luminosidad y temperatura, se usan mallas sombra negras en el cultivo protegido de plantas hortícolas (Ayala-Tafoya *et al.*, 2011). Si se considera que el calor es producido por la radiación infrarrojo cercano del espectro electromagnético o energía radiante del sol, una malla sombra ideal debería ser un filtro selectivo que detuviera esa radiación sin afectar la parte visible o útil para la fotosíntesis (Juárez-López *et al.*, 2011).

Debido a la poca o nula información sobre el efecto de la luminosidad en la producción de metabolitos primarios no ha sido estudiada en esta especie ornamental, el objetivo del presente estudio es evaluar la concentración de aminoácidos bajo diferentes niveles de sombreado en hojas e inflorescencias de la planta de cempasúchil (*Tagetes erecta* L.) var. Inca.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó bajo condiciones de invernadero. Plántulas de cempasúchil (*Tagetes erecta* Linn.) var. Inca fueron trasplantadas en macetas de plástico negras de 1 L de capacidad, conteniendo como sustrato una mezcla de tezontle: perlita (60:40, v:v).

Se evaluaron cuatro porcentajes de sombreado (0, 30, 50 y 70%). Después del trasplante, las plántulas fueron regadas con una solución nutritiva de Steiner al 30% (Steiner, 1984) complementada con micronutrientes a partir del producto comercial Tradecorp AZ™, en las concentraciones descritas por Trejo-Téllez *et al.* (2013). El pH de la solución nutritiva fue ajustado a 5.5.

El diseño experimental empleado fue completamente al azar, y cada uno de los tratamientos tuvo 20 repeticiones. La unidad experimental consistió en una maceta con una planta.

La determinación de aminoácidos libres fue en hojas y flores frescas mediante una triple extracción etanólica de acuerdo con Geiger *et al.* (1998). La concentración de aminoácidos libres se determinó empleando el método de ninhidrina (Moore y Stein, 1954), las muestras fueron leídas en espectrofotómetro (Spectronic 20, Bausch and Lomb) a una longitud de onda de 570 nm. Se utilizó leucina para la elaboración de la curva patrón.

Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente de acuerdo al diseño experimental empleado, usando análisis de varianza (ANOVA) del paquete estadístico SAS (SAS, 2011). Las medias se compararon con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este estudio también es evidente que los distintos niveles de sombreado tuvieron efectos opuestos en hojas y en inflorescencias (**Figuras 1 y 2**).

Sin sombreado y con un nivel de éste de 30% se tuvieron las mayores concentraciones foliares de aminoácidos; con el sombreado a nivel de 30, 50 y 70% la concentraciones de aminoácidos fueron inferiores al testigo en 97.89, 38.02 y 61.54%, respectivamente (**Figura 1**).

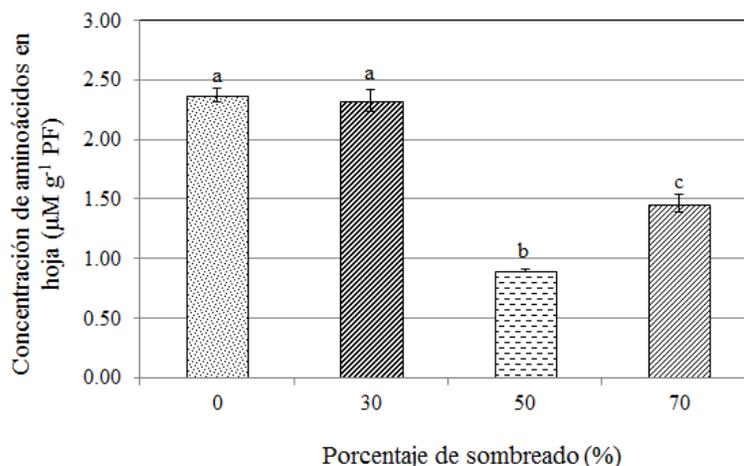


Figura 1. Aminoácidos libres totales en hojas de plantas de cempasúchil var. Inca, tratadas con diferentes porcentajes de sombreado en fase de floración. Medias \pm DE con letras distintas indican diferencias significativas (Tukey, $P \leq 0.05$) entre tratamientos. PF=peso fresco

Por otro lado, en flores, la concentración de aminoácidos libres totales fue significativamente superior en el tratamiento con sombreado de 50% (**Figura 2**).

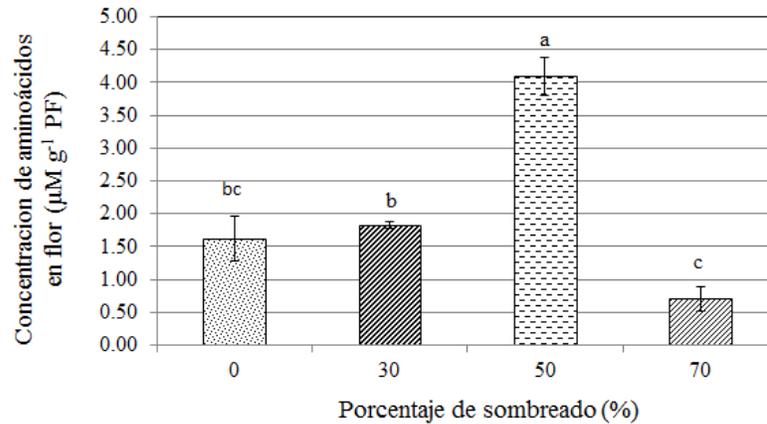


Figura 2. Aminoácidos libres totales en inflorescencias de plantas de cempasúchil var. Inca, tratadas con diferentes porcentajes de sombreado en fase de floración. Medias \pm DE con letras distintas indican diferencias significativas (Tukey, $P \leq 0.05$) entre tratamientos. PF=peso fresco

De manera similar a los resultados aquí obtenidos en hojas, Khaleafa *et al.* (1982) en el alga *Caulerpa prolifera* mencionan que a intensidades de luz bajas, los contenidos de aminoácidos libres fueron mayores en comparación con los conjugados a excepción de fenilalanina y leucina; caso contrario, a intensidades altas de luz los conjugados fueron mayores que los libres excepto arginina, glicina y tirosina.

Por otro lado, Durzan (2010) en abetos blancos tolerantes a la sombra que crecieron en 100, 45, 25 y 13% de luz natural durante cuatro años, se observó que la arginina contribuye a la latencia invernal y se incrementa con el sombreado.

4. CONCLUSIONES

Se concluye que la luminosidad afecta de manera diferencial la concentración de aminoácidos libres totales en hojas e inflorescencias, siendo mayor concentración en hojas en sombreados de 0 y 30%; mientras que en flores la mayor concentración fue en el sombreado de 50%.

BIBLIOGRAFÍA

1. J.P. Caldari, 2007. "Manejo de la luz en invernaderos. Los beneficios de luz de calidad en el cultivo de hortalizas", I Simposio Internacional de Invernaderos, México, pp. 1-15.
2. M. Chen, J. Chory and C. Fankhauser, "Light signal transduction in higher plants", *Annu. Rev. Genet.*, Vol. 38, 2004, pp. 87-117.
3. Y. Jiao, O.S. Lau and D.X. Wang, "Light-regulated transcriptional networks in higher plants" *Nature Reviews Genetics*, Vol. 8, 2007, pp. 217-230.
4. P. Keller and U. Luetge, "Photosynthetic light-use by three bromeliads originating from shaded sites (*Ananas ananassoides*, *Ananas comosus* cv. Panare) and exposed sites (*Pitcairnia pruinosa*) in the medium Orinoco basin, Venezuela", *Biol. Plant.*, Vol. 49, pp. 73-79.
5. R. Kumar, S. Sharma and B. Singh, "Influence of transplanting time on growth, essential oil yield and composition in clary sage (*Salvia sclarea* L.) plants grows under mid hills of north-western Himalayas", *J. Essen. Oil Bearing Pl.*, Vol. 14, 2011, pp. 260-265.
6. F. Ayala-Tafoya, D.M. Zatarain-López, M. Valenzuela-López, L. Partida-Ruvalcaba, T. de J. Velázquez-Alcaraz, T. Díaz-Valdés, J.A. Osuna-Sánchez, "Crecimiento y rendimiento de tomate en respuesta a la radiación transmitida por mallas sombra", *Terra Latinoamericana*, Vol. 29, 2011, pp. 403-410.
7. P. Juárez-López, R. Bugarín-Montoya, R. Castro-Brindis, A.L. Sánchez-Monteón, E. Cruz-Crespo, C.R. Juárez-Rosete, G. Alejo-Santiago, R. Balois-Morales, "Estructuras utilizadas en la agricultura protegida", *Revista Fuente* Vol. 3,8, 2011, pp. 21-27.
8. L.I. Trejo-Téllez, M.G. Peralta-Sánchez, F.C. Gómez-Merino, M.N. Rodríguez-Mendoza, M.A. Serrato-Cruz y A.E. Arévalo-Becerril, "Cloruro de sodio sobre biomasa seca y absorción de cationes macronutrientes en cempasúchil (*Tagetes erecta* Linn.)", *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, Vol. 5, 2013, pp. 979-990.
9. M. Geiger, P. Walch-Liu, C. Engels, J. Harnecker, E.D. Schulze, F. Ludewig, U. Sonnewald, W.R. Scheible and M. Stitt, "Enhanced carbon dioxide leads to a modified diurnal rhythm of nitrate reductase activity and higher levels of amino acids in young tobacco plants", *Plant Cell Environ.*, Vol. 21, 1998, pp. 253-268.
10. S. Moor and W.H. Stein, "A modified ninhydrin reagent for the photometric determination of amino acids and related compounds" *J. Biol. Chem.*, Vol. 211, 1954, pp. 893-906.
11. SAS. SAS Institute Inc. 2011. SAS/STAT Users Guide. Version 9.3. SAS Institute Inc., Cary, N. C., USA.
12. A.F. Khaleafa, A.F. Mohsen and S.H. Shaalan, "Effect of different light intensities on growth, amino-acid, fat and sugar concentrations in *Caulerpa prolifera* (Foerskal) Lamouroux", *Hydrobiological Bulletin*, Vol.16, 2, 3, 1982, pp. 207-212.
13. D.J. Durzan, "Arginine and the shade tolerance of white spruce saplings entering winter dormancy", *Journal of Forest Science*, Vol. 56, 2, 2010, pp. 77-83.

DETECCIÓN DE *Salmonella*, *Shigella* spp. Y *Escherichia* EN MUESTRAS DE ORIGEN HUMANO Y ANIMAL DE COMUNIDADES RURALES DEL ESTADO DE GUANAJUATO

Jaquelina González Castañeda^a, María Micaela Vargas Zúñiga^a, Martha Verónica Almanza Estrada^a, Enrique Corona Barrera^a, Elena J López González^a y M.P. Sandoval-Anguiano^b

^aDivisión de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato, jaquegc1@hotmail.com, mariamvz_1990@hotmail.com, martha.alma@hotmail.com, enriquecoronas@gmail.com

^bEscuela de Nivel Medio Superior, Irapuato, Universidad de Guanajuato, paty_sa1@yahoo.com.mx

RESUMEN

Salmonella, *Shigella* y *Escherichia*, tienen una amplia distribución en el mundo, así como, una alta incidencia en humanos y animales, principalmente en aves de corral y cerdos. El objetivo fue la detección microbiológica de *Salmonella*, *Shigella* y *Escherichia*, a partir de muestras de humano, animales domésticos y de traspatio, en dos comunidades rurales del estado de Guanajuato. El muestreo se realizó en El Comederito y El Encino, Irapuato, Guanajuato, México. Se tomaron muestras de humano, ave, cerdo y perro. Para la detección microbiológica se utilizaron los medios de cultivo: Agar Eosina-Azul de Metileno (EMB), Agar MacConkey y Agar Xilosa-Lisina-Desoxicolato (XLD). De las 50 muestras de origen humano de ambas comunidades, se obtuvo mayor crecimiento de *Salmonella* y *Shigella* en EMB, *Escherichia* mostró crecimiento similar en ambas comunidades en los tres medios de cultivo. Para las muestras de ave, se observó una mayor detección en EMB (85 a 91%), la menor detección fue en XLD (5 y 9%), para las mismas muestras, la detección de *Escherichia* fue similar en EMB y XLD. En las muestras de cerdo, en El Encino, la detección de *Salmonella* y *Shigella*, fue mayor que El Comederito, en los tres medios de cultivo. La detección de *Escherichia* fue similar en ambas comunidades, cuando se sembró en EMB y XLD. En las muestras de perro, en ambas comunidades se detectó la presencia de *Salmonella* y *Shigella*, en EMB y MacConkey, con respecto a *Escherichia*, el comportamiento fue similar para ambas comunidades en los tres medio de cultivo. De los resultados observados se concluye que en ambas comunidades se detectó la presencia de *Salmonella*, *Shigella* y *Escherichia*, en las muestras de humano, ave, cerdo y perro, lo que indica un riesgo potencial para la salud humana, así mismo, el Agar EMB y MacConkey, mostraron el mayor crecimiento microbiano.

1. INTRODUCCIÓN

La *E.coli* es un tipo de bacteria que normalmente vive en los intestinos de los humanos y los animales sin causar ningún problema. Sin embargo, ciertos tipos (o cepas) de *E. coli* pueden ocasionar intoxicación alimentaria. Aunque no es común, la *E. coli* se puede diseminar de una persona a otra. Esto puede suceder cuando alguien no se lava las manos después de una defecación y luego toca otros objetos o las manos de otra persona (Semrad, 2011; Schiller y Sellin, 2010). En Estados Unidos de América, en 1985, tuvo lugar en Illinois, una de las intoxicaciones más grandes con *Salmonella*, al verse afectadas 150 000 personas, por la ingesta de leche pasteurizada semidescremada. En nuestro país *E.coli* enteropatógena, *Shigella* spp., *Campylobacter* spp. y *Salmonella* spp., son las bacterias más frecuentes en intoxicaciones alimentarias, cuando se consumen alimentos o agua que contienen los microorganismos. Así mismo, la infección por *E.coli* enteropatógena o *Shigella* spp se puede contraer, por el consumo de alimentos mal cocidos o almacenados inadecuadamente, que algún miembro o animal doméstico,

tenga la infección, entre otros (Ahmed *et al*, 2012; Schiller y Sellin, 2010). Las personas infectadas con las bacterias las excretan en sus heces, las cuales pueden propagar los microorganismos al agua, alimentos o directamente a otra persona. Recibir tan sólo un poquito de la bacteria *Shigella* en la boca es suficiente para causar infección. Los brotes de shigelosis están asociados con condiciones sanitarias deficientes, agua y alimentos contaminados, al igual que condiciones de vida en hacinamiento (Craig, 2013; DuPont, 2011; Semrad, 2011; Giannella, 2010). Otros investigadores reportan el efecto de los antibióticos en la resistencia de microorganismos de la flora intestinal (Jernberg *et al*, 2010; Kalter *et al*, 2010). Para el aislamiento de *Salmonella* y *Shigella* se utilizan medios diferenciales y selectivos. El diagnóstico de *Escherichia* es directo, mediante cultivo e identificación, crece en medios de cultivo comunes (Agar Sangre) y selectivos (Agar MacConkey). El objetivo de esta investigación, fue la detección microbiológica de *Salmonella*, *Shigella* y *Escherichia*, a partir de muestras de humano, animales domésticos y de traspatio, en dos comunidades rurales del estado de Guanajuato.

2. PARTE EXPERIMENTAL

Material Biológico

El muestreo se realizó en las Comunidades El Comederito y El Encino, Irapuato, Guanajuato, México, se tomaron muestras de humano, ave, cerdo y perro, con hisopos rectales. El plan de muestreo, así como la ejecución del mismo, fue realizado por personal de la propia División de Ciencias de la Vida, quienes remitieron las muestras al Laboratorio de Biotecnología Ambiental en condiciones de refrigeración para su traslado y hasta su análisis. Las muestras se sembraron por el método de estría simple en tres medios de cultivo: Agar Eosina-Azul de Metileno (EMB), Agar MacConkey (MC) y Agar Xilosa-Lisina-Desoxicolato (XLD), después de 24-48 horas de incubación, se identificaron mediante la morfología colonial, las UFC características de *Salmonella*, *Shigella* y *Escherichia*, en los tres medios de cultivo.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1, se muestra la frecuencia de *Salmonella*, *Shigella* y *Escherichia* en los medios EMB, XLD y MC, en muestras de humano de dos comunidades rurales del Estado de Guanajuato, observándose que de las 50 muestras de origen humano de ambas comunidades, se obtuvo mayor crecimiento de *Salmonella* y *Shigella* en EMB, con una frecuencia del 94%. El análisis de *Escherichia*, mostró un crecimiento similar en ambas comunidades en los tres medios de cultivo. De las 18 muestras de origen humano de la comunidad El Comederito, se obtuvo que el 94% correspondió a la detección de *Salmonella* y *Shigella* en medio EMB, 6% en el medio XLD y 44% de detección en el medio MC, obteniéndose una mejor detección de *Salmonella* y *Shigella* en el medio EMB, sin embargo se observó un crecimiento con menor intensidad en el caso de la siembra en medio XLD. El análisis de *Escherichia* mostró crecimiento similar en los tres medios de cultivo. En la comunidad El Encino, de un total de 32 muestras, el mayor porcentaje de muestras positivas a *Salmonella* y *Shigella* se observó en el medio EMB (94%), para el caso de *Escherichia* se obtuvo un por ciento de detección del 81% en los medios EMB y XLD. En el medio MC el por ciento de muestras positivas para *Salmonella*, *Shigella* y *Escherichia* fue del 75%, correspondiente a la menor detección de los patógenos.

En las Figuras 1a y 1b, se muestra la frecuencia de *Salmonella*, *Shigella* y *Escherichia* en los medios EMB, XLD y MC, en muestras de ave en las comunidades El Comederito (Figura 1a) y El Encino (Figura 1b). La presencia de *Salmonella* y *Shigella* fue más frecuente en medio EMB con valores de 85 y 91%, la menor detección fue en medio XLD (5 y 9%). La detección de *Escherichia* fue similar en los medios EMB y XLD para ambas comunidades.

Tabla 1. Por ciento de muestras de humano, positivas a *Salmonella*, *Shigella* y *Escherichia*, en las comunidades de El Comederito y El Encino, sembradas en tres medios de cultivo

Medio de Cultivo	Comunidad			
	El Comederito		El Encino	
	<i>Salmonella</i> y <i>Shigella</i> (%)	<i>Escherichia</i> (%)	<i>Salmonella</i> y <i>Shigella</i> (%)	<i>Escherichia</i> (%)
EMB	94	83	94	81
XLD	6	94	84	81
MC	44	83	75	75
Total muestras	18	18	32	32

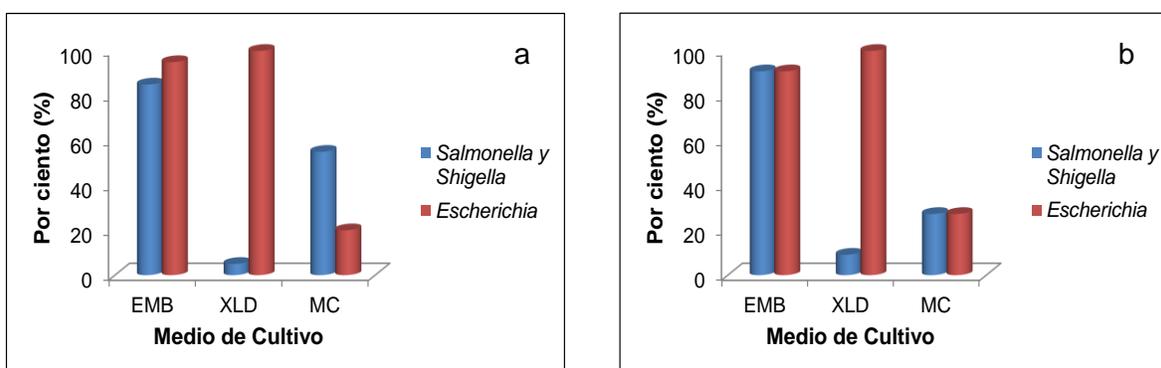


Figura 1. Por ciento de muestras de ave, positivas a *Salmonella*, *Shigella* y *Escherichia*, en las comunidades de a) El Comederito y b) El Encino, sembradas en tres medios de cultivo.

En la Tabla 2, se muestra el por ciento de muestras de cerdo, positivas de *Salmonella*, *Shigella* y *Escherichia* en los medios EMB, XLD y MC, para ambas comunidades. *Salmonella* y *Shigella* presento una mayor frecuencia en los tres medios de cultivo en la comunidad El Encino (58 a 100%), en contraste con El Comederito, mostrando valores entre 17 a 67%, respectivamente). En los medios EMB y XLD, *Escherichia* presento una detección con frecuencia del 100%, en las comunidades El Comederito y El Encino, y por el contrario, la menor detección se observo en el medio MC.

En las Figuras 2a y 2b, se muestra la el por ciento de muestras de perro, positivas a *Salmonella*, *Shigella* y *Escherichia* en los medios EMB, XLD y MC, en las comunidades El Comederito (Figura 1a) y El Encino (Figura 1b). El análisis de *Salmonella*, *Shigella* y *Escherichia*, en ambas comunidades en medio EMB, resulto con crecimiento similar, con una frecuencia de 89% para *Salmonella*, *Shigella* y 100% para *Escherichia*. En medio XLD la detección fue nula para *Salmonella* y *Shigella*.

Tabla 2. Por ciento de muestras de cerdo, positivas a *Salmonella*, *Shigella* y *Escherichia*, en las comunidades de El Comederito y El Encino, sembradas en tres medios de cultivo

Medio de Cultivo	Comunidad			
	El Comederito		El Encino	
	<i>Salmonella</i> y <i>Shigella</i> (%)	<i>Escherichia</i> (%)	<i>Salmonella</i> y <i>Shigella</i> (%)	<i>Escherichia</i> (%)
EMB	67	100	100	100
XLD	17	100	58	100
MC	33	22	75	67
Total muestras	6	6	12	12

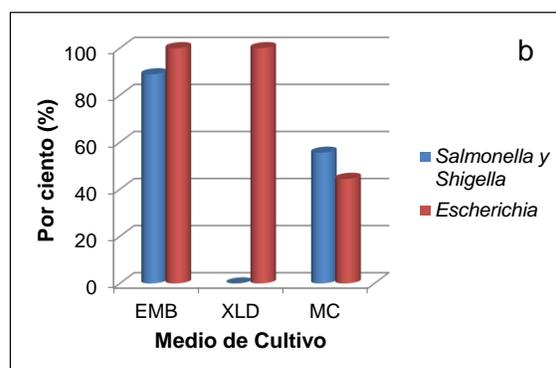
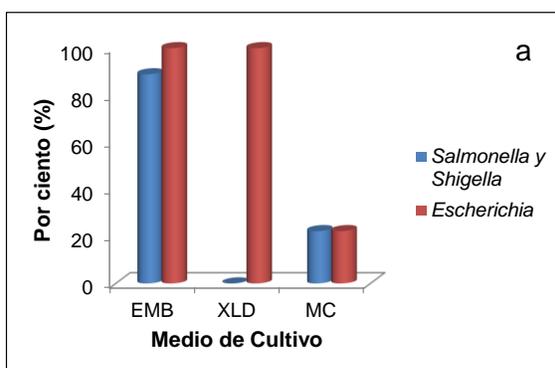


Figura 2. Por ciento de muestras de perro, positivas a *Salmonella*, *Shigella* y *Escherichia*, en las comunidades de a) El Comederito y b) El Encino, sembradas en tres medios de cultivo.

Los resultados de esta investigación, corresponden con lo reportado en otras investigaciones con *Salmonella*, *Shigella* y *Escherichia coli*, siendo *Salmonella* la que muestra una amplia distribución en todo el mundo y una alta incidencia en los animales, principalmente aves de corral y cerdos. *Shigella sp.* es metabólicamente un biogrupo inactivo de *Escherichia coli*, y algunas cepas de *Escherichia coli* pueden causar diarrea similar a la causada por *Shigella*. El principal reservorio de *Salmonella* es el intestino de animales vertebrados y la forma más importante de transmisión entre los individuos es la ingestión de material contaminado por heces de portadores o enfermos (Craig, 2013; Garcia *et al*, 2009). Hay más de 2000 serotipos de *Salmonella*, basados en las diferencias antigénicas asociadas con gastroenteritis y fiebre entérica (tifoidea) en seres humanos. *Escherichia coli* enterotoxigénica se adquiere, al igual que los otros grupos patógenos de *E. coli*, por la ingestión de agua y alimentos contaminados, los síntomas causados por EPEC se asemejan a salmonelosis, los de *E. coli* enteroinvasiva se asemejan a *Shigella* y los de *E. coli* enterotoxigénica asemejan al cólera (Flores *et al*, 2013; DuPont, 2011; Cortés-Ortiz *et al*, 2002).

Se han realizado numerosos estudios sobre la causa de la enfermedad diarreica aguda (EDA) debido a la contaminación microbiana de los alimentos como consecuencia de su presencia en animales y vegetales. Los agentes más frecuentemente identificados son *Salmonella*, *Shigella* y *Escherichia coli*. Aproximadamente, un tercio de los rumiantes domésticos son portadores asintomáticos de *Escherichia coli* O157:H7 y representan el principal reservorio para infecciones en humanos. Otros animales como cerdos, caballos y ciervos también son considerados como portadores de esta bacteria, pero no son la principal fuente (Songer *et al*, 2005). Dentro de los rumiantes, el ganado bovino es reportado en varias investigaciones como uno de los principales portadores de *E. coli* O157:H7 (Locking *et al*, 2001).

Los estudios de prevalencia de *E. coli* O157:H7 en Estados Unidos, han estimado que menos el 10% de los bovinos, excretan este patógeno en las heces (Low *et al*, 2005). El tracto gastrointestinal del hospedero bovino generalmente es colonizado por esta cepa sin causar la enfermedad y se ha considerado que puede comportarse como un miembro transitorio de la flora intestinal (Costa *et al*, 2008). Un estudio realizado por Blanco y col. (1996) sobre la incidencia de cepas verotoxigénicas de *E. coli* en España, detectó un 14% de (55/387) de dichas cepas provenientes de bovinos, incluyendo *E. coli* O157:H7, las cuales también se reportan en varios países, en enfermedades de colitis hemorrágica, lo que indica que los bovinos pueden ser una fuente importante de *E. coli* verotoxigénica y que podría ser el agente etiológico de enfermedades en humanos. En América del Centro y del Sur, específicamente en Argentina, Colombia y Costa Rica, se ha reportado la presencia del serotipo O157:H7 en el ganado bovino y en humanos con diarrea (Giannella 2010; Blanco *et al*, 2005; Meichtri *et al*, 2004; Reuben *et al*, 2002), de ahí la importancia del estudio para prevenir contaminación y realizar las medidas preventivas correspondientes.

4. CONCLUSIONES

De los resultados observados se concluye que en ambas comunidades se detectó la presencia de *Salmonella*, *Shigella* y *Escherichia*, en las muestras de humano, ave, cerdo y perro, lo que indica un riesgo potencial para la salud humana, así mismo, el medio EMB y MC, mostraron el mayor crecimiento microbiano. La determinación de bacterias como *Salmonella*, *Shigella* y *Escherichia* en animales, es esencial para la evaluación epidemiológica de las patologías provocadas por una posible infección y su impacto en salud pública. La mejora en la implementación de programas sanitarios podría disminuir la transmisión de microorganismos patógenos entre los animales y el hombre.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. Reuben, H. Treminio, M. Arias, L. Villalobos, "Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from Costa Rica, Food. Rev. Biomed., Vol. 13, 4, 2002, pp. 273-276.
2. C. E. Semrad, "Approach to the patient with diarrhea and malabsorption", in *Goldman's Cecil Medicine* (Elsevier Saunders, Philadelphia, PA, 2011), 24th ed., Chapter 142.
3. C. García y P. Catalá-Gregorio, "*Salmonella* spp. en hisopos cloacales, heces y huevos de gallinas ponedoras: estudio preliminar", XLVI Symposium Científico de Avicultura (Zaragoza, 2009), pp. 191-199.
4. C. Jernberg, S. Löfmark, C. Edlund y J.K. Jansson, "Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota", *Microbiology*, Vol. 156, 2010, pp. 3216-3223.

5. C.E. Flores, L. Loureiro, L.J. Bessa y P. Martins da Costa, "Presence of Multidrug-Resistant *E. coli*, *Enterococcus* spp. and *Salmonella* spp. in Lakes and Fountains of Porto, Portugal", *J. Water Resour. Prot.*, Vol. 5, 2013, pp. 1117-1126.
6. D. Costa, P. Poeta, Y. Saenz, A.C. Coelho, M. Matos, L. Vinue, J. Rodrigues y C. Torres, "Prevalence of antimicrobial resistance and resistance genes in faecal *Escherichia coli* isolates recovered from healthy pets", *Vet. Microbiol.*, Vol. 127, 2008, pp. 97-105.
7. H. L. DuPont, "Approach to the patient with suspected enteric infection", in *Goldman's Cecil Medicine* (Elsevier Saunders, Philadelphia, PA, 2011), 24th ed., Chapter 291.
8. H.D. Kalter, R.H. Gilman, L.H. Moulton, A.R. Cullotta, L. Cabrera y B. Velapatiño, "Risk factors for antibiotic-resistant *Escherichia coli* carriage in young children in Peru: community-based cross-sectional prevalence study", *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, Vol. 82, 2010, pp. 879-888.
9. J. C. Low, I. J. Mckendrinck, C. Mckechnie, D. Fenlon, S. W. Naylor, C. Currie, D. G. E. Smith, L. Allison y D. L. Gally, "Rectal carriage of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157 in slaughtered cattle", *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 71, 1, 2005, pp. 93-97.
10. J. G. Songer y W. K. Post, "The Genera *Escherichia coli* and *Shigella*. Elsevier Saunders", *Veterinary Microbiology, Bacterial and Fungal Agent of Animal Diseases*, 2005, Chapter 13, pp. 13-119.
11. L. Meichtri, E. Miliwebsky, A. Gioffre, I. Chinen, A. Baschkier, G. Chillemi, B. E. Guth, M. O. Masana, A. Cataldi, H. R. Rodriguez y M. Rivas, "Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in healthy young beef steers from Argentina: prevalence and virulence properties", *Int. J. Food. Microbiol.*, Vol. 96, 2, 2004, pp.189-98.
12. L. R. Schiller y J. H. Sellin, "Diarrhea". in *Sleisenger & Fordtran's Gastrointestinal y Liver Disease* (Saunders Elsevier, Philadelphia, Pa, 2010), 9th ed., Chapter 15.
13. Ll. A. Cortés-Ortiz, G. Rodríguez-Angeles, E. A. Moreno-Escobar, J. M. Tenorio-Lara, B. P. Torres-Mazadiego y E. Montiel-Vázquez, "Brote causado por *Escherichia coli* en Chalco, México", *Salud Pública de México*, Vol. 44, 4, 2002, pp. 297-302.
14. M. Blanco, J. E. Blanco, J. Blanco, E. A. González, M. P. Alonso, H. Maas y W. H. Jensen, "Prevalence and characteristics of Human and bovine verotoxigenic *Escherichia coli* strains isolate in Galicia (north-western Spain)", *Eur. J. Epidemiol.*, Vol.12, 1, 1996, pp. 13-19.
15. M. Blanco, N. L. Padola, A. Kruger, M. E. Sanz, J. E. Blanco, E. A. González, G. Dhabí, A. Mora, M. I. Bernardez, A. I. Etcheverría, G. H. Arroyo, P. M. Luchessi, A. E. Parma y J. Blanco, "Virulence genes and intimin types of shiga-toxin-producing *Escherichia coli* isolated from cattle and beef products in Argentina", *Int. Microbiol.*, Vol. 7, 4, 2004, pp. 269-276.
16. M. E. Locking, S. J. O'Brien, W. J. Reilly, E. M. Wright, D. M. Campbell, J. E. Coia, L. M. Browning y C. N. Ramsay, "Risk factors for sporadic cases of *Escherichia coli* O157 infection: the importance of contact with animal excreta", *Epidemiol. Infect.*, Vol. 27, 2, 2001, pp. 215-220.
17. M. O. Ahmed, N. J. Williams, P. D. Clegg, J. C. van Velkinburgh, K. E. Baptiste y M. Bennett, "Analysis of risk factors associated with antibiotic-resistant *Escherichia coli*", *Microb. Drug Resist.*, Vol. 18, 2012, pp. 161-168.
18. R. A. Giannella, "Infectious enteritis and proctocolitis and bacterial food poisoning", in *Sleisenger & Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease*, (Elsevier Saunders, Philadelphia, PA, 2010), 9th ed., Chapter 107.
19. S. A. Craig, "Gastroenteritis", in *Rosen's Emergency Medicine: Concepts and Clinical Practice* (Mosby Elsevier, Philadelphia, PA, 2013), 8th ed., Chapter 94.

ANÁLISIS DE LOS CAMBIOS EN LA ENVOLTURA CELULAR DE *ESCHERICHIA COLI* PATOGENICA DESPUÉS DE SU EXPOSICIÓN A CONDICIONES DE ESTRÉS USANDO FTIR

Ariana Hernández^a, Raúl Delgado^a, Valentín López^a, Abdu Orduña^a, Marlon Rojas^a.

^aCentro de Investigación en Biotecnología Aplicada del IPN, Carretera est. Sta. Ines tecuexcomac-Tepetitla Km. 1.5, Tepetitla de Lardizabal Tlaxcala 90700. anairahera@hotmail.com, rdelgadom@ipn.mx, vallozgayou@yahoo.com.mx, abdueve@hotmail.com, marlonrl@yahoo.com.mx.

RESUMEN

Cepas de *Escherichia coli* (*E. coli*) patogénica son causantes de enfermedades transmitidas por alimentos, que representan una amenaza de salud pública que debe ser enfrentada. Las células bacterianas reaccionan a diferentes condiciones de estrés, el cual les induce cambios fisiológicos y estructurales, causando la muerte de la célula. El objetivo de este trabajo fue evaluar mediante la espectroscopia de infrarrojo las modificaciones en la envoltura celular de *E. coli* al ser expuesta a diferentes concentraciones de estrés. Las células de *E. coli* fueron centrifugadas y se lavaron dos veces con tampón PBS (pH 7,2), suspendiéndose en el mismo. Una alícuota de 500 µL (2×10^9 UFC/mL) de suspensión fue incubada incorporando las diferentes condiciones de estrés a concentraciones variables: detergente libre de fosfatos, polimixina B (PMB), proteinasa K, metanol y un control. Las muestras fueron medidas en un espectrómetro FT-IR en modo ATR. Los resultados de infrarrojo muestran que es posible determinar el efecto de diferentes concentraciones de estrés mediante los cambios en la bandas de absorción. Para detergente, se observan cambios marcados en la banda asociada a PO_2^- en $1251\text{-}1319\text{ cm}^{-1}$. Las variaciones espectrales correspondientes a *E. coli* tratadas con diferentes concentraciones de metanol, se observan en 1300 y 900 cm^{-1} y están vinculados a los daños de la pared y membrana celular, para la cepa tratada con distintas concentraciones de PMB provoca cambios considerables en las bandas del azúcar $1070\text{-}1090$ y $1030\text{-}1060\text{ cm}^{-1}$. Por último se observa el efecto de diferentes concentraciones de proteinasa k sobre *E. coli* a 1800 y 1500 cm^{-1} , afectando la amida I y amida II asociada a proteínas y péptidos. Los resultados obtenidos indican la potencialidad de la espectroscopia FT-IR para discriminar entre células bacterianas intactas y dañadas, correlacionando los resultados con aspectos moleculares de respuesta al estrés bacteriano.

1. INTRODUCCIÓN

Escherichia coli es una de las especies bacterianas más minuciosamente estudiadas, y no solamente por su potencial patogénico, sino también como sustrato y modelo de investigaciones metabólicas, genéticas, poblacionales y de diversa índole; *Escherichia coli* es un patógeno que ha llamado la atención de los investigadores debido a su impacto económico cuando se producen las llamadas enfermedades transmitidas por alimentos. Para reducir la presencia de éste patógeno¹,

es necesario investigar los diferentes enfoques que se han planteado para conocer la eficacia de antimicrobianos potenciales o de diferentes factores de estrés. Se conoce que la técnica de espectroscopia vibracional de infrarrojo por Transformada de Fourier (FT-IR), permite el estudio de la composición de las células, puesto que todos los grupos funcionales absorben la luz infrarroja (IR), por lo tanto, se puede conseguir valiosa información sobre la composición química de las células². La espectroscopia FT-IR ha sido a menudo utilizada para estudios de taxonomía. Sin embargo, existen varios informes sobre la aplicación de ésta técnica para detectar cambios en el nivel celular tras la exposición de las células a diferentes factores de estrés³. La espectroscopia infrarroja es una técnica de análisis para obtener información acerca de los procesos de absorción y emisión sobre las moléculas que se encuentran en la materia. Esta técnica clasifica a los organismos en diferentes niveles taxonómicos y tiene en cuenta el estado fisiológico del microorganismo analizado, ya que el espectro refleja la composición bioquímica de las células en estudio⁴.

El objetivo del presente trabajo fue utilizar la espectroscopia FT-IR para dilucidar los cambios causados por diferentes factores de estrés sobre la composición celular de *Escherichia coli*.

2. PARTE EXPERIMENTAL

Las células de *Escherichia coli* fueron centrifugadas y se lavaron dos veces con tampón PBS (pH 7,2), y se resuspendieron en el mismo tampón. Un alícuota de 500 μ L (2×10^9 CFU/mL) de suspensión fue incubada con 500 μ L de: detergente concentrado libre de fosfatos, proteinasa K, metanol, polimixina B y un control a diferentes diluciones. Las muestras fueron medidas en un espectrómetro FT-IR en el modo ATR, de acuerdo con Papadimitriou y cols. (2008)⁵. Los espectros fueron registrados cada 4 cm^{-1} .

3. RESULTADOS

Para determinar la influencia de varios factores de estrés sobre el espectro FT-IR en *E.coli*, las células fueron tratadas con (i) Detergente, (ii) metanol, (iii) Polimixina B and (iv), proteinasa K, en un intervalo de concentración de (1-1000 μ /ml). Diversas absorciones fueron detectadas en cinco regiones espectrales que son caracterizadas por los constituyentes celulares principales; en la figura 1A se observan cambios en el perfil de la banda PO_2^- entre 1251-1319 cm^{-1} asociados a células de *E.coli* tratadas con detergente. En la figura 1B, se muestran las variaciones en la forma e intensidad de los picos encontrados principalmente el de 1300 cm^{-1} , para los espectros de células tratadas con metanol. Por lo tanto una reducción en la intensidad del pico encontrado aproximadamente en 1300 cm^{-1} está presente, el cual parece estar compuesto de dos bandas, a concentraciones de metanol más altas un nuevo pico emerge a 1350 cm^{-1} . El espectro de células de *E.coli* no tratada (control) fue visualmente similar al espectro reportado en estudios previos para éste microorganismo y otras bacterias³.

En la figura 1C se muestran las variaciones espectrales correspondientes a *E.coli* tratada con varias concentraciones de PMB, se presentan cambios significativos en dos bandas dentro de la región de los azúcares entre 1000 a 1050 cm^{-1} y 1050 a 1100 cm^{-1} , con una disminución en el número de onda para la primera banda y la desaparición y/o cambio a altos números de onda para la segunda banda, indicando que PMB tiene una alta afinidad de enlace a *E.coli*. Finalmente en la figura 1D es posible observar el efecto de diferentes concentraciones de proteinasa K sobre *E.coli*

por las variaciones espectrales mostradas en la región entre los 1600 y 1500 cm^{-1} , región que muestra las afectaciones a los grupos amida I y amida II pertenecientes a las proteínas y péptidos ³⁻⁵. Estos resultados indican que algunos o todos los componentes celulares, como polisacáridos de la pared celular, ácidos grasos de la membrana celular, proteínas, ácidos nucleicos, u otros componentes del cuerpo celular, muestran alteraciones durante estos tratamientos.

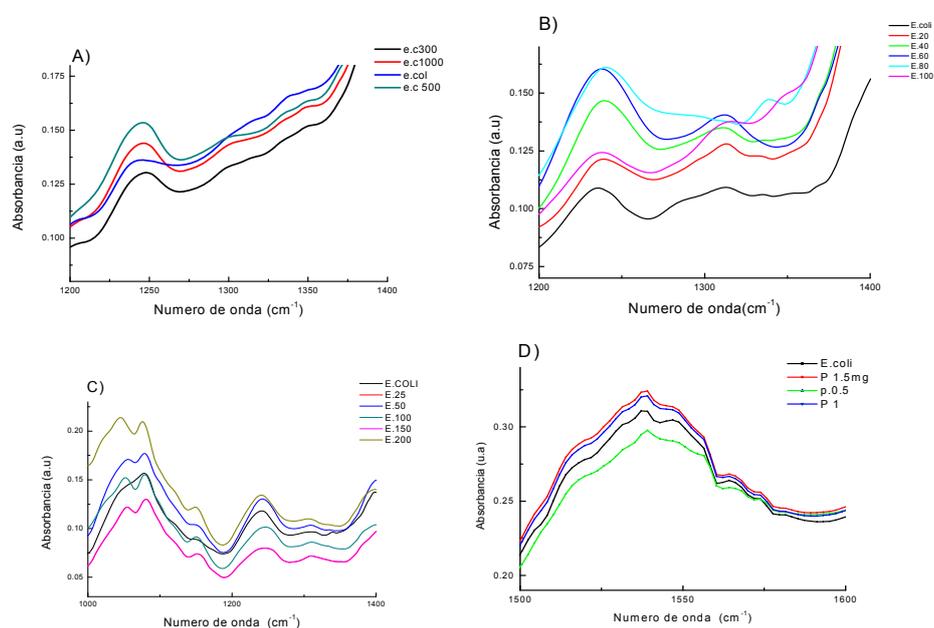


Figura 1: Efecto de diferentes concentraciones de agentes estresantes sobre *E.coli*
 A) Detergente, B) Metanol, C) Polimixina y D) Proteínasa K.

4. CONCLUSIONES

En conclusión, los resultados obtenidos no solo indican el potencial de la espectroscopia FT-IR para discriminar entre células bacterianas intactas o dañadas sino también muestra la capacidad de esta técnica para estudiar los aspectos moleculares del estrés bacteriano como respuesta a los agentes estresantes. La espectroscopia FT-IR es un método fisicoquímico que puede determinar las características químicas globales de las células, y por lo tanto representa una técnica adecuada para estudiar los cambios moleculares después de la exposición a estrés. Los resultados obtenidos nos ayudaran a mejorar nuestro conocimiento de células de *E.coli* patógena dañadas y las estrategias de respuesta a estas condiciones adversas.

Agradecimientos

A la SIP-IPN por el apoyo mediante el proyecto 20150157

BIBLIOGRAFÍA

1. H.M. Al-Qadiri, M. Lin, A. G. Cavinato, and B. A. Rasco, Fourier transform infrared spectroscopy, detection and identification of *Escherichiacoli* O157:H7 and *Alicyclobacillus* strains in apple juice. *Int. J. Food Microbiol*, 2006,111:73–80.
2. H.M.Al-Qadiri, M. Lin, M. A. Al-Holy, A. G. Cavinato, and B. A. Rasco. Detection of sublethal thermal injury in *Salmonella enterica* serotypeTyphimurium and *Listeria monocytogenes* using Fourier transform infrared(FT-IR) spectroscopy (4000 to 600 cm⁻¹). *J. Food Sci.*,2008,73:54–61.
3. .A.T.Oust, K. Moretro,G.D. Naterstad, I. Sockalingum, I. Adt, M. Manfait, and A. Kohler, Fourier transform infrared and Raman spectroscopyfor characterization of *Listeria monocytogenes* strains. *Appl. Environ. Microbiol*, 2006,72:228–232.
4. .A.A´ lvarez-Ordo´ n˜ez, A. Fern´andez, A. Bernardo, and M. Lo´pez, Comparison of acids on the induction of an acid tolerance response in *Salmonella* Typhimurium, consequences for food safety. *Meat Sci.*, 2009, 81:65–70.
5. .A.Alvarez-Ordo´ n˜ez, J. Halisch, and M. Prieto, Changes in Fourier transform infrared spectra of *Salmonella enterica* serovars Typhimurium and Enteritidis after adaptation to stressful growth conditions. *Int. J. Food Microbiol*, 2010,142:97–105.

EFFECTO DE LA DISMINUCIÓN DE LA PROTEÍNA EN LA DIETA Y LA ADICIÓN DE PROBIÓTICOS SOBRE LA PRODUCTIVIDAD Y LAS DIARREAS POSDESTETE EN LECHONES.

Samantha E. Bautista^a, T. C. Reis^a, G. Mariscal^b, K. Escobar^a, A. Aguilera^a, G. Bernal^a, J. Servín^a.

^aMaestría en Recursos Bióticos, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro., samarantha@hotmail.com , terci@uaq.mx, konisgmar.escobar@uaq.mx, araba@uaq.mx, dalia@uaq.mx, jacke-sl@live.com.mx.

^bInstituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Forestales y Pecuarias. mariscal.gerardo@inifap.gob.mx

RESUMEN

Los lechones recién destetados están sometidos a un desafío nutricional, ya que su alimentación, básicamente líquida con nutrimentos de origen animal, pasa a ser sólida con alimentos de origen vegetal que poseen factores antinutricionales y una digestibilidad limitada. Al destete el lechón es fisiológicamente inmaduro y no digiere totalmente este tipo de alimentos. Como consecuencia se desarrolla el “síndrome diarreico posdestete” (SDP), controlándose con el uso de dosis subterapéuticas de antibióticos en la dieta, lo que ha generado resistencia bacteriana a ellos y la prohibición de su uso en varias partes del mundo. Una alternativa al uso de antibióticos es la disminución de proteína dietética, lo que reduce la cantidad de residuos sin digerir a nivel intestinal, y limita el crecimiento de bacterias patógenas. Otra alternativa es la adición de probióticos, los cuales compiten con las bacterias por los sustratos y sitios de adhesión en la mucosa intestinal. En el presente estudio se utilizaron 100 lechones distribuidos en cinco tratamientos (dietas): 1) alta en proteína (24%) con antibiótico (APCa); 2) alta en proteína (24%) con antibiótico con probiótico (APCap); 3) alta en proteína (24%) con probiótico (APCp); 4) baja en proteína (18%) (BPC); 5) baja en proteína (18%) con probiótico (BPCp). Se midió la incidencia y severidad de las diarreas, así como la ganancia diaria de peso, consumo diario de alimento y eficiencia alimenticia durante las primeras dos semanas posdestete. Los animales que consumieron la dieta APCa presentaron una menor incidencia y severidad de diarreas ($P < 0.05$). El comportamiento productivo no reflejó diferencias ($P > 0.05$) debidas a los tratamientos.

INTRODUCCIÓN

El destete es una etapa crítica para los lechones puesto que sufren cambios importantes que afectan su desarrollo. De estos, el que tiene más impacto, es el cambio de alimento, ya que el lechón al destete posee un tracto gastrointestinal inmaduro y la modificación de la dieta produce disturbios gastrointestinales que se ven reflejados en diarreas posdestete y un bajo desarrollo productivo (Lallés *et al.*, 2007). Tradicionalmente la presencia de las diarreas se previene empleando antibióticos en la dieta. Debido al desarrollo de resistencia de las bacterias a los antibióticos, se ha prohibido su uso en las dietas para animales. Es así, que se han buscado alternativas que permitan hacer frente a esta prohibición. Una de éstas es la disminución del nivel de proteína en la dieta, ya que con una menor cantidad de proteína, el lechón tendrá mayor posibilidad de digerirla, disminuyendo la presencia de sustrato disponible para la fermentación, inhibiendo la proliferación de bacterias potencialmente patógenas, controlando las diarreas y mejorando la productividad (Williams *et al.*, 2005).

Otra alternativa a los antibióticos es el uso de probióticos en las dietas, los cuales realizan modificaciones en el medio ambiente intestinal favoreciendo el crecimiento de bacterias benéficas, disminuyendo las diarreas y eficientizando la productividad (Alexopoulos *et al.*, 2004). El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del nivel de proteína en la dieta, con la presencia o ausencia de antibiótico y/o probiótico sobre la incidencia y severidad de las diarreas y el comportamiento productivo (ganancia diaria de peso, consumo diario de alimento y eficiencia alimenticia) de los lechones recién destetados.

MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se realizó en la granja experimental del CENID-Fisiología, INIFAP, ubicada en Ajuchitlán, Querétaro. Los análisis químicos de las dietas, se efectuaron en el laboratorio de Nutrición Animal de la Universidad Autónoma de Querétaro. Se utilizaron 100 lechones destetados al día 23 ± 1.6 con un peso promedio de 7.26 ± 1 kg, distribuidos entre cinco tratamientos, teniendo cinco lechones por corral y cuatro corrales por tratamiento. Los tratamientos constaron de cinco dietas experimentales (Cuadro 1).

Cuadro 1. Composición química y centesimal de las dietas experimentales.

	Dietas				
	APCa	APCap	APCp	BPC	BPCp
Ingredientes (%)					
Maíz amarillo	43.35	43.27	43.32	52.37	52.29
Pasta de soya	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00
Concentrado de soya	4.00	4.00	4.00	--	--
Harina de pescado Menhaden	9.65	9.65	9.65	3.30	3.30
Suero de Leche	24.69	24.69	24.69	24.69	24.69
Aceite de maíz	0.93	0.93	0.93	0.82	0.82
Otros [¶]	2.33	2.33	2.33	3.82	3.82
Lincospectin**	0.05	0.05	--	--	--
Bioplus 2B***	--	0.08	0.08	--	0.08
Composición Química					
Materia seca (%) [⌘]	92.80	92.77	92.91	93.11	92.34
Proteína cruda (%) [⌘]	24.66	24.84	24.41	18.00	18.06
Energía metabolizable (Kcal/kg) [⌘]	3300	3300	3300	3300	3300

[¶]Otros: premezcla de aminoácidos en la cantidad suficiente para alcanzar los requerimientos del lechón, L-glutamina y L-ácido glutámico (1:1), premezcla de vitaminas y minerales (vitaminas por kilogramo de dieta: vitamina A 10,200 UI; vitamina D 1980 UI; vitamina E 60 UI; Vitamina K 1.20 mg; colina 967 mg; niacina 36 mg; pantotenato 17 mg; riboflavina 7.2 mg; vitamina B12 38 µg; tiamina 0.3 mg; piridoxina 0.31 mg; biotina 0.08 mg; folato 0.75 mg; cobre 14.4 mg; yodo 800 mg; hierro 105 mg; manganeso 36 mg; selenio 0.3 mg; zinc 144 mg); **Lincospectin premix, 2.2 g lincomicina, 2.2 g espectinomicina (Zoetis, USA); ***Bioplus 2B: *B. subtilis* y *B. licheniformis* (1:1) (Chr. Hansen, Dinamarca). [⌘] Valor analizado; [⌘] Valor calculado.

Los lechones se alojaron en corrales suspensos equipados con un bebedero de chupón y un comedero tipo tolva con seis bocas. Los animales tuvieron libre acceso al alimento y agua durante todo el periodo experimental, el cual tuvo una duración de 14 días (dos semanas posdestete). Las diarreas posdestete se evaluaron en cada corral durante la mañana de cada día. La presencia de diarrea se midió con base a una evaluación visual de la consistencia fecal (Opapeju *et al.*, 2009), con una escala de 0 a 3, en donde: 3 describe una diarrea severa, muy líquida; 2 diarrea moderada, semi-líquida; 1 diarrea ligera, pastosa; y 0 indica no existencia de diarrea. La calificación diaria por corral fue sumada en cada semana y en el total del periodo experimental, para calcular la severidad. La incidencia se midió en función del número de días en que la diarrea fue observada en cada corral. El consumo de alimento se registró diariamente y fue ofrecido en tres horarios: 8:00, 12:00 y 16:00 horas. Al final de la semana se midió el rechazo y se calculó el consumo diario de alimento (CDA). Los animales se pesaron al final de cada semana con la finalidad de calcular la ganancia diaria de peso (GDP) y la eficiencia alimenticia (EA). Para el análisis estadístico de la incidencia y severidad de las diarreas posdestete, se utilizó un diseño de medidas repetidas en el tiempo y la unidad experimental fue el corral; las diferencias estadísticas se aceptaron con un valor de $P < 0.05$ y las medias fueron comparadas mediante la prueba de Tukey (Steel y Torrie, 1997; SAS 2008). En el caso del comportamiento productivo se utilizó un diseño completamente al azar, donde la unidad experimental fue el corral; las diferencias estadísticas se aceptaron con un valor de $P < 0.05$ y las medias fueron comparadas mediante la prueba SNK (SAS, 2008).

RESULTADOS

En el Cuadro 2 se presentan los resultados de la incidencia y severidad de las diarreas posdestete. Se observó un efecto del tratamiento (dieta) ($P < 0.01$) y de la edad (semana) ($P < 0.001$), sin embargo no hubo interacción entre ellos ($P > 0.05$). Los animales que consumieron la dieta APCa fueron los que presentaron la menor incidencia y severidad de las diarreas en relación a los lechones que consumieron los demás tratamientos. Durante la segunda semana posdestete, las diarreas se presentaron en un mayor número de días y tuvieron una mayor severidad en relación a la primera semana.

Cuadro 2. Efecto los componentes dietéticos sobre la incidencia y severidad de las diarreas en los lechones recién destetados.

	Dietas					P			EEM
	APCa	APCap	APCp	BPC	BPCp	D	S	DxS	
Semana 1									
Incidencia	1.0	3.0	3.5	3.5	3.5	***	***	NS	0.12
Severidad	0.3	0.8	0.8	1.0	0.8	***	***	NS	0.05
Semana 2									
Incidencia	5.8	7.0	6.8	7.0	6.8	***	***	NS	0.12
Severidad	1.5	2.5	2.5	2.3	2.5	***	***	NS	0.05

D: dieta; S: semana; P: significancia estadística; EEM: error estándar de la media; ***: $P < 0.001$; NS: $P > 0.05$.

El comportamiento productivo no presentó diferencias estadísticas debidas a los tratamientos ($P > 0.05$) (Cuadro 3).

Cuadro 3. Efecto del nivel de proteína y de la adición de probiótico sobre el comportamiento productivo de los lechones durante las 2 primeras semanas posdestete.

	Dietas					P	EEM
	APCa	APCap	APCp	BPC	BPCp		
Semana 1							
GDP (g/día)	82.4	108.9	67.1	43.0	86.6	NS	9.2
CDA (g/día)	179.8	185.9	178.0	179.8	181.1	NS	6.2
EA	0.5	0.6	0.4	0.2	0.5	NS	0.05
Semana 2							
GDP (g/día)	171.3	71.4	155.6	110.0	99.3	NS	15.9
CDA (g/día)	297.7	238.1	257.7	254.8	220.9	NS	9.7
EA	0.6	0.2	0.6	0.4	0.4	NS	0.06
Periodo total							
GDP (g/día)	119.3	82.5	103.3	80.8	91.8	NS	8.6
CDA (g/día)	278.7	249.3	246.9	252.9	241.6	NS	8.0
EA	0.5	0.3	0.4	0.3	0.4	NS	0.03

P: significancia estadística; EEM: error estándar de la media; NS: $P > 0.05$.

DISCUSIÓN

Incidencia y severidad de diarreas

Independientemente de la dieta consumida todos los corrales presentaron lechones con diarrea en el presente trabajo, lo que indica que éste es un evento inherente al estrés, de origen nutricional o no, al que los lechones se enfrentan en las primeras semanas después del destete (Dirkzwager *et al.*, 2005).

En la mayoría de los trabajos descritos en la literatura se observa un efecto positivo en la reducción de las diarreas posdestete al reducir el nivel de proteína cruda en la dieta (Ball y Aherne, 1987; Yue y Quiao, 2008; Wellock *et al.*, 2008; Heo *et al.*, 2009). Sin embargo, en el presente trabajo durante todo el periodo experimental, los animales que consumieron la dieta alta en proteína con antibiótico (APCa) tuvieron la menor incidencia y severidad de diarreas en relación a las que consumieron las dietas bajas en proteína, mostrando que el antibiótico fue más efectivo, manteniendo controlada a la población bacteriana y sus procesos fermentativos (Hermes *et al.*, 2009; Escobar *et al.*, 2014). Esta controversia aparentemente puede ser explicada por la concentración de proteína dietética. En este trabajo las dietas bajas en proteína tenían 18% de PC, mientras que datos publicados por diferentes autores evidencian que el consumo de dietas con niveles menores a 18% de PC reduce la fermentación proteínica en el tracto gastrointestinal (Nyachoti *et al.*, 2006; Htoo *et al.*, 2007; Heo *et al.*, 2009; Escobar *et al.*, 2014), mejora la consistencia fecal (Yue y Quiao, 2008; Wellock *et al.*, 2008) y disminuye la respuesta inflamatoria del tracto gastrointestinal y por lo tanto lleva a una mejor salud intestinal (Opapeju *et al.*, 2010).

La adición de probióticos a esta dieta (APCap), no mostró un efecto sinérgico en la reducción de las diarreas, indicando que probablemente la presencia de antibiótico inactivó la acción esperada de los probióticos en el control de las diarreas. Tampoco la adición de probiótico a la dieta baja en proteína (BPCp) produjo un efecto positivo. Estos resultados contradicen a Morales *et al.* (2014), quienes utilizaron el mismo probiótico del presente estudio y no observaron diferencias en la presencia y severidad de diarreas adicionando a las dietas antibiótico y/o probióticos. También Estienne *et al.* (2005) reportan que los lechones alimentados con dietas adicionadas con probióticos tuvieron una baja incidencia y severidad de diarreas.

La efectividad de los probióticos no siempre es consistente, ya que estos no necesariamente son benéficos a los cerdos, debido a las variaciones en el diseño de los protocolos de investigación y a su interacción con microorganismos comensales y patógenos dentro del intestino (Alexopoulos *et al.*, 2004). Así mismo, Yan *et al.* (2009) y Meng *et al.* (2010), postulan que el efecto de los probióticos depende del tipo de probiótico utilizado, la dosis ofrecida y la concentración de los nutrimentos en las dietas que los adicionan, así como de las variaciones que pueden observarse entre los animales; es por esto que en algunos casos se observan efectos benéficos y en otros efectos dañinos.

La baja incidencia de las diarreas en la primera semana posdestete y su incremento en la segunda semana, probablemente puede deberse a un mayor consumo de alimento, que trae consigo una alta disponibilidad de sustrato para la proliferación de bacterias potencialmente patógenas (Williams *et al.*, 2005; Lallès *et al.*, 2007). Los animales de este estudio incrementaron su consumo diario de alimento en un 40% en promedio entre la primera y segunda semana posdestete. Los lechones en estas dos primeras semanas después del destete están pasando por un proceso de adaptación y de incremento de su capacidad digestiva. La severidad de las diarreas también mostró un comportamiento similar a la incidencia de las mismas en función del tiempo posdestete, lo que corrobora lo reportado Escobar *et al.* (2014). Sin embargo, comparando los resultados de este trabajo con los presentados por estos autores, se observa un índice de severidad de diarreas promedio mayor de los animales del presente trabajo en la semana dos en relación a lo reportado por ellos (2.3 vs 1.8), a pesar de la similitud que presentan en la semana uno posdestete (0.7 vs 0.8). Esto sugiere que las condiciones experimentales (manejo, higiene, etc.) juegan un papel importante en la severidad de las diarreas posdestete (Le Bellego y Noblet, 2002; Dirkzwager *et al.*, 2005).

Desempeño zootécnico

El nivel de proteína dietética o la presencia de antibiótico y/o probióticos no tuvieron un papel importante en los parámetros productivos de los animales en el presente trabajo. El efecto del antibiótico no se observó en los animales que consumieron las dietas altas en proteína (APCa y APCap), a pesar de las diferencias numéricas en ganancia de peso durante la semana uno posdestete (30 g/día de diferencia entre grupo con antibiótico y sin antibiótico). Estas observaciones no son las esperadas, ya que la literatura indica que el antibiótico agregado en las dietas funciona como promotor de crecimiento (Opapeju *et al.*, 2009). Stein y Kil (2006), Wellock *et al.* (2006) y Opapeju *et al.* (2009) mencionan que los animales alimentados con una dieta alta en proteína y con antibiótico deben tener un crecimiento acorde a su capacidad genética. Sin embargo, el destete implica un desafío para los lechones debido a que durante los primeros tres días se observa un consumo errático de alimento, independientemente del tipo de dieta, mientras que unos animales comen, otros sufren una anorexia transitoria que se ve reflejada con el bajo crecimiento, lo que da lugar a una gran variación en el comportamiento productivo (Bruininx *et al.*, 2001; Lallès *et al.*, 2007; Opapeju *et al.*, 2009). Este fue el caso en el presente experimento, en donde se observó una gran variación en las ganancias de pesos de los animales al interior de cada tratamiento. Esto probablemente no permitió diferenciar estadísticamente las diferencias numéricas observadas, tal como lo mencionan Steel y Torrie (1997). Probablemente el estrés al que se sometieron los lechones sobrepasó la capacidad del antibiótico (Stein y Kil, 2006), o de la presencia de probiótico o mismo de la reducción del nivel de proteína dietética para controlar la proliferación microbiana durante el destete, ya que, como fue mencionado anteriormente, en todos los corrales se presentaron animales con diarreas.

En la semana dos, los lechones del grupo sin antibiótico mejoró sus parámetros productivos y la diferencias numéricas entre ambos grupos desaparecieron. Esto puede deberse a que, una vez los animales se adaptaron a la dieta (después de una semana de consumo) fueron más eficientes para digerir y absorber los componentes dietéticos e incrementaron la capacidad de utilización de los nutrimentos para su crecimiento.

Tampoco la respuesta encontrada en el presente trabajo en relación al uso de probióticos fue la esperada. Meng *et al.* (2010) refieren que uno de los mecanismos de acción de los probióticos es mejorar la digestibilidad de los nutrientes, debido a que las bacterias proveen de enzimas exógenas al animal, las cuales digieren nutrimentos que el animal no está en capacidad de digerir (Alexopoulos *et al.*, 2004). Esto es muy importante en los lechones recién destetados, ya que poseen un tracto gastrointestinal inmaduro, siendo incapaces de digerir completamente el alimento, por lo que la presencia de probiótico debería ser benéfica, permitiendo que el animal obtenga una mayor cantidad de nutrientes disponibles para la absorción y el crecimiento (Lallès *et al.*, 2007). En la literatura se han encontrado datos controversiales, en donde se menciona que los probióticos tienen un efecto benéfico sobre el crecimiento de los animales, en otros estudios se observa que al contrario, los probióticos tiene un efecto detrimental en la salud intestinal del cerdo, lo que conlleva a pérdidas importantes de peso (Yan *et al.*, 2009; Meng *et al.*, 2010). Probablemente estas controversias tienen que ver con el tipo, la dosis y el tiempo de consumo del probiótico.

CONCLUSIONES

Los resultados del presente estudio permiten concluir que ni la disminución del nivel de proteína, ni la inclusión de probióticos en la dieta fueron eficientes para contrarrestar la incidencia y severidad de diarreas en lechones recién destetados, por lo que no se equipararon al uso de antibióticos. El comportamiento productivo no fue afectado por el nivel de proteína dietética y por los aditivos (antibiótico y probióticos) utilizados. Esto implica que las diarreas observadas no fueron de una gravedad tal que limitara el crecimiento de los animales. Es necesario investigar más sobre el uso de probióticos, ya que en este estudio se observaron datos contradictorios a lo que normalmente se espera de un alimento funcional.

BIBLIOGRAFÍA

- Alexopoulos C., Georgoulakis I.E., Tzivara A., Kyriakis C.S., Govaris A, Kyriakis S.C. 2004. Field Evaluation of the Effect of a Probiotic-containing *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* Spores on the Health Status, Performance, and Carcass Quality of Grower and Finisher Pigs. J. Vet. Med. 51: 306-312.
- Ball R.O., Aherne F.X. 1987. Influence of dietary nutrient density, level of feed intake and weaning age on young pigs. II Apparent nutrient digestibility and incidence and severity of diarrhea. J. Anim. Sci. 67: 1105-1115.
- Bruininx E.M.A.M., van der Peet-Schwering C.M.C., Schrama J.W., Veijken P.F.G., Vesseur P.C., Everts H., Den Hartog L.A., Beynen A.C. 2001. Individually measured feed intake characteristics and growth performance of group-housed weanling pigs: effects of sex, initial body weight, and body weight distribution within groups. J. Anim. Sci. 79: 301-308.
- Dirkzwager A., Veldman B., Bikker P. 2005. A nutritional approach for the prevention of post weaning syndrome in piglets. Anim. Res. 54:231-236.

- Escobar G. K., Reis de Souza T.C., Mariscal L.G., Aguilera B.A., Bernal M.G., Gómez S.J. 2014. Microbial fermentation patterns, diarrhea incidence, and performance in weaned piglets fed a low protein diet supplemented with probiotics. *Food and Nutrition Science*. 5:1776-1786.
- Estienne M.J., Hartsock T.G., Harper A.F. 2005. Effects of antibiotics and probiotics on suckling pig and weaned pig performance. *Intern. J. Appl. Res. Vet. Med.* 3:303-308.
- Hermes R.G., Molist F., Ywazaki M., Nofrarias M., Gomez de Segura A., Gasa J., Pérez J.F. 2009. Effect of dietary level of protein and fiber on the productive performance and health status of piglets. *J. Anim. Sci.* 87:3569-3577.
- Heo J.M., Kim J.C., Hansen C.F., Mullan B.P., Hampson D.J., Pluske J.R. 2009. Feeding a diet with decreased protein content reduces indices of protein fermentation and the incidence of postweaning diarrhea in weaned pigs challenged with an enterotoxigenic strain of *Escherichia coli*. *J. Anim. Sci.* 87:2833-2843.
- Htoo J.K., Araiza B.A., Sauer W.C., Rademacher M., Zhang Y., Cervantes M., Zijlstra R.T. 2007. Effect of dietary protein content on ileal amino acid digestibility, growth performance, and formation of microbial metabolites in ileal and cecal digesta of early-weaned pigs. *J. Anim. Sci.* 85: 3303-3312.
- Lallès J.P., Bosi P., Smidt H., Stokes C., 2007. Weaning a challenge to gut physiologists. *Livest. Sci.* 108:82-93.
- Le Bellego L., Noblet J. 2002. Performance and utilization of dietary energy and amino acids in piglets fed low protein diets. *Livest. Prod. Sci.* 76: 45-58.
- Meng Q.W., Yan L., Ao X., Zhou T. X., Wang J. P., Lee J. H., Kim I. H. 2010. Influence of probiotics in different energy and nutrient density diets on growth performance, nutrient digestibility, meat quality, and blood characteristics in growing-finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 88: 3320-3326.
- Morales J.P., Moneta A. I., Reis de Souza T.C., Machado G.Y., Mariscal L. G., Aguilera B.A., Escobar G.K. 2014. Efecto del nivel de proteína dietética y del uso de un probiótico (*Bacillus subtilis* y *Bacillus licheniformis*) en dietas para lechones sobre las diarreas posdestete. En Memorias de VII Foro de Investigación de Posgrado, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México. pp. 132-142.
- Nyachoti C.M., Omogbenigun O., Rademacher M., Blank G. 2006. Performance responses and indicators of gastrointestinal health in early-weaned pigs fed low-protein amino acid-supplemented diets. *J. Anim. Sci.* 84: 125-134.
- Opapeju F.O., Krause D.O., Payne R.L., Rademacher M., Nyachoti C.M. 2009. Effect of dietary protein level on growth performance, indicators of enteric health, and gastrointestinal microbial ecology of weaned pigs induced with postweaning colibacillosis. *J. Anim. Sci.* 87:2635-2643.
- Opapeju F.O., Rademacher M., Payne R.L., Krause D.O., Nyachoti C.M. 2010. Inflammation- associated responses in piglets induced with post-weaning colibacillosis are influenced by dietary protein level. *Livest. Sci.* 131: 58-64.
- SAS. 2008 SAS/STAT User's Guide (Version 6, 4th Ed.). Cary NC: SAS Inst. Inc.
- Steel R.G.D., Torrie J.H. 1997. Principles and procedures of statistics. A Biometrical approach. 6th Edition. McGraw-Hill Kogakusha, Ltd.
- Stein H.H., Kil D.Y. 2006. Reduced use of antibiotic growth promoters in diets fed to weanling pigs: Dietary tools, Part 2. *Anim. Biotechnol.* 17: 217-231.

- Walker W.A. 2008. Mechanism of action of probiotics. Clin. Infect. Diseases 46:S86-91.
- Wellock I.J., Houdijk J.G.M., Kyriazakis I. 2006. Effect of dietary non-starch polysaccharide solubility and inclusion level on gut health and the risk of post weaning enteric disorders in newly weaned piglets. Livest. Sci. 108: 186-189.
- Wellock I.J., Fortomaris P.D., Houdijk J.G.M., Kyriazakis I., 2008. Effects of dietary protein supply, weaning age and experimental enterotoxigenic *Escherichia coli* infection on newly weaned pigs: health. Animal 2:6 834-842.
- Williams B.A., Bosch M.W., Awati A., Konstantinov S.R., Smidt H., Akkermans A.D.L., Verstegen M.W.A., Tamminga S. 2005. In vitro assessment of gastrointestinal tract (GIT) fermentation in pigs: Fermentable substrates and microbial activity. Anim. Res. 54: 191-201.
- Yan L., Wang J.P., Kim H.J. 2009. Influence of essential oil supplementation and diets with different nutrient densities on growth performance, nutrient digestibility, blood characteristics, meat quality and fecal noxious gas content in grower- finisher pigs. Livest. Sci. 128:115-122.
- Yue L.Y., Qiao S.Y. 2008. Effects of low-protein diets supplemented with crystalline amino acids on performance and intestinal development in piglets over the first 2 weeks after weaning. Livest. Sci. 115: 144-152.

Evaluación de la capacidad de los hongos *Penicillium* y *Aspergillus* spp en la producción de aromáticos y ácidos orgánicos variando la concentración de lignina residual de paja de trigo.

Eliseo Silva Espino^a, E Baltierra-Trejo, J. M. Sánchez-Yáñez, Liliana Márquez-Benavides^a,

^aInstituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, enfriafarmaotmail.com, baltied@yahoo.com.mx, lili.marquez@gmail.com

^bInstituto de Investigaciones Químico Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, syanez01@hotmail.com

RESUMEN

Sin duda, uno de los grandes retos de la humanidad es el de convertir los procesos productivos en limpios, eficientes energéticamente y baratos mediante el uso de microorganismos. La lignocelulosa es la fuente de carbono renovable más prometedora para solucionar los problemas actuales de energía y materias primas. Subproductos y residuos conteniendo cantidades importantes de lignina, son sustratos atractivos para poder ser utilizado para la producción de insumos en procesos industriales para recuperar algún componente que tenga un mercado demandante. El objetivo de este trabajo fue obtener una producción de compuestos aromáticos y ácidos carboxílicos con potencial biotecnológicos, a partir de la despolimerización de lignina residual de paja de trigo por Ascomicetos. Para ello se utilizó lignina residual de paja de trigo (LIREPATO) como fuente de carbono en diferentes concentraciones de 20, 30, 40 y 50 g/L, se probaron dos cepas de ascomicetos AT4 y AA4 que se incubaron durante 28 días, muestreando semanalmente para determinar el porcentaje de despolimerización, producción de aromáticos y ácidos carboxílicos mediante pérdida de biomasa y cromatografía de gases respectivamente. Se identificaron aromáticos, ácidos fenólicos y ácidos carboxílicos de cadena corta, existiendo diversidad y cantidad en los primeros 7 días de incubación posteriormente se nota un decaimiento en ambos factores, indicando el metabolismo de ácidos dentro de la primer semana. Encontrándose mayores cantidades de ácido acético y siríngico por el Ascomiceto AA4 en la concentración.

1. INTRODUCCIÓN

Sin duda, uno de los grandes retos de la humanidad es el de convertir los procesos productivos en procesos limpios y eficientes energéticamente. La biotecnología tiene un papel importante que desempeñar en esta transformación tecnológica [1]. Ya que en muchos países, quemar residuos agrícolas continúa siendo la manera más económica y fácil de deshacerse o reducir el volumen de materiales producto de las actividades del campo [2]. Tal práctica repercute considerablemente en las emisiones de CO₂, CO, PM₁₀, CH₄ e hidrocarburos aromáticos policíclicos al medio ambiente, ocasionando un deterioro de la calidad del aire; así como problemas en la salud pública, como son enfermedades respiratorias [3,4]. Desaprovechando el potencial biotecnológico de esta biomasa debido a puede ser utilizado como sustrato para la producción fermentativa de insumos en procesos industriales, o bien, que el material pueda ser sometido a extracciones para recuperar alguno de sus componentes que tenga un mercado demandante [5]. En el caso específico de la lignina residual de paja de trigo, un biopolímero vegetal construido a base de unidades de fenilpropanoides [6], presenta enlaces covalentes de tipo aril-éter, aril-aril y carbono-carbono [1]. La lignina también representa una fuente renovable y potencialmente valiosa para la obtención de

compuestos químicos fundamentalmente de tipo aromáticos y ácidos orgánicos. Por lo tanto, hay un interés en los métodos biológicos de degradación de lignina [6]. Siendo de interés los microorganismos llamados hongos de la podredumbre blanca del phylum Ascomycota que producen enzimas oxidativas como lacasas y peroxidasas [7], estas enzimas no presentan una especificidad alta, por lo tanto pueden tener actividad sobre diferentes compuestos de tipo fenólicos y azo [8]. La lignina al ser despolimerizada, libera guayacol, alcohol coniferílico, alcohol vainillínico, metoximetil fenol, metoxi-p-cresol, ácido ferúlico, ácido gálico, ácido hidroxibenzoico, alcohol cumarílico, ácido cumárico, syringaldehído, hidrozibenzaldehído [2]. La ruptura de anillos aromáticos a ácidos orgánicos ocurre como continuidad del metabolismo. Tras la ruptura del anillo aromáticos se obtiene una molécula similar a un ácido graso el cual puede ser degradado a acetil-CoA o hasta ácido acético por β -oxidación, mediante la oxidación de 2 átomos de carbono, en donde la acil-CoA sintetasa (o ácido graso tioquinasa) es la enzima que cataliza esta reacción. El objetivo de este trabajo fue, obtener una producción de compuestos aromáticos y ácidos carboxílicos con potencial biotecnológicos, a partir de la despolimerización de lignina residual de paja de trigo por *Penicillium chrysogenum* y *Aspergillus fumigatus*.

2. PARTE EXPERIMENTAL

Cultivo de Ascomicetos.

De la colección del Laboratorio de Microbiología Ambiental del Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas de la UMSNH se consideraron los ascomicetos AT4 y AA4. La LIREPATO se extrajo de paja de trigo seca, para ello se molió y tamizó en malla de 0.0841 mm, se le adicionó ácido acético ($\text{CH}_3\text{-COOH}$) al 10% (v/v)/30 min en proporción 1:2 (p/v), se neutralizó con NaOH al 10% (p/v), se sometió a 120° C/60 min, se lavó con agua destilada y se secó a 70° C/24 h.

Los Ascomicetos se activaron en medio agar-LIREPATO (g l^{-1}): LIREPATO 10; peptona de caseína 5; extracto de levadura 1.3; K_2HPO_4 0.17; KH_2PO_4 2.61; MgSO_4 1.5; NaCl 0.9; CuSO_4 0.05; se adicionó azul de bromotimol 10 ppm; 2.5 ml de solución detergente al 10% (p/v), y 1 ml l^{-1} de solución de oligoelementos (g l^{-1}): H_3BO_3 2.86; $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.22; $\text{MnCl}_2\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.81; KMnO_4 0.09; se agregó agar 18 g l^{-1} , se ajustó el pH a 5.5 y se esterilizó a 121° C durante 20 min [9].

Para separar el micelio del medio agar-LIREPATO se vació a la placa 15.0 ml de solución salina-detergente estéril (12 ml NaCl 0.85% y 3.0 ml detergente 0.01%), se removió el micelio con asa micológica y se recuperó con pipeta. Se inocularon 12.5 ml de micelio de cada ascomiceto en matraces Erlenmeyer de 500 ml con 300 ml de medio líquido LIREPATO a diferentes concentraciones 20, 30, 40 y 50 g l^{-1} , se incubaron en agitador rotatorio por 28 días a 30° C y 150 rpm. Se tomó muestra a los 7, 14, 21, 28 días para determinar e identificar aromáticos y ácidos orgánicos provenientes del metabolismo de compuestos aromáticos.

Determinación del porcentaje de despolimerización de la LIREPATO.

La despolimerización de la LIREPATO por los Ascomicetos se determinó a los 28 días de incubación, para ello el caldo LIREPATO se filtró y el remanente se lavó con agua destilada, se secó a 70° C por 24h y se calculó el porcentaje de despolimerización por pérdida de peso.

Identificación y cuantificación de aromáticos.

Para el análisis en el cromatógrafo usar una columna capilar (megabore) DB-5 (fennil metil polisiloxano) de 30 m de longitud x 0.53 mm de diámetro interno. Establecer las siguientes condiciones para el análisis: Temperatura del inyector: 270° C, Temperatura del FID: 300° C con rango 12, Flujo de gas transportador (nitrógeno) en columna: 15 ml/min, Flujo de makeup (nitrógeno complementario): 15 ml/min, Flujo de hidrógeno en FID: 30 ml/min, Flujo de aire en FID: 290 ml/min, Programa de temperatura en la columna: Temperatura inicial de 70° C por 4 min, rampa de 20° C/min y temperatura final de 240° C. Tomar 5 mL de las muestras centrifugadas y acidificar a un pH de 1 – 2 con HCl concentrado, adicionar NaCl a saturación y extraer la muestra en una ocasión con 3 ml de acetato de etilo. Colocar los extractos combinados en un baño de hielo

para después llevar la mezcla a temperatura ambiente antes de inyectarla en el cromatógrafo. Usar como patrones una mezcla estándar de los ácidos fenólicos p-hidroxibenzoico, vainillínico, ferúlico y siríngico, así como de vainillina y guayacol, con una concentración de 1mg/ml (p/v) disueltos en acetato de etilo, de la marca Sigma-Aldrich.

Identificación y cuantificación de ácidos orgánicos.

Se determinaron los ácidos orgánicos producto del metabolismo de los productos aromáticos procedentes de la despolimerización de la LIREPATO por cromatografía de gases con un equipo VARIAN CP 3800. Las muestras fueron centrifugadas a 10 000 rpm durante 10 min. Inyectar en el cromatógrafo 2.0 μ L con jeringa para líquidos de 5 μ L. El cromatógrafo de gases funciona con una columna capilar para ácidos orgánicos de 60.0 m x 0.53 mm (Agilent 125-3262), el flujo de nitrógeno 10 ml/min. La temperatura del horno, inyector y detector FID fueron de 90.0, 200.0 y 210.0 °C, respectivamente. La curva de calibración se preparó con disoluciones de ácido acético, propiónico, butírico, isobutírico, valérico, isovalérico, caproico.

4. RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Determinación del porcentaje de despolimerización de la LIREPATO.

El ascomiceto que logra mayor porcentaje en la despolimerización de LIREPATO fue el AT4 perteneciente al género *Penicillium* con 32.4 % en la concentración de 30 gL^{-1} a los 28 días de incubación, el Ascomiceto AA4 perteneciente al género *Aspergillus* obtuvo su mayor valor de 26.2 % en la concentración de 20 gL^{-1} (tabla 1), la capacidad de ambos Ascomicetos es similar a la reportada en algunos Basidiomicetos como *Phlebia radiata* y *Phlebia brevispora* 29 y 30.5 % ambos a los 30 días de incubación respectivamente [10]. Pero son inferiores a lo reportado en *Trametes versicolor* de 46% a los 21 días de incubación [11]. Aun así entre los tratamientos no presentan diferencia estadística, no obstante no es un resultado determinante para decidir que concentración de LIREPATO es óptima.

Identificación y cuantificación de ácidos carboxílicos.

El Ascomiceto que mantuvo una producción de ácidos orgánicos durante las cuatro semanas de incubación fue el AA4 perteneciente al género *Aspergillus*, se observa que durante la primera semana de incubación (figura 1) existe una producción en cantidad y diversidad por ambos hongos en las 4 concentraciones de LIREPATO. En las semanas restantes (figura 2,3 y 4) se observa una disminución en producción y diversidad en las concentraciones de 30, 40 y 50 gL^{-1} por el Ascomiceto AT4 y AA4 mantiene la producción en diversidad y cantidad en la concentración de 20 gL^{-1} y en las concentraciones de 30, 40 y 50 gL^{-1} la producción de ácido acético. Los resultados obtenidos indican el metabolismo de ácidos orgánicos dentro de la primera semana de incubación, existiendo un mantenimiento de ambos factores en la concentración más baja utilizada de LIREPATO por el género *Aspergillus*.

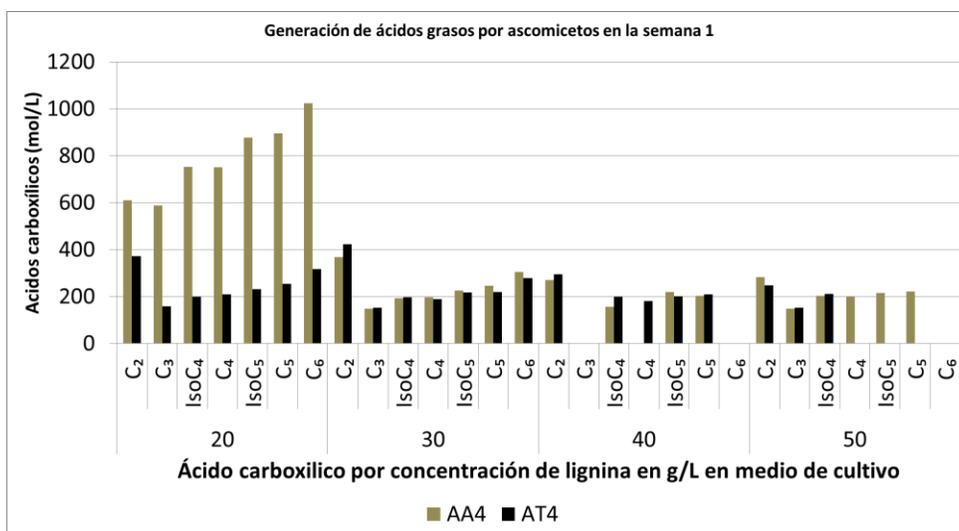


Figura 1 Producción de ácidos orgánicos en la primera semana de incubación por hongos Ascomicetes. C₂ acético, C₃ propiónico, IsoC₄ isobutírico, C₄ butírico, IsoC₅ isovalérico, C₅ valérico y C₆ caproico.

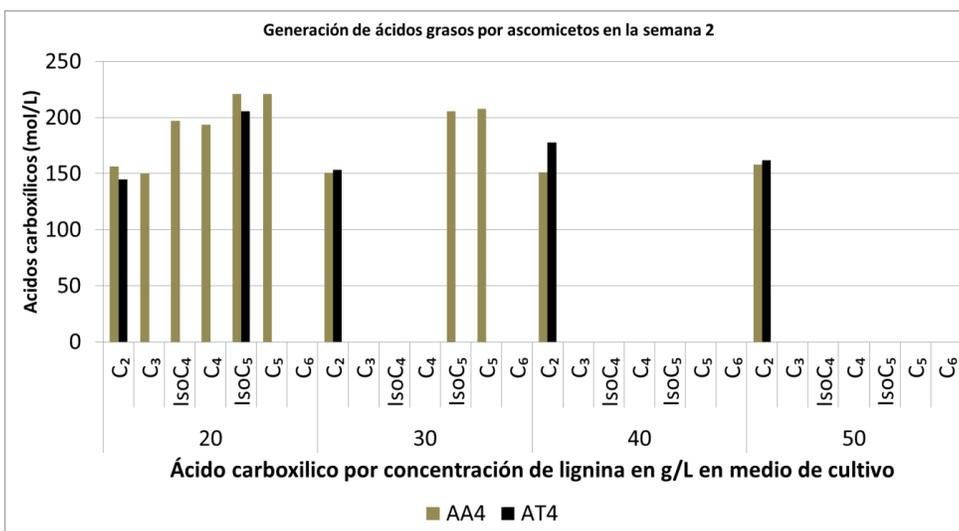


Figura 2 Producción de ácidos orgánicos en la segunda semana de incubación por hongos Ascomicetes. C₂ acético, C₃ propiónico, IsoC₄ isobutírico, C₄ butírico, IsoC₅ isovalérico, C₅ valérico y C₆ caproico.

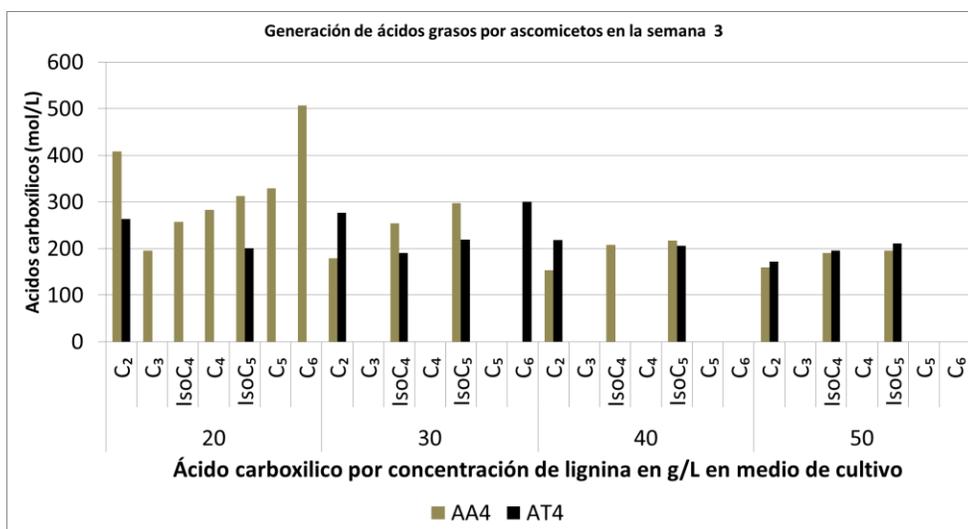


Figura 3 Producción de ácidos orgánicos en la tercera semana de incubación por hongos Ascomicetos. C₂ acético, C₃ propiónico, IsoC₄ isobutírico, C₄ butírico, IsoC₅ isovalérico, C₅ valérico y C₆ caproico.

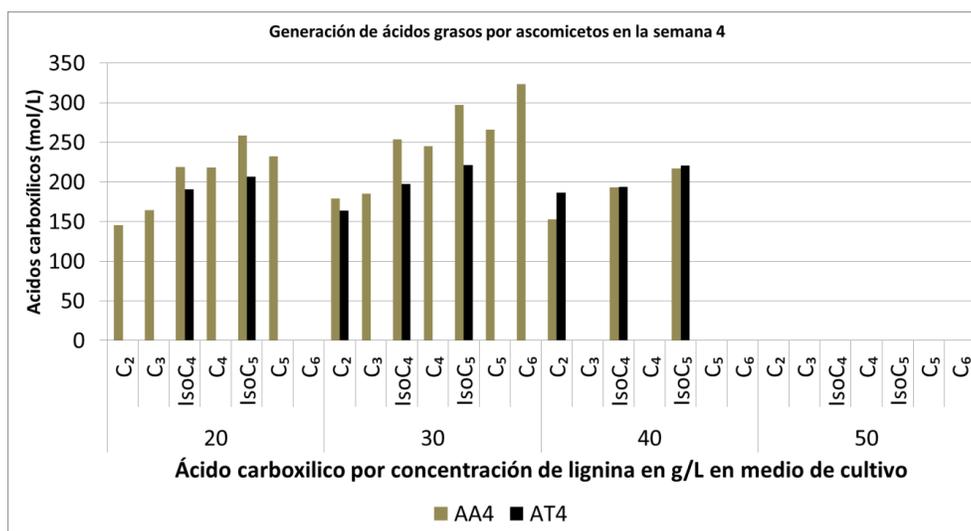


Figura 4 Producción de ácidos orgánicos en la cuarta semana de incubación por hongos Ascomicetos. C₂ acético, C₃ propiónico, IsoC₄ isobutírico, C₄ butírico, IsoC₅ isovalérico, C₅ valérico y C₆ caproico.

Identificación y cuantificación de aromáticos

La producción de aromáticos fue variable a lo largo del experimento pero registrándose máxima en su producción a los 14 días de crecimiento, los aromáticos que se produjeron en mayor abundancia fueron el siríngico con 5249 mg L⁻¹ en la semana 1 de la concentración de 20 mg L⁻¹ de LIREPATO, seguido por ferúlico con 6833 mg L⁻¹ en la primera semana en la concentración de 40 mg L⁻¹ de LIREPATO y el vainillínico con 6974 mg L⁻¹ en la segunda semana en la concentración de 40 mg L⁻¹ de LIREPATO. El HML que produjo mayor concentración de aromáticos fue

Aspergillus fumigatus AA4 en la concentración de 20 mg L⁻¹ de LIREPATO, la concentración 50 mg L⁻¹ tuvo en promedio menor producción de aromáticos (Figura 5 y 6).

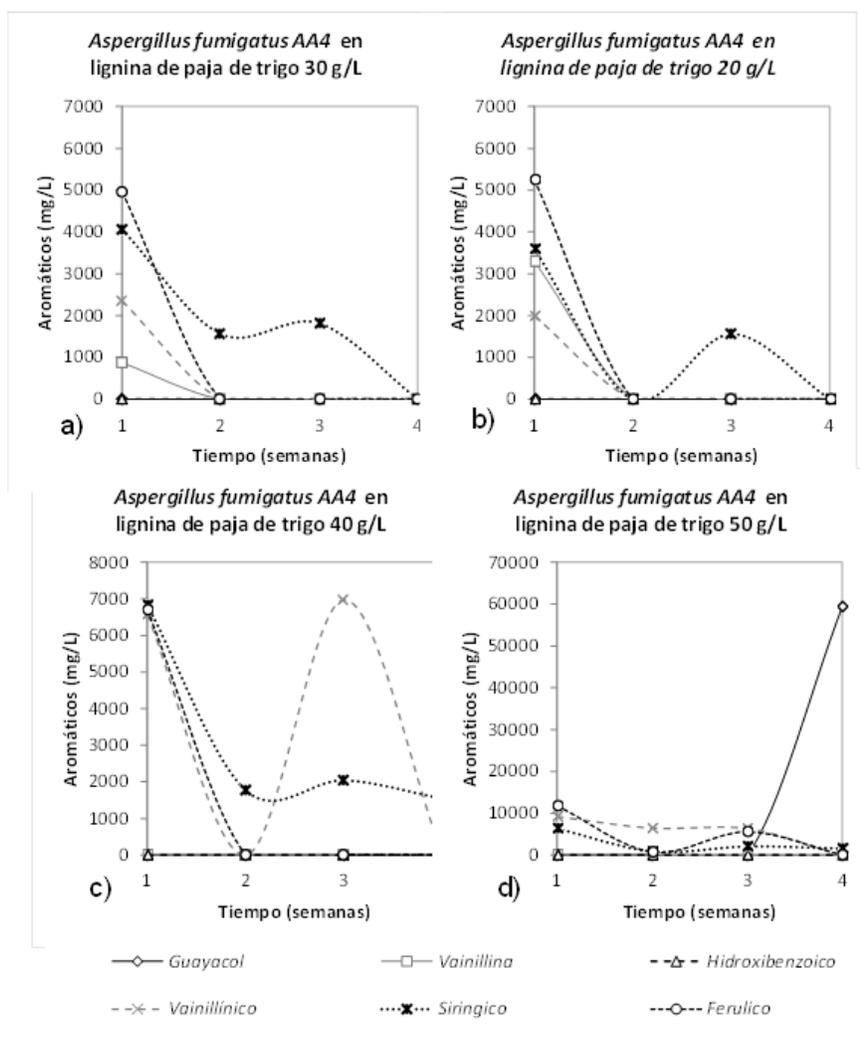


Figura 5 *Aspergillus fumigatus* en la cinética de producción de aromáticos por la despolimerización de lignina residual de paja de trigo a) 20 g/l b) 30 g/l c) 40 g/l d) 50 g/l en 28 días de incubación

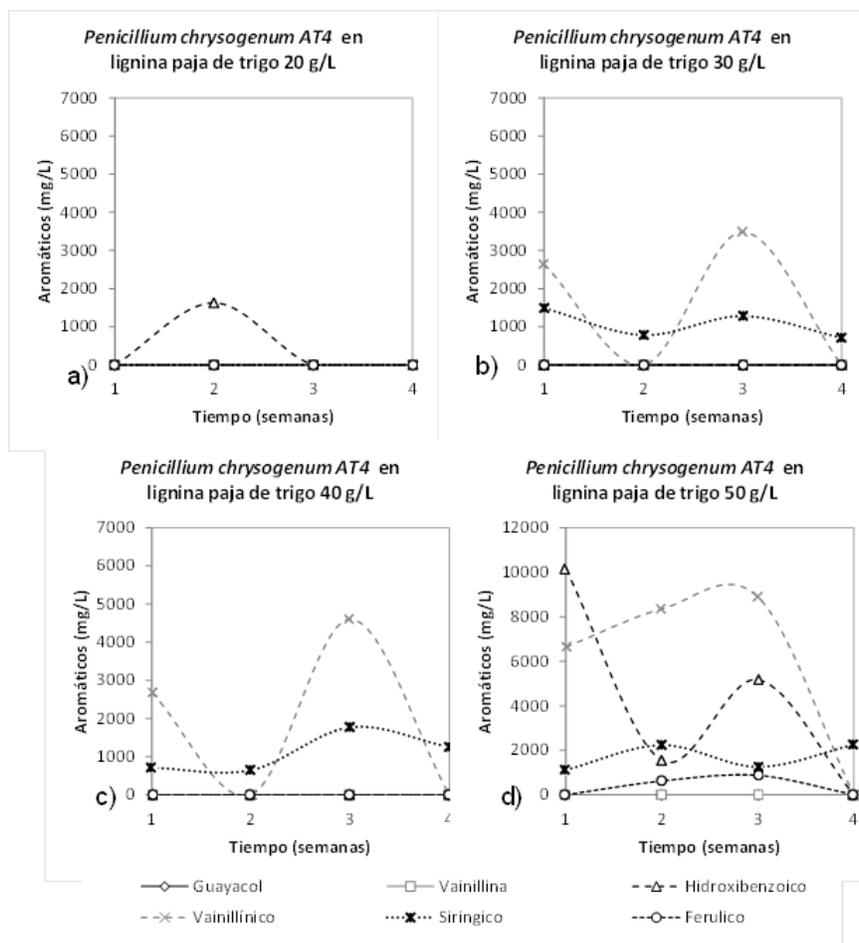


Figura 7 *Penicillium chrysogenum* en la cinética de producción de aromáticos por despolimerización de lignina residual de paja de trigo a) 20 g/l b) 30 g/l c) 40 g/l d) 50 g/l en 28 días de incubación

Los datos obtenidos indican que la LIREPATO resulta ser una materia prima asequible en calidad de sustrato para la producción de compuestos aromáticos procedentes de su despolimerización empleando *Aspergillus fumigatus* y *Penicillium chrysogenum*.

Aspergillus fumigatus es mejor candidato para producir compuestos aromáticos por despolimerización de LIREPATO por que presento mayor producción en cuanto a cantidad y diversidad de compuestos aromáticos en todas las concentraciones de LIREPATO utilizadas. Por el contrario *Penicillium chrysogenum* solo presento cantidad y diversidad de compuestos aromáticos en la concentración de 50 g/L.

BIBLIOGRAFÍA

1. Dávila G, Vázquez-Duhalt R. Enzimas lignolíticas fúngicas para fines ambientales. Mensaje Bioquímico. 2006; XXX: 29-55.
2. González García, Yolanda, González Reynoso, Orfil, Nungaray Arellano, Jesús. Potencial del bagazo de Agave tequilero para la producción de biopolímeros y carbohidrasas por bacterias celulolíticas y para la obtención de compuestos fenólicos-Gnosis [en línea] 2005, () : [Fecha de consulta: 10 de octubre de 2014] Disponible en:<<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=73000314>> ISSN
3. CCA (2014), La quema de residuos agrícolas: fuente de dioxinas, Comisión para la Cooperación Ambiental, Montreal, Canadá, 6 pp.
4. Coronado-Ortega y col., 2011. Hacia la sustentabilidad: Los residuos sólidos como fuente de energía y materia prima: 270-274.
5. Saval S. (2012). Aprovechamiento de residuos agroindustriales: pasado, presente y futuro. BioTecnología, (16)2:14-46.
6. . Chávez - Sifontes y col., 2013. Av. cien. Ing.4:15-46.
7. Alvira Iráizoz P. Estudio y formulación de nuevos cócteles enzimáticos para la mejora de la producción de etanol a partir de paja de trigo [tesis doctoral]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Farmacia; 2011.
8. Páez Llerena M G. Determinación de la actividad enzimática de lacasas y lignina peroxidasas de hongos degradadores de colorantes seleccionados para el tratamiento de aguas residuales de la industria textil [tesis]. Sangolquí: Escuela Politécnica del Ejército, Departamento de ciencias de la vida; 2012.
9. Sánchez-Yáñez J.M., Carrillo J.C., Marqués-Benavides L., Villegas J.A., Dashgupta N. 2007. Breve Tratado De Microbiología Agrícola, Teoría y Práctica. COSUSTENTA, CIDEM, UMSNH, SEDRU. pp: 80-85. Morelia: Michoacán-México. ISBN 978-970-95424-1-7.
10. Arora, D. S., & Sharma, R. K. (2009). Comparative ligninolytic potential of *Phlebia* species and their role in improvement of in vitro digestibility of wheat straw. *Journal of animal and Feed Sciences* , 151-161.
11. Salvachúa, D., Prieto, A., López-Abelairas, M., Lu-Chau, T., Martínez, Á. T., & Martínez, M. J. (2011). Fungal pretreatment: An alternative in second-generation ethanol from wheat straw. *Bioresource Technology* , 7500-7506.

DETERMINACIÓN DE AGREGADOS DE BETALACTOGLOBULINA EN LECHE MEDIANTE ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL DE INFRARROJO

Nidia Corona^a, Raúl Delgado^a, Orlando Zaca^a, Héctor Ruiz^b, Beatriz Martínez^a,

^aCentro de Investigación en Biotecnología Aplicada del IPN, Carretera est. Sta Inés Tecuexcomac-Tepetitla Km 1.5, C.P. 90700, Tepetitla de Lardizabal Tlaxcala, México. aiddinn@hotmail.com, rdmacuil@yahoo.com.mx, bety_spla@yahoo.com.mx

^bBenemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ing. Química, Colegio de Ing. en Alimentos. 72570 Puebla Puebla, hector.ruiz@ymail.com

RESUMEN

La pasteurización es el método de conservación de leche más empleado, por su excelente relación efectividad/costo. El objetivo fundamental del calentamiento es la destrucción de los microorganismos patógenos, deteriorativos y la inactivación de las enzimas; sin embargo, se pueden presentar algunos cambios de naturaleza fisicoquímica. Los efectos dependen de la combinación temperatura - tiempo. Al calentar la leche, β -lactoglobulina (BLG) reacciona con otras proteínas lácteas, generando complejos BLG-BLG y k-caseína-BLG principalmente. El objetivo del presente trabajo es evaluar el tipo de agregado proteico generado por efecto del tratamiento térmico, utilizando una metodología alternativa a las que actualmente se utilizan por medio de espectroscopia de IR por transformada de Fourier (FTIR). Inicialmente se trató la leche con tres diferentes condiciones de pasteurización, 63°C/30 minutos, 72°C y 78°C/1 minuto, la cinética de pasteurización se siguió por medio de un sistema peltier en el equipo IR en el modo ATR. Los tiempos de medición fueron cada 2 minutos para 63°C y cada 10 segundos para los otros tratamientos; los resultados espectrales mostraron que en los primeros tiempos de cada tratamiento se generaban en mayor cantidad el complejo κ CN- β LG y cuando los tiempos se incrementaban formaba mayor cantidad del complejo β LG- β LG.

1. INTRODUCCIÓN

La leche es una de las materias primas alimenticias más relevantes desde el punto de vista nutricional y comercial; particularmente la de origen bovino, es uno de los productos alimenticios de mayor consumo a nivel mundial. La producción de leche en México representa el 1.8% del mercado mundial, con 11,033,000 toneladas.

La pasteurización es el tratamiento más común para eliminar microorganismos patógenos y gran parte de microorganismos deteriorativos en leche. Sin embargo, se ha demostrado que este proceso conlleva cambios importantes en las propiedades fisicoquímicas, reológicas, microestructurales y sensoriales de leche fluida y, en consecuencia, de otros productos lácteos. Las altas temperaturas pueden provocar efectos indeseables en la leche, como alteraciones del sabor, pardeamiento no enzimático ó desnaturalización proteica, etc. (Fox y Mc Sweeney, 1998). El seguimiento de posibles modificaciones de proteínas lácteas por procesos de conservación térmica es de vital importancia para establecer criterios de uso para la leche. Para el análisis de las posibles modificaciones en las proteínas lácteas, se han empleado métodos convencionales (cromatografía líquida, difracción de rayos X, electroforesis en gel de poliacrilamida, etc.), pero

resultan ser costosos. Además, por el volumen de producción se hace necesaria la implementación de técnicas de análisis que permitan una toma de decisiones rápida y objetiva. Dentro de este contexto, las técnicas ópticas, como la espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) representan una opción de consideración (Muller, et al., 2004).

El objetivo del presente trabajo es evaluar el tipo de agregado proteico generado por efecto del tratamiento térmico, utilizando una metodología alternativa a las que actualmente se utilizan por medio de espectroscopia de IR por transformada de Fourier (FTIR).

2. PARTE EXPERIMENTAL

Muestras de leche

La leche bovina empleada en este trabajo fue obtenida de un proveedor local, descremada a 40°C el mismo día de su recolecta empleando una descremadora centrífuga eléctrica (LKL, Bulgaria), trabajando a 10500 rpm. Una vez separada la leche en fracciones de leche descremada y crema se determinó la composición de ambas mediante un analizador de leche ultrasónico (Lactoscan S, Milkotronic LTD, Nova Zagora, Bulgaria). Las fracciones se mezclaron en proporciones conocidas para estandarizar la leche a una composición ajustada al 3% de grasa.

Espectros de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)

Los espectros de IR se obtuvieron en un equipo FTIR Bruker Vertex 70 en la región de 600 a 4000 cm^{-1} , utilizando el modo de ATR con un cristal de diamante de una reflexión. Se tomaron 20 μl de cada muestra de leche y se colocaron en el porta muestras del equipo, analizándose por triplicado. A cada muestra se le dio un tiempo de adquisición de 120 s, por lo tanto, los espectros finales mostrados en este trabajo, son el resultado del promedio de 360 mediciones. El porta muestras tiene implementado un sistema de calentamiento Peltier con capacidad de control digital de temperatura de hasta 120°C con módulo de control externo digital (PIKE Technologies, Madison, WI) y software de control de temperatura y se realizaron cinéticas bajo temperatura controlada de 63°C, 72°C, y 83°C.

3. RESULTADOS

En la Figura 1 se muestra el arreglo de los espectros de cada estándar de proteína láctea en solución acuosa, sin tratamiento utilizando como línea base agua; las líneas negra, roja y azul, pertenecen a las caseínas β , α y κ respectivamente y la línea verde es βLG .

Se observa una región característica a las caseínas que es de 1700-1600 cm^{-1} y 1600-1500 cm^{-1} propias de las vibraciones asociadas a la amida I y a la amida II respectivamente, dichas regiones se han identificado basados en estudios teóricos y experimentales (Ram, 2000). En contraste para βLG se observa también la presencia de la Amida III que va de 1350-1200 cm^{-1} , lo que revela que tiene una estructura más compleja debido a que se trata de una proteína globular.

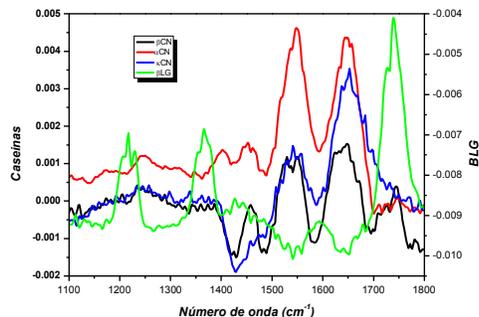


Figura 1. Espectro característico de estándares de proteínas lácteas.

En la Figura 2 se observa la cinética de agregación de β LG en solución acuosa tratada en el sistema peltier a 63°C monitoreada por 60 min. En la figura se señala la cinética de agregación de β LG- β LG en el que en los picos asociados al polímero β LG- β LG (1632 y 1642 cm^{-1}) (Considine et al., 2007) presentan un incremento en intensidad conforme al tiempo, se observa en línea color verde como hay un incremento en intensidad considerable al minuto 18, pero en el minuto 42 (línea color verde olivo) se observa el mayor incremento en intensidad, lo cual está totalmente de acuerdo con la bibliografía, debido a que a ese tiempo y esa temperatura ya la proteína se encuentra desnaturizada (Walstra, 2001); y la banda asociada al complejo β LG- κ CN (1715 cm^{-1}) no presenta cambios, debido a que no hay presencia de κ CN en el sistema modelo.

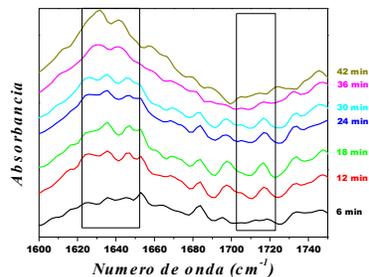


Figura 2. Espectro de absorción de β LG- β LG en solución acuosa a 63°C .

En la Figura 3 se presenta el espectro de la cinética de agregación de las proteínas β LG- κ CN en sistema acuoso, tratadas en sistema peltier. En la figura se observa el comportamiento espectral de la cinética de agregación de las proteínas β LG y κ CN tratadas a 63°C , en el cual hay incremento en intensidad en los picos asociados al polímero β LG- β LG (1631 y 1641 cm^{-1}) principalmente a partir del minuto 36 (línea color rosa), sin embargo el mayor incremento en intensidad se da en los picos asociados al complejo β LG- κ CN (1652 y 1715 cm^{-1}), a partir del minuto 30 (línea color azul claro).

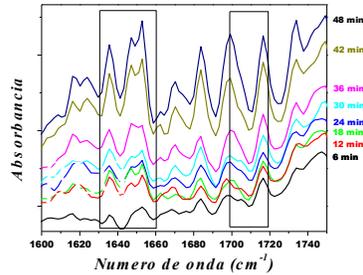


Figura 3. Cinética de agregación de β LG- κ CN en solución acuosa a 63°C.

En la Figura 4 se observa la cinética de agregación de β LG en solución acuosa tratada en el sistema peltier a 72°C monitoreada por 4 min, se observa como desde el principio del tratamiento no se presentó la formación del complejo β LG- κ CN debido a que no hay presencia de κ CN y durante la cinética se aprecia el incremento en intensidad de los picos asociados al polímero β LG- β LG.

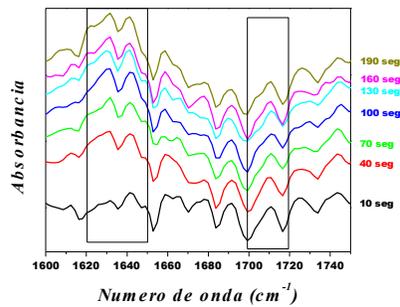


Figura 4. Espectro de β LG- β LG en agua a 72°C en sistema Peltier.

En la Figura 5 se observa la cinética de agregación de β LG- κ CN sometidas a un tratamiento de 72°C, en los primeros 10 segundos (línea negra) del tratamiento se definen los cuatro picos asociados tanto al polímero como al complejo; cuando se continúa con el tratamiento térmico, se presentan mayores cambios en intensidad en los picos asociados al polímero BLG-BLG, mostrando dicho comportamiento desde los 40 seg (línea roja), mientras que el pico a 1715 cm^{-1} no presenta más cambios en intensidad después de los 70 segundos (línea verde), lo cual concuerda con bibliografía, debido a que a este tiempo ya excede la pasteurización y se reporta que hay mayor presencia de polímero.

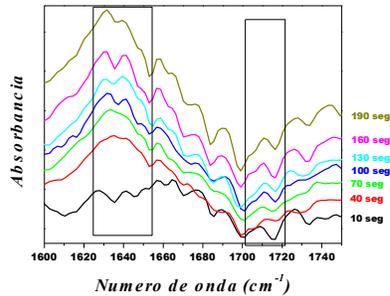


Figura 5. Espectro de β LG- κ CN en agua a 72°C en sistema Peltier.

4. CONCLUSIONES

Para el sistema modelo agua se pudo determinar que a temperaturas bajas de tratamiento (63°C) se tiene una mayor presencia de complejo BLG-KCN, mientras que a 72°C se tiene en los primeros tiempos más complejo BLG-KCN que polímero BLG-BLG, pero conforme se incrementa el tiempo de tratamiento se obtiene más polímero BLG-BLG lo cual concuerda con la bibliografía.

Agradecimientos

A la SIP-IPN por el apoyo mediante el proyecto 20150157.

BIBLIOGRAFÍA

1. Fox, P.F. y P.L.H. Mc. Sweeney. 1998. Dairy Chemistry and Biochemistry. Blackie Academic and Professional. London, U.K.
2. Muller-Renaud, S., Dupont, D., y Dulieu, P. (2004). Quantification of κ -casein in Milk by an Optical Immunosensor. Food and Agricultural Immunology, 15: 265 - 277.
3. Considine T., Patel H.A., Anema S.G., Singh H., Creamer L.K.; Interactions of milk proteins during heat and high hydrostatic pressure treatments — A Review, Innovative Food Science and Emerging Technologies 8 (2007) 1–23.
4. Walstra, T.J. Geurts, A.Noomen, A. Jellema, M. A. J. S. Van Boekel (2001). Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos (1era. ed.). España: Acribia.

CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA Y SU EFECTO SOBRE *E.coli*.

Marina Olivia Franco Hernández^a, C. María del Socorro Camargo Sánchez^a, Faviola Rivas Hernández^a, Ariel Guzmán Vargas^b

^a Instituto Politécnico Nacional- UPIBI. Av. Acueducto S/N Col. Barrio La Laguna Ticomán. Gustavo A. Madero, México D.F. CP 07340. mofrancoh@ipn.mx, qfbsoco@yahoo.com.mx, faviolarivashdz@gmail.com

^b Instituto Politécnico Nacional- ESIQIE. Unidad Profesional Adolfo López Mateos. Col. Lindavista. Gustavo A. Madero México D.F., C.P. 07738 gvariel@hotmail.com

RESUMEN

Los nanomateriales están definidos con tamaños a nanoescala, o que poseen estructura interna a nanoescala. El intervalo de estos valores se considera que va de 1 a 100 nm. En la actualidad se ha reportado que las nanopartículas de plata (AgNP) pueden ser utilizadas como agentes antimicrobianos, aunque todavía no hay reportes que indiquen las condiciones para controlar el tamaño y la estabilidad de las nanopartículas a través del tiempo. En el presente trabajo se sintetizaron nanopartículas de Ag con citrato de sodio (Baker) y AgNO₃ (Sigma-Aldrich). Se mezclaron diferentes concentraciones de plata 0.2, 0.25, 0.3, 0.35, 0.4, 0.45 y 0.5 mM, con 1.25 mL de solución de citrato de sodio. Cada mezcla se calentó a punto de ebullición durante 15 minutos. Las AgNPs obtenidas fueron caracterizadas con imágenes de Microscopía Electrónica de Transmisión y Barrido (TEM) y Microscopía de Fuerza Atómica (AFM). Los resultados demostraron que el tamaño de partícula fue entre 2 y 10 nm. La longitud de onda máxima de las soluciones de AgNPs fue de 425, valor reportado en la literatura y la estabilidad fue de 5 meses. Estas soluciones se probaron con una cepa de *E. coli* y las que mostraron resultados de inhibición del 100% del crecimiento fueron las de 0.4mM y concentraciones superiores. En este caso la concentración mínima inhibitoria fue de 0.4mM.

1. INTRODUCCIÓN.

Las nanopartículas de metales se han usado como biocidas, se tienen algunas referencias como por ejemplo. Guerra (2013) trabajó con nanopartículas de plata y de oro que fueron dispersados en TS-1 silicato con un bajo contenido de titanio, estos materiales fueron evaluados como biocidas para *E.coli* y *Salmonella typhi* resultando eficientes en la eliminación de los microorganismos presentes en el medio nutritivo.

Se han utilizado nanopartículas de plata en soportes de zeolitas como biocidas e inhibidores del crecimiento de patógenos como *Escherichia coli* y *Salmonella typhi* obteniendo buenos resultados (Guerra y cols., 2012), también se han utilizado soportes de silicalita que es una combinación de compuestos de silicón y titanio para plata y oro (20).

Otro material utilizado como biocida es el HKUST-1 metal-estructura orgánica (MOF), el cual fue probado como antifúngico, resultando efectivo contra *Saccharomyces cerevisiae* encontrando actividad antifúngica altamente eficiente y con respecto a *Geotrichum candidum*, se encontró una reducción en el crecimiento de 6.16 a 1.29 UFCml⁻¹ después de 48 horas de incubación. La acción

antifúngica fue relacionada con los iones de cobre en el medio de cultivo, debido a una degradación cristalina del material involucrado en la formación de superficie extra-base Cu (I), los iones de cobre interrumpen el transporte de nutrientes e inhiben la actividad enzimática. (Chiericatti, 2012)

2. TEORÍA. Actualmente hay muchos trabajos de investigación en el tratamiento de aguas enfocados al uso de nanopartículas, esto trae como consecuencia disminución de costos en el proceso, además de dar solución a problemas ambientales, dando lugar a propuestas de tratamientos diferentes a los convencionales. El objetivo del presente trabajo fue preparar y caracterizar nanopartículas de plata (AgNPs) a diferentes concentraciones y probar su efectividad en coliformes fecales, teniendo como especie de estudio a *Escherichia coli*.

3. PARTE EXPERIMENTAL

En el presente trabajo se sintetizaron nanopartículas de Ag con citrato de sodio (Baker) y AgNO_3 (sigma-aldrich). Se mezclaron diferentes concentraciones de plata 0.2, 0.25, 0.3, 0.35, 0.4, 0.45 y 0.5 mM, con 1.25 ml de solución de citrato de sodio. Cada mezcla se calentó a punto de ebullición durante 15 minutos. Para caracterizar las nanopartículas se realizó un análisis por U.V – VIS el equipo que se utilizó fue un espectrofotómetro GBC Cintra 10e y se hizo un barrido de 200 a 800 nm, la microscopía TEM (Microscopía Electrónica de Transmisión) se realizó con el microscopio JEOL JEM-2010 Electron Microscope del Centro de Nanociencias y Nanomateriales del IPN y AFM (Microscopía de Fuerza Atómica) para esta última se utilizó un SPM (Scanning Probe Microscope) marca Digital Instruments ubicado en la UAM Azcapotzalco.

Evaluación de la concentración mínima inhibitoria de las nanopartículas. Se prepararon 100 mL de caldo nutritivo (se pesaron 4.0 g de caldo nutritivo y se llevaron a 500 mL con agua), se inoculó una asada de *E. coli*, la cual fue proporcionada por el laboratorio de microbiología industrial de la ENCB, se dejó agitando durante dos horas (agitación 120 rpm) a una temperatura de 35-37 °C. Pasadas dos horas se colocaron 9 mL del cultivo anterior en diferentes tubos, a cada tubo se le adicionaron 1 mL de la solución de nanopartículas en concentraciones de 0.2, 0.25, 0.3, 0.35, 0.4, 0.45, 0.5 mM de solución de nitrato de plata (esto se hizo por duplicado). De cada uno de los tubos anteriores se tomó 1 ml para sembrar en caja petri por separado con agar nutritivo (esto se realizó por triplicado). Se leyó la absorbancia de los tubos a 600 nm de longitud de onda, se utilizó como blanco una mezcla medio de cultivo y solución de nanopartículas.

4. RESULTADOS. Los resultados demostraron que con la técnica de Turkevich, pueden formarse las nanopartículas de plata (AgNPs). La primera evidencia fue la coloración amarilla dorada, tal como se puede observar en la figura 3a, 3b y 3c. La intensidad de la coloración depende de la concentración de plata en la solución.

Con cada solución de AgNPs, se realizó un barrido en la región ultravioleta visible para conocer la longitud de onda máxima, la cual resultó de 428 nm, tal como lo mencionan Xihui y cols., 2014. Ver figura 2. En la figura 3., podemos observar que el tamaño de las AgNPs no sobrepasa los 10 nm de acuerdo a la técnica de AFM.



Figura 1. Técnica con citrato y diferentes concentraciones de AgNO_3 . a) y b) solución de nanopartículas utilizando 0.45 y 0.5 mM de AgNO_3 respectivamente, c) solución de nanopartículas con concentraciones de 0.2 mM a 0.45 mM de AgNO_3 .

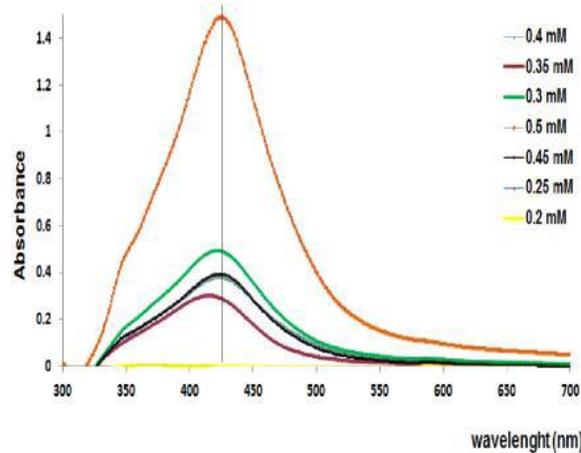


Figura 2. Espectro UV-VIS para las soluciones de AgNPs, utilizando diferentes concentraciones de AgNO_3

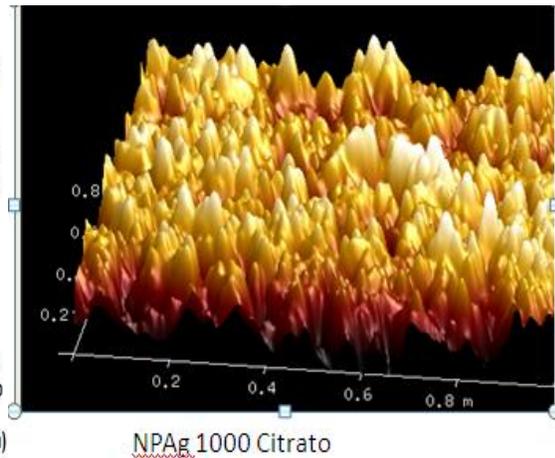


Figura 3. Imagen microscopia fuerza atómica (AFM) para AgNPs 0.45mM

En la figura número 4, podemos observar las imágenes TEM de las AgNPs para las soluciones con concentración 0.35 y 0.45 mM. Se cuantificaron los tamaños de partícula y se realizó el análisis estadístico, obteniendo un comportamiento de distribución gaussiana. En el caso de la solución con concentración 0.35 mM, el diámetro de las AgNPs, osciló entre tres y 8 nm. El mayor número de partículas, presentó un tamaño de 4.5 a 5 nm. En el caso de la solución con 0.45 mM de AgNO_3 , la distribución del tamaño de partículas estuvo entre 2 y 14.5 nm de diámetro. Sin embargo el mayor número de partículas presentó un diámetro de 5 a 5.5 nm.

En general se revisaron todas las soluciones y se pudo observar que con este método la mayor cantidad de AgNPs presentan un diámetro entre 4.5 y 5.5 nm. Un porcentaje menor al 4% presentaron diámetros entre 8 y 14.5 nm, asimismo un porcentaje menor al 2% presentaron valores a 3 nm.

Las coloraciones y tamaños se monitorearon mensualmente durante 6 meses y se observó que presentaron una estabilidad de 5 meses, posteriormente formaron precipitados.

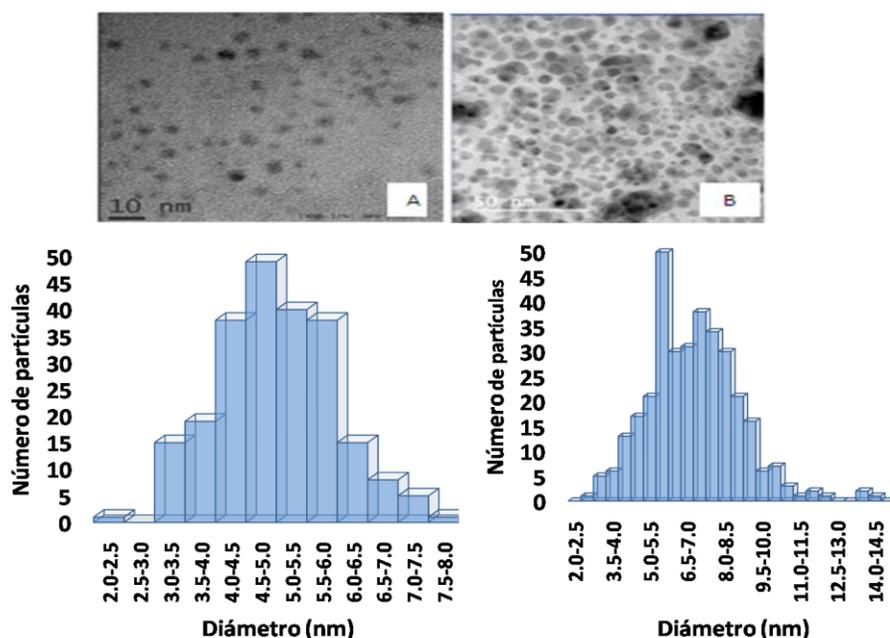


Figura 4. Imagen de las AgNPs por microscopía electrónica de transmisión (TEM) y distribución del tamaño de partículas (A.- 0.35 y B.- 0.45 mM de AgNO₃)

Las soluciones que presentaron un efecto bactericida reproducible fueron las de 0.35mM y 0.45mM, por lo que se eligieron para probarlas en una cinética de crecimiento de la cepa de *Escherichia coli*. Los resultados fueron parecidos a lo demostrado por Guerra (2013). La cinética se realizó con tres matraces erlemeyer conteniendo 300 mL de caldo nutritivo, dos se inocularon con la cepa de *E. coli*, y solo en un matraz se adicionaron 10 mL de AgNps (se realizó por triplicado). Las muestras se tomaron a las 12 h la primera y después cada hora durante las siguientes 7 horas, registrándose la absorbancia. No se obtuvo crecimiento en el blanco y en el cultivo con AgNPs. En el cultivo control se obtuvo una absorbancia máxima de 0.5 a 0.55, que es donde se presentó la fase estacionaria de *E. coli* (figura 5). El blanco presentó una absorbancia de 0.05 debida a la propia turbidez del medio. En los cultivos con inóculo de *E. coli* y AgNPs se observó una absorbancia mayor que el blanco (0.15), esta fue debida al inóculo de la cepa bacteriana, ya que al morir, los desechos celulares quedan en el medio produciendo turbidez y por lo tanto un valor de absorbancia.

Con lo anterior quedó demostrado que desde que las AgNPs tienen contacto con la cepa de *E. coli*, inhiben su crecimiento, eliminándolas ya que al sembrar en placa con agar nutritivo no se obtuvo ningún crecimiento.

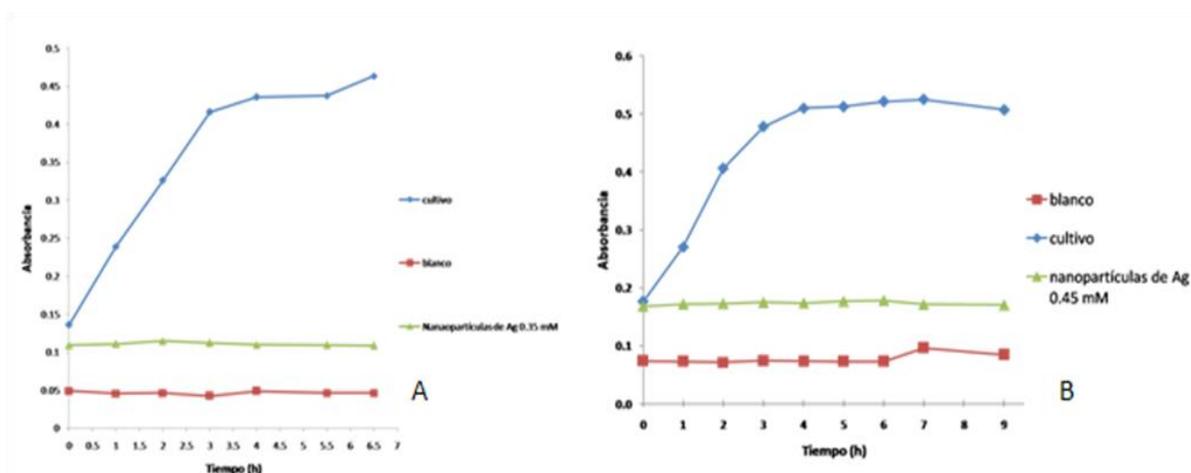


Figura 5.- Cinética de crecimiento para *E. coli*, control en ausencia (◇) y en presencia de nanopartículas (Δ), blanco (□) para 0.35 mM (A) y 0.45 mM (B)

5. CONCLUSIONES

Se obtuvieron las AGNPs con el método del citrato de sodio, se pudo verificar con las técnicas de UV-VIS, TEM y AFM, comprobando que la distribución del tamaño de partícula fue menor a los 10 nm y la mayor población estuvo entre 4 y 6 nm.

La estabilidad de las AgNPs fue de 5 meses.

Las AgNPs en concentraciones de 0.35 y 0.45 mM exhiben una buena actividad antimicrobiana sobre *E. coli*.

La actividad antimicrobiana en cultivo líquido de *E. coli*, se observó desde la primer hora de la cinética de crecimiento.

BIBLIOGRAFÍA

1. R. Guerra. **2013**. Antimicrobial supported nanoparticles: Gold versus silver for the cases of *Escherichia coli* and *Salmonella typhi*. *Microporus and Mesoporus Materials* **170**, 62-66,.
2. R. Guerra, E. L. M. V. A. G. V. L. **2012**. Growth of *Escherichia coli* and *Salmonella typhi* inhibited by fractal silver nanoparticles supported on zeolites, *Microporus and Mesoporus Materials* **147**, 267-273.
3. C. Chiericatti. **2012**. Novel application of HKUsT-1 metal organic framework as antifungal: Biological test and physicochemical characterizations, *Microporus and Mesoporus Materials* **162**, 60-63.
4. Z. Xihui, e. a. **2014**. Microwave-assisted synthesis of silver nanoparticles using sodiualginate and their antibacterial activity, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* **444** (*Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 444 (2014) 180– 188), 180-188.

PRODUCTIVIDAD DE CABRAS LECHERAS RECIBIENDO ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO (CLA) EN LA RACIÓN DURANTE EL PRIMER TERCIO DE LA LACTANCIA.

Delgado HA^{*1}, Bernal SMG¹, Rodríguez GJA², De La Isla HG¹, Domínguez HYM², Gaspar SD², Velázquez GD², Pulido AAR²

¹Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro, Qro., dalia@uaq.mx

²CEIEPAA-FMVZ-UNAM, Tequisquiapan, Qro.

RESUMEN.

Con objeto de evaluar la productividad de cabras lecheras estabuladas suplementadas con CLA, se emplearon 40 cabras raza Alpina y Toggenburg distribuidas completamente al azar entre dos tratamientos: 1) control, sin CLA y 2) suplementación de 30 g CLA/animal/d. El CLA fue incluido en el concentrado comercial (21% PC) al ser extrudido, a razón de 30 g de CLA/animal/d. Los animales fueron alojados en grupos de 10 en 4 corrales con piso de tierra, cuelleras individuales y bebedero, recibiendo por la mañana y tarde heno de alfalfa y 600 g de concentrado/animal/d solo por la mañana. El CLA se suplementó a partir de dos semanas preparto y continuó durante 120 días posparto. Los animales fueron ordeñados una vez al día por la mañana. Diariamente se midió el consumo de concentrado y de forraje y semanalmente la producción individual de leche. Las variables de respuesta fueron producción de leche, consumo de alimento y conversión alimenticia, no encontrándose diferencias entre tratamientos ($P>0.1$) para estas variables, siendo las medias respectivas (\pm EE) de 1.65 ± 0.5 kg leche/d, 2.2 ± 0.04 kg de alimento/d, y de 1.5 ± 0.6 kg de conversión. Bajo las condiciones del presente estudio, la suplementación de CLA a las cabras lecheras durante el primer tercio de la lactación no afectó su productividad.

1. INTRODUCCIÓN.

El CLA, es un grupo de isómeros del ácido linoléico (C18:2, con 18 carbonos y dos dobles ligaduras contiguas) que se encuentran en muchos alimentos de origen animal (Kepler et al., 1966), el cual ha sido evaluado desde diferentes puntos de vista tanto en la alimentación humana como en la animal. Los dos isómeros de mayor abundancia en la leche de la vaca y que más se han evaluado en ganado lechero son el CLA cis-9, trans-11 y el CLA trans-10, cis-12. Algunos de los efectos biológicos de estos CLA's de beneficio para el humano incluyen su efecto anticarcinogénico, previene la arterioesclerosis, reduce el colesterol sanguíneo, estimula al sistema inmune, promueve la mineralización ósea, modula la partición de los nutrientes, reduce la síntesis de grasas (factor antiobesidad en humanos) y en los rumiantes incrementa la producción de leche, deprime la síntesis de la grasa en la leche y en la grasa de la carne de los rumiantes (Bauman and Griinari, 2001; Bauman and Griinari, 2003; Bauman and Lock, 2006). Comparaciones de estudios in vivo han sugerido que el tejido glandular de la cabra es menos sensible que el de la vaca al efecto antilipogénico de los ácidos grasos de cadena larga (Bernard et al., 2013).

Se ha demostrado en trabajos anteriores que la suplementación de CLA a cabras lecheras ha resultado nulos no afectar la concentración de proteína cruda, lactosa, ni sólidos no grasos, pero si se redujo el porcentaje de la grasa de la leche en un 8% cuando se suplementaron 30g diarios de CLA (Lock et al., 2008). Otros autores mencionan que la suplementación de *trans-10,cis-12* a cabras lecheras reduce la síntesis de grasa en leche de manera similar a los bovinos y a ovejas lactantes (Rovai et al., 2007).

En cabras lecheras no ha sido suficientemente evaluado el efecto de la suplementación del CLA sobre su productividad, por lo que se diseñó el presente estudio para conocer si la suplementación de éste afecta o beneficia los parámetros de productividad y los de conversión alimenticia durante los primeros 120 días de lactancia.

2. PARTE EXPERIMENTAL.

El experimento se llevó a cabo en las instalaciones del CEIEPAA-FMVZ-UNAM, en Tequisquiapan Qro Se emplearon 40 cabras multíparas de la raza Alpina, las cuales se distribuyeron de acuerdo a un diseño completamente al azar entre los dos tratamientos a evaluar: 1) control, sin suplementación de CLA y 2) suplementación diaria de 30 g de CLA. El CLA que se empleó es un producto encapsulado que contiene 80% de CLA, constituido con el 50% del isómero cis-9, trans-11 y 50% del trans-10, cis-12 (Lutrell, BASF Mexicana, S.A. de C.V.). El CLA se incluyó en el concentrado comercial al momento de su elaboración. Dos semanas antes del parto, los animales fueron alojados en grupos de 10 en 4 corrales con piso de tierra, cuelleras individuales y bebedero, teniéndose un total de cuatro grupos con 10 animales cada uno, dos por tratamiento (Figura 3).

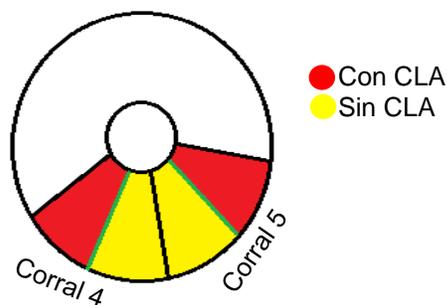


Figura 1. Diseño de corrales y distribución de los tratamientos experimentales

Los animales se pesaron al inicio del estudio y al final de los 120 días de experimentación. Posterior al parto, los animales se ordeñaron una vez al día a las 05:00 horas, al término de la cual se regresaron a su corraleta donde recibieron heno de alfalfa en greña a libertad. La producción de leche se midió de manera individual cada dos semanas a partir de la fecha del parto. A las 14:00 h las cabras se sujetaban de manera individual para ofrecerles su concentrado. Una vez que terminaban el consumo del concentrado, se les liberó y se les volvió a ofrecer el heno de alfalfa. Diariamente se recogió el rechazo del forraje para registrar el consumo voluntario individual. Se monitoreó la calidad del forraje conforme al lote recibido del mismo, tomándose muestras que fueron sometidas a un análisis bromatológico para conocer el contenido de materia seca, proteína cruda y energía bruta empleando los métodos recomendados por la AOAC (1990) y el contenido de fibra detergente neutro y fibra detergente ácido de acuerdo a Robertson y Van Soest (1981). Las variables de respuesta que se evaluaron fueron: producción de leche, consumo de materia seca, conversión alimenticia y cambio de peso. Los valores obtenidos se sometieron a un análisis estadístico para un diseño completamente al azar (Cochran and Cox, 1990), empleando los procedimientos PROC GLM del paquete estadístico de SAS (2001), incluyéndose la producción de leche de la lactancia previa como covariable.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 1 se presentan las medias (\pm error estándar) de las variables de respuesta evaluadas. Como se puede apreciar el número de animales por tratamiento se redujo en virtud de que algunos animales de cada uno de los grupos tuvieron que ser eliminados por problemas de falta de producción o por presencia de mastitis no asociada a los tratamientos. Cabe señalar que a las dos semanas posparto, las crías fueron retiradas y se inició la medición de la producción de leche. El peso inicial de los animales fue similar entre ambos grupos, siendo la media general de 56.1 ± 1.8 kg, y el peso final tampoco fue diferente estadísticamente, aunque en el grupo control el promedio de peso final fue de 55.9 kg y el del grupo recibiendo el CLA fue de 57.8 kg, lo cual indica que la suplementación del CLA no tuvo efecto sobre el mantenimiento de los animales (Cuadro 1), lo cual concuerda con lo informado por Baldin et al. (2014) quienes demostraron que la suplementación de CLA mantuvo a las cabras en un balance de energía positivo de hasta 130% mayor que en los animales controles.

Cuadro 1. Respuesta productiva de cabras suplementadas con CLA durante los primeros 120 días de lactancia.

Variable de respuesta	Tratamiento			P
	Control	CLA	EEM	
Número de animales	18	17		
Peso inicial, kg	56.1	56.1	1.8	1.0
Peso final, kg	55.9	57.8	1.8	0.5
Producción de leche, kg/d	1.76	1.55	0.13	0.3
Consumo de MS, kg/d	2.21	2.19	0.01	0.2
Conversión alimenticia, kg	1.41	1.58	0.16	0.5

En el presente estudio no se calculó el balance de energía, pero la diferencia de casi dos kilos de pesos entre el grupo control y el que recibió el CLA podría indicar que el balance energético del grupo tratado fue más positivo que el grupo control.

Por su parte, la producción de leche no fue diferente estadísticamente entre tratamientos ($P=0.3$), con una media de 1.65 ± 0.51 kg/d, aun cuando existió una diferencia de 210 gramos. En otros estudios con cabras lecheras, la suplementación de CLA tampoco ha resultado en diferencias en la producción de leche (Lock et al., 2008; Baldin et al., 2014; Ghazal et al., 2014;). Como se aprecia en el Figura 2, la producción de leche se mantuvo constante desde la semana dos posparto hasta la semana 18 posparto, no haciéndose evidente la diferencia entre los tratamientos.

Al igual que la producción de leche, el consumo de materia seca y la conversión alimenticia tampoco fueron diferentes entre tratamientos ($P>0.1$), siendo la media de consumo de materia seca para el grupo control de 2.2 ± 0.01 kg/d y para el grupo recibiendo el CLA de 2.1 ± 0.01 , y la conversión alimenticia de 1.41 ± 0.16 kg y 1.58 ± 0.15 kg respectivamente para el grupo control y para el grupo suplementado con CLA. En otros estudios tanto con caprinos, ovinos y bovinos productores de leche, estos parámetros tampoco se han visto afectados por la suplementación del CLA (Ghazal et al., 2014; Lock et al., 2008; Bernal et al., 2003). En la Figura 3 se presenta la forma en que se comportó la conversión alimenticia a través de las 18 semanas experimentales, donde se puede apreciar como los dos grupos de animales se comportaron de manera similar.

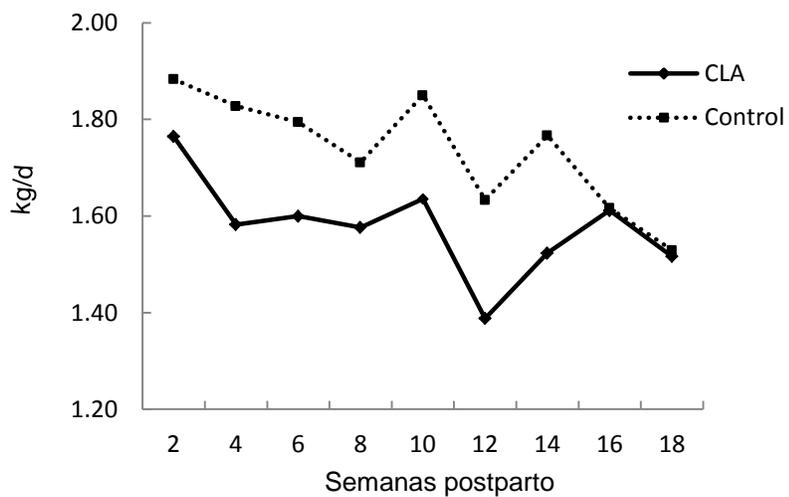


Figura 2. Producción de leche de cabra suplementadas con CLA durante los primeros 120 días de lactancia

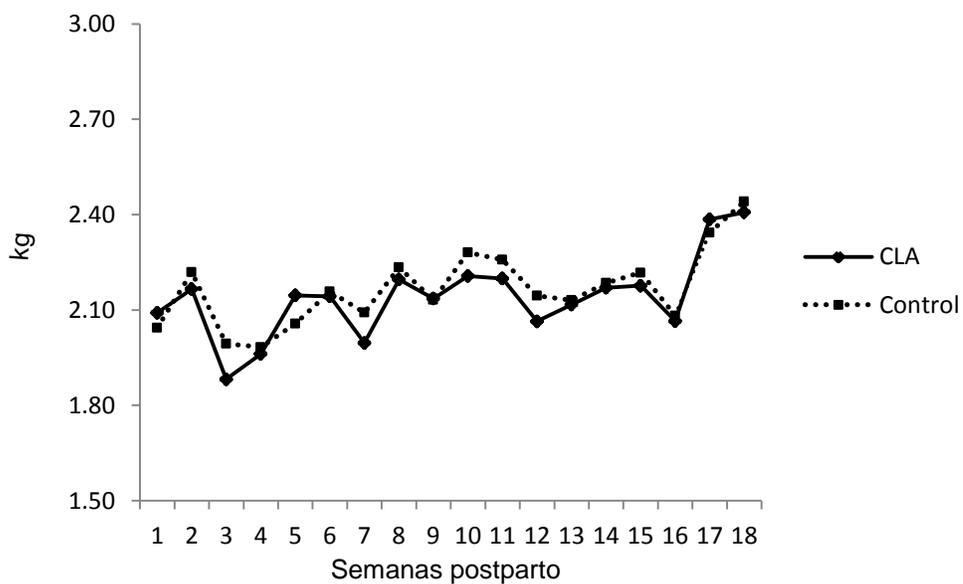


Figura 3. Conversión alimenticia promedio de cabras suplementadas con CLA durante las primeras 18 semanas de lactación

4. CONCLUSIÓN.

Los resultados del presente estudio demuestran que el CLA en las condiciones en el que fue suministrado y establecido el tratamiento no tuvo ningún efecto negativo sobre los parámetros productivos de las cabras lecheras durante las primeras 18 semanas de lactancia.

Agradecimientos a Grupo NUTEC, Querétaro, Qro., BASF Mexicana, S.A. de C.V., y Fondo para el Fortalecimiento de la Investigación en la Universidad Autónoma de Querétaro-2013, por el apoyo brindado para la realización del presente estudio.

BIBLIOGRAFÍA

1. AOAC. "Official Methods of analysis. Association of official analytical chemists". 1990.
2. M. Baldin, R. Dresch, J. Souza, D. Fernandes, M.A.S. Gama, K.J. Harvatine, D.E. Oliveira. "CLA induced milk fat depression reduced dry matter intake and improved energy balance in dairy goats", *Small Ruminant Research*, Vol. 116, 2014, pp. 44-50
3. G. Bernal-Santos, J.W. Perfield II, D. M. Barbano, D. E. Bauman, D.E. T. R. Overton, "Production Responses of Dairy Cows to Dietary Supplementation with Conjugated Linoleic Acid (CLA) During the Transition Period and Early Lactation" *J. Dairy Sci*, 2003, Vol. 86, pp. 3218-3228. 2003.
4. L. Bernard, M.B. Torbati, B. Graulet, C. Leroux, Y. Chilliard, "Long-chain fatty acids differentially alter lipogenesis in bovine and caprine mammary slices" *J. Dairy Res*. 2013, Vol. 80(1), pp. 89-95..
5. D.E. Bauman. and J.M. Griinari. "Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome". *Livestock Prod. Sci*. 2001, Vol. 70, pp. 15-29.
6. D.E. Bauman and J.M. Griinari. "Nutritional regulation of milk fat synthesis". *Annu. Rev. Nutr*, 2003, Vol. 23 pp. 203-27.
7. D.E. Bauman and A. L. Lock. "Conjugated linoleic acid: biosynthesis and nutritional significance". *Advanced Dairy Chemistry*, Vol. 2: Lipids, 3rd ed. P. F. Fox and P.L.H. McSweeney, ed. Springer, New York, NY. 2006. Pp 93-106.
8. W. G. Cochran y M.G. Cox, M. G. "Diseños Experimentales". 2ed. (Editorial Trillas. México, 1990).
9. S. Ghazal, V. Berthelot, N. C. Friggens, P. Schmidely. "Effects of conjugated linoleic acid supplementation and feeding level on dairy performance, milk fatty acid composition, and body fat changes in mid-lactation goat". *J. Dairy Sci.*, 2014, Vol 97 (11), 2014, pp.7162-7174
10. C.R. Kepler; Hiron, K.P., McNeil, J.J.; Tove, S.B. "Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by *Butyrivibrio fibriosolvens*". *J. Biol. Chem*. 1966, Vol. 241, pp.1350-1354.
11. L. Lock, M. Rovai, t. a. Gipson, m. J. de veth, and D. e. Bauman. " Conjugated Linoleic acid Supplement Containing Trans-10, Cis-12 Conjugated Linoleic acid reduces milk Fat Synthesis in Lactating Goats". *American Dairy Science Association. J. Dairy Sci.*, 2008, Vol. 91 pp. 3291-3299.
12. J. B. Robertson and P.J. Van Soest. "The detergent system of analysis and its application to human foods". *The analysis of dietary fiber in food*. W.T. James O. Theander (Editors) (Markel Dekker, Inc. N.Y. 1981)
13. M. Rovai, A. Lock, T. Gipson, A. Goetsch, D. Bauman. "Aconjugated linoleic acid (CLA) supplement containing trans-10, cis-12 CLA reduces milk fat synthesis in lactating goats". *Ital. J. Anim. SCI*. Vol, 6, 2007, pp. 629-631.
14. SAS, "SAS User's Guide", Versión 8. SAS Institute Inc., Cary, NC. 2001.

USO DE LA TÉCNICA DE WESTERN BLOT PARA EL ANÁLISIS DEL PROCESO DE DIGESTIÓN DE LAS PROTEÍNAS ESPECÍFICAS DE LA PASTA DE AJONJOLÍ EN DIFERENTES COMPARTIMENTOS DIGESTIVOS DE LECHONES ALIMENTADOS CON DIETAS CONTENIENDO PASTA DE AJONJOLÍ.

Díaz Zepeda, L. E.¹ Aguilera Barreyro, A.¹ Gómez Soto J.¹ Reis de Souza, T. C.¹

¹Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro. quique.3092@hotmail.com, araba@uaq.mx, jggs58@hotmail.com, tercia@uaq.mx

RESUMEN

En los contenidos de los compartimentos digestivos se encuentran proteínas de tipo exógeno (proteína dietaria) y endógeno (enzimas, células de descamación, microorganismos, etc.), lo que hace difícil diferenciar la procedencia de estas proteínas. El Western Blot es una técnica molecular utilizada para la detección de proteínas específicas en una mezcla de varios elementos. El objetivo de este trabajo fue hacer uso del Western Blot para detectar proteínas específicas de pasta de ajonjolí con un peso molecular (PM) de 62, 36, 15 y 14 kDa, en los diferentes compartimentos digestivos de lechones destetados alimentados con una dieta conteniendo pasta de ajonjolí en diferentes horas postconsumo. Estas proteínas específicas se seleccionaron con base a su separación electroforética y a su presencia desde el contenido del estómago hasta el del íleon de lechones en diferentes horas postconsumo. Para la técnica se empleó un anticuerpo contra proteínas de los PM antes mencionados, las cuales se obtuvieron de su separación por electroforesis, tal anticuerpo fue generado en conejos de raza Nueva Zelanda utilizando como adyuvante acrilamida como sustituto del adyuvante de Freund; además se empleó un segundo anticuerpo comercial de burro contra anticuerpo de conejo marcado con peroxidasa para su identificación por medio de un cromógeno. En contenidos de estómago se observaron proteínas de 62 y 36 kDa y difusamente de 14-15 kDa a las 9 h. En el contenido de íleon se pudo observar proteínas de 14 y 15 kDa a las 3 y 6 h postconsumo. La presencia de proteínas de 14 y 15 kDa a nivel estomacal e ileal indica que no fueron digeridas en el tracto digestivo. Se ha visto que la técnica ha tenido eficacia para encontrar algunas de estas proteínas a lo largo del proceso de digestión.

1. INTRODUCCIÓN

Es importante conocer la digestibilidad de las proteínas en los diferentes compartimentos digestivos, por lo cual es necesaria la elaboración de métodos experimentales que nos permitan corroborar más precisamente la cinética digestiva de ciertas proteínas que aparentan ser más resistentes a la digestión durante su trayecto por el sistema digestivo. Por tal motivo es necesaria la implementación de nuevas técnicas que faciliten la detección de proteínas mediante su alta especificidad y sensibilidad, siendo el Western Blot una técnica relativamente rápida, detecta proteínas específicas y en cantidades de picogramos, lo cual la vuelve una técnica ideal en cuanto a investigación para digestibilidad de proteínas.

En los contenidos de los compartimentos digestivos se encuentran proteínas de tipo exógeno (proteína dietaria) y endógeno (enzimas, células de descamación, microorganismos, etc.), lo que hace difícil diferenciar la procedencia de estas proteínas.

2. TEORÍA

La interacción antígeno-anticuerpo, ésta es una relación biomolecular similar a la interacción enzima-sustrato, con la importante diferencia que no conduce a una alteración química irreversible en antígeno o anticuerpo. La alta especificidad de las interacciones antígeno-anticuerpo ha permitido el desarrollo de una amplia gama de pruebas inmunológicas, éstas difieren en su rapidez y sensibilidad; algunas son meramente cualitativas y otras son cuantitativas (Kindt, 2007)

Gracias a la técnica conocida como Western Blot es posible la identificación de una proteína específica en una mezcla compleja de proteínas, tales proteínas se separan por medios electroforéticos en un gel de SDS-poliacrilamida (SDS-PAGE). Estas bandas de proteínas se transfieren a una membrana sintética de manera que quedan inmovilizadas y las bandas individuales de proteína de interés se identifican al inundar la membrana con anticuerpo policlonal o monoclonal radio marcado unido a enzimas, mediante sistemas especialmente diseñados para su tinción, la ventaja de emplear el electroblotting se encuentra en su corta duración de entre 30 minutos a unas cuantas horas (Calderon, 2007)

La interacción entre antígeno y anticuerpo depende de cuatro tipos de fuerzas no covalentes: enlaces de hidrógeno, enlaces iónicos entre cargas opuestas, interacciones hidrófobas y fuerzas de van der Waals, la fuerza combinada de dichas interacciones entre el sitio de unión del antígeno y el epítipo es la afinidad de antígeno por el epítipo. Cuando los anticuerpos con baja afinidad se unen a su epítipo tienden a disociarse con facilidad, mientras que los anticuerpos de mayor afinidad tienden a unirse con mayor firmeza y la unión se mantiene por más tiempo. Tal característica es de vital importancia para evitar la disociación de la unión durante los lavados de la técnica (Kindt, 2007)

3. PARTE EXPERIMENTAL

Producción de anticuerpos policlonales de proteínas específicas de PA: Para determinar las proteínas específicas a las que se producirían los anticuerpos policlonales, se realizó la separación electroforética de proteínas contenidas en las digestas de estómago e íleon de lechones alimentados con dietas incluyendo pasta de ajonjolí a diferentes horas postconsumo (3, 6, 9 y 12 h). Las muestras de digesta se desgrasaron en frío con metanol-cloroformo (Folch *et al.*, 1957) y se desnaturalizaron con dodecilsulfato de sodio (SDS) contenido en el buffer de carga y calentándolas en baño maría a ebullición durante 5 min. Las fracciones de proteínas de las muestras de digesta se separaron mediante una electroforesis SDS-PAGE (*SDS-polyacrylamide gel electrophoresis*) (Laemmli, 1970) a una concentración de acrilamida de 14% para poder evaluar las proteínas de alto y bajo peso molecular respectivamente. Las electroforesis se corrieron a 120 V. Los geles se tiñeron con azul Coomassie R-250 y se fotografiaron mediante un fotodocumentador Bio-Rad para analizar los geles por medio del programa Quantity One de Bio-Rad para estimar el peso molecular (PM) de las proteínas que conforman cada fracción proteica en la pasta, comparando su movilidad electroforética con la de un estándar de PM de proteínas de amplio espectro marca Bio-Rad (161-0317 Bio-Rad). Al analizar los geles se identificaron 4 bandas proteicas (64, 36, 15 y 14 kDa) que se observaron desde el estómago hasta el íleon a diferentes horas posconsumo. Teniendo estas bandas ya identificadas, se procedió a separar electroforéticamente las proteínas de la pasta de ajonjolí desgrasada y desnaturalizada con SDS como anteriormente se describió. Se cargaron 20 µg de proteína soluble (Bradford, 1976) de la pasta de ajonjolí en cada pozo del gel de acrilamida al 14%. Las bandas de los geles se evaluaron para estimar el peso molecular (PM) de las proteínas que conforman cada fracción proteica en la pasta. Las bandas correspondientes a 62, 36, 15 y 14 kDa de los geles de poliacrilamida se recortaron y se homogeneizaron en 1.5 ml de PBS a pH 7.4. Con este extracto de proteínas antigénicas-acrilamida se inmunizaron

intradérmicamente cuatro conejos de raza Nueva Zelanda durante cuatro semanas en intervalos de una semana. En cada semana se realizó un sangrado de la vena marginal de la oreja previa a cada inmunización para determinar la titulación de anticuerpos mediante el procedimiento de Dot-Blot, usando como control el suero pre-inmunización de cada conejo (Díaz *et al.*, 2014).

Determinación de proteínas específicas de pasta de ajonjolí en digestas por Western Blot:

Para determinar las proteínas específicas de pasta de ajonjolí sobre las que se produjeron los anticuerpos policlonales, se realizó la separación electroforética de proteínas contenidas en las digestas de estómago e íleon de lechones alimentados con dietas incluyendo pasta de ajonjolí a diferentes horas postconsumo (3, 6, 9 y 12 h). Las muestras de digesta se desgrasaron en frío con metanol-cloroformo (Folch *et al.*, 1957) y se desnaturalizaron con dodecilsulfato de sodio (SDS) contenido en el buffer de carga y calentándolas en baño maría a ebullición durante 5 min. Las fracciones de proteínas de las muestras de digesta se separaron mediante una electroforesis SDS-PAGE (SDS-polyacrylamide gel electrophoresis) (Laemmli, 1970) a una concentración de acrilamida de 15% para poder evaluar las proteínas de alto y bajo peso molecular respectivamente. Las electroforesis se corrieron a 120 V. Para realizar la transferencia se hizo uso de membranas de nitrocelulosa 0.45 μm (162-0115 BioRad). Para realizar la transferencia de las bandas de proteína del gel de acrilamida a la membrana de nitrocelulosa el procedimiento fue el siguiente: en el casete de transferencia de: Esponja, papel filtro, gel de electroforesis 1mm 15% acrilamida, membrana de nitrocelulosa, papel filtro, esponja. Posteriormente se realizó el electroblotting en buffer de transferencia (Tris, Glicina, Metanol pH8.3) durante 45 minutos aproximadamente a 110V, se introdujo un refrigerante y un agitador magnético durante la transferencia para evitar el sobrecalentamiento de la solución. Tras la transferencia se bloqueó la membrana con buffer de bloqueo (PBS Tween 20 y leche descremada) durante una hora. Posteriormente se realizaron 3 lavados con PBS-Tween 20 por 5 minutos en agitación y se añadió buffer de bloqueo con anticuerpo primario de conejo contra proteínas de pasta de ajonjolí en concentración 1:25, se incubó el anticuerpo durante la noche en refrigeración. Al día siguiente se realizaron nuevamente 3 lavados con PBS-Tween 20, se bañó nuevamente la membrana con buffer de bloqueo y se añadió anticuerpo secundario comercial de burro contra IgG de conejo (A120-208P Bethyl) en concentración 1:2000. Este anticuerpo se dejó incubar en agitación durante 3 horas a temperatura ambiente, tras la incubación se realizaron los mismos lavados, para revelar las proteínas se empleó el kit NovaRED Peroxidasa (SK-4800 Vector). La documentación de los resultados se realizó mediante el uso de un scanner a resolución de 1600 ppi.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados presentados son preliminares pues tras varias transferencias no se ha podido optimizar el método para obtener una resolución óptima, se cree que podría ser la afinidad del anticuerpo con su epítipo y que al realizar los lavados sufren disociación, sin embargo, al reducir los lavados se presenta un mayor ruido en la imagen, también se cree que puede ser el kit de revelado pues se han encontrado bandas de proteínas de interés que a los pocos minutos de realizar el revelado tienden a desvanecerse.

En la Imagen 1, se presenta el Western Blot de muestras de digesta de estómago a las 9 h y de íleon a las 3 y 6 h. En el carril correspondiente a la muestra de estómago a 9 h posconsumo (a) se pueden observar bandas más definidas con un peso molecular de 36 y 62 kDa y bandas muy poco definidas de 14-15 kDa. En la muestra de íleon a 3 h posconsumo (b) se observa una banda de entre 14 y 15 kDa, mientras que en la muestra de íleon a 6 h posconsumo (c) se observan 2 bandas correspondientes a 14 y 15 kDa.

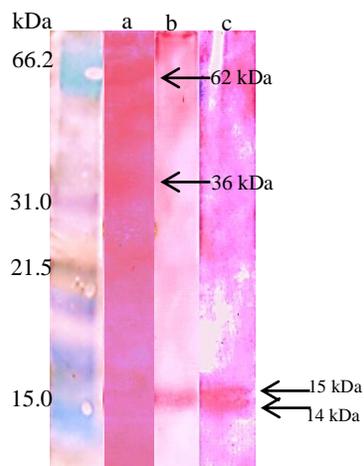


Imagen 1. Western Blot: a) estómago 9 h postconsumo, b) íleon 3 h postconsumo, c) íleon 6 h posconsumo)

Las proteínas con pesos moleculares cercanos entre 12 y 14 kDa se han catalogado como alergénicas de la familia 2S albuminas, que son resistentes a la digestión estomacal e intestinal por lo cual su presencia en el íleon nos indica su indigestibilidad (Moreno *et al.*, 2005)

5. CONCLUSIONES

El Western Blot es una técnica que puede emplearse para la detección de proteínas específicas de pasta de ajonjolí, sin embargo, la resolución obtenida no ha sido la esperada, por lo que se debe continuar optimizando la técnica.

BIBLIOGRAFÍA

1. M.M. Bradford, "A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding", *Anal. Biochem.* Vol. 72, 1976, pp. 248-254.
2. Calderón P, R. V. Curso de Métodos Fisicoquímicos en Biotecnología. 2007, pp41
3. L.E. Díaz, A. Aguilera, T. Reis, J. Gómez, L. Anaya, T. Gasca, G. Mariscal, G. Bernal, C. Betancourt, "Producción de anticuerpos policlonales de proteínas de pasta de ajonjolí". XI encuentro Participación de la mujer en la ciencia. León, Guanajuato. 2014.
4. J. Folch, M. Lees and G.H.S. Stanley, "A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues", *J. Biol. Chem.*, Vol. 226, 1957, pp. 497-509.
5. H.K. Laemmli, "Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of Bacteriophage T4". *Nature*, Vol. 227, 1970, pp. 680-685.
6. F.J. Moreno, B.M. Maldonado, N. Wellner, E.N. Mills, "Thermostability and in vitro digestibility of a purified major allergen 2S albumin (Ses i 1) from white sesame seeds (*Sesamum indicum* L.)". *Biochimica et Biophysica Acta* 1752, 2005, pp. 142 – 153.
7. T.J. Kindt, R.A. Goldbsy, B.A. Osborne, "Inmunología de Kuby", 6° Edición, McGraw Hill, 2007, pp 75,76,79,81,145, 158.
8. J. Rivest, J.F. Bernier and C. Pomar, "A dynamic model of protein digestion in the small intestine of pigs". *J. Anim. Sci.*, Vol. 78, 2000, pp. 328–340.

ESTADO ACTUAL Y APLICACIÓN DE LA TRANSFERENCIA DE EMBRIONES EN OVINOS Y CAPRINOS

Lucio Domínguez, R.¹; Sesento García L.²; Pérez Luna O.¹; Bedolla Cedeño J. L. C.¹; Sánchez Parra V.M.¹; Herrera Camacho J.³; Cruz Hernández A. R.¹

¹ Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. ² Colegio Primitivo y Nacional de San Nicolás de Hidalgo. ³ Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales.

E-mail: dr.rlucio@hotmail.com

RESUMEN

La transferencia de embriones es un método de reproducción asistida basado en la producción de múltiples embriones, por una hembra donante (madre genética superior) y transferidos antes de la edad de implantación, en varias hembras receptoras (madres portadoras gestantes). Los primeros trasplantes de embriones caprinos y ovinos se realizaron hace 50 años, la estimulación ovárica o superovulación sigue siendo un tema de real preocupación ya que los resultados no siempre son favorables, y a veces son negativos. En la industria de la transferencia embrionaria, a pesar de los avances en la producción de embriones y en su transferencia, la principal desventaja es la imposibilidad de asegurar que una donante potencial pueda proveer un apropiado número de embriones de calidad en un tiempo establecido. La transferencia de embriones permite incrementar el número de crías de una hembra genéticamente superior, logrando obtener en promedio 4 crías por tratamiento de ovulación múltiple. Los recientes avances en el incremento de la eficiencia reproductiva en la transferencia de embriones han ampliado la posibilidad de su utilización en los programas de mejoramiento genético aumentando la difusión de los genes de las ovejas y cabras de alto valor productivo. Sin embargo, el componente más importante en este tema es la gran variabilidad entre individuos en su respuesta ovulatoria a los tratamientos. Las variaciones individuales pueden ser atribuidas fundamentalmente a la elección de los tratamientos superovulatorios aplicados a los animales, y en las diferentes respuestas de los mismos a un tratamiento dado. El objetivo del presente trabajo de revisión es dar a conocer la aplicación de esta técnica en los pequeños rumiantes con fundamentos de orden genético, comercial, sanitario y de conservación de especies.

Palabras clave: Transferencia, embriones, ovinos, caprinos.

INTRODUCCIÓN

La transferencia de embriones es un método de reproducción artificial que consiste en la obtención de varios embriones generados por una hembra donante, y que serán posteriormente inoculados en hembras receptoras. Una reproductora donante, podrá formar parte de un programa de transferencia en más de una oportunidad, de manera de multiplicar su potencial reproductivo, utilizando los vientres de la misma especie pero de escaso valor genético.

Los tratamientos hormonales para lograr una ovulación múltiple y la transferencia de embriones permiten utilizar intensivamente a las hembras genéticamente superiores. En conjunto ambas tecnologías son denominadas internacionalmente con las siglas en inglés "MOET" ("multiple ovulation and embryo transfer"). En los últimos 25 años se han logrado considerables avances en la MOET, como herramienta del mejoramiento genético en ovinos y caprinos, siendo aún necesario maximizar la producción y sobrevivencia de embriones para obtener varias crías de valor genético.

Las primeras transferencias de embriones en caprinos y ovinos se realizaron hace más de 50 años (Warwick y col.1934). A partir de los años 60, realizaron trabajos en Australia (Moore y Rowson) y en Nueva Zelanda (Tervit y Havick 1976), que contribuyeron a precisar las condiciones y las posibilidades del desarrollo de esta biotecnología.

Con la transferencia de embriones es posible acortar el intervalo generacional, y en consecuencia incrementar el avance genético, A su vez, la inseminación artificial y la transferencia de embriones son excelentes herramientas para el mejoramiento genético en hatos aislados de los proveedores de reproductores mejoradores.

La finalidad de la aplicación de esta técnica en los animales domésticos tiene fundamentos de orden genético, comercial, sanitario y de conservación de especies.

DESARROLLO DEL TEMA

Transferencia de Embriones

La transferencia de embriones propiamente dicha se refiere a la colocación de un embrión, o embriones, dentro del útero u oviducto de la receptora, por medio de laparotomía, laparoscopia o semi-laparoscopia.

La semi-laparoscopia es una técnica ampliamente utilizada. Parece ser un método seguro y poco invasivo, con altos porcentajes de preñez y se recomienda como la técnica de transferencia de embriones de preferencia en pequeños rumiantes. Consiste en evaluar el cuerpo lúteo y localizar el oviducto ipsilateral de la receptora con el laparoscopio, y apoyo con unas piezas quirúrgicas no traumáticas se exterioriza el oviducto a través de una pequeña incisión, por lo que la técnica es poco invasiva (Baril et al., 2000). La transferencia no-quirúrgica es difícil de realizar por las razones anatómicas anteriormente mencionadas; sin embargo, se ha reportado transcervical exitosa, pero pocos estudios se han realizado al respecto.

Se pueden transferir de 1 a 5 embriones por receptora, pero estudios experimentales indican que 1 o 2 dan resultados aceptables. La transferencia de 2 embriones lleva al incremento de partos gemelares, y más del 80% de las receptoras que se les transfieren 2 embriones llevan la gestación

a término, y 66% de los partos son gemelares, lo cual se puede recomendar cuando se realiza la transferencia en fresco, debido a que se tiene una alta tasa de preñez (80%), pero cuando se utilizan embriones congelados se opta por transferir uno por receptora debido a que la preñez es más baja (45 a 50%).

La transferencia de embriones se está utilizando en los Planes de Selección para mejorar calidad de la carne (Bari et al., 1999), de la leche, de la lana, o de la prolificidad, y para multiplicación de animales de alto valor genético y económico. En Australia y Nueva Zelanda se emplea casi exclusivamente con fines comerciales para la exportación de genética, ya que es la vía más segura para el intercambio de material genético entre países a condición de seguir las Normas de seguridad marcadas por la OIE (1998).

La técnica de superovulación, recogida y transferencia de embriones frescos, ha sido descrita, entre otros, por Baril et al. (1995); Vivanco (1998). Existen distintos protocolos de superovulación empleando FSH porcina u ovina. En el Esquema de selección de la Rasa Aragonesa, se aplican 8 dosis decrecientes de FSH ovina a 12 h de intervalo, haciendo coincidir la 6ª inyección con la retirada de la esponja. La fecundación se realiza por IAU 50-55 h después de retirar las esponjas. Los embriones se recogen por una técnica semi quirúrgica (Ramón et al., 1991) y se congelan o transfieren en estado de mórula o blastocisto.

La transferencia de embriones es una biotecnología aplicada para el incremento de la producción animal y la conservación e intercambio de material genético a nivel mundial. Se presentan las metodologías y avances logrados en el desarrollo de la transferencia embrionaria en la especie ovina, que tienden a incrementar la eficiencia reproductiva de esta técnica.

El trasplante de embriones es un método de reproducción artificial basado en la transferencias de embriones producidos por una hembra donante (madre genéticamente superior) a hembras receptoras (madres portadoras) que lo gestan hasta su nacimiento. La producción de embriones ha sido propuesta como una metodología tendiente a la preservación de especies en peligro de extinción, que brinda la posibilidad de disponer de bancos genéticos para su conservación y un reaseguro sanitario para evitar la transición de enfermedades. A su vez, el incremento en la eficiencia de la producción y congelamiento de embriones podrán ser utilizados para construir rebaños con el mínimo riesgo de ser portadores de enfermedades y permitir una amplia difusión mundial de animales con alto valor genético.

Los tratamientos hormonales para inducir la ovulación múltiple y la transferencia de embriones, permite utilizar de manera intensiva a las hembras genéticamente superiores en forma similar al aprovechamiento que se realiza con los machos por medio de la inseminación artificial. Sin embargo la transferencia de embriones en ovinos, debido a su alto costo, se encuentra limitada en su implementación. Por lo tanto, es necesario lograr maximizar la producción y sobrevivencia de los embriones, y reducir los costos en la obtención de varias crías de importante valor genético.

En la actualidad, las investigaciones están orientadas al estudio en la reducción de la variabilidad reproductiva de la transferencia de embriones, especialmente, en lo que se refiere a la respuesta individual a los tratamientos para la ovulación múltiple, fertilización, factores embrionarios y maternos de las ovejas receptoras.

Principios y consideraciones generales sobre la transferencia de embriones

La elección de las hembras donantes se realizara teniendo en cuenta su valor genético y en base a los criterios apropiados de mejoramiento de las aptitudes productivas para cada raza. Las condiciones generales de un buen estado reproductivo, sanitario y nutricional son imprescindibles, tanto para las hembras donantes como para las receptoras de embriones. Se debe el control clínico de los animales, los análisis serológicos de enfermedades infectocontagiosas y los controles parasitarios correspondientes.

Es recomendable que las donantes y receptoras hayan tenido al menos una cría, y se debe considerar un mínimo de dos meses (ovinos) a 5 meses (caprinos) post-parto antes de comenzar los tratamientos hormonales. Acortar estos tiempos puede significar una pobre fertilidad. La necesidad de utilizar hembras jóvenes como donantes puede llevar a una baja eficiencia reproductiva. En el supuesto caso de tratar una hembra nulípara, el peso mínimo deberá ser del 60% del peso adulto de la raza y haber presentado estros anteriores

Se recomienda no usar borregas como madres receptoras. Lo indicado son las hembras adultas, que pueden llevar a cabo un buen amamantamiento. No se debe descuidar los aspectos sanitarios, realizando el control clínico de los animales, las pruebas serológicas de enfermedades infectocontagiosas (Brucelosis, Aftosa, etc.) y los controles parasitarios correspondientes.

La transferencia de embriones requiere de una serie de manipulaciones de las donantes receptoras. En el caso de recurrir a instalaciones extrañas, es preferible que los animales tengan un periodo de adaptación previo, de uno a dos meses, antes de comenzar los tratamientos. Una vez realizado el tratamiento hormonal de ovulación múltiple, se lleva a cabo la fecundación de los ovocitos. Se puede emplear el servicio natural o inseminación artificial con semen fresco o congelado. Los machos a utilizar también deben ser de muy alto valor genético.

A partir del 5to al 7mo día de detectado el celo, los embriones se obtienen por vía quirúrgica o bajo control endoscópico. Los mismos pueden ser transferidos a las hembras receptoras, en forma inmediata, o bien ser congelados (crio conservación), para su transporte y posterior transferencia.

CONCLUSIONES

La transferencia de embriones permite incrementar el número de crías de una hembra genéticamente superior, logrando obtener en promedio 4 crías por tratamiento de ovulación múltiple. Los recientes avances en el incremento de la eficiencia reproductiva en la transferencia de embriones han ampliado la posibilidad de su utilización en los programas de mejoramiento genético aumentando la difusión de los genes de las ovejas de alto valor productivo. Futuras investigaciones serán necesarias para reducir los costos e incrementar el número de crías por oveja donante para facilitar su aplicación comercial, como se ha logrado en la especie bovina.

No cabe duda que actualmente la transferencia de embriones es el método más seguro en el aspecto sanitario, para realizar la importación de diferentes biotipos de alta producción. El incremento del comercio internacional de material genético mediante la transferencia de embriones demuestra la importancia que tiene esta técnica como reaseguro sanitario frente a las enfermedades exóticas y como herramienta del mejoramiento genético para la producción animal.

BIBLIOGRAFIA

Armstrong DT, Evans G. 1983. Factors influencing success of embryo transfer in sheep and goats. *Theriogenology* 19: 31-42.

Armstrong DT, Evans G. 1984. Intrauterine insemination enhances fertility of frozen semen in superovulated ewes. *J. Reprod. Fert.* 71: 89-94.

Bari, F., M. Khalid, W. Haresing, A. Murray, y B. Merrell. 2003. Factors affecting the survival of sheep embryos after transfer within a MOET program. *Theriogenology*. 59: 1265-1275.

Bari, F., M. Khalid, W. Haresing, A. Murray, y B. Merrell. 2000. Effect of mating system, flushing procedure, progesterone dose and donor ewe age on the yield and quality of embryos within a MOET program in sheep. *Theriogenology*. 53: 727-742.

Baril G, Casamitjana P, Perrin J, Vallet JC. 1989. Embryo production, freezing and transfer in Angora, Alpine and Saanen goats. *Zuchthyg* 24: 101-115.

Baril G, Vallet JC. 1990a. Effect of seasons on embryo production in dairy goat hand mated or cervically inseminated after superovulated treatment. 6th Scientific Meeting of European Embryo Transfer Association, Lyon, France, 1: 118 (abstr).

Baril G, Brebion, P, Chesné P. 1993. Manuel de formation pour la transplantation embryonnaire chez la brebis et la chèvre. FAO 115, ISSN, 1014-1099.

Batt, P.A., Killeen, D., Cameron, W.N. 1993. Use of single or multiple injection of FSH in embryo collection programmes in goats. *Reprod. Fert. Dev.* 5: 49-56.

Bilton, R.j., Moore, N.W. 1976. In vitro culture, storage and transfer of goats embryos. *Aust. J. Biol. Sci.* 29: 125-129.

Bister, J.L., B. Noel, B. Perrad, S.N. Mandiki, J. Mbayahaga, R. Paquay. 1999. Control of ovarian follicles activity in the ewe. *Dom. Anim. Endocr.* 17: 315-328.

Boland, M.P., T.F. Crosby, y I. Gordon. 1983. Factors influencing the superovulatory response in the sheep. *Theriogenology*. 19: 144.

Brebion P, Baril G, Cognie Y, Vallet JM. 1992. Transfert d'embryons chez les ovins et les caprins. *Ann. Zootech.* 41: 331-339.

RECUPERACIÓN DE ACIDO CAFEICO A PARTIR DE RESIDUOS DE PULPA DE CAFÉ

Minerva Rosas Morales^a, Ada María Ríos Cortés^a Gabriel Ríos Cortés^b

^a CIBA-IPN Tlaxcala, 2 Instituto Politécnico Nacional, mormin@hotmail.com,
adarioscort@yahoo.com.mx,

^bInstituto Tecnológico de Orizaba. gabrico085@hotmail.com

RESUMEN

El ácido cafeico es un compuesto químico que se encuentra en el café, es un potente antioxidante e inhibidor del cáncer, esta sustancia se usa principalmente para tratar activamente enfermedades como el cáncer, VIH y herpes. Gracias a sus efectos antioxidantes y antiinflamatorios, potencializa el sistema inmune frente a virus y anticuerpos malignos. La pulpa de café es el principal residuo sólido del beneficio húmedo del grano de café, constituye aproximadamente el 41% del peso húmedo, es esencialmente rica en carbohidratos, proteínas y minerales, contiene cantidades apreciables de taninos, polifenoles, cafeína y ácido cafeico. En este trabajo se probaron dos métodos de extracción del ácido cafeico a partir de la pulpa seca de café. (A) por lixiviación y (B) Pre-tratando la pulpa con ultrasonido, para (A) Para la extracción, se secó la pulpa por 24 horas a 70 °C. Posteriormente se pesaron 10 gr y se llevaron a lixiviación usando una solución etanólica (50/50) a 60 °C por 1 hora, se filtró y se concentró a vacío. El ácido fue determinado por TLC usando un sistema de elución metanol: acetato de etilo: ácido acético, revelándose en cámara de UV a 254nm. El rendimiento se cuantificó por GC usando una columna DB-1 a 170°C y un detector FID, con un tiempo de corrida de 25 minutos. Para el tratamiento B se pesaron 10 gr de pulpa seca, se colocaron en un matraz con una solución etanólica, se sónico durante 6 horas en un baño ultrasónico y se continuo como en el método (A). Se logró extraer el ácido caféico por los dos métodos. En el método (A) se obtuvieron 0.34 gr y en (B) 1.02 gr respectivamente. El uso de ultrasonido ayuda a mejorar la extracción del ácido caféico siendo el método (B) el que presenta mejores rendimientos.

1.INTRODUCCIÓN.

El café es una de las bebidas más consumidas y populares en todo el mundo. Estudios recientes indican que algunos de los constituyentes del café, como la cafeína, los ácidos fenólicos y los compuestos formados durante la reacción de Maillard así como ligninas, poseen propiedades antioxidantes. Los antioxidantes evitan que se produzcan daños tisulares por radicales libres, actuando al reducir su formación o eliminándolos una vez originados, (Pérez-Hernandez; 2012). Dentro de la cadena agroproductiva del café se identifican cuatro fases principales: la fase agrícola, la fase del beneficiado, la fase torrefacción o tostado y la fase de comercialización. El café es una actividad importante dentro de nuestro país, específicamente en la parte sur, produciendo un promedio de 284158 toneladas de café en los últimos cinco años; y aunque en los últimos años la producción de café ha disminuido por distintos fenómenos naturales y sociales se espera que la cifra se eleve gradualmente; lo que implica que también habrá más toneladas de cascarilla de café lo cual representa un serio problema de contaminación en las regiones procesadoras de café.

Para la obtención del grano comercial, la cereza del café es procesada por vía seca y húmeda. En México la industria cafetalera utiliza casi en su totalidad esta última para el beneficiado del café, que consiste en la remoción de la pulpa (exocarpio y la mayoría del mesocarpio) en presencia de agua. La producción estimada de pulpa de café en México es de 2 a 3 ton/ha por año, y sólo es aprovechada una parte de ella.

El café maduro presenta una composición en la cual el grano, que es la parte aprovechable para el proceso, representa 20% del volumen total de la fruta, de manera tal que, el procesamiento de beneficiado genera un 80% del volumen procesado en calidad de desechos; cada uno en un grado diferente constituye un riesgo para el medio ambiente si no se reutiliza de una manera inteligente para otros propósitos utilizando los principios de producción más limpia. En la actualidad la industria cafetalera se enfrenta a una continua crisis provocada por el bajo precio del café oro, lo cual lleve a la necesidad de diversificar esta industria.

La pulpa de café es el principal residuo sólido del beneficio húmedo del grano de café y constituye aproximadamente el 41% del peso húmedo del grano de café. La pulpa de café es esencialmente rica en carbohidratos, proteínas y minerales (especialmente potasio) y contiene cantidades apreciables de taninos, polifenoles y cafeína. Los componentes orgánicos presentes en la pulpa (en base seca) es 1.8-8.56% de taninos, 6.5% sustancias pectínicas, 12.4% azúcares reductores, azúcares no reductores 2.0%, cafeína 1.3%, ácido clorogénico 2.6% y total de ácido cafeico 1.6%, (Esquivel; 2012). El ácido cafeico es un compuesto polifenólico ampliamente ocupado por las industrias médica y en la industria alimentaria. El amplio uso del ácido cafeico abarca desde ser aditivo para bebidas, en la fabricación de cosméticos, productos de té y en medicina debido a su actividad antibacteriana y antiviral, es un antioxidante natural y una agente anticancerígeno, (Pushpas; 2012). Además se usa como compuesto precursor en el desarrollo de medicamentos para combatir el SIDA y el VIH. En el caso de la cafeína, este compuesto es también ampliamente usado en la industria de bebidas y alimentos, en cosméticos y en medicina se utiliza combinado con otros fármacos para el tratamiento de neuropatías como lo es la migraña, (Chia- Hung Koo; 2014). Es por ello que se plantea el aprovechar las concentraciones de ácido cafeico presente en la pulpa de café que se desecha en los beneficios húmedos, con ello se busca principalmente, a) Diversificar el fruto del café aprovechando sus residuos obteniendo de ellos productos de alto valor agregado, mejorando así la economía de las familias cafetaleras b) Disminuir el impacto ambiental que genera la pulpa de café al ser desechada. Dentro de los procesos de extracción del ácido cafeico presente en la pulpa de café, se encuentra el proceso de lixiviación y el proceso de extracción asistido por ultrasonido.

2. TEORÍA

Tradicionalmente, la extracción de compuestos fenólicos se realizaba por extracción Soxhlet (calentamiento en un solvente con reflujo). Sin embargo, la extracción se desarrollaba a altas temperaturas por tiempos largos lo cual podía degradar el compuesto de interés además del alto costo de energía. La extracción asistida por ultrasonido UAE, por sus siglas en inglés (Ultrasound-assisted extraction) puede ser usada en métodos de extracción de analitos presentes en matrices sólidas por medio de solventes. Estos procesos de extracción son más rápidos en comparación de los métodos tradicionales, debido al incremento de la superficie de contacto entre la fase líquida y la fase sólida, provocado por la ruptura de las partículas del sólido que contiene el analito de interés. El uso de la UAE en plantas ha producido resultados interesantes los cuales han llevado a su aplicación en la obtención de compuestos de interés farmacéutico, (Palma; 2014)

La UAE es uno de los más simples y baratos sistemas de extracción que permite el uso de un amplio rango de solventes y de escalas de operación. La sonicación es la producción de ondas de sonido que crean cavidades en soluciones acuosas, subsecuentemente las cavidades colapsan generando temperaturas mayores a 3000 °K y presiones del orden de los 10000 bar. Cuando estas cavidades colapsan cerca de la superficie de las plantas el incremento de la temperatura y de la presión provoca la destrucción de la pared celular de la matriz de la planta liberando los compuestos de interés. Generalmente la extracción asistida por ultrasonido es afectada por diversos parámetros como son potencia, concentración de solvente y temperatura de extracción, (Chia-Hung Koo; 2014).

3 PARTE EXPERIMENTAL

La pulpa fresca se obtuvo de un beneficio húmedo ubicado en la ciudad de Tomatlan en el estado de Veracruz. El estándar del ácido cafeico se adquirió de Sigma-Aldrich. El equipo de ultrasonido consistió en un baño ultrasónico marca Branson 5510 con una capacidad de 2.5 galones, con una frecuencia de 40 kHz y 130 Watts de potencia.

Las extracciones del ácido cafeico presente en la pulpa de café se realizaron por dos métodos, lixiviación y extracción asistida por ultrasonido.

Extracción por lixiviación (método A).

Para la extracción por lixiviación, se secó la pulpa por 24 horas a 70 °C. Posteriormente se pesaron 10 gr y se llevaron a lixiviación usando 30 ml de una solución etanólica (50/50) a 60 °C por 1 hora, se filtró y se concentró a vacío. El ácido fue determinado por cromatografía de placa fina usando un sistema de elución metanol: acetato de etilo: ácido acético, en cromatofolios de sílica aluminio revelándose en cámara de UV a 254nm.

Extracción asistida por ultrasonido (método B).

Se secó la pulpa a 70°C y posteriormente se pesaron 10 gr de la pulpa seca y se colocaron en un matraz de corazón y se añadió 30 ml de una solución etanólica (50/50), se sonó por 6 horas en un baño ultrasónico. Posteriormente se filtró y se concentró a vacío en un rota vapor, el sólido obtenido se identificó por medio de cromatografía de placa fina usando un sistema de elución metanol: acetato de etilo: ácido acético, en cromatofolios de sílica aluminio revelándose en cámara de UV a 254nm.

Cuantificación por Cromatografía de Gases.

El rendimiento se cuantificó por GC usando una columna DB-1 a 170°C y un detector FID, con un tiempo de corrida de 25 minutos.

4. CONCLUSIONES

Se logró extraer el ácido cafeico por los dos métodos. En el método (A). El ácido cafeico fue extraído con 30 ml de solución etanólica (50/50) en un vaso de precipitado con agitación magnética por 1 hr a 60°C. De los 10 gr de pulpa seca se obtuvieron 0.34 gr. Se realizaron pruebas a 2, 4 y 6 hrs a la misma temperatura pero la cantidad de ácido cafeico no varió significativamente alcanzando un máximo de 0.40 gr a las 6 horas.

Para el método (B). El ácido cafeico fue extraído con 30 ml de solución etanólica (50/50) en un matraz de corazón a una temperatura de 45°C y con una frecuencia controlada de 40 kHz. El interior del tanque del baño ultrasónico es de 29 x 24 x 15 cm (L x W x H), el ultrasonido se irradia

por un plato transductor en el fondo del tanque. La potencia se mantuvo constante a 130 W. De los 10 gr de pulpa se obtuvieron 1.02 gr de ácido cafeico. En la siguiente tabla se resumen las condiciones y gramos obtenidos de ácido cafeico.

Tabla 1. Condiciones de extracción y gramos de ácido cafeico obtenido

Método de extracción	Temperatura (°C)	Tiempo (hr)	Ácido cafeico (gr)
Lixiviación	60	1	0.34 gr
Ultrasonido	45	6	1.02

Cuantificación por cromatografía de gases.

El ácido cafeico se identificó por medio de un cromatografo de gases marga Agilent, usando una columna DB-1 y un detector FID, temperatura del inyector fue de 180°C y se usó una rampa de temperatura en el horno. Como se muestra en la figura 1 para el caso del ácido cafeico obtenido por lixiviación el pico apareciendo el pico a los 10.27 min.

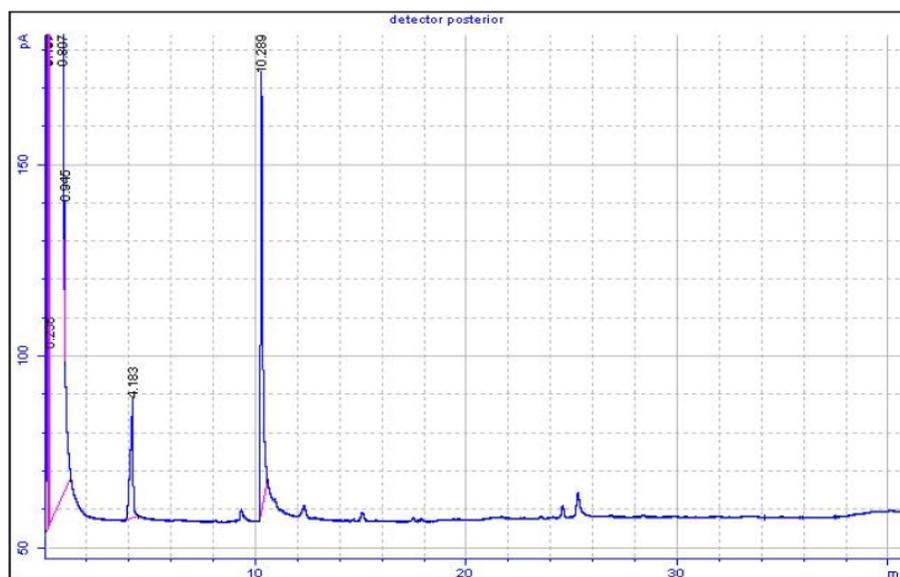
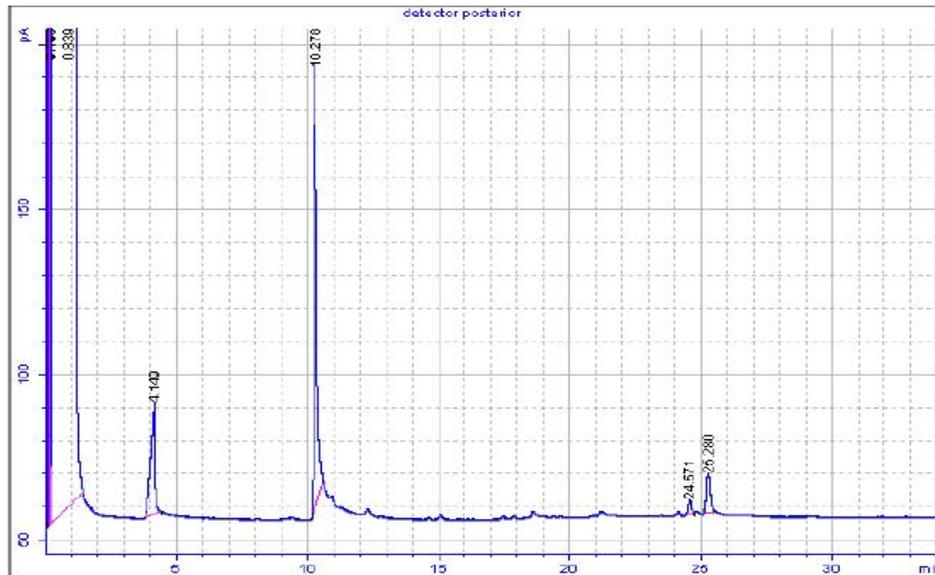


Fig. 1. Cromatograma del ácido cafeico extraído de la pulpa de café usando el método (A)

Para el caso del ácido cafeico extraído por ultrasonido identificó por medio de cromatografía de gases apareciendo el pico del ácido cafeico a los 10.289 min, como se muestra en la figura 2.

Fig.2



Cromatograma del ácido cafeico extraído de la pulpa de café usando el método (B)

Se puede concluir que es posible la extracción del ácido cafeico contenido en la pulpa de café la cual se considera como desecho. El uso de ultrasonido ayuda a mejorar la extracción del ácido cafeico siendo el método (B) el que presenta mejores rendimientos. Se encontró que al secar la pulpa el extracto se torna de color oscuro lo que implica el retirar el color, por lo que se pretende hacer pruebas usando pulpa fresca.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Pushpas. Murthy, M. Madhava Naidu. (2012). Resources, conservation and recycling. vol.(66):45-58.
2. Chia-Hung Koo.; Bao-Yuan Chen.; Yung Chuan Liu. (2014). Molecules. Vol. 19:67-77.
3. Palma, M.; Piñeiro, Z.; Rostagno, M.A.; Barroso, C.G. (2013). PACS REFERENCE: 43.35.vz.
4. Pérez, H. L.; Chávez, Q. K.; Medina-Juárez, L.; Gámez, M.N. (2013). Biotecnia. XV(1):51-56.
5. Esquivel, P.; Jiménez, M. V. (2012). Food Research International. (46): 488-495.

ANÁLISIS AMPLIO DE GENOTIPOS DE *M. BOVIS* A PARTIR DE AISLADOS MEXICANOS MEDIANTE LA TÉCNICA DE VNTR

Elba Rodríguez-Hernández^a, Susana Flores Villalva^a, Germinal J. Cantó Alarcón^b, Feliciano Milián Suazo^b, Alejandro Nava Vargas^b, Yezenia Rubio Venegas^b.

^aCentro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal CENIDF y MA-INIFAP, rohe577@hotmail.com. ^bUniversidad Autónoma de Querétaro, gcanto07@uaq.mx, miliansf@yahoo.com.mx, alexnavavargas@hotmail.com, yez.rubio@hotmail.com.

Resumen

En México existen pocos reportes del estudio a gran escala de genotipos de *M. bovis* determinados mediante la técnica de VNTR (Número Variable de Repeticiones en Tandem), y en vista de que muchas regiones del país han sido poco exploradas a este respecto, en nuestro trabajo utilizando la técnica antes mencionada, realizamos la genotipificación de aislados provenientes de diferentes regiones del país. Obtuvimos datos de perfiles genotípicos de *M. bovis* que aportan información relevante sobre las diferencias genéticas de las cepas estudiadas, la relación entre ellas y su distribución; para cumplir con nuestro objetivo se muestrearon diferentes hatos lecheros de diversas regiones del país. Obtuvimos muestras de animales enviados a rastro a partir de tejido sospechoso a la infección con tuberculosis. Con las muestras analizadas identificamos alrededor de 451 perfiles genéticos de aislados de *M. bovis*; a estas mismas muestras previamente se les había tipificado mediante la técnica de espoligotipificación, así que realizamos la comparación y la relación entre ellos. Las muestras positivas fueron analizadas por VNTR utilizando 12 *loci*. Realizamos el análisis de longitud de fragmentos del producto de la PCR. Los perfiles obtenidos fueron capturados en Excel y se compararon filogenéticamente; utilizando el programa MIRU-VNTR *plus* para obtener los dendogramas. La diversidad alélica de los VNTR individualmente y en combinación fue calculada usando la siguiente ecuación $D=1-\sum x_i^2/[n(n-1)]$. Los resultados demuestran que una colección de 12 MIRU-VNTR en combinación con resultados de espoligotipificación de estos aislados incrementa considerablemente el poder de discriminación entre cepas, con lo que se demuestra su eficacia; especialmente los loci 2461 ($D=0.857$) y 577 ($D=0.808$) como método de primera línea para el análisis de transmisión de la tuberculosis. Con los datos obtenidos de los perfiles de espoligotipificación y VNTR pudimos determinar la relación genética entre las cepas; comparar los perfiles y determinar sus diferencias.

1. Introducción

La tuberculosis bovina (TBB) es una enfermedad bacteriana crónica causada por *Mycobacterium bovis*, una bacteria patógena intracelular obligada que se caracteriza por producir granulomas en diferentes órganos, especialmente pulmones y nódulos linfáticos de varias especies animales y el hombre (Romero *et al.*, 2006). La tuberculosis afecta a la ganadería tanto a nivel de producción como en la calidad de sus productos, ya que causa aproximadamente una disminución en un 10 al 20% de leche y carne, por lo que es necesario establecer un control estricto sobre la tuberculosis bovina que permita a la ganadería nacional desarrollarse en mejores condiciones sanitarias

(Boland *et al.*, 2010). La aplicación de técnicas de biología molecular en la identificación de micobacterias aisladas a partir de medio líquido o sólido, permite establecer diagnósticos más rápidos y confiables (Maslow *et al.*, 1993; Kamerbeek *et al.*, 1997). La mayor parte de las técnicas comercializadas se basan en la amplificación, mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), de secuencias génicas específicas del género *Mycobacterium* que son de utilidad para distinguir los miembros del complejo de *M. tuberculosis* de otras micobacterias. Algunos de los métodos que se emplean para el estudio de la epidemiología molecular de la TB son el análisis por VNTR y la determinación de espigotipos (Milian-Suazo *et al.*, 2008, Frothingham *et al.*, 1998). En este trabajo, se determinó el perfil genotípico de aislados de *M. bovis* para comprender con detalle la epidemiología de la enfermedad y establecer con ello las rutas de infección que marcarán la pauta para considerar nuevas estrategias de control y erradicación de la tuberculosis bovina.

2. Material y métodos

La identificación de los genotipos a partir de aislados de *M. bovis* mediante VNTR se realizó con una serie de 12 iniciadores específicos; como controles positivos se utilizaron las cepas H37Rv y AN5.

Extracción de ADN: Las reacciones de PCR se realizaron a partir de ADN extraído de los aislados obtenidos; utilizamos 100 mg del aislado en cultivo que fue colocado en 0.2 ml de amortiguador TE 1X y se incubó en baño María a 95 °C durante 45 minutos. Posteriormente se realizó la cuantificación del ADN en un espectrofotómetro y se evaluó la calidad del ADN en un gel de agarosa al 1% que fue electroforado a 70 V.

Preparación de las reacciones: Los iniciadores se reconstituyeron en agua libre de nucleasas para tener una solución de almacenaje a una concentración final de 200 µM, y se realizaron alícuotas que se almacenaron a -20°C protegidas de la luz. La alícuota que se descongeló para su uso fue guardada a 4°C. La reacción de PCR fue realizada en un termociclador a un volumen final de 10 µl; cada tubo de reacción fue preparado con 1.25 U de Taq polimerasa; 2.5 mM de MgCl₂; amortiguador 1x; 1 µl de DMSO, 4 mM de dNTP's, 1 µM de iniciador sentido y 1 µM de iniciador antisentido, 2.0 µl de ADN y el volumen fue ajustado con agua libre de nucleasas. Las reacciones de PCR fueron sometidas a un protocolo de termociclado, compuesto por una etapa de desnaturalización de 95 °C/10 minutos; una etapa de amplificación de 35 ciclos a 95 °C/30 segundos, 55 °C/1 minuto, 75 °C/1:30 minutos, y finalmente a 75 °C/10 minutos.

Evaluación de los VNTR's en geles de agarosa: La evaluación de los fragmentos se realizó mediante un corrimiento electroforético en un gel de agarosa al 3%, teñido con 1.5 µl de bromuro de etidio para separar fragmentos en un rango de 50 pb a 1,000 pb ó al 1% para separar fragmentos mayores a 1,000 pb. A los fragmentos obtenidos se les evaluó el tamaño del producto para obtener el número de copias y generar un código numérico que representará las veces que se encuentra expresado un locus en particular en cada uno de los aislados y se generó el genotipo correspondiente. Los perfiles genotípicos fueron analizados en el programa MIRU-VNTR_{plus}.

Resultados

En este trabajo mediante la técnica de VNTR determinamos los perfiles genotípicos de aislados de *M. bovis*, provenientes de hatos lecheros de diferentes regiones del país, entre las que se encuentran Querétaro, Estado de México, Guanajuato, Aguascalientes, Coahuila, Hidalgo, Michoacán, Jalisco, Baja California, San Luis Potosí, Nuevo León, Chiapas, Zacatecas, Chihuahua, Durango, Nayarit y Colima. Identificamos alrededor de 451 perfiles genéticos de aislados de *M. bovis*. Los loci que mostraron mayor poder de discriminación fueron 4052, 577, 2165 y 2461; mientras que los de mayor polimorfismo fueron 2995 y 2461. Obtuvimos 451 perfiles alélicos, lo que corresponde a muestras con diferente número de copias en al menos un locus de los analizados. Estos perfiles alélicos fueron determinados mediante 12 loci (VNTR), y se obtuvo una diversidad alélica (poder de discriminación) de 0.999, de todos los aislados analizados se obtuvieron un total de 451 perfiles diferentes (número de copias de cada locus para todas las muestras). La diversidad alélica o poder de discriminación (D) obtenida para cada uno de los loci fue de entre 0.239 hasta 0.857 (Cuadro 1). Los resultados muestran que los loci con mayor poder de discriminación fueron el 2461 (D=0.857) y 577 (D=0.808), mientras que los loci 4052 (D=0.737), 2165 (D=0.737), 3192 (D=0.514), 1955 (D=0.655), 1644 (D=0.6719), 2163b (D=0.694), 424 (D=0.596), 2401 (D=0.613) y 2995 (D=0.718) mostraron un poder de discriminación moderado. El loci 2686 (D=0.239) fue el que mostró el menor poder de discriminación de todos.

Cuadro 1. Diversidad alélica de cada VNTR de los aislados de *M. bovis* analizados

VNTR	Número de repetidos para cada perfil alélico por VNTR									D
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	
3192	19	43	307	98						0.514
2686	16	2	406	18	25					0.239
1955	66	21	59	262	59					0.655
1644	117	4	163	177	5	1				0.6719
4052	49	9	99	133	166	11				0.737
577	121	*	43	77	65	123	36	2		0.804
2163b	43	13	89	84	223	14	1	*	*	0.694
2165	193	10	11	53	34	118	48	*	*	0.737
424	109	*	70	15	267	6	*	*	*	0.596
2401	55	7	84	269	45	*	3	4	*	0.613
2995	7	22	24	66	124	201	21	2	*	0.718
2461	55	47	7	69	82	88	73	33	13	0.857

D: Diversidad alélica (Poder de discriminación)

El análisis filogenético de los perfiles obtenidos con los 12 loci mencionados reveló un dendograma en el que podemos identificar dos grandes grupos clonales. Un grupo conformado solo por 77 aislados; este grupo a su vez está dividido en 2 subgrupos, uno conformado en su mayoría por aislados de Coahuila y un aislado de Aguascalientes y uno de zacatecas (esto puede deberse a una cepa poco representada y exclusiva de dicha región o al bajo número de muestras analizadas); el otro subgrupo conformado en su mayoría por aislados de Zacatecas. Por otra parte, en el grupo restante se concentran 392 aislados, y este también se divide en dos subgrupos. Un subgrupo dividido en dos racimos donde predominan aislados de Jalisco e Hidalgo respectivamente, lo que sugiere que estas cepas son exclusivas de dichas regiones, cabe mencionar que dentro de los aislados de Hidalgo se encontró el mayor número de genotipos compartidos (4 aislados con genotipos idénticos) con perfil de espilogotipificación idéntico (Figura 1).

Figura 1. Dendrograma representativo de los aislados de *M. bovis* obtenidos de diferentes estados de la republica.



Los perfiles fueron analizados usando 12 loci: 2461, 577, 4052, 2165, 3192, 1955, 1644, 2163b, 424, 2401, 2995, 2686.

Discusión y conclusión

Actualmente la genotipificación de aislados de *M. bovis* ha cobrado notable importancia a nivel mundial, debido a que con esos resultados y con datos obtenidos de la epidemiología clásica es posible determinar fuentes de infección y diseminación no solo de *M. bovis* sino de cualquier integrante del complejo *M. tuberculosis*. Bajo esta premisa se puede concluir que las cepas de *M. bovis* con genotipo idéntico proceden del mismo origen, y que cepas con diferente genotipo provienen de un lugar distinto o tienen distinto origen de infección, con estos datos por ejemplo podríamos determinar si un bovino de reciente adquisición en alguna unidad ganadera es causante del brote de tuberculosis (Aminian et al., 2009). Con el análisis de identificación molecular, se determino la presencia de *M. bovis* en muestras de animales sospechosos con tuberculosis de varios estados de la republica mexicana, lo cual indica la existencia de infecciones por tuberculosis en hatos lecheros de México. Este estudio de 12 MIRU-VNTR en combinación con resultados de espoligotipificación de estos mismos aislados incrementa considerablemente el poder de discriminación entre cepas, con lo que se demuestra la eficiencia del uso de 12 MIRU-VNTR especialmente los loci 2461 (D=0.857) y 577 (D=0.808) como método de primera línea para el análisis de transmisión de la tuberculosis. Con los datos obtenidos de los perfiles de espoligotipificación y VNTR pudimos determinar la verdadera relación genética entre las cepas; comparar los perfiles y determinar sus diferencias. Con esos datos hemos podido determinar las

regiones del país donde se ha diseminado *M. bovis* mediante el seguimiento de genotipos idénticos en las regiones y determinar que existe una gran variabilidad de genotipos que no son compartidos al menos en las regiones estudiadas, lo que significa que para determinar los focos de infección de la enfermedad es necesario aumentar el número de aislados de ciertas regiones y empatar los datos con la información epidemiológica clásica. A futuro, estos datos serán una herramienta útil en casos específicos dentro de la campaña para el control y erradicación de la tuberculosis bovina en México (Roring et al., 2004). Los datos obtenidos en este trabajo son una primera aproximación para conocer los genotipos de *M. bovis* presentes en el país, sin embargo faltan estudios amplios e interdisciplinarios para obtener datos suficientes que ayuden al diseño de estrategias novedosas en las campañas de control y erradicación de la tuberculosis en México.

Este trabajo fue apoyado parcialmente con recursos del CONACyT con el acuerdo FORCECYT/5SEXT/2012/11/06-03 (clave 193512).

Bibliografía

1. Aminian M., Sabbeer A., Bennett P. 2009. Determination of major lineages of *Mycobacterium tuberculosis* complex using Mycobacterial interspersed repetitive units. IEEE Int Conf Bioinform Biomed. 338-343.
2. Boland, F., Kelly, G.E., Good, M., More, S.J. 2010. Bovine tuberculosis and milk production in infected dairy herds in Ireland. Prev. Vet. Med. 93: 153-161.
3. Frothingham R., Meeker-O'Connell W.A., (1998). Genetic diversity in the *Mycobacterium tuberculosis* complex based on variable numbers of tandem DNA repeats. Microbiology 144:1189–1196
4. Kamerbeek J., L. Schouls., A. Kolk., M. Van A., V. Soolingen D., S. Kuijper., A. Bunschoten., H. Molhuizen., R. Shaw., M. Goyal., V. Embden J (1997). Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology. J Clin Microbiol 35: 907-914.
5. Maslow J, Mulligan M, Arbeit R (1993). Molecular epidemiology: application of contemporary techniques to the typing of microorganisms. Clin Infect Dis; 17:153-162
6. Milián-Suazo, F., Harris, B., Arriaga, D.C., Romero, T.C., Stuber, T., Alvarez, O.G., Morales, L.A., Perez, S.M., Payeur, J.B. 2008. Molecular epidemiology of *Mycobacterium bovis*: Usefulness in international trade. Preventive Veterinary Medicine. 87:261–271.
7. Romero, B., Aranaz, A., de Juan, L., Alvarez, J., Bezos, J., Mateos, A., Gómez-Mampaso, E., Domínguez, L. 2006. Molecular epidemiology of multidrug-resistant *Mycobacterium bovis* isolates with the same profile as isolates from animals. J Clin Microbiol. (449): 3405-3408.
8. Roring S., Alistair S., Hewinson G., Neill D., Robon S (2004). Evaluation of variable number tandem repeat (VNTR) loci in molecular typing of *Mycobacterium bovis* isolates from Ireland. Vet Microbiol 101:65-73.

EFFECTO DE LA ADICIÓN DE DISTINTAS FUENTES DE FIBRA SOBRE LA CALIDAD PROTEICA DE DIETAS DE GLUTEN EMPLEANDO BIOENSAYOS EN RATAS

María del Refugio Falcón Villa, Jesús Manuel Barrón Hoyos

Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos. Universidad de Sonora. Boulevard Luis Encinas y Rosales s/n, Hermosillo, Son. 83000, MEXICO, e-mail: ralcon@guayacan.uson.mx

RESUMEN

El creciente mercado de fibras dietéticas comerciales empleadas en la elaboración de productos con mayor nivel de fibra, podrían incrementar el consumo de fibra, como complemento de una sana alimentación, sin embargo aumentar la cantidad de fibra en la dieta puede también tener efectos adversos en la digestión, absorción y utilización de la proteína de los alimentos, afectando la calidad proteica, sobre todo cuando la fuente de proteína en la dieta es de menor calidad como la del gluten, por lo que en este trabajo se plantea evaluar el efecto de la adición de distintas fibras comerciales sobre la calidad proteica de dietas sintéticas de gluten, mediante bioensayos de calidad proteica empleando la rata como modelo experimental. Se elaboraron tres dietas sintéticas de gluten con tres distintas fuentes de fibras comerciales. Los indicadores biológicos evaluados fueron, Digestibilidad de materia seca (DMS), Digestibilidad de nitrógeno Aparente y Verdadera (DAN, DVN) y Razón Neta de Proteína (RNP). Los resultados fueron analizados por el programa estadístico JMP con un 95 % de significancia. Los resultados de DMS de las dietas de gluten con las distintas fibras variaron de 92.3 a 95.3% y la DNA y DNV variaron de 87.8 a 90.4% y de 91.1 a 93.8% respectivamente, estas digestibilidades mostraron diferencia significativa con respecto a las digestibilidades de la dieta de gluten sin fibra. Los resultados de RNP para estas dietas fueron de 1.16 a 1.42 resultados significativamente menores a la dieta de gluten con celulosa y a la dieta de gluten sin fibra. Los resultados mostraron que la adición de estas distintas fuentes de fibras comerciales a dietas de gluten tiene un efecto adverso en la digestibilidad, promovido por un aumento en la excreción de nitrógeno endógeno y fecal.

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente y después de 30 años de investigación, la fibra dietética (FD) es parte de lo que se considera una dieta saludable (Escudero & Gonzalez, 2006). La fibra dietética es clasificada en dos principales categorías, insoluble (FDI) y la soluble (FDS). Esta agrupación está basada en sus propiedades químicas, físicas y funcionales. Las fibras solubles se disuelven en agua formando geles viscosos. Evitan la digestión en el intestino delgado y son fácilmente fermentados por la microflora del intestino grueso. La FDS contiene pectinas, gomas, inulina, fructanas, (Anderson *et al.*, 2009). En el tracto gastrointestinal humano, las fibras insolubles no forman geles debido a su insolubilidad en agua y la fermentación es muy limitada. Algunos ejemplos de fibras insolubles son la lignina, celulosa y algunas hemicelulosas (Kumar & Banerjee, 2010). La mayoría de los alimentos que contienen FD incluyen aproximadamente un tercio fibras solubles y dos tercios de insolubles (Lattimer & Haub, 2010). Dietas con alto contenido de fibra, como las ricas en cereales, frutas y vegetales tienen un efecto positivo en la salud (Anderson *et al.*, 2009). Este efecto benéfico se ha relacionado con una disminución en la incidencia de varios tipos de enfermedades, debido a efectos beneficiosos, tales como: aumentar el volumen de las heces; disminuir el tiempo del tránsito intestinal de los alimentos en

el intestino; reducir el colesterol y los niveles de glucemia; atrapar sustancias que se pueden ser peligrosas para el organismo humano (agentes mutagénicos y carcinogénicos); y estimular la proliferación de la flora intestinal (Dhingra *et al.*, 2012). Estos beneficios se atribuyen principalmente a la resistencia de la fibra a su digestión, su capacidad para absorber y retener agua, formando una red que ocluye y fija algunas sustancias orgánicas, tales como lípidos y carbohidratos. Sin embargo la FD también atrapa otras moléculas tales como proteínas y minerales, incapacitándolos a su digestión y disminuyendo su absorción (Wang *et al.*, 2006). Se ha demostrado que la fibra dietética insoluble puede disminuir la digestibilidad de la proteína (Salas *et al.*, 2008). Se han desarrollado algunas investigaciones para estudiar el efecto de la FD sobre la digestión de nutrientes (Mongeau *et al.*, 1989; Wang *et al.*, 2006; Misurcova *et al.*, 2010). La mayoría de los autores reportan que el contenido de FD puede poner en peligro la digestibilidad de los nutrientes. En particular, el efecto de FD difiere con el origen y la naturaleza de la fibra y se refiere a su composición química, así como a sus propiedades físico químicas (Pirman *et al.*, 2009). El propósito de esta investigación fue determinar el efecto de la adición de distintas fuentes de fibras comerciales a dietas de gluten sobre la digestibilidad de nitrógeno y la utilización de la proteína mediante bioensayos en ratas.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción de la muestra. Para este estudio se elaboraron tres dietas sintéticas con gluten como fuente de proteína adicionando tres distintos ingredientes altos en fibra a un 5 %: Dieta de gluten con el ingrediente basado en salvado de trigo (GLU-INS); Dieta de gluten con el ingrediente basado en maltodextrinas resistentes (GLU-SOL); Dieta de gluten con el ingrediente basado en fibra insoluble y soluble de la pulpa de cítricos (GLU-IS) además se elaboró una dieta de caseína con fibra de celulosa al 5 % (GLU-CEL) y otra dieta de caseína sin fibra, a la cual no se le agregó ningún componente de fibra (GLU-SIN F). Todas las dietas experimentales fueron elaboradas basándose en el contenido de nitrógeno total de las muestras de prueba, realizándose los ajustes para que estas dietas obtengan un 10% de proteína (Hackler, 1978). La dieta libre de nitrógeno (DLN) necesaria para ser considerada en los bioensayos de Digestibilidad de nitrógeno verdadero y de Razón Neta de Proteína (NPR), se formuló de acuerdo a la composición dada por AOAC (1990). La composición de la dieta base es: Proteína 10%, mezcla de minerales 3.5%, mezcla de vitaminas 2.5%, grasa 8%, fibra 5.0%, sacarosa 12.0% y carbohidratos (almidón) hasta completar el 100%.

Se realizó un análisis de composición química a todas las muestras por los métodos de la AACC, 1991. El contenido de fibra dietética se determinó por el método propuesto por Prosky *et al.*, (1987), basado en el método 985.29. AOAC (1997).

Bioensayo en ratas. El estudio de alimentación de 14 días fue conducido con 24 ratas *Sprague Dawley* recién destetadas, de 21- 23 días de edad, con peso promedio de 45-55 g, las ratas fueron proporcionadas por la Unidad de Experimentación Animal del Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos de la Universidad de Sonora. Se pesaron las ratas y se distribuyeron en bloques al azar en 6 grupos de 4 ratas, los cuales fueron empleados para cada una de las dietas experimentales y se mantuvieron en forma individual en jaulas de acero inoxidable con malla en la base. La dieta y el agua fueron suministradas *ad-libitum*, la temperatura del laboratorio se mantuvo a 25 °C, con una humedad relativa de 65-80%, y ciclos de iluminación de 12 h luz-oscuridad. El experimento de alimentación fue repetido ocho veces para un mismo lote de dieta experimental. Un grupo de ratas recibió la dieta libre de nitrógeno durante los 14 días que duró el experimento.

Indicadores de Calidad proteica evaluados:

Digestibilidad de materia seca (DMS) propuesta por Church & Pond, 1974.

Digestibilidad Aparente (DA) y verdadera (DV). La DA considera la cantidad de alimento digerido, calculado por la diferencia entre el alimento consumido y lo eliminado por el animal. La DV se determina considerando el nitrógeno excretado en heces proveniente del recambio metabólico, éste se determina en las heces del grupo de animales mantenidos con la dieta libre de nitrógeno, durante el desarrollo del experimento.

Determinación de Razón Neta de Proteína (RNP). Es calculado por las variaciones en peso, calculada de acuerdo a Bender & Doell (1957).

Análisis Estadístico. Para el análisis estadístico de los bioensayos de las dietas experimentales de caseína con los distintos ingredientes, se realizó un análisis de varianza en bloques con un

nivel de significancia de 5 %, seguido de una comparación de medias por el método de Tukey ($\alpha \leq 0.05$) utilizando para ello, el paquete estadístico JMP versión 5.0 (2002).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición Química. El contenido de proteína de estos ingredientes altos en fibra varió desde 0.32 % para la fibra soluble y de 7.65 % para la fibra conformada por las fracciones insoluble y soluble. El contenido de fibra dietética para la fibra obtenida de salvado de trigo fue de 94.0 % de fibra insoluble, conteniendo trazas de fibra soluble, Cho *et al.*, 1999 reportan un contenido de fibra dietética total del ingredientes altos en fibra obtenidos de salvado de trigo de hasta un 90%; el ingrediente alto en fibra basado en maltodextrinas resistentes presentó 50.0 % de fibra soluble y trazas de fibra insoluble, resultado similar al reportado por Hashizume & Okuma, 2009 quienes reportan un producto de maltodextrinas resistentes con 58% de fibra dietética; y el ingrediente obtenido de pulpa de cítricos mostró 36.6 % de fibra dietética insoluble y 31.4 % de fibra soluble datos similares a los reportados por Nelson, 2001 quién reporta un rango de 50 a 80 % de fibra dietética total obtenida a partir de cítricos.

Digestibilidad de Materia Seca (% DMS). En las dietas experimentales basadas en gluten con las distintas fibras se observó que la mayor DMS corresponde a la dieta GLU-SOL, seguido de las dietas GLU-IS y GLU-INS, ésta última mostró un resultado similar a la dieta GLU-CEL. Las ratas que consumieron la dieta GLU-SOL presentaron un aumento significativo en %DMS al compararlas con las ratas que consumieron las dietas GLU-INS y GLU-CEL, esto se debe principalmente a que las ratas que consumieron la dieta GLU-SOL excretaron una menor cantidad de heces al compararlas con las excretas de las ratas que consumieron las dietas GLU-INS y GLU-CEL. Wilfart y colaboradores (2007), trabajaron con cerdos a los cuales les suministraron distintas dietas a base de cereales y con distintos niveles de fibra: bajo, mediano y alto contenido de fibra, encontrando que conforme se elevaba la cantidad de FD principalmente insoluble, se presentaba una disminución del %DMS.

Tabla 1. Consumo de alimento, total de heces y digestibilidad de materia seca de los grupos de ratas alimentadas con dietas sintéticas basadas en gluten con ingredientes altos en fibras.

Grupos	Consumo de Alimento (g)	Total de Heces (g)	DMS %
GLU-CEL	79.2 ± 5.7 b	6.3 ± 1.2 ab	92.1 ± 1.1 b
GLU-INS	104.8 ± 8.5 a	8.0 ± 0.8 a	92.3 ± 0.9 b
GLU-SOL	93.2 ± 10.4 ab	4.4 ± 0.3 b	95.3 ± 0.4 a
GLU-IS	106.9 ± 11.3 a	6.2 ± 1.5 b	94.2 ± 1.4a
GLU-SIN F	90.2 ± 15.4	2.5 ± 0.4	97.2 ± 0.3

DMS: digestibilidad de materia seca; Los valores son promedio de ocho determinaciones.; Letra diferente en la misma columna, indica, diferencia significativa ($p < 0.05$); Valores en \pm corresponden a la desviación estándar.

Digestibilidad de Nitrógeno (Aparente y Verdadera). En los resultados de la digestibilidad aparente de las dietas experimentales basadas con gluten y las distintas fibras se observó que los grupos alimentados con la dieta GLU-INS presentó la mayor DAN con 90.4%, seguido por la dieta GLU-SOL con 88.9% y GLU-IS con 87.8%. El grupo alimentado con la dieta GLU-SOL presentó la menor ingesta de nitrógeno y la menor excreción de nitrógeno en heces, en comparación con el grupo alimentados con la dieta GLU-IS el cual mostró el mayor consumo de nitrógeno pero también mostró la mayor cantidad de nitrógeno fecal.

La adición de la fibra comercial IS tanto a la dieta de gluten promovió un aumento significativo en la cantidad de nitrógeno excretado, provocando esto una disminución en el %DAN.

En relación a los resultados de la digestibilidad verdadera de las dietas experimentales basadas con gluten y las distintas fibras se observó que los grupos alimentados con la dieta GLU-INS presentó la mayor DVN con 93.8%, seguido por la dieta GLU-SOL con 93% y GLU-IS con 91.1%. La adición de fibra dietética comercial (insoluble y la de proporciones similares) a esta dieta de gluten disminuyeron la DVN entre un 4.4% a 7.2%, por lo que la adición de estas fuentes de fibra a la dieta afecta significativamente este indicador de la calidad proteica.

Tabla 2. Nitrógeno consumido, nitrógeno en heces y digestibilidad de nitrógeno verdadera de los grupos de ratas alimentadas con dietas basadas en gluten con ingredientes altos en fibras.

Grupos	Nitrógeno consumido (g)	Nitrógeno en Heces (g)	DAN %	DVN %
GLU-CEL	1.28 ± 0.09 b	0.13 ± 0.02 b	90.0 ± 1.5 ab	94.7 ± 1.6 a
GLU-INS	1.78 ± 0.14 a	0.17 ± 0.02 b	90.4 ± 0.7 a	93.8 ± 0.8 a
GLU-SOL	1.49 ± 0.16 b	0.16 ± 0.02 b	88.9 ± 1.5 ab	93.0 ± 1.2 ab
GLU-IS	1.82 ± 0.19 a	0.22 ± 0.03 a	87.8 ± 2.5 b	91.1 ± 2.3 b
GLU-SIN F	1.53 ± 0.26	0.10 ± 0.02	93.3 ± 1.1	97.3 ± 1.3

DAN: Digestibilidad aparente de nitrógeno; DVN: Digestibilidad verdadera de nitrógeno; Los valores son promedio de ocho determinaciones; Letra diferente en la misma columna, indica, diferencia significativa ($p < 0.05$); Valores en \pm corresponden a la desviación estándar

Razón Neta de proteína (RNP). En los resultados de RNP obtenidos del consumo de las dietas de gluten con las distintas fibras dietéticas evaluadas se encontró que el grupo alimentado con la dieta GLU-IS mostró el mayor valor de RNP de 1.42, seguido por los grupos alimentados por las dietas GLU-INS y GLU-SOL dando cada una de las dos dietas 1.2 unidades de RNP, presentado estas dietas diferencia significativa con respecto a la dieta GLU-CEL.

Tabla 3. Aumento en peso, Proteína consumida y razón neta de proteína de los grupos de ratas alimentadas con dietas sintéticas basadas en gluten con ingredientes altos en fibras

Grupos	Aumento en peso (g)	Proteína consumida (g)	RNP
GLU-CEL	5.7 ± 0.5 b	8.03 ± 0.6 b	1.70 ± 0.2 a
GLU-INS	6.9 ± 1.9 b	11.1 ± 0.9 a	1.21 ± 0.1 bc
GLU-SOL	5.5 ± 1.2 b	10.3 ± 1.1 a	1.16 ± 0.1 b
GLU-IS	10.1 ± 2.6 a	11.27 ± 1.2 a	1.42 ± 0.2 b
GLU-SIN F	5.05 ± 2.1	8.39 ± 1.6	1.68 ± 0.2

RNP: Razón neta de proteína; Los valores son promedio de ocho determinaciones.; Letra diferente en la misma columna, indica, diferencia significativa ($p < 0.05$); Valores en \pm corresponden a la desviación estándar.

4. CONCLUSIONES

La adición de fibra insoluble y de la fibra con cantidades equivalentes de insoluble y soluble a las dietas de gluten disminuyó la digestibilidad de nitrógeno, por lo que la adición de estas fuentes de fibra a la dieta afecta su calidad proteica.

El efecto negativo de las fibras comerciales incorporadas a estas dietas experimentales es significativo cuando la base de la dieta es una proteína de baja calidad. Ambas fracciones de fibra soluble e insoluble afectaron la calidad proteica en la utilización de la proteína de las dietas de gluten.

Este estudio indica que el consumo de las distintas fracciones de la fibra reduce la digestibilidad y la utilización de nitrógeno de las dietas experimentales, en ratas en crecimiento, promovido por un aumento en la excreción de nitrógeno. Este efecto de la fibra en la calidad proteica depende de la calidad de la proteína empleada en el experimento, como en dietas que tienen como única fuente de proteína al gluten.

BIBLIOGRAFÍA

1. AACC, "Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists", 8a Ed. The Association, St. Paul, MN. 1991.
2. AOAC. "Official methods for analysis". Association of the Official Analytical Chemists. Virginia, USA. 1990.

3. AOAC, "Official Methods of Analysis of AOAC", 16 th ed. Vol. 1, Sec. 12.1.07, Method 960.52. 1997.
4. J.W. Anderson, P. Baird, R. H. Davis, S. Ferreri, M. Knudtson, A. Koraym, V. Waters & C.L. Williams, "Health benefits of dietary fiber", *Nutrition Reviews*, Vol. 67, 4, 2009. pp. 188-205.
5. A. E. Bender & B. H. Doell, "Biological evaluation of protein: A new concept", *Brit. J. Nutr.*, Vol. 11, 1957, pp.140-148.
6. S. Cho, L. Prosky & M.L. Dreher, "Complex carbohydrates in foods", Marcel Dekker, New York. (1999).
7. D.C. Church & W.G. Pond, "Basic animal nutrition and feeding", *Oxford Press*. Portland, Oregon. USA.,1974, pp. 1-2.
8. D. Dhingra, M. Michael, H. Rajput, R.T. Patil, "Dietary fiber in foods: a review", *Journal of food science and technology* 49, 3, 2012, pp. 255-266.
9. A.E. Escudero & S.P. González. Dietary fibre. *Nutrición Hospitalaria* 21, 2, 2006, 60-71.
10. L. R. Hackler, "An Overview of the AACC/ASNT Collaborative Study Protein Quality Evaluation", *Food Tech.*, Vol. 12, 1978, pp. 62-64.
11. Ch. Hashizume & K.Okuma, "Fibersol-2 Resistant Maltodextrin: Functional Dietary Fiber Ingredient," in *Fiber Ingredients*, (CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, (2009), Chapter 5, pp. 61-78.
12. V.A. Kumar & R. Banerjee, "Dietary fiber as functional ingredient in meat products: a novel approach for healthy living-a review", *Journal of Food Science and Technology*, 47, 3, 2010, pp. 247-257.
13. J.M. Lattimer & M.D. Haub, "Effects of dietary fiber and its components on metabolic health", *Nutrient*, 2, 2010, pp. 1266-128.
14. L. Misurcova, S. Kracmar, B. Klejdus, J. Vacek, "Nitrogen content, dietary fiber, and digestibility in algal food products", *Czech Journal of Food Science* 28, 2010, pp. 27-35.
15. R. Mongeau, G. Sarwar, R.W. Peace, R. Brassard, "Relationship between dietary fiber levels and protein digestibility in selected foods as determined in rats", *Plant Food Human Nutrition*, 39, 1989, pp. 45-51.
16. A.J. Nelson, "High-fiber ingredients", *Eagan Press Handbook Series*, 2001, pp. 1-27.
17. T. Pirman, M.P. Patureau, A. Oresnik, J. Salobir, "Effects of dietary pectins on protein digestion and metabolism in growing rats", *Argiculturae Slovenica*, 94, 2, 2001, pp.111-119.
18. L. Prosky, N.G. Asp, T.F. Schweizer, J.W. DeVries, & I. Furda, "Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber in foods and food products: interlaboratory study", *Journal-Association of Official Analytical Chemists*, 71, 5, 1987, pp.1017-1023
19. S.J. Salas, S.A. Bonada, C.R. Trallero, S.M.E. Salo, P.R. Burgos, "Nutrición y dietética clínica", España: Elsevier España S. L. (2008).
20. SAS. JMP, "A Bussiness Unit of SAS". Version 5.0.1 by Statistical Analysis System, Institute Inc. Cory. NC, USA. 2002.
21. J.F. Wang, M. Wan, D.G. Lin, B.B. Jensen, Y.H. Zhu, "The effect of source of dietary fiber and starch on ileal and fecal amino acid digestibility in growing pigs", *Journal of Animal Science*, 19, 7, 2006, pp. 1040 -1046.
22. A. Wilfart, L. Montangne, P.H. Simmins, J. Milgen, & J. Noblet, "Sites of nutrient digestion in growing pigs: effect of dietary fiber", *Journal of Animal Science*, 85, 1, 2006, pp. 976-983.

Efecto del procesamiento térmico sobre el contenido de betalainas y la actividad antioxidante del betabel (*Beta vulgaris* L.)

Leticia X. López-Martínez^a, Octavio Dublán-García^a, Alma G. Castro-Miranda^a

^aUniversidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Química, Departamento de alimentos, lomarleticia@gmail.com

RESUMEN

El betabel (*Beta vulgaris* L.) es generalmente procesado antes de su consumo, lo cual influye en la estabilidad de las betalainas, afectando el contenido de compuestos con actividad antioxidante. El objetivo de este estudio fue investigar la influencia de métodos de procesamiento como escaldado, tostado y escaldado-tostado en muestras de betabel. El impacto del procesamiento fue evaluado en nueve muestras sometidas a diferentes tratamientos térmicos (pulpa escaldada, cáscara escaldada, pulpa y cáscara escaldada, pulpa tostada, cáscara tostada, pulpa y cáscara tostada, pulpa escaldada-tostada, cáscara escaldada-tostada y pulpa y cáscara escaldada-tostada) con base al contenido de betalainas totales (betacianinas y betaxantinas) y al contenido de compuestos fenólicos totales. Los resultados mostraron que el tratamiento cáscara tostada reportó un contenido mayor de betalainas y compuestos fenólicos totales comparado con los demás tratamientos. Dado que el contenido de betalainas totales está ampliamente relacionado con la capacidad antioxidante, se determinó el contenido de betalainas totales, los compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante; por los métodos ABTS^{•+} y DPPH[•], para tres tratamientos: cáscara tostada, pulpa-cáscara tostada y cáscara escaldada-tostada. Los resultados mostraron que con el tratamiento cáscara tostada se obtiene la mayor concentración de betalainas y compuestos fenólicos totales, en comparación con los otros tratamientos. En la actividad antioxidante el tratamiento cáscara tostada mostró un 74.4% y 78.9% de inhibición del radical ABTS^{•+} y DPPH[•], respectivamente.

1. INTRODUCCIÓN

El betabel pertenece (*Beta vulgaris* L.), no se considera un vegetal popular de consumo, sin embargo, es una excelente fuente de betalainas que están asociadas a su capacidad antioxidante (Czapski y col., 2009). Las propiedades colorantes naturales de las betalainas y la ausencia de su toxicidad sugieren un uso extenso de las betalainas como aditivos en la industria alimentaria. Un antioxidante es una molécula que previene la formación descontrolada de radicales libres o inhiben sus reacciones con estructuras celulares (proteínas, carbohidratos, lípidos y ADN). El daño oxidativo que estas especies pueden producir en las células se asocia con el desarrollo de numerosas patologías y enfermedades degenerativas como el cáncer y la diabetes. La ingesta de moléculas antioxidantes puede neutralizar la producción y exposición a los radicales libres y disminuir los efectos adversos de las especies reactivas del oxígeno en el cuerpo humano. El interés específico del betabel surge debido a que éste es uno de los 10 vegetales con mayor capacidad antioxidante (Kujala y col., 2000). La estabilidad de las betalainas está fuertemente influenciada por las enzimas presentes en su estructura y composición, pH, actividad de agua (a_w), oxígeno, luz, metales, temperatura, ácido ascórbico y azúcares (López y col., 2009). Las betalainas son metabolitos beneficiosos para la salud ya que presentan efectos antioxidantes y anticarcinogénicos, intervienen en la disminución de los triglicéridos, control de la glucemia y contribuyen a combatir la arteroesclerosis (Moreno y col., 2007). Así mismo, resultan importantes en la contribución de la salud cardiovascular, ya que reducen la concentración de homocisteína, que puede ser perjudicial para los vasos sanguíneos.

2. PARTE EXPERIMENTAL

Obtención de materia prima.

Las muestras de betabel fueron obtenidas en el mercado 16 de septiembre, Toluca, Estado de México, en el año 2013. Las cuales cumplían con los criterios de madurez de cosecha, presentando una buena calidad, incluyendo que se encontraban lisas y firmes, con forma y tamaño uniforme, sin daños físicos, que poseían un color de la piel uniforme y típica de la variedad; en éste caso *Beta vulgaris* L. var. Conditiva.

Procesamientos térmicos de las muestras de betabel.

Las muestras fueron lavadas con abundante agua y secadas sobre papel absorbente, posteriormente fueron cortadas en trozos pequeños (aproximadamente de 0.5 cm de largo x 0.5 cm de ancho x 0.2 cm de alto); dependiendo de la parte del betabel a utilizar (pulpa, cáscara y pulpa-cáscara).

Procesamiento térmico: escaldado para pulpa, escaldado para cáscara y escaldado para pulpa-cáscara.

Las muestras del betabel previamente cortadas (pulpa, cáscara y pulpa-cáscara), se colocaron en un recipiente con agua a 75 °C, durante 2 min.

Procesamiento térmico: tostado para pulpa, tostado para cáscara y tostado para pulpa-cáscara.

Para el procesamiento térmico se siguió la metodología de Ravichandran y col. (2011) con algunas modificaciones. Se colocaron las muestras del betabel previamente cortadas (pulpa, cáscara y pulpa-cáscara), en una sartén de metal inoxidable precalentada a 60 °C, se agitaron durante 2 min de manera constante para asegurar una distribución uniforme del calor.

Procesamiento térmico: escaldado-tostado para pulpa, escaldado-tostado para cáscara y escaldado-tostado para pulpa-cáscara.

El escaldado-tostado de las muestras de betabel previamente cortadas (pulpa, cáscara y pulpa-cáscara), se realizó aplicando un escaldado en agua a una temperatura de 75°C por 2 min, posteriormente se colocaron las muestras de betabel previamente escaldadas en una sartén de metal inoxidable a una temperatura de 60 °C por 2 min.

Método de extracción de betalainas.

Para la extracción de betalainas se utilizó la metodología de Ravichandran y col. (2011) con algunas modificaciones. Se tomaron 0.1 g ± 0.001g de las muestras tratadas, y se procedió a macerarlas en un mortero adicionando 10 mL de una disolución de etanol-agua (50:50 v/v). Los macerados fueron colocados en un tubo para centrifuga con capacidad de 15 mL, posteriormente se centrifugaron a 6000 rpm durante 10 min en una centrifuga. El sobrenadante se colectó y la centrifugación se repitió una vez más. Los sobrenadantes se reunieron y almacenaron en refrigeración (4°C) hasta el momento de ser utilizados en la determinación de betacianinas, betaxantinas, compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante.

Determinación de la concentración de betalainas totales.

La concentración de betalainas totales fue determinada acorde a por Ravichandran y col. (2011). Por lo que se determinó el contenido de betacianinas y betaxantinas en los extractos, a 540 nm y 480 nm, respectivamente, en un espectrofotómetro UV-Visible. La lectura de la absorbancia obtenida se utilizó para calcular la concentración de betacianinas y betaxantinas, posteriormente se calculó el contenido de betalainas totales para cada tratamiento, mediante la adición de las 2 anteriores. El contenido de betalainas (BT) se calculó con la siguiente fórmula (1):

$$BT (mg/100g) = (BC + BX) mg/100g$$

$$BC; BX (mg/100g) = \left[\frac{(A \times DF \times MW \times 10^6)}{(e \times l)} \right] \quad (1)$$

Donde: A es la absorbancia, DF es el factor de dilución, y l es el ancho de la celda (1 cm). Para la cuantificación de las betacianinas (BC); el peso molecular (MW) es MW= 550 g/mol y el coeficiente

de extinción molar (ϵ) es $\epsilon = 60000 \text{ L/mol cm}$ en H_2O . Para la cuantificación de las betaxantinas (BX), el peso molecular (MW) es $\text{MW} = 308 \text{ g/mol}$ y el coeficiente de extinción molar (ϵ) es $\epsilon = 48000 \text{ L/mol cm}$ en H_2O .

Determinación de compuestos fenólicos totales.

El contenido de compuestos fenólicos totales fue determinado por el método de Folin-Ciocalteu, y se determinaron con base a una curva estándar (0-5 mg/L ácido gálico). Las mediciones espectrofotométricas se realizaron en un espectrofotómetro UV visible, la absorbancia de la mezcla se leyó a 760 nm usando el respectivo solvente como blanco. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico (mg EAG).

Determinación de la actividad antioxidante.

ABTS^{•+} 2,2'-Azino-bis (3-etilenbenzotiazolino-6-ácido sulfónico)

Para la evaluación de la actividad antioxidante se utilizó el método de Pellegrini y col. (2006) Se preparó una solución stock de ABTS^{•+}, mezclando una alícuota de 5 mL de la solución ABTS (7 mM) y 88 μL de persulfato de potasio (140 mM), seguido de reposo en la oscuridad durante 12 h hasta producir una disolución de color verde oscuro. Posteriormente la disolución se diluyó con metanol hasta que la absorbancia alcanzó 0.74 a 734 nm. Se utilizó una solución de Trolox (0.02 mM) como antioxidante positivo. Se tomó la lectura de un blanco del reactivo (A_0). Posteriormente se colocaron 3.0 mL de la disolución del reactivo ABTS^{•+} y se combinaron con 100 μL de cada extracto a una concentración estandarizada de 0.6 mg/L (compuestos fenólicos totales), la lectura de la absorbancia se realizó después de 10 min de combinar el extracto con la disolución del reactivo ABTS^{•+} (A_t). El porcentaje de inhibición del ABTS^{•+} se calculó de la siguiente forma:

$$\% \text{ inhibición} = [(A_0 - A_t) / A_0] \times 100 \quad (2)$$

Donde: A_0 : Absorbancia inicial y A_t : Absorbancia final.

DPPH[•] (2,2-difenil-1-picrilhidracilo)

La actividad anti-radical fue adaptada del método de Lopez-Martinez y col. (2009). Los extractos se ensayaron a una concentración estandarizada de 0.6 mg/L (compuestos fenólicos totales). La reacción con el radical DPPH[•] se llevó a cabo en tubos de polipropileno a temperatura ambiente (25°C). Los extractos anteriormente ensayados se adicionaron a 2.8 mL del radical (DPPH[•], 98.9 mM en metanol) y se agitó en vortex por 15 segundos. La disminución en la absorbancia del DPPH[•] se midió a 520 nm en un espectrofotómetro, iniciando en el tiempo en el que recién se añadió la solución y cada 10 min hasta que no se observó cambio en la absorbancia de las muestras (90 min). Se utilizó metanol como blanco, Trolox (0,02 mM) fue un control positivo antioxidante y el control fue una mezcla de 2.8 mL de DPPH[•] y 100 μL de metanol. La actividad antioxidante se expresó como el porcentaje de inhibición, calculado de la siguiente manera:

$$\% \text{ inhibición} = [(A_0 - A_t) / A_0] \times 100 \quad (3)$$

Donde: A_0 : Absorbancia inicial y A_t : Absorbancia final.

3. RESULTADOS

El betabel (*Beta vulgaris* L.) es generalmente procesado antes de su consumo, lo cual influye en la estabilidad de las betalainas, afectando el contenido de compuestos con actividad antioxidante. El objetivo de este estudio fue investigar la influencia de métodos de procesamiento como escaldado, tostado y escaldado-tostado en muestras de betabel. El impacto del procesamiento fue evaluado en 9 muestras sometidas a diferentes tratamientos térmicos (escaldado, tostado, escaldado-tostado en pulpa, cáscara y pulpa-cáscara) y un control (pulpa-cáscara), en base al contenido de betalainas totales (betacianinas y betaxantinas) y el contenido de compuestos fenólicos totales, los resultados mostraron que el tratamiento CT (cáscara tostada) incrementó en un 45.47% el contenido de betalainas totales comparada con el control. También se encontró que el mismo tratamiento CT (cáscara tostada) incrementó en un 48.24% el contenido de compuestos fenólicos

totales, en comparación con el control. Y se encontró un descenso en el contenido de betalainas en los demás tratamientos.

Después del primer análisis, y dado que el contenido de betalainas totales está ampliamente relacionado con la capacidad antioxidante, se procedió a determinar el contenido de betalainas totales, los compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante; utilizando como referencia la metodología ABTS y DPPH, para 3 tratamientos (CT (cáscara tostada), PCT (pulpa-cáscara tostada), CET (cáscara escaldada-tostada) y un control (pulpa-cáscara). Los resultados mostraron una misma tendencia respecto al contenido de betalainas totales, con el tratamiento CT se obtiene la mayor concentración de betalainas comparada con el control; 843.64 y 513.64 mg/100g de muestra fresca, respectivamente. El método CT, mostró una mayor concentración de compuestos fenólicos totales, comparados con el control; 649.77 y 397.19 mg GAE/100g muestra fresca, respectivamente. En la actividad antioxidante determinada mediante espectrofotometría, el tratamiento CT mostro un 74.35% y 78.98% de inhibición a diferencia del control; 63.89 y 59.91% del radical ABTS•⁺ y DPPH•, respectivamente.

Los resultados indican que en general los tratamientos térmicos disminuyen el contenido de betalainas, los compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante, sin embargo el tratamiento CT, aumenta la concentración de betalainas, compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante de las muestras evaluadas.

3. CONCLUSIONES

Los procesos térmicos utilizados en éste estudio afectan la concentración de betalainas, compuestos fenólicos totales y las propiedades antioxidantes de las muestras utilizadas.

Existe una correlación significativa entre el contenido de betalainas totales y compuestos fenólicos totales con la actividad antioxidante determinada por los ensayos de ABTS•⁺ y DPPH•. El tratamiento cáscara tostada presentó el mayor contenido de betalainas, compuestos fenólicos totales y la mayor inhibición de los radicales ABTS•⁺ y DPPH•.

BIBLIOGRAFÍA

1. Czapski, J., Mikołajczyk, K., & Kaczmarek, M. Relationship between antioxidant capacity of red beet juice and contents of its betalain pigments. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 59, 2009, pp. 119-122.
2. Kujala, T. S., Loponen, J. M., Klika, K. D., & Pihlaja, K. Phenolics and Betacyanins in Red Beetrot: distribution and Effect of Cold Storage on the Contento of Total Phenolics and Three Individual Compounds. *J. Agric. Food Chem.* 48, 2000, pp. 5338-5342.
3. Lopez-Martinez, L.X., Oliart-Ros, R.M., Valerio-Alfaro, G., Lee, C.H., Parkin, K.L., & Garcia, H.S. Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. *LWT-Food Sci and Tech.*, 42, 2009.1187-1192.
4. Moreno, M., Betancourt, M., Pitre, A., García, D., Belén, D., y Medina, C. Evaluación de la estabilidad de bebidas cítricas acondicionadas con dos fuentes naturales de betalainas: tuna y remolacha. *Bioagro*, 19, 2007m pp. 149-159.
5. Pellegrini, N., Serafini, M., Salvatore, S., Del Rio, D., Bianchi, M.,Brighenti, F. Total antioxidant capacity of spices, dried fruits, nuts, pulses, cereals and sweets consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *Mol. Nut & Food res.*, 50, 2006, pp. 1030-1038.
6. Ravichandran, K., Saw, N. M. M. T., Mohdaly, A. A., Gabr, A. M., Kastell, A., Riedel, H., & Smetanska, I. (2011). Impact of processing of red beet on betalain content and antioxidant activity. *Food Res. Int.* 50, 2011, pp. 670-675.
7. Wybraniec, S., Michałowski, T. "New pathways of betanidin and betanin enzymatic oxidation". *J. Agric. Food Chem.*, 59, 2011, pp. 9612-9622.

COMPOSICIÓN FENÓLICA Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE INFUSIONES DE HOJA DE MORINGA Y SU ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA SOBRE CÉLULAS RAW 264.7

Ximena Coz Bolaños^a y Salvador Horacio Guzman Maldonado^b

^aPrograma de posgrado de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro (PROPAC), Querétaro, Qro., ximena.coz@gmail.com

^bLaboratorio de Alimentos Funcionales del Campo Experimental Bajío (INIFAP), Celaya, Gto., shoraciogm@gmail.com

RESUMEN

La hoja moringa (*Moringa eleifera*) es una buena fuente de proteínas y minerales. Con la hoja se preparan tisanas herbales, pero no se han caracterizado su composición fenólica ni la capacidad antioxidante. En este trabajo se evaluó el tiempo y la cantidad de hoja sobre el contenido de compuestos fenólicos en tisanas. A las muestras se les determinó el contenido de fenoles y flavonoides totales y los fenoles simples así como la capacidad antioxidante ABTS, FRAP y DPPH. Además, se evaluó el efecto antiinflamatorio de muestras digeridas *in vitro* con células murinas RAW 264.7. El mayor contenido de fenoles totales (48.2 mg/taza) y de flavonoides (47.9 mg/taza) se detectó en la tisana preparada como infusión con 3 g de hoja y 5 min de reposo. En esta muestra se detectaron ácido gálico (37 mg/taza), ácido caféico (11 mg/taza), rutina (25 mg/taza) y catequina (4 mg/taza). También se detectó una alta capacidad antioxidante por ABTS, DPPH y FRAP (1434.8, 172.8 y 351.2 mmol ET/taza, respectivamente). No se observaron efectos negativos sobre la viabilidad de las células RAW 264.7 en dosis de hasta un 30% del volumen total del medio de crecimiento. Se observó un efecto antiinflamatorio dosis dependiente altamente significativo al reducir el marcador de inflamación ON (óxido nítrico) hasta un 6% cuando el medio contenía 30% de la infusión. Las tisanas de hoja de moringa son una buena fuente de compuestos fenólicos, con alta capacidad antioxidante y presentan un efecto antiinflamatorio.

1. INTRODUCCIÓN

La moringa crece en zonas cálidas por debajo de los 500 msnm. La especie se encuentra distribuida en México a lo largo de la costa del pacífico; sin embargo, en años recientes se ha introducido en otras regiones del país. Se sabe que el valor nutrimental de las hojas de la moringa es parecido al de la leche en polvo y que su perfil y contenido de los aminoácidos esenciales, es similar al de la soya (1). Además, la hoja es buena fuente de minerales y vitaminas A y C.

En México, las hojas se consumen como parte de ensaladas y en la preparación de diversos platillos. También se preparan tisanas (2), infusiones acuosas conocidas incorrectamente como té de moringa. Las tisanas de la moringa presentan efectos anti-proliferativo en células de cáncer humano (3) y cáncer de pulmón (4). El consumo de té a nivel mundial ha crecido como resultado del interés del consumidor por su salud y bienestar. Este trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de la temperatura del agua, tiempo de reposo y contenido de hoja sobre el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante.

2. TEORÍA

Según la Agencia Europea de Medicamentos, el término té solo se aplica a la preparación acuosa de la especie *Camellia sinensis* planta conocida como té negro, té oolong o té verde. Las preparaciones acuosas de cualquier otra especie de planta se deben denominar té herbal o más

correctamente, tisana (5). Las tisanas se preparan como infusiones, decocciones o maceraciones de hoja, flor, tallo, raíz y corteza. La infusión se prepara vertiendo agua hirviendo sobre el tejido vegetal y se deja reposar entre 5 a 15 min. La decocción se prepara vertiendo agua a temperatura ambiente al tejido y llevando a ebullición por 15 a 30 min. En la maceración, el tejido se deja en remojo en agua por 30 min a temperatura ambiente (5).

Las tisanas han sido utilizadas en la medicina tradicional de muchas culturas. El incremento en la popularidad de las tisanas se debe su efecto antioxidante (6), anti-cancerígeno (7) y anti-inflamatorio (8), entre otras propiedades. Los efectos beneficios de las tisanas se deben principalmente a la presencia de compuestos fenólicos con alta capacidad antioxidante (8).

3. PARTE EXPERIMENTAL

Preparación de las tisanas. Se elaboraron tisanas de hoja de moringa de árboles del Campo Experimental Bajío (INIFAP). Se evaluó el efecto de la cantidad de hoja (1, 2 y 3 g), tiempo de reposo para las infusiones (5 y 15 min) y tiempo de ebullición para las decocciones (15 y 30 min).

Compuestos fenólicos. A las infusiones y a las decocciones se les determinó el contenido de fenoles totales (9), flavonoides totales (10), fenólicos simples por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (11) y la capacidad antioxidante por DPPH y FRAP (12) y ABTS (13).

Efecto antiinflamatorio. La muestra con la mayor capacidad antioxidante se sometió a un proceso digestivo *in vitro* y a un experimento de viabilidad celular RAW 264.7 (14).

Análisis estadístico. Se utilizó ANOVA para el contenido de fenólicos y Tukey para la comparación de medias ($P < 0.05$). Para determinar las diferencias en la viabilidad se realizó una comparación de medias de Dunnett. Se utilizó el programa GraphPad Prism versión 5.00.

Contenido de flavonoides y fenoles totales. La muestra 6 presenta el mayor contenido de flavonoides (47.9 ± 0.57 mg/taza) y la muestra 4, el mayor contenido de fenoles totales (54.52 ± 1.93 mg/taza); sin embargo, la muestra 6 también contiene una cantidad elevada de fenoles totales (Cuadro 1). Se puede ver en el Cuadro 1 que conforme aumenta la cantidad de hoja, aumenta el de flavonoides y fenoles totales. Estos niveles de compuestos fenólicos son mayores a lo reportado para tisanas de manzanilla (15).

Cuadro 1. Flavonoides totales (mg ER/taza) y fenoles totales (mg EAG/taza) en tisanas de hoja de moringa.

Clave	Tratamientos			Flavonoides totales	Fenoles totales
1	D	15 min	1 g	26.5 ± 0.27 d	23.07 ± 1.44 c
2	D	15 min	3 g	45.2 ± 0.16 b	48.79 ± 2.46 b
3	D	30 min	1 g	16.8 ± 0.08 f	20.43 ± 2.02 c
4	D	30 min	3 g	41.6 ± 0.18 c	54.52 ± 1.93 a
5	I	5 min	1 g	15.4 ± 0.07 g	17.30 ± 0.32 d
6	I	5 min	3 g	47.9 ± 0.57 a	48.21 ± 3.70 b
7	I	15 min	1 g	18.4 ± 0.14 e	14.25 ± 0.75 e
8	I	15 min	3 g	45.5 ± 0.32 b	50.36 ± 2.11 b

ER = equivalente a rutina; EAG = equivalente a ácido gálico; taza = 240 mL; D = decocción; I = infusión. g = cantidad de hoja. Medias con letra similares no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05).

Contenido de fenólicos simples por HPLC. En las decocciones e infusiones se detectaron los ácidos gálico y caféico así como la rutina, la catequina (Figura 1). En las tisanas la rutina y catequina representan más del 80% del contenido total de fenólicos simples (CFS). Se puede observar que al igual que los flavonoides y fenoles totales, al aumentar el contenido de hoja aumenta el de los CFS.

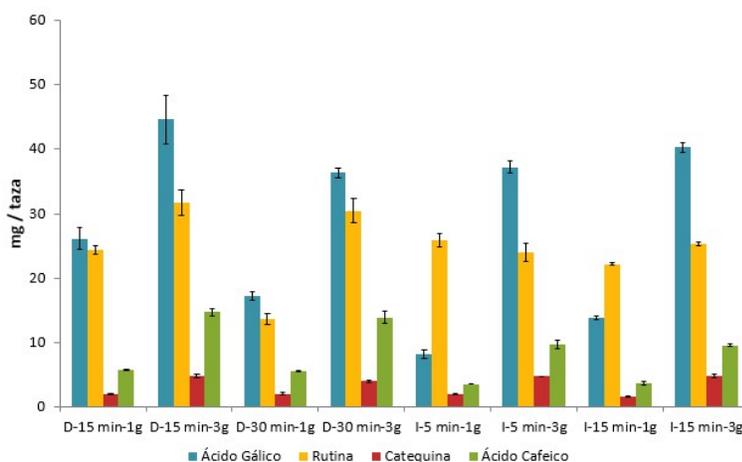


Figura 1. Contenido de compuestos fenólicos simples en tisanas de hoja de moringa. Taza = 240 mL; D = decocción; I= infusión. g = cantidad de hoja.

Capacidad antioxidante. Las muestras 2, 4, 6, y 8 presentan la mayor capacidad antioxidante en todos los métodos evaluados (Cuadro 2). Estas muestras son las mismas que presentan el mayor contenido de flavonoides y fenoles totales (Cuadro 1). Sin embargo, las muestras 8 y 6 presentan 10 y 4%, respectivamente, mayor capacidad antioxidante ABTS que la muestra 2 y 25 y 21%, respectivamente, que la muestra 4. Estas muestras corresponden a infusiones por 15 y 5 min respectivamente, con un contenido de 3 g de muestra. Se ha reportado que se logran mayores capacidades antioxidantes en flor de Jamaica si se prepara en decocción por 30 min (16). Lo cual es contrario a nuestros resultados, seguramente por tratarse de especies diferentes. Como resultado de estos experimentos se decidió utilizar la muestra 8 para efectuar los estudios antiinflamatorios, por la mayor capacidad antioxidante.

Estudios de viabilidad y antiinflamatorio. El ensayo de viabilidad se basa en la reducción metabólica del bromuro de 3-(4,5- dimetilazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol (MTT) por la enzima mitocondrial succinato-deshidrogenasa (SDH) que genera un compuesto de color azul (Formazán). La cantidad de células vivas es proporcional a la cantidad de Formazán producido. Esto permite determinar la funcionabilidad mitocondrial de las células tratadas. El extracto de la muestra 8 digerida *in vitro* no presenta efectos adversos en la función de la SDH de las células RAW 264.7 (Figura 1 A) y por lo tanto son viables. Por otro lado, el estudio antiinflamatorio muestra que las tisanas de moringa reducen la producción de NO (marcador biológico para procesos inflamatorios) en forma dosis-dependiente. Se observa que la reducción de NO es más del 95 % cuando la muestra 8 digerida *in vitro* está presente en un 30% con respecto al volumen total del medio de cultivo.

Cuadro 2. Capacidad antioxidante (mm ET/taza) de tisanas de hoja de moringa.

CLAVE	Tratamiento			ABTS		DPPH		FRAP	
1	D	15 min	1 g	694.2 ± 35.6	d	83.1 ± 6.4	c	130.4 ± 5.0	c
2	D	15 min	3 g	1379.8 ± 66.1	b	169.0 ± 7.3	a	351.7 ± 22.9	a
3	D	30 min	1 g	628.6 ± 42.9	d	79.4 ± 1.7	c	136.4 ± 5.7	c
4	D	30 min	3 g	1146.4 ± 39.2	c	157.2 ± 7.1	b	284.3 ± 18.2	b
5	I	5 min	1 g	750.7 ± 25.5	d	71.5 ± 4.3	d	125.6 ± 3.5	c
6	I	5 min	3 g	1434.8 ± 66.5	ab	172.8 ± 2.2	a	351.1 ± 14.1	a
7	I	15 min	1 g	667.5 ± 57.9	d	81.4 ± 3.3	c	132.4 ± 6.0	c
8	I	15 min	3 g	1519.8 ± 19.1	a	165.8 ± 5.6	ab	344.8 ± 17.7	a

ET = equivalentes de TROLOX; taza = 240 mL; D = decocción; I= infusión. g = cantidad de hoja. Medias con letra similares no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05).

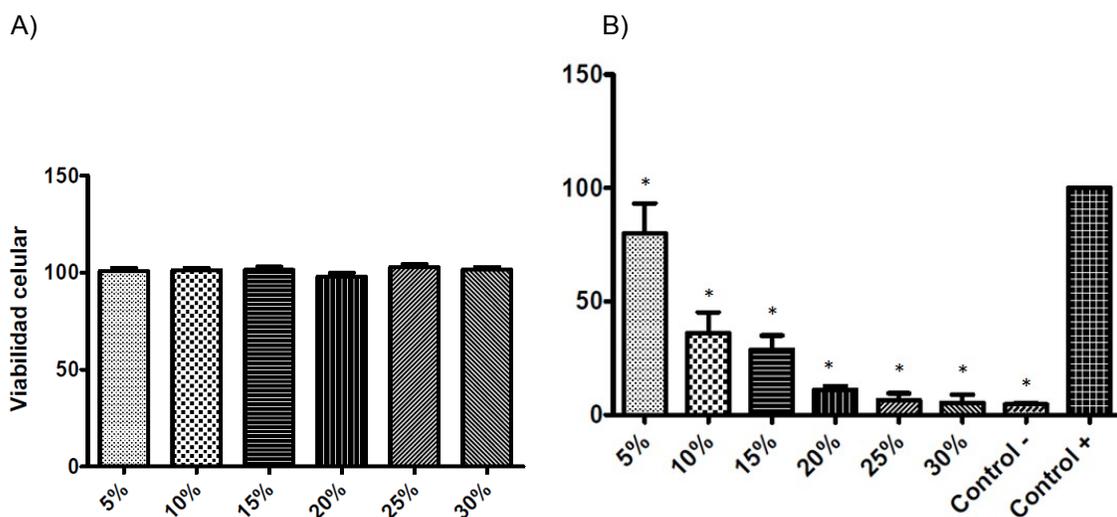


Figura 2. A) Análisis de viabilidad celular utilizando la muestra 8 previamente digerida *in vitro* y B) Producción de NO ($\mu\text{g/mL}$) por células RAW 264.7 tratadas con la muestra 8 previamente digerida. La proporción de la muestra fue en función al volumen total del medio de cultivo.

4. CONCLUSIONES

Las tisanas de moringa presentan altos contenidos de compuestos fenólicos como el ácido gálico y la rutina. También presentan una sobresaliente capacidad antioxidante. Las tisanas de hoja de moringa sometidas a una digestión gástrica y duodenal *in vitro* presentan un efecto antiinflamatorio dosis-dependiente. Reduciendo casi en su totalidad al marcador biológico (NO).

BIBLIOGRAFÍA

1. H. P. S. Makkar and Becker K., Nutrientes and antiquality factors in different morphological parts of *Moringa oleifera* tree. J. Agric. Sci. Vol 128, 1996, pp. 311-322.
2. M. E. Olson y Fahey J. W., *Moringa oleifera*: un árbol multiusos para las zonas tropicales secas. Rev. Mex. Biod. Vol. 82, 2011, pp.1071-1082.
3. S. Sreelatha, Jeyachitra, A., and Padma, P. R., Antiproliferation and induction of apoptosis by *Moringa oleifera* leaf extract on human cancer cells. Food Chem. Toxicol. Vol. 49 2011, pp. 1270-1275.
4. M. Dany, Madi, N., Nemer, N., Beyrouthy, M., Abdoun, S. and, Ust, J., *Moringa oleifera*: Natural leaf extract with potential anti-cancerous effect on A549 lung cancer cells. Lung Cancer. 2012, Vol. 77, pp. S22.
5. EMA. European Medicines Agency, Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC). Glossary on herbal teas. 2010. Disponible en: www.ema.europa.eu. Consultado el 17 de marzo del 2015.
6. K. Atoui, Mansouri, A., Boskou, G. and Kefalas, P., Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. Food Chem. Vol. 89, 2005, pp. 27–36.
7. T. Kulisic-Bilusic, Schmöller, I., Schnäbele, K., Siracusa, L. and Ruberto, G.. The anticarcinogenic potential of essential oil and aqueous infusion from caper (*Capparis spinosa* L.). Food Chem. Vol. 132, 2012, pp. 261-267.
8. D. A. A. Kogiannou, Kalogeropoulos, N., Kefalas, P., Polissiou, M.G. and Kaliora, A. C., Herbal infusions; their phenolic profile, antioxidant and anti-inflammatory effects in HT29 and PC3 cells. Food Chem. Toxicol. Vol. 61, 2013, pp. 152-159.
9. V. Singleton, Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R. M., Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods. Enzimol. Vol. 299, 1999, pp. 152-178.
10. B. Oomah, Cardador-Martínez, A. and Loarca-Piña, G., Phenolics and antioxidative activities in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). J. Sci. Food Agric. Vol. 85, 2005, pp. 935-941.
11. M. S. Ramamurthy, Maiti, B., Thomas, P. and Nair, M., High performance liquid chromatography determination of phenolic acids in potato tubers (*Solanum tuberosum*) during wound healing. J. Agric. Food Chem. 40, 1992, pp. 569-572.
12. M. R. Kumbhare, Guleha, V. and Sivakumar, T., Estimation of total phenolic content, cytotoxicity and in-vitro antioxidant activity of stem bark of *Moringa oleifera*. Asian Pacific J. Trop. Disease. Vol. 2, 2012, pp. 144-150.
13. R. Van den Berg, Haenen, G. R. M., Van den Berg, M. H. and Bast, A., Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. Food Chem. Vol. 66, 1999, pp. 511-517.
14. L. Chuan-Li, Wei, Z., Min, W., Meng-Mei, H., Wen-Long, C., Xiao-Jie, X. and Chuan-Jian, L., Polysaccharides from *Smilax glabra* inhibit the pro-inflammatory mediators via ERK1/2 and JNK pathways in LPS-induced RAW264.7 cells. Carbohydr. Polym. Vol. 20, 2015, pp. 428-436.
15. K. Atoui, Mansouri, A., Boskou, G. and Kefalas, P., Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. Food Chem. Vol. 89, 2005, pp. 27–36.
16. E. Prenesti, E., Berto, S., Daniele, P. G., and Toso, S., Antioxidant power quantification of decoction and cold infusions of *Hibiscus sabdariffa* flowers. Food Chem. Vol. 100, 2007, pp. 433-438.

METABOLITOS SECUNDARIOS PRESENTES EN COLECTAS DE *Persea americana* Mill var. *drymifolia* DEL ESTADO DE MICHOACÁN

Ana Karen Escalera-Ordaz^a, Ma. Blanca Nieves Lara-Chavez^a, Guadalupe Torres-Gurrola^b, Yolanda Magdalena García-Rodríguez^b, Eulalio Venegas-González^a y Héctor Guillén-Andrade^a.

^aUniversidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Facultad de Agrobiología "Presidente Juárez", Unidad de Investigaciones Avanzadas en Agrobiotecnología. Uruapan, Mich., México. ana.karen.escalera.ordaz@gmail.com

^bUniversidad Nacional Autónoma de México, Centro de Investigaciones en Ecosistemas. Morelia, Mich. pitagt@hotmail.com

RESUMEN

México se ubica como el principal productor de aguacate a nivel mundial; lugar que obtiene por las 168,114 ha plantadas y una producción total de 1, 467,837 t, el estado de Michoacán se coloca como el principal productor de este frutal con una participación del 81.32 % de la producción nacional y una derrama económica de alrededor de 15.509 millardos. En Michoacán existe una amplia diversidad genética de *Persea americana* Mill. var. *drymifolia* que destaca por su importancia, al ser utilizada como pie de injerto del cultivar "Hass" por ser fuente de genes de resistencia a factores físicos, plagas y patógenos; Sin embargo, esta diversidad genética se ha ido perdiendo principalmente por manipulación del hombre, implicando, el establecimiento de bancos de germoplasma como una manera de rescatar estos recursos fitogenéticos. Uno de los bancos con mejor representación de *P. americana* Mill. var. *drymifolia* de la franja aguacatera del estado de Michoacán se tiene en la Unidad de Investigaciones Avanzadas en Agrobiotecnología de la Facultad de Agrobiología "Presidente Juárez", donde se trabaja en la conservación y caracterización del germoplasma. En la presente investigación, se planteó la caracterización química de los genotipos conservados como parte integral de la estrategia para evaluar su potencial como portainjertos con atributos de resistencia a plagas y enfermedades ya que se conoce de compuestos químicos que actúan como defensas de las plantas. Los resultados obtenidos se relacionan con el perfil químico de 216 individuos, identificándose 47 metabolitos secundarios; seis de ellos, fueron detectados en 54 colectas: el b-pineno, cariofileno, estragol, ácido hexadecanoico, heptacosano y a-tocoferol, el metabolito secundario predominante con una concentración de 26.53 % respecto al total de los metabolitos secundarios identificados fue el estragol, que se ha reportado con actividad biológica antifúngica, larvicida, insecticida y genotóxica. En conclusión existe variabilidad de metabolitos secundarios en los genotipos evaluados.

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, se han sumado esfuerzos para la conservación y caracterización de recursos genéticos del aguacatero; en algunas regiones de México se han hecho trabajos para conocer la variabilidad fenotípica del germoplasma de aguacate criollo (Gutiérrez-Diez *et al.*, 2009; López-Guzmán *et al.*, 2012). En el estado de Michoacán se ha trabajado en la caracterización genotípica (Cuiris-Pérez *et al.*, 2009; Gutiérrez-Diez *et al.*, 2009) y fenotípica (López-Guzmán *et al.*, 2012; Guillén-Andrade *et al.*, 2013). Sin embargo, es importante estudiar la química de las plantas, ya que éstas han desarrollado diversas estrategias de defensa a condiciones de estrés biótico y abiótico; por ejemplo, la planta sintetiza metabolitos secundarios (MS) que provocan que las plantas sean desagradables o tóxicas para algunos herbívoros (Anaya-Lang y Espinosa-García,

2006), además de su importancia ecológica al participar en los procesos de adaptación de las plantas a su ambiente, atracción de insectos polinizadores y dispersores de semillas (Sepúlveda-Jiménez *et al.*, 2003); asimismo, hay MS que tienen actividad biológica bactericida y fungicida (Hanamanthagouda *et al.*, 2010), otros se han reportado con más de dos funciones: por ejemplo, el estragol, que se ha documentado con actividad biológica antifúngica (Fontenelle *et al.*, 2008), larvicida (Senthilkumar *et al.*, 2008), insecticida (López *et al.*, 2008) y genotóxica (Zani *et al.*, 1991); este MS se ha identificado como principal componente en tejido foliar de especies de *Persea* (Torres-Gurrola *et al.*, 2009; Torres-Gurrola *et al.*, 2011; Rincón-Hernández *et al.*, 2011). La variación química del aguacatero, ha sido poco estudiada en especies de *Persea* (Quing-Yi *et al.*, 2009; Torres-Gurrola *et al.*, 2009; Torres-Gurrola *et al.*, 2011; Rincón-Hernández *et al.*, 2011), dada la importancia de la caracterización de los recursos genéticos del aguacate, en el presente trabajo se planteó el objetivo de conocer los MS presentes en los genotipos establecidos en el Banco de Germoplasma de *Persea americana* Mill var., *drymifolia* de la Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez”, como parte integral de la estrategia para evaluar su potencial como portainjertos.

2. MATERIALES Y METODOS

El germoplasma de aguacate incluido en el presente trabajo de investigación consiste de 216 plantas de aguacate criollo de 54 colectas procedentes de siete municipios de la franja aguacatera del estado de Michoacán (**Figura 1**). La extracción, identificación y cuantificación de volátiles foliares se hizo de acuerdo al procedimiento descrito por Torres (2009), utilizando un cromatografo de gases Agilent® HP6890 y la biblioteca de espectro de masas NIST 05. Se calcularon los índices kovats de los metabolitos secundarios identificados, la información de la concentración de cada metabolito secundario determinada en los 216 individuos se sometió al análisis de varianza en una vía, este análisis se llevó a cabo con un diseño experimental completamente al azar, con cuatro repeticiones, se consideró a cada accesión como un tratamiento, con base en el análisis de varianza, se seleccionaron aquellos MS para los cuales hubo diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$), sobre el listado de esos compuestos seleccionados, se realizó un análisis discriminante de stepwise (Romano y Wolf, 2005). Adicionalmente, se practicó un análisis de correlación de Pearson y Filon (1898), posteriormente, se obtuvo una matriz de promedios para llevar a cabo un análisis de Componentes Principales (ACP), se utilizó la matriz de correlaciones; se calculó la matriz de distancias euclidianas (DE) entre accesiones y con ella se hizo el Análisis de Conglomerados (AC). Finalmente, se construyó el dendrograma correspondiente con el método de agrupamiento de Ward. Todos los análisis fueron realizados con el paquete estadístico SAS® versión 9.4 (SAS Institute Inc., 2012). Las coordenadas geográficas del sitio donde se colectó el material original se convirtieron a decimales para construir una matriz de distancias geográficas la cual se comparó con una matriz de distancias euclidianas, mediante la prueba de Mantel para determinar la correlación entre ambas matrices. La prueba de Mantel fue ejecutada mediante el paquete estadístico GenAlex (Peakall y Smouse, 2006).

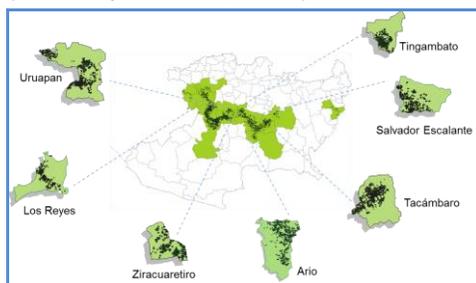


Figura 1. Localización de los 7 municipios donde se colectó *Persea americana* Mill. var. *drymifolia* en la franja aguacatera de Michoacán, México.

3. RESULTADOS

Se logró determinar el perfil químico foliar de cada individuo perteneciente al banco de germoplasma de la Facultad de Agrobiología por cromatografía de gases, con este método se detectaron 47 metabolitos secundarios en 216 individuos correspondientes a 54 colectas de aguacate criollo var., *drymifolia*. De los 47 MS identificados se calcularon los índices Kovats, el porcentaje que representa cada MS en cuanto a la concentración total y la frecuencia a la que se identificaron en las 54 colectas. Se observó una gran variabilidad en la concentración de MS; el 70.21% de los 47 MS identificados presentaron concentraciones que oscilaron entre cero y 2.5 mg g⁻¹ de hoja seca. El fenil etil alcohol se detectó en menor contenido (0.0164 mg g⁻¹). Es de resaltar el estragol, ya que presentó la mayor concentración (26.53 mg g⁻¹) (**Cuadro 1**).

Cuadro 1. Tiempo de retención, índice Kovats, concentración (%) total y frecuencia de los metabolitos secundarios identificados en las colectas de *P. americana* Mill var., *drymifolia* procedentes del banco de germoplasma de la Facultad de Agrobiología.

MS	TR	IK	%	F	MS	TR	IK	%	F
α-Pineno	2.794	942	0.982	12	Nerolidol (E)	7.2	1577	0.6543	49
Sabineno	3.11	986	0.02	7	Geracreno D-4-ol	7.377	1606	0.0403	17
β-pineno	3.159	993	4.7539	54	Óxido de cariofileno	7.446	1618	0.5922	46
Mirceno	3.208	1000	0.5881	49	Tetradecanal	8.106	1732	1.73	49
Decano	3.262	1007	0.0933	28	Ácido tetradecanoico	8.303	1766	0.0583	26
Limoneno	3.5	1038	0.0213	8	Cis,cis,7,10, hexadecadienal	9.09	1903	0.1906	41
Eucalipto	3.54	1043	0.7361	53	Cis,cis,cis-7,10,13-hexadecatrienal	9.12	1909	4.4192	52
β-cis-Octimeno	3.634	1056	0.3887	39	Hexadecanoato de metilo	9.28	1936	1.7413	40
Undecano	4.0195	1107	0.5654	44	Ácido hexadecanoico	9.4605	1967	4.6696	54
Fenil etil alcohol	4.2195	1134	0.0164	9	Finol	10.372	2125	4.7608	53
Undecano 4-metil	4.751	1206	2.7795	43	Ácido oleico	10.435	2137	3.6279	50
Estragol	4.834	1217	26.5327	54	Ácido linoleico	10.7265	2189	0.8929	23
Chavicol	5.148	1262	0.077	5	Metil araquidonato	11.163	2268	3.3274	48
Tridecano	5.457	1306	0.0938	28	8,11,14-ácido eicosatrienoico, (z,z,z)-	11.8695	2398	0.6953	21
t-elemeno	5.817	1359	0.0783	10	4,8,13-divatrien-1,3-diol	11.9125	2406	1.1932	28
α-cubebeno	5.891	1370	0.0389	15	2H-Pirano, 2-(7-heptadecimiloxi) tetrahidro-	12.495	2519	2.1822	46
Copano	6.091	1400	0.398	44	Metilcholestan-3-ol	13.026	2626	1.5813	34
β-cubebeno	6.177	1414	0.251	20	Heptacosano	13.401	2705	3.9402	54
Metileugenol	6.206	1418	3.5294	49	α-gliceril linoleato	13.658	2763	2.9127	45
Caryofileno	6.417	1451	5.852	54	Cicloarmonil acetato	13.844	2805	0.8669	30
α-lumuleno	6.629	1484	0.6148	49	Escualeno	14.03	2848	3.5109	52
Acetato de eugenol	6.983	1541	0.0518	5	α-tocoferol	15.767	3170	5.6894	54
Cubanol	6.994	1543	0.6123	48	Palmitato	16.728	3301	1.5751	34
Elemicin	7.143	1568	0.0708	17					

MS de Mayor Concentración, MS Más Concentrado, MS menos frecuente, MS Presentes en todas las Colectas

Los resultados obtenidos del análisis de varianza en una vía, practicados para contenido de metabolitos secundarios indicaron diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$) para doce MS (**Cuadro 2**).

Cuadro 2. Estadísticos simples, cuadrados medios del error y probabilidad obtenidos del análisis de varianza practicado para 47 metabolitos secundarios identificados en 216 individuos de 54 colectas de *P. americana* Mill var., *drymifolia* procedentes del banco de germoplasma de la Facultad de Agrobiología.

MS	R ²	C.V.	DE	Media	CME	Pr>F
Decano	0.34	196.54	0.01199	0.0061	0.00014	0.0131
Fenil etil alcohol	0.46	473.28	0.00509	0.00108	0.00003	<.0001
Undecano 4-metil	0.41	128.08	0.23263	0.18162	0.05411	0.0002
Tridecano	0.38	198.86	0.0122	0.00613	0.00015	0.0019
b-cubebeno	0.41	341.69	0.05605	0.0164	0.00314	0.0002
Acetato de eugenol	0.4	896.43	0.03039	0.00339	0.00092	0.0004
Óxido de cariofileno	0.33	170.22	0.06588	0.0387	0.00434	0.028
Cis,cis,7,10, hexadecadienal	0.33	271.52	0.03382	0.01246	0.00114	0.0341
Cis,cis,cis,7,10,13, hexadecatrienal	0.34	98.13	0.28338	0.28877	0.0803	0.019
8,11,14, ácido eicosatrienoico (z,z,z)-	0.43	299.19	0.13595	0.04544	0.01848	<.0001
4,8,13-divatriene 1,3-diol	0.34	222.07	0.17315	0.07797	0.02998	0.0184
Metilcholestan-3-ol	0.39	175.88	0.18174	0.10333	0.03303	0.0009

¹Coefficiente de variación, ²Desviación estándar, ³Cuadrado medio del error.

El dendrograma (**Figura 2**) generado del análisis clúster hecho con base en el método de agrupamiento de Ward, indicó que las accesiones no se agrupan de manera lógica en relación a su origen geográfico tomando en cuenta la información de origen de cada colecta; para corroborar esta información se hizo la prueba de Mantel (**Figura 3**) con la cual se concluyó que efectivamente no existe correlación entre la distribución geográfica y la distribución de MS con una significancia de 0.069.

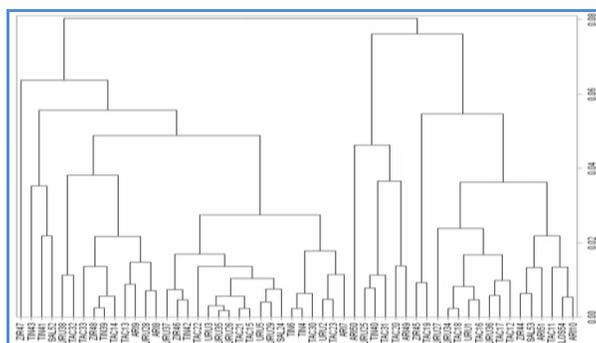


Figura 2. Dendrograma de disimilitud de 54 colectas de *P. americana* Mill var., *drymifolia* procedentes del banco de germoplasma de la Facultad de Agrobiología, con base en la presencia y concentración de diez metabolitos secundarios en 216 individuos.

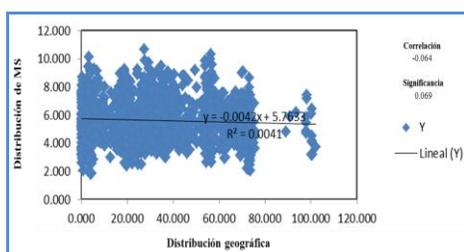


Figura 3. Prueba de Mantel; Correlación lineal entre distribución de metabolitos secundarios y distribución geográfica de 54 colectas de *P. americana* Mill var., *drymifolia* procedentes del banco de germoplasma de la Facultad de Agrobiología.

4. CONCLUSIONES

El germoplasma de *Persea americana* Mill var., *drymifolia* analizado presentó diferencias en el tipo y concentración de metabolitos secundarios presentes en el tejido foliar.

Se identificaron 47 metabolitos secundarios en hojas de individuos de *Persea americana* Mill var., *drymifolia* pertenecientes al banco de germoplasma de la Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez”.

En todas las colectas analizadas se determinó la presencia de seis metabolitos secundarios: α -Pineno, estragol, cariofileno, ácido hexadecanoico, heptacosano y α -tocoferol.

No se determinó relación alguna entre la presencia y concentración de metabolitos secundarios con el origen geográfico de las colectas analizadas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Anaya-Lang A L y Espinosa-García F J. 2006. La química que entreteje a los seres vivos. *Ciencias* 83: 4-13.
2. Cuiris-Pérez H, Guillén-Andrade H, Pedraza-Santos M E, López-Medina J y Vidales-Fernández I. 2009. Genetic variability within mexican race avocado (*Persea americana* Mill) germoplasm collections determined by ISSRs. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 15: 169-175.
3. Fontenelle R O S, Orais S M, Rito E H S, Rilhante R S N, Ordeiro R A, Nascimento N R F, Erntopf M R, Idrim J J C y Ocha M F G. 2008. Antifungal activity of essential oils of *Croton* species from the Brazilian *Caatinga* biome. *Journal of Applied Microbiology*. 104: 1383-1390.

4. Guillén-Andrade H, Lara-Chávez M B N, Torres-Gurrola G, Escalera-Ordaz A K y Tapia-Vargas L M. 2013. Caracterización fenotípica de germoplasma de aguacate (*Persea americana* Mill) criollo de Michoacán. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 29, 212.
5. Gutiérrez-Diez A, Martínez-de la Cerda J, García-Zambrano E A, Iracheta-Donjuan L, Ocampo-Morales J D y Cerda-Hurtado I M. 2009. Estudio de la diversidad genética del aguacate nativo en Nuevo León, México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 32: 9-18.
6. Hanamantagouda M S, Kakkamelali S B, Naik P M, Nagella P, Seetharamareddy H R y Murthy H N. 2010. Essential oils of *Lavandula bipinnata* and their antimicrobial activities. *Food Chemistry*. 118: 836-839.
7. López-Guzmán G, Medina T R, Guillén-Andrade H, Ramírez G L, Aguilar C J y Valdivia R M. 2012. Características fenotípicas de hoja y fruto en selecciones de aguacate criollo de clima subtropical en el estado de Nayarit. *Revista Fuente ISSN 4*: 56-62.
8. López M D, Jordan M J y Pascual-Villalobos M J. 2008. Toxic compounds in essential oils of coriander, caraway and basil active against stored rice pests. *Journal of Stored Products Research*. 44: 273-278.
9. Peakall R y Smouse P E. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* 6: 288-295.
10. Pearson K y Filon L N G. 1898. Contributions to the mathematical theory of evolution, IV: on the probable errors of the frequency constants and on the influence of random selection on variation and correlation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London A*, 191: 229-311.
11. Quing-Yi L, Zang Y, Wang Y, Wang D, Ru-Po L, Gao K, Birns R y Heber D. 2009. California Hass Avocado: Profiling of Carotenoids, tocopherol, fatty acid, and fat content during maturation and from different growing areas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57: 10408-10413.
12. Rincón-Hernández C A, Sánchez-Pérez J y Espinosa-García F J. 2011. Caracterización química foliar de los árboles de aguacate criollo (*Persea americana* var., *drymifolia*) en los bancos de germoplasma de Michoacán, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 82: 395-412.
13. Romano J P y Wolf M. 2005. Stepwise multiple testing as formalized data snooping. *Econometría*, 73(4): 1237-1282.
14. SAS Institute Inc. 2012 Introduction to Bayesian Analysis Procedures. In: SAS/STAT 9.2 User's Guide, Ch. 7. SAS Institute, Inc., Cary, NC. 141-179 pp.
15. Senthikumar A, Kannathasan K y Venkatesalu K. 2008. Chemical constituents and larvicidal property of the essential oil of *Blumea mollis* (D. Don) Merr. against *Culex quinquefasciatus*. *Parasitology Research*. 103: 959-962.
16. Sepúlveda-Jiménez G, Porta-Ducoing H y Rocha-Sosa M. 2003. La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 21: 355-363.
17. Torres-Gurrola G, Montes-Hernández S y Espinosa-García F J. 2009. Patrones de variación y distribución geográfica en fenotipos químicos foliares de *Persea americana* var., *drymifolia*. *Revista Fitotecnia Mexicana* 32: 19-30.
18. Torres-Gurrola G, Delgado-Lamas G y Espinosa-García F J. 2011. The foliar chemical profile of criollo avocado, *Persea americana* var., *drymifolia* (Lauraceae), and its relationship with the incidence of a gall-forming insect, *Trioza anceps* (Trioziidae). *Biochemical Systematics and Ecology* 39: 102–111.
19. Zani F, Massimo G, Benvenuti S, Bianchi A, Albacini A, Melegari M, Vampa G, Bellotti A y Mazza P. 1991. Studies on the genotoxic properties of essential oils with *Bacillus subtilis* rec-assay and *Salmonella*/microsome reversion assay. *Planta Medica*. 54: 237-241.

Tratamiento Con Fertilizante Para Mayor Crecimiento y Desarrollo en Moringa (Moringa oleífera Lam.)

Jorge A. Villarreal Garza^a, Uriel Rivera Orda^a, Rahim Foroughbakhch Pournavab^a, Ma. Luisa Cárdenas Avila^b, Sergio Moreno Limón^a, Marcela González Álvarez

Depto. de Botánica^a, Depto. de Biología Celular y Genética^b de Universidad Autónoma de Nuevo León.

RESUMEN

Moringa oleífera Lam es la especie más conocida del género *Moringa* y pertenece a la familia Moringaceae. Es un árbol originario del sur del Himalaya, del nordeste de la India, Bangladesh, Afganistán y Pakistán. Se encuentra diseminado en una gran parte del planeta, y en América Central fue introducida en los años 1920 como planta ornamental y para cercas vivas. Es un árbol de hasta 9m de altura. Las hojas son compuestas y están dispuestas en grupos de folíolos, con cinco pares de éstos acomodados sobre el pecíolo principal y un folíolo en la parte terminal. Las hojas son alternas tripinnadas, con una longitud de 30-70 cm. Es un árbol perenne pero poco longevo, que a lo sumo puede vivir 20 años, aunque se han obtenido variedades en la India que son anuales. La moringa además de tener importantes propiedades medicinales, aporta una elevada cantidad de nutrientes al suelo, y lo protege de la erosión, desecación y altas temperaturas. El objetivo de esta investigación fue evaluar cuatro fertilizantes a base de N, P, K, y NPK para promover su crecimiento y desarrollo. Los resultados mostraron que con el fertilizante NPK las plantas de moringa en promedio crecieron 72 ± 19.7 , con K 67 ± 27 y con P el crecimiento promedio fue de 60 ± 22 , y finalmente con el N se registraron 58 ± 16 cm. Esto demuestra que el tratamiento NPK promovió más eficientemente el crecimiento.

Palabras Claves: Moringa, Crecimiento, Fertilizantes, condiciones ambientales

1. INTRODUCCION

Su origen se centra en el norte de India, donde fue descrita por primera vez alrededor del año 2000 A.C, y a partir de ahí se ha extendido por todas las regiones tropicales del mundo. Actualmente la podemos encontrar en diferentes regiones de México (Puebla, Sinaloa, Yucatán, Nuevo León y Guadalajara). *Moringa oleífera* Lam es un árbol que llega a alcanzar los 12 metros de altura y de 20-40 cm de diámetro, se distingue porque tiene una copa abierta y esparcida de ramas inclinadas y frágiles, un follaje plumoso de hojas pinnadas en tres, y una corteza gruesa, blanquecina y de aspecto corchoso. Generalmente crece en altitudes de hasta aproximadamente 1,400 m, pero en los 1200m su crecimiento es más próspero.

Todas las componentes de la planta poseen propiedades medicinales y curativas. Por ejemplo las semillas de moringa contienen algunas proteínas funcionales de alto valor con capacidad coagulante, también tanto las semillas como las componentes de la planta poseen las propiedad de purificación de aguas contaminadas y podrán usarse en el tratamiento de aguas, que es de gran importancia, ya que la falta de agua dulce en nuestro planeta es una problemática real causada principalmente por la escasez de lluvias, esto debido a la sobreexplotación de mantos acuíferos y contaminación del medio natural. Otro factor problema es la sobrepoblación y el avance tecnológico debido a que éste ha ocasionado la intensificación de la actividad industrial, agrícola y turística en todo el mundo, especialmente en los países desarrollados permitiendo el incremento de las actividades económicas sujeto al nivel de desarrollo y calidad de vida de las personas o bien de la población, todo esto en conjunto afecta al medio ambiente y por lo tanto a este recurso vital para la humanidad, el agua. En muchos países se han desarrollado estrategias políticas medioambientales y las empresas se han ido orientando al cuidado de los recursos naturales o bien haciendo eficientes sus procesos relacionándolos con la sustentabilidad y el cuidado o ahorro de los recursos principales en una empresa como es el agua, es por eso que esta revisión se enfoca en las características y propiedades de las proteínas presentes en las semillas de la moringa debido a sus propiedades coagulantes siendo utilizadas en el tratamiento de aguas ayudando a países de bajo desarrollo que no tienen los suficientes recursos ni la tecnología para el tratamiento de aguas.

Usualmente la moringa es propagada por semilla; sin embargo, estos métodos convencionales, aunados a la falta de metodologías más eficientes de propagación (aplicación de tratamientos pre-germinativos), no siempre resultan satisfactorios. Por lo tanto, es inminente la necesidad de establecer técnicas de producción de la moringa eficientes y de bajo costo para satisfacer la alta demanda en productos naturales. De acuerdo con Bunt (1988) quien señala que la calidad de las plántulas depende del tipo de sustrato y la aplicación de fertilizantes, donde se desarrollan, en particular de sus características físico-químicas, ya que el desarrollo y el funcionamiento de las raíces están directamente ligados a las condiciones de aireación, contenido de agua, además de tener influencia directa sobre la disponibilidad de los nutrientes. Por su parte, Andrade *et al.*, (2008), consideran necesario usar en los sustratos algún componente que aporte nutrimentos para el crecimiento de las plantas, además del soporte adecuado. Una opción para cubrir dichas necesidades específicas lo constituyen la aplicación de los fertilizantes N, P, K, que presentan una mayor capacidad de retención de humedad y de crecimiento de las plántulas. Estas características físicas y químicas las hacen un sustrato atractivo en la agricultura (Urbina *et al.*, 2006) y para el cultivo de la moringa entre otras plantas Fig.1.

2. TEORÍA

Gabriela Medina *et al.*, (2007) realizaron un estudio comparativo sobre *Moringa oleifera* y *Leucaena leucocephala* observando el proceso de germinación y la etapa inicial de crecimiento de las plántulas de *Moringa oleifera* en el Estado de Trujillo Venezuela constatando una germinación y sobrevivencia de 100%; mientras que para *Leucaena leucocephala* el porcentajes fue levemente inferiores. Al final de la evaluación se observaron diferencias estadísticas ($P < 0,05$) a favor de *M. oleifera* en el diámetro del tallo y ramas, la longitud de la rama y la cantidad de hojas por rama. No obstante, la altura de la planta, la cantidad de ramas y la tasa de crecimiento no mostraron diferencias significativas. *M. oleifera* fue inmune a plagas y enfermedades; sin embargo *L. leucocephala* se consideró resistente. Aun cuando *M. oleifera* exhibió mejor comportamiento que *L. leucocephala* en la mayoría de los indicadores medidos, ambas presentaron un satisfactorio crecimiento en la fase de vivero.

Villarreal *et al.*, (2014) realizaron estudios con la planta de *Moringa Oleifera* Lam. y determinaron la tasa de germinación y crecimiento de las plántulas de tres ecotipos provenientes de diferentes zonas geográficas de Puebla, Yucatán y Nuevo León, para ello utilizaron tres sustratos diferentes: 1) tierra para la maceta (como testigo), 2) perlita + tierra (tratamiento 2), 3) peat moss + perlita + tierra (como tratamiento 3). El mayor porcentaje de germinación se presentó en el tratamiento 1

(Tierra) en el ecotipo Yucatán (74 %) y la máxima altura se presentó en el tratamiento tres (peat moss + perlita + tierra (1:2:1)) en el ecotipo Puebla 34.80 cm.

Odalys Toral et al., (2013) realizaron experimentos esto con el objetivo de caracterizar morfológicamente ocho procedencias de *Moringa oleifera* (Lam.) en condiciones de vivero. El diseño fue totalmente aleatorizado. Se evaluaron los indicadores: germinación, emergencia, supervivencia, altura de la planta, diámetro del tallo y número de hojas. Se usaron cinco réplicas por procedencia de 25 semillas cada una, para la prueba de germinación (21 días); y se sembraron 30 bolsas por cada procedencia. La procedencia Holguín-Mayarí tuvo el mejor comportamiento en cuanto a la altura (17,55 cm), la velocidad de crecimiento (0,43 cm/día), el número de hojas (siete) y el diámetro del tallo (0,37 cm). Plain, Holguín-Mayarí y Paraguay fueron las de mejor emergencia y supervivencia (100 %). Los valores más bajos los presentó Guatemala (altura promedio: 14 cm, emergencia: 76 %, germinación: 49 %). Ninguna de las procedencias superó el 85% de germinación. No hubo lesiones por ataque de insectos ni por enfermedades. Se concluye que estas procedencias poseen características morfológicas que las diferencian entre sí, y que la Holguín-Mayarí manifestó el mejor comportamiento en los indicadores evaluados. Se recomienda profundizar en los estudios morfoagronómicos de las diferentes procedencias de *M. oleifera*.

3. PARTE EXPERIMENTAL

La producción de plantas se hizo en bolsas de polietileno negro de 15 x 7 cms, que fueron llenadas con una mezcla de arena, suelo Vertisol y Litosol en partes iguales. El trasplante se realizó a fines de marzo del 2014 colocándose una plántula por bolsa. Estas fueron plantadas manualmente, procurando que todas ellas recibieran el mismo cuidado en su manipulación.

Diversas situaciones anómalas afectaron la producción y desarrollo de las plántulas, sin embargo, la existencia de número suficiente de plantas no permitió ejecutar un diseño de plantación con las correspondientes repeticiones. Se optó por un diseño de bloques completos aleatorios, con 20 plantas (de 15 cm en altura) de acuerdo con Zar, (2010) distribuidas en el vivero de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

Las plantas (en macetas) fueron colocadas en cuatro grupo cada uno con 20 plantas a los cuales se aplicaron los siguientes tratamientos:

- a) Fertilizante a base de nitrógeno a razón de 40 kg por hectárea,
- b) Fertilizante en base de fosforo con 30 kg por hectárea,
- c) Fertilizante en base a potasio con 20 kg por hectárea,
- d) Fertilizante N-P-K con 10 kg por hectárea.

La aplicación de fertilizantes se llevó a cabo con una aplicación mensual a partir del mes de junio del 2014.

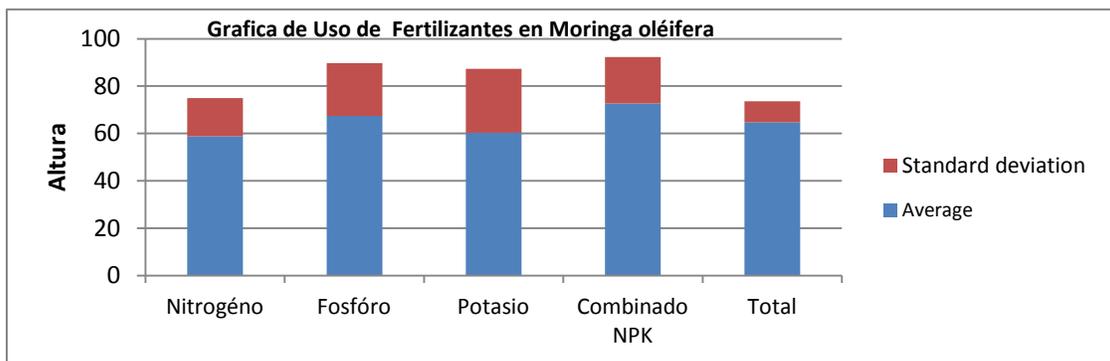
El registro de parámetro de crecimiento tanto en altura total como el diámetro se llevó a cabo semanalmente (durante 22 semanas consecutivas).

Los resultados sobre las variables de crecimiento de las plantas en función de tratamientos aplicados se sometieron a un análisis de varianza (en un diseño completamente al azar) y comparación múltiple de medias por el método de Tukey (Zar, 2010), mediante el paquete estadístico SPSS, (2006), vers. 15.0. El nivel de significancia para los análisis fue de 5%.

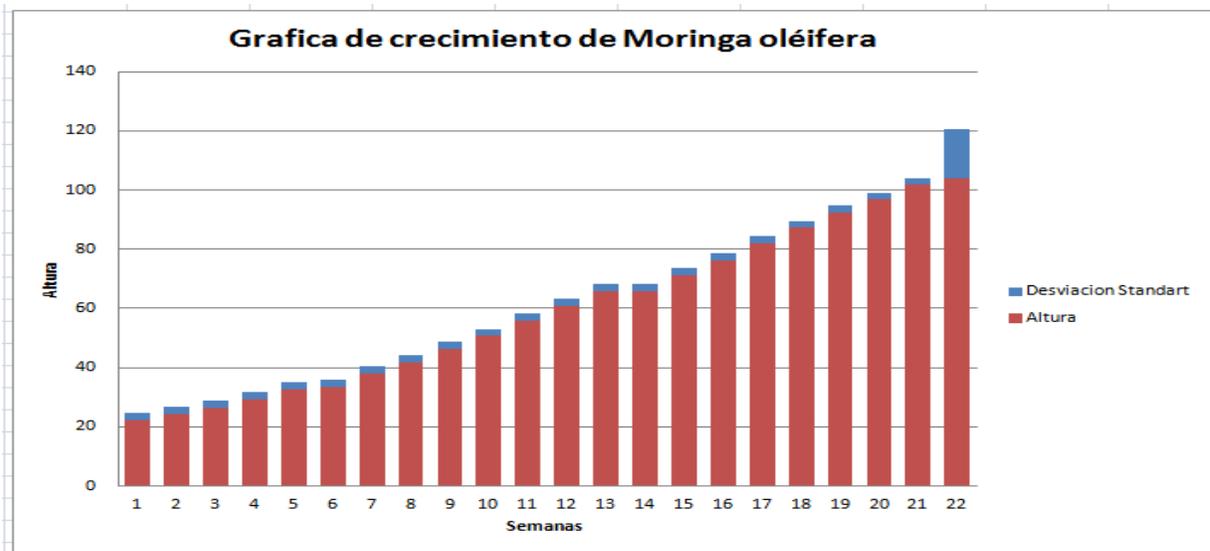
4. RESULTADOS

El más alto tasa de crecimiento se obtuvo con el tratamiento NPK con 14 cm de crecimiento promedio mensual, y el menor se registró con los tratamientos de nitrógeno (10.7) y Potasio (10.95 cm). El análisis de varianza mostró diferencias altamente significativas para dicho crecimiento ($p \leq 0.01$). El tratamiento con fosforo presento un crecimiento promedio intermedio de 12.4 cm mensuales (Grafica 1).

En la comparación múltiple de medias de Tukey, efectuada sobre los tratamientos obtuvieron los más altos valores en crecimiento con el tratamiento 4, seguido del tratamiento 2 con fosforo. El tratamiento 1 con la aplicación del nitrógeno arrojó el crecimiento más bajo (Grafica 2).



Grafica 1



Grafica 2

CONCLUSIONES

Los resultados mostraron que con el fertilizante NPK las plantas de moringa en promedio crecieron 72 ± 19.7 , con K 67 ± 27 y con P el crecimiento promedio fue de 60 ± 22 cm; finalmente con el N se registraron 58 ± 16 cm. Esto demuestra que el tratamiento NPK promovió más eficientemente el

crecimiento como lo muestra la Grafica 1. En la Grafica 2 se observa conforme va aumentando el número de semanas va aumentando la altura en las plantas.

BIBLIOGRAFIA:

1. R. M. Andrade., H. Ayala, J., T. I. Alia; M. H Rodríguez.; D. C.M. Acosta; M. V. López. 2008. Efecto de promotores de la germinación y sustratos en el desarrollo de plántulas de papayo. Rev. Fac. Agron. (Luz) (25): 617-635.
2. A. C. Bunt 1988. Media and mixes for container-grown plants, 309 p. *In: a manual on the preparation and use of growing media for pot plants.* Unwin Hyman (ed.). London.
3. M. G. Medina, D. E. García, T. Clavero y J. M. Iglesias. Estudio comparativo de Moringa oleífera y Leucaena leucocephala durante la germinación y etapa inicial de crecimiento. *Zootecnia Tropical, Vol. 25, No. 2, 2007, pp. 83-93.*
4. O. Toral, J. Reino, H. Santana y Y. Cerezo. Caracterización morfológica de ocho procedencias de Moringa oleífera (Lam.) en condiciones de vivero. *Pastos y Forrajes vol.36 no.4 Matanzas oct.-dic. 2013. Versión ISSN 0864-0394.*
5. J. A. Villarreal G., U. Rivera O., R. Foroughbakhch P., M. L. Cárdenas ., V.R. Vargas L., A.L. Cortez G. Evaluación de la Germinación de Tres Ecotipos de Moringa (Moringa oleífera Lam.) Bajo Diferentes Sustrato. XI Encuentro de la Mujer en la Ciencia. 14-15 de mayo 2014. en León Guanajuato.
6. S. E. Urbina;, C. G Baca, E. R. Núñez; L. M. Colinas, C. L. Tijerina y T. J. Tirado. 2006. Cultivo hidropónico de plántulas de jitomate en zeolita cargada con k^+ , ca^{2+} o mg^{2+} y diferente granulometría. *Agrociencia (40): 419-429.*
7. Zar, J.H. Biostatistical analysis. 3rd Ed. Prentice Hall Inc. Englewood, New Jersey, USA, 850 p.

Fig. 1 Arbol de la Moringa (*Moringa oleifera* Lam.)



VALIDACIÓN Y CONFIABILIDAD DE UN INSTRUMENTO PARA MEDIR LA CAPACIDAD DE PRODUCCIÓN DE PRODUCTOS PERECEDEROS

Sara María Velázquez Reyes¹, Lilia Azucena Zamora Hernández¹, José Enrique Sifuentes Vargas¹, María Cristina García Carrillo¹, Benigno Landeros Arenas¹, Héctor Aurelio Moreno Casillas¹ y Víctor Gerardo Fernández Reyes¹

1 Instituto Tecnológico de la Laguna. saravelazquezreyes@gmail.com, lilia_zamora@hotmail.com, mcgarciac@hotmail.com, esifuentesv@hotmail.com, honerom@hotmail.com, vgfedz_333@hotmail.com

RESUMEN:

Hasta el año 2014 no se ha aplicado algún Censo para conocer las características económicas y tecnológicas de las unidades de producción.

Aparte de los instrumentos del INEGI, no se cuentan con otros instrumentos con validez y confiabilidad para conocer la situación actual de los productores de la Comarca Lagunera.

Uno de los problemas en la Región Lagunera es que mucho de sus productos agrícolas como el melón o la sandía no cuenta con los cuidados o la capacitación de las personas para realizar el trabajo manteniendo el producto perecedero en muy buenas condiciones y hacer que su ciclo de vida sea más largo, tampoco se tiene un programa establecido para vender y distribuir el producto.

Para poder conocer el estado o la situación actual de una parte de la Región Lagunera se deberá realizar un diagnóstico utilizando un instrumento evitando los costos que se generan en el levantamiento de un Censo, por esta razón se elaboró un instrumento, el cual se piloteo para medir su validez y confiabilidad y poder asegurar de que será válida y efectiva la información.

Se logró rediseñar, validar y verificar la confiabilidad del instrumento para conocer el diagnóstico, la capacidad de exportación, la biotecnología, la maquinaria y equipo de los productores de productos perecederos de la comarca lagunera. El instrumento diseñado dio resultados consistentes y coherentes de las variables que se midieron, dado que se piloteó con 28 productores de productos perecederos de la Comarca Lagunera de Coahuila y de Durango y se comprobó su validez y confiabilidad. Con lo cual los interesados que así lo deseen pueden examinar las tendencias a nivel regional, nacional e internacional y lograr identificar las oportunidades en el sector de alimentos perecederos.

1. INTRODUCCIÓN

La presente investigación presenta la situación de la Comarca Lagunera en cuanto a alimentos perecederos y las variables que lo afectan, elaborando un instrumento para diagnosticar la capacidad de exportación de los productores de alimentos perecederos en las PYMES y obtener un instrumento para ayudar a las mismas a medir su capacidad de exportación.

En la Región Lagunera se encuentra el Distrito de Riego 017 de la Comisión Nacional del Agua, así como los Distritos de Desarrollo Rural Laguna-Durango y Laguna-Coahuila, de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA).

La región tiene una extensión de 4, 788, 750 hectáreas aportadas por una proporción similar por los estados de Durango y Coahuila. De esta extensión solamente 4.72% son utilizadas para la agricultura dividida en el 3.62% para agricultura por riego y el 1.10% por temporal, dejando a la disposición de la naturaleza una parte importante de la producción agrícola.

Actualmente los productores de melón y sandía en la Comarca Lagunera no cuentan con información oficial. Se diseñó un instrumento para diagnosticar la situación de las PYMES productoras de melón y sandía en cuanto a capacidad de producción, estabilidad, conocimientos de normas para la exportación, sistemas de información, planeación de la empresa, recursos humanos, empaque del producto, mercado potencial y competencia, aplicar una prueba piloto en la misma región Lagunera, cuantificar el estado de cada uno de los rubros mencionados anteriormente a través de índices con una variable categórica en tres niveles (bajo, medio, alto) y facilitar el trabajo de investigación a los interesados en el diagnóstico de las PYMES productoras de alimentos perecederos de la Comarca Lagunera. El alcance de la investigación abarca la creación del instrumento de medición, la aplicación de la prueba piloto y la presentación de resultados encuestándose solo los municipios de Tlahualilo, Gómez Palacio, Lerdo, Torreón, Matamoros y Mapimí.

2. TEORÍA

Según George Wald, citado por Waedlaw (2000), “La experimentación es el mecanismo para hacer que la Naturaleza hable inteligiblemente”. Mediante el experimento se pregunta a la naturaleza, pero es necesario diseñar los experimentos para facilitar la comprensión de la respuesta o mensaje implícitos en los datos obtenidos. De otro lado, el análisis estadístico de los datos de un experimento está supeditado al tipo de diseño utilizado; así diseño y análisis no pueden ir separados en una investigación.

Todas las investigaciones cuantitativas manejan información numérica utilizando en algún grado la estadística descriptiva; ésta contiene conceptos como el promedio y la desviación estándar, necesarios para entender otros conceptos estadísticos más avanzados empleados en diseños para pruebas de hipótesis.

Según Hernández (2006), Una vez que seleccionamos el diseño de investigación apropiado y la muestra adecuada (probabilística o no probabilística), de acuerdo con nuestro problema de estudio e hipótesis (si es que se establecieron), la siguiente etapa consiste en recolectar pertinentes sobre los atributos, conceptos, cualidades o variables de los participantes, casos, sucesos, comunidades u objetos involucrados en la investigación.

2.1 Diseño del instrumento.

Lo primero que se necesita saber con respecto a la elaboración de un cuestionario es que desde muchas perspectivas es una labor compleja que requiere, del planteamiento del problema de investigación, de conocimientos técnicos y prácticos sobre el cuestionario, dominio de la temática que se explora y conocimiento de la población en estudio, así como cuidado, dedicación y paciencia. es decir, se requiere un marco metodológico para la elaboración del cuestionario, un marco teórico sobre la temática que se estudia, un marco de referencia con respecto a la población por estudiar y un marco situacional relativo a las condiciones en que se aplicará el instrumento.

La formulación del cuestionario es una fase crucial en el desarrollo de la encuesta, ya que se está diseñando la herramienta más importante o básica para recopilar los datos necesarios para el problema de investigación. Cualquier error o ambigüedad repercutirá en el conjunto de las operaciones anteriores y en las conclusiones finales. Frecuentemente una evaluación somera del cuestionario realizada por alguien ajeno a su elaboración o una aplicación de una muestra piloto permiten detectar fallas en las preguntas o apartados que parecían claros y precisos.

Dentro de la encuesta, la elaboración del cuestionario es la parte más difícil, pues tiene que estar vinculada de manera precisa con el problema, el objetivo y la hipótesis de la investigación. Además es importante valorar si el cuestionario es un recurso suficiente para la obtención de los datos o si

se requiere de alguna otra herramienta, técnica o proceso para capturar la información suficiente, pues no siempre son suficientes los datos que se obtienen con la aplicación de un cuestionario.

2.2 Prueba Piloto

Definido el cuestionario, es necesario realizar una prueba de éste con el objetivo de conocer su adecuación a los objetivos de la investigación; proceso conocido con el nombre “pretest” o “prueba piloto”.

La prueba piloto se refiere a la aplicación del cuestionario en una pequeña muestra de encuestados para identificar y eliminar posibles problemas. Aun el mejor cuestionario se puede mejorar con una prueba piloto. Como regla general, un cuestionario no se debe utilizar en una encuesta de campo sin haber sido probado. La prueba piloto debe ser extensa, se deben probar todos los aspectos del cuestionario, incluyendo el contenido de la pregunta, redacción, secuencia, forma y distribución, dificultad de la pregunta e instrucciones. Los encuestados en la prueba piloto deben ser similares a los que se incluirán en la encuesta real en términos de características, familiaridad con el tema y actitudes y conductas de interés. En otras palabras, los encuestados para la prueba piloto y para la encuesta real se deben tomar de la misma población (Díaz de Rada, 2009).

La finalidad de la prueba piloto es comprobar si el cuestionario satisface los objetivos, está orientado al sujeto, favorece la comunicación y se comprenden las preguntas, entre otros asuntos (García Córdoba, 2004).

Además de realizar una prueba piloto, se aprovecha la situación para considerar otros elementos del proceso de investigación. Además de probar el cuestionario, el pretest suele utilizarse para:

- Analizar la organización del estudio y verificar hasta qué punto es adecuada.
- Comprobar la idoneidad del marco muestral empleado, verificar la adecuación de la selección muestral efectuada, y conocer el tipo de muestreo seleccionado para, en caso que sea preciso, estimar los parámetros que permitan determinar el tamaño muestral necesario.
- Estimar el porcentaje aproximado de no respuesta que se obtendrá en la encuesta, así como la planificación de estrategias para solucionar la no respuesta.
- Valorar la adecuación de cómo se realizará la administración del cuestionario (entrevista personal, telefónica, por correo, internet, etc.). en ocasiones se prueban varios para ver cuál es el que mejor funciona.
- Planificar los contenidos a transmitir en la preparación de los entrevistadores, insistiendo en los elementos más complicados (detectados por el pretest).
- Estimar el tiempo necesario para llevar a cabo el trabajo de campo, y así poder realizar una estimación de tiempos y costes con más precisión (Díaz de Rada, 2009).

Los instrumentos de medición deben ser correctos, o que indiquen lo que interesa medir con facilidad y eficiencia. Para la evaluación de un instrumento de medición hay que considerar tres características principales:

- **Validez:** se refiere al grado en que la prueba está midiendo lo que en realidad se desea medir.
- **Confiabilidad:** se refiere a la exactitud y a la precisión de los procedimientos de medición.

3. DESARROLLO DE LA INVESTIGACIÓN

La investigación es descriptiva por medir o recoger información de manera independiente o conjunta sobre los conceptos o las variables a las que se refieren, y no experimental ya que las variables no son manipuladas. Se diseña el instrumento de medición y se definen los indicadores utilizados.

El universo son todos aquellos productores PYMES de bienes perecederos tales como el melón y la sandía. Los productores PYMES son aquellos quienes trabajan la tierra por su cuenta o en una pequeña/mediana sociedad asumiendo todos los riesgos que conlleva este proceso, tales como fenómenos ambientales, sociales y económicos, poniendo en peligro algunas veces su capital. La población es todas las PYMES productoras de bienes perecederos de melón y sandía de la Comarca Lagunera.

Ésta investigación es de tipo casuística, ya que se seleccionaron los municipios de Torreón, Gómez, Lerdo, Tlahualilo, Matamoros y Mapimi; por la facilidad de la recopilación de la información. Se encuestaron a 27 productores de los municipios antes mencionados.

Dentro del instrumento de medición hay 12 indicadores para medir la capacidad de producción de los productores de alimentos perecederos, cada indicador se mide a través de algunos ítems, en la tabla 3.1 se muestra cada indicador con los ítems con los cuales se mide o se promedia dicho indicador.

Tabla 3.1 Indicadores con los ítems que lo miden.

INDICADOR	OPERACIONALIZACIÓN	ÍTEMS
Capacidad de Producción	Volumen máximo que la empresa puede producir con los recursos dados.	6, 7, 8, 9
Estabilidad	Capacidad de la empresa de permanecer en equilibrio ante los cambios y la constancia en el tiempo	1, 2, 3, 4, 5
Conocimientos de normas para exportación	Conocimiento de la empresa para poder cumplir con los requisitos del extranjero	42, 43, 44, 45
Sistemas de información	Sistemas utilizados por la empresa para tener comunicación por internet	17
Planeación	Procesos formales de planeación estratégica	10, 11, 12, 13, 14, 15, 16
Finanzas	Manera en la que se solventan	21, 22, 23, 24
Empaque y embalaje	Presentación del producto producido al momento de la entrega al cliente	33, 34, 35, 36
Recursos humanos	Personal con el que cuenta la empresa	18, 19, 20
Competencia	Manera en la que la empresa esta consiente de los competidores	40, 41
Tecnología	Maquinaria y equipo para la producción	25, 26
Calidad/Inocidad	Normas, procedimientos y reglas que se llevan a cabo para la calidad del producto	27, 28, 29, 30, 31, 32
Mercado	Compradores de lo producido por la empresa	37, 38, 39

3.1 DISEÑO DEL INSTRUMENTO

Para la elaboración del instrumento de medición del diagnóstico de la capacidad de exportación de los productores de productos perecederos en la comarca lagunera se consultaron diversas fuentes bibliográficas tales como SAGARPA e INEGI y se realizaron algunas visitas que se tuvieron en diferentes lugares, tales como; PROMEXICO, Desarrollo Económico de Gómez Palacio y a COFOCE en el Puerto Interior de Silao, Gto., teniendo una junta con el Lic. Ángel González-Méndez Garmendia (Director de promoción de alimentos y bebidas).

3.2 RESULTADOS

La investigación a partir de las encuestas aplicadas muestra los resultados de la capacidad de producción de cada uno de los productores encuestados, como lo muestra la gráfica 3.1 y al final de la investigación se califica la capacidad de exportación de los productores de alimentos perecederos de la Comarca Lagunera, que tiene un promedio no aceptable de 60.39, esto no significa que no tenga capacidad de exportación sino que tiene que ser mejorada.



Gráfica 3.1 Puntuación de cada uno de los productores.

En la gráfica se muestra que el productor con menor capacidad de exportación tiene calificación de 47 y el productor con mayor capacidad de exportación tiene calificación de 77. Solo siete de ellos están arriba del 65, que son los que cumplen con la capacidad de exportación.

4. CONCLUSIONES:

Se evaluaron resultados de manera objetiva y subjetiva evaluando a cada productor en forma global con una escala de 0 a 100, así mismo un resultado global para la Región Lagunera.

A nivel Región se tiene un promedio no aceptable de 60.39, esto no significa que no tenga capacidad de exportación sino que tiene que ser mejorada.

El instrumento junto con los resultados sirve de apoyo a los investigadores interesados en el diagnóstico de las áreas de oportunidad en las empresas productoras de alimentos perecederos con el objetivo de proponer mejoras en las áreas de tecnología, reglamento y calidad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Díaz De Rada, Vidal, 2009, *Análisis de Datos de Encuestas: Desarrollo de una investigación Completa utilizando SPSS*, Editorial UOC., España.
2. García Córdoba, Fernando, 2004, *El Cuestionario: Recomendaciones Metodológicas para el Diseño de Cuestionarios*, Editorial Limusa, México
3. Hernández Sampieri, Roberto, 2014, *Metodología de la Investigación*, Editorial Mc Graw Hill, 6ta. Edición, México. 85
4. INEGI, Censos Agropecuarios, (<http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/proyectos/agro/default.aspx>), 17-02-2014.
5. INEGI, Censo Agrícola, Ganadero y Forestal 2007, (http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/proyectos/Agro/ca2007/Resultados_Agricola/default.aspx), 18-02-2014, 10:37 hrs.
6. INEGI, Censo Agrícola – Ganadero 1991, www.inegi.org.mx/est/contenidos/proyectos/Agro/ca1991/Resultados_Agricola/default.aspx.
7. SAGARPA, Agricultura, 87 (<http://www.sagarpa.gob.mx/agricultura/Paginas/Agricultura.aspx>), 16-02-2014.

CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA Y DE ELEMENTOS TRAZA EN SUELOS AGRÍCOLAS, DEL ESTADO DE GUANAJUATO, MÉXICO

María Elena López-Pérez^a, Gabriela Ana Zanor^a, Sara Solís-Valdez^b, Carolina Muñoz-Torres^b,
María Cristina Del Rincón-Castro^a

^aDivisión de Ciencias de la Vida. Universidad de Guanajuato. Ex Hacienda El Copal Km. 9 Carretera Irapuato-Silao; A.P. 311; C.P. 36500, me.lopezperez@ugto.mx, gzanor@ugto.mx, cdelrincon@ugto.mx

^bCentro de Geociencias, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Blvd. Juriquilla No. 3001. Querétaro, 76230, México, sarasoli@geociencias.unam.mx, caromt@geociencias.unam.mx

RESUMEN

El suelo se encuentra ubicado en la zona más dinámica y crítica del planeta Tierra, desarrollando funciones esenciales en los ecosistemas de carácter ecológico, económico y cultural. El uso del suelo en la región del Bajío Guanajuatense es, en su mayoría, para producción agrícola, siguiendo técnicas convencionales y en creciente auge, de conservación. En este estudio se muestrearon diez suelos agrícolas, localizados en los municipios de Irapuato, Silao, Abasolo y Salamanca, a fin de conocer sus características y/o problemas de toxicidad. Los análisis incluyeron propiedades físico-químicas (humedad, densidad aparente y real, porosidad, textura, carbono orgánico e inorgánico, pH, materia orgánica y nitrógeno total) siguiendo la NOM-021-SEMARNAT-2000 y de elementos traza (As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, V y Zn) usando ICP-OES, con base en la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. Comparando ambos manejos del suelo, los de conservación presentaron los valores más altos en el %humedad (6.7-7.0%), densidades aparentes y reales más bajas (1.0-1.1 g/cm³; 1.9-2.2 g/cm³), porosidades altas (55%), pH de 6.4-6.8, mayores contenidos de materia orgánica (8.3-14.7%) y nitrógeno (0.38-0.45%). En cambio, los suelos con agricultura convencional, mostraron valores menores de humedad (2.2-6.7%), densidades aparentes y reales más altas (1.2 g/cm³; 2.3-2.5 g/cm³), porosidades de 52-55%, concentraciones menores de materia orgánica y nitrógeno (2.0-6.5; 0.1-0.4%). En cuanto a los elementos, todos los suelos se encontraron por debajo de la concentración de referencia total (CR_T). Sin embargo, los suelos de conservación con pH más ácidos, textura arcillosa y muy ricos en materia orgánica presentaron contenidos más altos en Zn, Cu y As, evidenciando que el pH sería el factor principal que controla las concentraciones más elevadas de los elementos en los suelos. Estos resultados junto con estudios posteriores (actividad enzimática, minerales de arcilla) permitirán profundizar en las relaciones sobre el tipo de agricultura practicada y el mejoramiento de las propiedades del suelo.

1. INTRODUCCIÓN

El suelo es un sistema altamente dinámico, producto de la alteración físico-química de un material original a lo largo del tiempo, bajo condiciones climáticas y topográficas determinadas y sometido a la actividad de organismos vivos que actúan en la transformación de sustancias y la atenuación de los contaminantes (Gadd, 2010; Jordán, 2005; Ortiz, *et al.*, 2007). El suelo es uno de los recursos naturales básicos a partir del cual el hombre desarrolla la mayoría de las actividades económicas que le dan sustento como ente biológico y social. En las últimas décadas, el aumento de la

población y consecuentemente el desarrollo urbano, industrial y agrícola, han ocasionado que el suelo se convierta en un recurso natural crítico. La agricultura es una de las actividades económicas primarias que condiciona los cambios de uso del suelo, la cual por su tipo de manejo se clasifica en convencional o de conservación. Se habla de agricultura convencional cuando no se toma en cuenta el uso racional y sostenible de los recursos naturales provocando erosión o pérdida de suelo y aumentando su degradación con disminución de nutrientes, salinidad, compactación, acidificación y desbalance de las actividades microbiológicas en la capa superficial del suelo. En cambio, agricultura de conservación se refiere a una agricultura sostenible, rentable y dirigida al mejoramiento de la fertilidad del suelo, basada en la aplicación de tres principios: una perturbación mínima del suelo, cobertura permanente del suelo y la rotación de cultivos (FAO, 2014). Hoy en día, la agricultura enfrenta grandes retos, por una parte, se debe responder a la demanda de tecnología para incrementar la productividad con el menor costo ecológico, y, por otro lado, el reto es proponer cambios y alternativas en el uso del suelo con fines de conservación y restauración (García, *et al.*, 2002). Guanajuato es una de las entidades agrícolas más importantes de México, de un total de 3 063,173 hectáreas, el uso destinado a la agricultura ocupa el 55.11%, además cuenta con una gran diversidad de cultivos, con alrededor de 70 especies, entre las que se incluyen frutas y hortalizas, cultivos industriales, leguminosas, entre otros, siguiendo técnicas convencionales y en creciente auge, de conservación (IE, 2004). Es por ello que este trabajo tiene como objetivo efectuar determinaciones físicas, químicas y de elementos traza en suelos del estado de Guanajuato a fin de evaluar las relaciones sobre el tipo de agricultura practicada y la afectación de las propiedades de fertilidad del suelo.

2. PARTE EXPERIMENTAL

Materiales y Métodos. En el presente estudio se realizó una colecta de diez muestras de suelos agrícolas de los municipios de Irapuato, Silao, Abasolo y Salamanca (Tabla 1). La toma de muestras se llevó a cabo durante los meses de enero a mayo de 2014, periodo que corresponde a las estaciones de invierno y primavera septentrional.

Tabla 1. Información de los Sitios de Muestreo

Tipo de Agricultura	ID	Ubicación		Elevación m	Información del Sitio
		UTM [†]			
Convencional	MAC	2295433.43	257415.26	1742	Contenido de restos de caña, terrones color gris oscuro, fragmentos de gravas y pedregosidad. Se le agregan fertilizantes químicos.
Convencional	MAA	2266089.21	238726.36	1698	Diez años de producción con dos temporadas de siembra por año con uso de fertilizantes químicos.
Conservación	MASFE	2285029.71	266084.41	1727	Sin fertilizantes químicos, se le agrega estiércol, lombricomposta y se riega con lixiviados de la misma.
Conservación	MASE	2285086.96	265924.63	1726	Cultivo de espárragos, suelo color café oscuro, húmedo y compacto. Se riega con lixiviados de lombricomposta.
Conservación	MAJ	2299030.19	256143.19	1752	Es un suelo sin fertilizantes químicos (~22 años), se le agrega estiércol de vaca y parano.
Convencional	MASA	2310431.11	255981.73	1810	Pedregoso, se aplican fertilizantes químicos y estiércol de vaca y caballo.
Convencional	MASI	2319174.37	248100.09	1784	Cultivo de temporal, inundado en la temporada de lluvia 2013, sin siembra desde la temporada Ago-Dic 2013.
Convencional	MAAJI	2285888.01	231763.08	1699	Dos temporadas de cultivo al año. Se aplican fertilizantes químicos. El suelo se encuentra nivelado.
Convencional	MAANA	2286317.97	232026.41	1699	Dos temporadas de cultivo al año. Se aplican fertilizantes químicos.
Convencional	MASIM	2319958.67	248825.70	1799	Cultivo de temporal.

[†]Coordenadas geográficas

El número de muestras individuales recolectadas para cada una de las muestras compuestas fue de 10-15 y se abarcó un área de 1 ha. El método empleado fue el de zig-zag a 20 cm de profundidad. Para la caracterización físico-química de los suelos se siguió la metodología reportada en la NOM-021-SEMARNAT-2000. La precisión analítica fue avalada por tres repeticiones de cada muestra. La humedad del suelo se determinó mediante el método gravimétrico. Para definir la Textura se utilizó el método del hidrómetro o Boyoucos. La densidad aparente se calculó por el método de la probeta y para la densidad real se utilizó el método del picnómetro. Para la determinación del pH se usó el método potenciométrico en una suspensión de suelo-agua en una relación 1:2. El porcentaje de carbono orgánico e inorgánico se cuantificó por el método de Pérdida por Ignición (Heiri, *et al.*, 2001). La materia orgánica se determinó por combustión húmeda según el método de Walkley y Black (1965) y el nitrógeno total fue determinado por el método Micro-Kjeldahl.

El análisis de elementos traza (As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, V y Zn) fue realizado en el Laboratorio de Geoquímica Ambiental del Centro de Geociencias-UNAM (Juriquilla, Querétaro), de acuerdo al método EPA (2007), mediante Espectrofotometría de Emisión Óptica con Plasma Acoplado Inductivamente Thermo iCAP 6500 Dúo.

Resultados y Discusión. Los suelos agrícolas generalmente son suelos arcillosos, ya que les permite tener una fertilidad química alta y mayor retención de humedad. En este trabajo, los suelos analizados resultaron ser en su mayoría arcillosos lo que les permite tener valores similares de humedad, a excepción del suelo MAJ donde por su textura franco arenoso es el que retiene menor cantidad de agua (Tabla 2). Comparando ambos manejos del suelo, los suelos agrícolas de conservación presentaron los valores más altos en el %humedad (6.7-7.0%). Los valores de la densidad real y aparente en la mayoría de los suelos de este estudio se encuentran dentro del rango de 2-2.65 g/cm³ y según la clasificación de la NOM-021-SEMARNAT-2000 corresponde a suelos con minerales de arcilla. En este estudio se encontró que los suelos están en el rango de 52-56% de espacio poroso considerado bueno (Parkin, *et al.*, 1996). Los suelos agrícolas con una adecuada actividad biológica generalmente contienen el 60% de espacio poroso y es indicativa del grado de aireación del suelo.

Tabla 2. Características de los Análisis Físicos de las Muestras de Suelo

ID	Humedad	Textura	Densidad Aparente	Densidad Real	Porosidad
	%		g/cm ³		%
MAC	6.76	Arcilla	1.10	2.33	52.74
MAA	6.52	Arcilla	1.07	2.27	52.75
MASFE	7.03	Arcilla	1.00	2.22	54.84
MASE	6.74	Arcilla	1.07	1.97	52.05
MAJ	1.53	Franco Arenoso	1.19	2.55	53.32
MASA	6.39	Arcillosa	1.05	2.35	55.38
MASI	6.12	Arcillo Limosa	1.06	2.39	55.53
MAAJI	5.98	Franco Arcillo Limosa	1.08	2.41	55.07
MAANA	5.92	Arcillosa	1.10	2.34	53.18
MASIM	2.25	Franco Arcillo Arenosa	1.18	2.50	53.02

El pH en los diferentes suelos tuvo una variación desde moderadamente ácido hasta fuertemente alcalino (Tabla 3). MASE es el suelo que debido a su pH se encuentra dentro del rango ideal para la disponibilidad de nutrientes, formación de minerales, descomposición de materia orgánica y por lo tanto, una alta actividad biológica (Siebe, *et al.*, 1996), lo que se corresponde con contenidos elevados de carbono orgánico, materia orgánica y nitrógeno (Tabla 3). En cuanto a la relación C/N, Moreno (1978) considera que con un valor de C/N alto (>15), el nitrógeno se inmoviliza, en cambio, cuando la relación va bajando al producirse el consumo del carbono, utilizado como fuente de energía de todos los microorganismos del suelo, se inicia una mayor actividad bacteriana que va liberando nitrógeno mineral. Si la relación C/N es baja (<15) los compuestos presentes son atacados con mayor facilidad por las bacterias que equilibran su población, por lo que va resultando un excedente de nitrógeno que queda en el suelo en forma disponible. Los suelos de conservación mostraron relaciones C/N más bajas (7.6-15.83) y los de agricultura convencional evidenciaron relaciones C/N mayores (51.30, Tabla 3).

Tabla 3. Características de los Análisis Químicos de las Muestras de Suelo

Muestra	%CO	%CI	pH _{H2O}		% Materia Orgánica		% Nitrógeno		Relación C/N
			Valor	Categoría [†]	Valor	Categoría [†]	Valor	Categoría [†]	
MAC	5.68	2.10	7.89	Medianamente Alcalino	6.50	Muy Alto	0.42	Extremadamente rico	13.50
MAA	5.08	1.35	8.00	Medianamente Alcalino	4.00	Alto	0.10	Medio	51.30
MASFE	7.06	2.42	6.78	Neutro	14.70	Muy Alto	0.45	Extremadamente rico	15.83
MASE	4.54	2.23	6.44	Moderadamente Ácido	8.30	Muy Alto	0.38	Extremadamente rico	11.83
MAJ	3.59	1.75	7.69	Medianamente Alcalino	5.10	Alto	0.47	Extremadamente rico	7.60
MASA	5.05	2.66	7.77	Medianamente Alcalino	3.60	Alto	0.12	Medio	43.15
MASI	5.85	2.18	7.53	Medianamente Alcalino	4.70	Alto	0.21	Rico	28.55
MAAJI	4.14	1.75	8.68	Fuertemente Alcalino	2.00	Medio	0.26	Extremadamente rico	16.06
MAANA	5.99	1.73	8.14	Medianamente Alcalino	3.60	Alto	0.17	Rico	36.30
MASIM	5.42	0.95	6.44	Moderadamente Ácido	4.90	Alto	0.28	Extremadamente rico	19.30

[†]La categoría se designa con la clasificación de la NOM-021-SEMARNAT-2000, CO=Carbono Orgánico, CI=Carbono Inorgánico, C/N=Carbono/Nitrógeno.

Los elementos traza analizados para los diez suelos agrícolas se encontraron por debajo de la concentración límite permisible (CR_T). Sin embargo el suelo agrícola de conservación MASE es el que presenta los valores más altos de As, Cu, Pb y Zn (Figura 1), esto entre otras causas, puede ser debido a la calidad del agua que se utiliza para su riego y al uso de fertilizantes. En general los suelos de conservación presentaron contenidos más altos en metales (Zn, Cu y Cd).

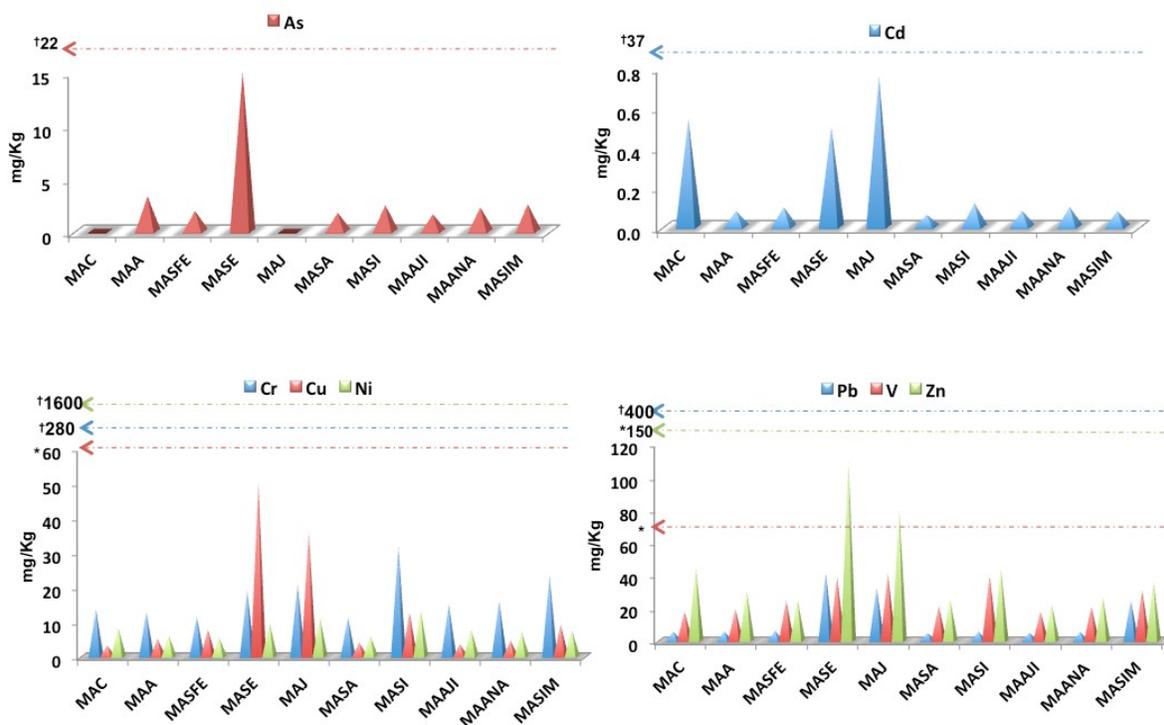


Figura 1. Concentración en mg/kg de los elementos traza presentes en las diferentes muestras de suelo agrícola. Se muestra el límite máximo permisible según la norma mexicana [†]NOM-021-SEMARNAT-2000 y la concentración máxima para la ^{*}Unión Económica Europea.

3. CONCLUSIONES

Los suelos agrícolas de conservación presentaron las características químicas más próximas a las condiciones óptimas de fertilidad para un suelo agrícola, sin embargo, las propiedades físicas son muy similares entre los diez suelos agrícolas. Esto indica que resulta más difícil modificar a corto plazo estas propiedades en comparación con las propiedades químicas. Los suelos de conservación presentaron altos contenidos de carbono orgánico, materia orgánica, nitrógeno y relaciones C/N cercanas a 10. Sin embargo, estos suelos presentaron concentraciones más altas en elementos traza (As, Cd, Cu y Zn), evidenciando que los altos contenidos en materia orgánica y el pH serían los factores dominantes en el control de los valores registrados.

Los suelos de agricultura convencional y con aplicación de fertilizantes químicos mostraron densidades aparentes más altas, altos pH, relativamente bajos contenidos en materia orgánica y nitrógeno. Estas características tienden a alcalinizar los suelos, ocasionar la pérdida de la movilidad de los nutrientes y por lo tanto, aumentar la degradación de los mismos.

La caracterización, evaluación y recuperación de un suelo, es uno de los grandes retos ambientales actuales. La determinación de las propiedades físicas, químicas y los elementos traza son solo algunos de los parámetros que nos ayudan a identificar la calidad de un suelo y junto con estudios posteriores como actividad enzimática y minerales de arcilla permitirán profundizar en las relaciones sobre el tipo de agricultura practicada y el mejoramiento de las propiedades del suelo.

BIBLIOGRAFÍA

1. EPA, 2007. Trace elements in water, solids, and biosolids by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry Revision 5.0. EPA, Washington D.C., available at: ftp://ftp.epa.gov/r8/biosolids/analyticalmethods/200_7.pdf.

EFFECTO DE SURFACTANTES EN LA AGRUPACIÓN Y MOVILIDAD ELECTROFORÉTICA DE CONIDIAS DE UNA CEPA SILVESTRE DE *TRICHODERMA SPP.*

Lilia Yunuen Salazar Alcantar^a, Christian José Gallegos Núñez^b y Virginia A. Robinson Fuentes^b

^aFacultad de Químico Farmacobiología (UMSNH) Lily.SA@hotmail.com.

^bFacultad de Ciencias Medicas y Biológicas "Dr. Ignacio Chávez" (UMSNH) yrobinsonf@hotmail.com,
chrisj_galle1287@hotmail.com.

RESUMEN.

Los hongos filamentosos y sus conidias se encuentran en todo tipo de ambientes. Se asocian a alergias e infecciones nosocomiales con alta tasa de mortalidad. La detección temprana y la correcta identificación de estos organismos son importantes; actualmente se identifican por sus antígenos, ácidos nucleicos o metabolitos específicos, con métodos que requieren de personal especializado y días para ofrecer resultados. Se ha propuesto el uso de la electroforesis capilar (EC) por su rapidez, alto rendimiento y menor consumo de muestra. En esta técnica la agrupación de las conidias entre sí y su migración conjunta es importante porque se produciría una señal característica de género o especie fúngica, lo que permitiría su identificación en pocas horas. En este trabajo se estudia el efecto de surfactantes iónicos y no iónicos en la agrupación y movilidad de conidias de *Trichoderma spp.*

INTRODUCCIÓN.

Los hongos filamentosos y sus conidias se encuentran en todo tipo de ambientes. La exposición a sus antígenos se asocia a reacciones alérgicas y se han convertido en una causa importante de infecciones nosocomiales con alta tasa de mortalidad, especialmente en pacientes inmunocomprometidos. Debido a esto y a la sensibilidad variable a los agentes antifúngicos de estos patógenos, la detección temprana y la correcta identificación de estos organismos es importante [Horka et al, 2009].

La identificación de los hongos se realiza principalmente mediante cultivos y observación microscópica, de esta manera se obtiene información sobre la morfología del hongo, sin embargo, estas técnicas requieren de tiempos largos de análisis debido a la preparación de la muestra y su cultivo. Otros métodos para la identificación de hongos es por medio de sus antígenos, sus ácidos nucleicos respectivos o sus metabolitos específicos, aunque estos requieren de personal especializado y de días para ofrecer resultados [Yeo y Wong, 2001]. Recientemente, se ha propuesto el uso de técnicas instrumentales para el análisis y caracterización de microorganismos como por ejemplo, la electroforesis capilar (EC). La ventaja de esta técnica es su análisis rápido, de alto rendimiento y menor consumo de muestra [Bao et al, 2008]. La EC es una técnica de separación que se basa en la velocidad de migración de las partículas cargadas, debido a la acción de un campo eléctrico, y de acuerdo a su peso y carga se desplazan (migran) hacia un polo. Las paredes celulares de las conidias de los hongos tienen diferentes moléculas que, en solución les permiten tener una carga y es por lo que pueden analizarse por EC; sin embargo, son pocos los trabajos que usan la EC en la determinación de hongos [Horka et al, 2009, 2012; Girod y Armstrong, 2002]. En relación con la identificación de hongos mediante EC, Girod y Armstrong (2002) obtuvieron picos con excelentes resoluciones en la separación de dos bacterias y una levadura (*Sacharomyces cerevisiae*) que comúnmente se adicionan a suplementos dietéticos. Otros hongos que han sido analizados son *Candida albicans* y *Rhodotorula*, que también son levaduras [Bao et al, 2008]. Horka et al usaron *E. coli*, *C. albicans*, *S. epidermidis* y el bacteriófago Φ X174 como microorganismos tipo para demostrar que existen cambios en las células activas e inactivas y que estos cambios se evidenciaban en los patrones electroforéticos [Horka, 2007]. En otro trabajo usaron CIEF y EC de zona (ECZ) para separar conidias de los hongos filamentosos *A. niger*, *A. fumigatus*, *A. flavus*, *P. chrysogenum* y *F. solani*. En este caso, usaron un complicado sistema de derivatización de las conidias para lograr su separación [Horka, 2009].

En un estudio de nuestro grupo de trabajo, se realizó de manera exitosa el análisis de *Botryosphaerea rhodina* y *Trichoderma sp* en su forma micelial mediante EC. En un afán de obtener células miceliales más uniformes, se ensayaron diferentes condiciones con germinulas de *Trichoderma sp* y *Neurospora crassa* con buenos

resultados [García- Aguilar, 2009]. En otro estudio se logra caracterizar tanto conidias de *T. atroviride* como esporas de *Amylomyces rouxii* y *Agaricus bisporus* [Cazares-García, 2009]. Recientemente se analizaron 5 cepas de conidias de *Trichoderma* spp (una de referencia y 4 silvestres) sin que se logre su agrupación completa y se obtengan señales totalmente simétricas [Ávila-Quintero, 2013]. La agrupación de las conidias entre sí y la migración conjunta de este grupo es importante porque se produciría una señal que, bajo ciertas condiciones experimentales, sería característica de género y especie fúngica, lo que permitiría su identificación en poco tiempo, principal ventaja sobre otras técnicas de identificación de hongos.

PARTE EXPERIMENTAL.

Se utilizó una cepa silvestre de *Trichoderma* spp, proporcionada por el laboratorio de Conservación de Hongos del CMEB. Se recolectaron sus conidias, se lavaron, centrifugaron y se resuspendieron en Buffer de fosfato de potasio 10Mm a pH 8. Se utilizaron surfactantes: iónicos (CTAB, heptano sulfonato de sodio, HSS) en concentraciones de 5 a 25 mM y no iónico (Tritón X-100, TX100) de 0.1 a 0.9 %. Para los corrimientos electroforéticos se utilizó un equipo de EC Beckman Coulter P/ACE (Fig. 1B) con capilares de sílice fundida de 100mm de d.i., 50cm de Lt y 40cm de Ld; detector de arreglo de diodos (DAD) con una λ de 201nm, una temperatura controlada de 25°C. Con estas condiciones se han obtenido graficas que representan el análisis de las conidias, electroferogramas, sin saber qué es lo que pasa dentro del capilar y porqué se obtienen señales múltiples. Entonces, se usó un equipo de electroforesis capilar montado en el laboratorio (Fig. 1A) en el que se utilizó como detector un microscopio óptico, se capturo video con ayuda de una cámara digital Celestron 44420 para microscopio y así observar la migración de las conidias; en este estudio se utilizó una suspensión de conidias de la cepa silvestre de *Trichoderma* spp en buffer de fosfatos de potasio 1M con pH 6.8 y un voltaje de (+) 0.11Kv. Se usaron capilares de 10cm de largo por 100mm de d.i., completamente transparentes. Se utilizaron los mismos surfactantes en ambos procedimientos: CTAB, HSS y Triton TX100 en las mismas concentraciones mencionadas.



Figura 1. A) Equipo de electroforesis capilar montado en el laboratorio, B) Equipo comercial de EC.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Con ayuda del equipo de microelectroforesis capilar se logra hacer migrar las conidias usando un voltaje de (+) 0.11Kv. Las conidias se encontraban en suspensión con buffer de fosfatos 1M, pH 6.8. Se capturó la migración de conidias y del video se realizaron los fotogramas de los segundos 0, 3, 6 y 9 (Fig. 2). Al aplicarles el voltaje, las conidias señaladas con flecha amarilla, naranja y blanca presentaron un desplazamiento casi constante y muy semejante al que presentaron la mayoría de las conidias observadas en el video, su dirección de migración fue del electrodo positivo al electrodo negativo, confirmando las observaciones realizadas en investigaciones previas [Cázares-García, 2007; García-Aguilar, 2009; Cázares- García, 2009 y Ávila- Quintero, 2013]. En cambio, las conidias indicadas con la flecha negra muestran una velocidad de migración menor en comparación con la mayoría de las conidias, esta diferencia de velocidades al migrar es la que ocasiona una dispersión de señales en los electroferogramas; en el 2003, Desai y Armstrong justifican este fenómeno debido a la adsorción de iones y deformación al considerar a las células como partículas coloidales; debido a esta característica, no tendrán la misma relación masa/carga todas las conidias; también mencionan estos autores que las células no son analitos esféricos y no tienen una distribución igual de cargas; por su parte las conidias aun siendo de una misma cepa presentan una variación de forma que va desde el esférico hasta el ovoide, también varían en

tamaño cercano a 2 μm de diámetro y variación en componentes de pared celular. En el caso de la conidia señalada con la flecha amarilla, se observa que no se desplazó significativamente hacia ninguno de los dos polos, muy probablemente debido a que se adsorbió a la pared interna del capilar, fenómeno que puede ser eliminado con la ayuda de aditivos.

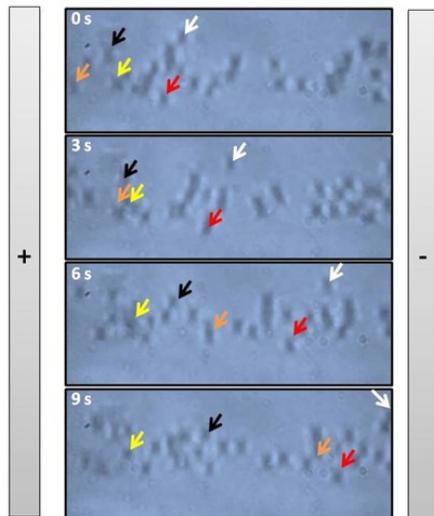


Figura 2. Electroforesis capilar acoplada a microscopio. Conidias de *Trichoderma spp*, Buffer de fosfatos 1M, pH 6.8, voltaje de (+) 0.11kV.

Utilizando los surfactantes en conjunto con el BGE, se pudo observar que las conidias en presencia del CTAB (Fig. 3A) a bajas concentraciones tienden a adherirse al interior del capilar y se agrupan entre sí, migrando en sentido inverso; conforme va aumentando la concentración de este surfactante, su movilidad electroforética va disminuyendo. Con HSS las conidias se agrupan entre sí pero tienen poca movilidad debido a que se adhieren a la pared interna del capilar, su migración es hacia el ánodo. Con TX-100 en todas las concentraciones, las conidias presentan una movilidad electroforética mayor ya que no se agrupan entre sí ni se adhieren a la pared interna del capilar, migran hacia el polo negativo (Fig. 3B).

Son varios los trabajos en los que se estudia la migración de bacterias y/o levaduras en capilares, utilizando instrumentos comerciales y surfactantes; sin embargo, los trabajos relacionados a la migración de conidias en presencia de surfactantes son escasos. Algunos reportes que indican que surfactantes como el TX-100 pueden lisar membranas celulares [Koley y Bard, 2010] sobre todo cuando se usan en concentraciones mayores a su concentración micelar crítica. Con la ayuda de la observación al microscopio pudimos observar que en presencia de los surfactantes con concentraciones mayores a su CMC, las conidias no presentan lisis ni ningún daño aparente. Esto se debe a que las células fúngicas son más resistentes y poseen un mayor tamaño que las bacterias, por lo que soportan mayores concentraciones de surfactantes [Bao et al, 2008]

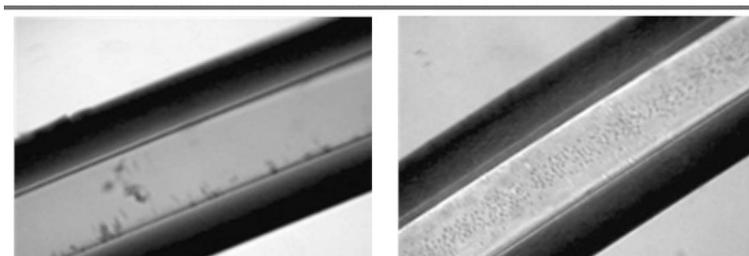
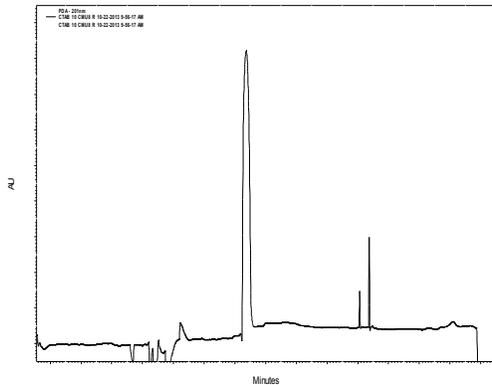


Figura 3. A) Se observa agrupamiento de las conidias al interior del capilar y adherencia a la pared del capilar. B) Se observan las conidias al centro del capilar, sin agrupamiento ni adherencia a las paredes del capilar.

Los resultados obtenidos nos permiten observar que la migración de las conidias en ausencia de aditivos es hacia el polo negativo, tal como sucede en el equipo comercial; también se puede observar que las conidias tienden a agruparse y no migran a la misma velocidad, lo que podría explicar las múltiples señales presentes en los electroferogramas. Con la presencia de los surfactantes se altera su migración y la adsorción a las paredes del capilar como se muestra en la Figura 4. En tal Figura se observa una señal definida, lo que no se logra usando HSS como aditivo; en el caso de TX-100 también se produce señales definidas.

Con esta información, es posible obtener condiciones de análisis que propicien la agrupación y migración conjunta de conidias obteniendo señales características que permitirán identificar especies fúngicas en menor tiempo.



CONCLUSIÓN.

Las observaciones realizadas en este trabajo muestran el evidente efecto que ejercen los surfactantes en la movilidad de las conidias de la cepa silvestre de *Trichoderma spp*; las señales electroforéticas obtenidas indican que se está logrando la agrupación de las conidias. Esta información abre la posibilidad de mejorar las condiciones de análisis de las conidias en el equipo comercial, con la ayuda de surfactantes, que permitirán que las conidias se agrupen entre sí, pero no se adhieran a la pared interna del capilar, lo que mejorara su movilidad electroforética.

La importancia de lograr esta agrupación radica en que se buscan señales que sean características de género o especie fúngicos y así lograr una identificación en menor tiempo que el empleado actualmente en otras técnicas.

REFERENCIAS.

- Ávila Quintero JL. 2013. Análisis de conidias de diferentes cepas de *Trichoderma spp*. Mediante electroforesis capilar. Tesis de maestría en Ciencias de la Salud. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Mich.
- Bao Y, Lantz AW, Crank JA, Huang J and Armstrong DW. 2008. The use of Cationic Surfactants and Ionic Liquids in the Detection of microbial Contamination by Capillary Electrophoresis. *Electrophoresis*. 29:2587-2592.
- Cázares-García SV. 2007. Estudio de la factibilidad de análisis de células fúngicas mediante electroforesis capilar. Tesis de licenciatura en QFB. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Mich.
- Cázares-García SV. 2009. Movilidad electroforética de células fúngicas. Tesis de maestría en Ciencias de la Salud. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Mich.
- García-Aguilar L. 2009. Determinación de las características electroforéticas de células miceliales. Tesis de Maestría en Farmacología Básica. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Mich.
- Girod M, Armstrong DW. 2002. Monitoring the migration behavior of living microorganisms in capillary electrophoresis using laser-induced fluorescence detection with a charge-coupled device imaging system. *Electrophoresis*, 23: 2048–2056.
- Horká M, Horký J, Matouskova H, and Šýlajis K. 2007. Separation of Plant Pathogens from Different Hosts and Tissues by Capillary Electromigration Techniques. *Analytical Chemistry*. 79:9539-9546.

- Horká M, Kubice, Ruzicka F, Hola V, Malinovska I and Slais K. 2007. Capillary isoelectric focusing of native and inactivated microorganisms. *Journal of Chromatography A*. 1155:164-171.
- Horka M, Rusicka F, Kubesova A, Hola V, Slais K, 2009. Capillary electrophoresis of conidia from cultivated microscopic filamentous fungi. *Analytical chemistry*. 81:3997-4004.
- Koley D, Bard AJ. 2010. Triton x-100 concentration effects on membrane permeability of a single HeLa cell by scanning electrochemical microscopy (SECM). *Proceedings of the National Academy of Science*. 107:16783-16787.
- Lantz AW, Bao Y and Armstrong, DW. 2007. Single-Cell Detection: Test of Microbial Contamination Using Capillary Electrophoresis. *Anal. Chem*. 79:1720-1724.
- Yeo SA, Wong B. 2002. Currents status in nonculture methods for diagnosis of invasive fungal infections. *Clin. Microbiol. Rev.* 15:465-484.

EVALUACIÓN DEL MEJORAMIENTO DE LAS PROPIEDADES DE UN SUELO AGRÍCOLA TRATADO CON LOMBRICOMPOSTAS DE ESTIÉRCOL Y BIOSÓLIDOS

Gabriela Ana Zanor^a, María Elena López-Pérez^a, Alma Serafín-Muñoz^b, Santiago Gutiérrez-Vargas^a, Fabiola León-Galván^a

^aDivisión de Ciencias de la Vida. Universidad de Guanajuato. Ex. Hacienda El Copal Km. 9 Carretera Irapuato-Silao; A.P. 311; C.P. 36500, gzanor@ugto.mx, me.lopezperez@ugto.mx, max_max_max_619@hotmail.com, ingfaby@yahoo.com.mx

^bDivisión de Ingenierías. Universidad de Guanajuato. Av. Juárez 77, Zona Centro; C.P. 36000, sermuah@yahoo.com

RESUMEN

El suelo es un producto biogeoquímico que desempeña funciones claves en los ecosistemas, tanto en la producción de biomasa, en la transformación de sustancias como en la atenuación de contaminantes. Recientemente, ha surgido la necesidad de desarrollar biofertilizantes para mejorar la calidad de los suelos afectados por los tóxicos generados debido al crecimiento de la población humana. Este estudio plantea el análisis de propiedades físicas y químicas de un suelo testigo (T) tratado con dos materiales lombricomposteados, estiércol bovino (LE) y lodo de biodigestor (LB), a fin de evaluar el mejoramiento de sus características (suelos SLE y SLB). Las metodologías utilizadas para los suelos y lombricompostas incluyeron parámetros físicos (%agua, textura, densidad aparente) y parámetros químicos (pH, carbono orgánico, materia orgánica, nitrógeno total, fósforo disponible, relación C/N) siguiendo las normas NOM-021-SEMARNAT-2000 para los suelos y la NMX-FF-109-SCFI-2007 para las lombricompostas. El suelo T presentó contenidos de agua de 9.7%, densidad aparente de 1.1 g/cm³, pH de 7.1, carbono orgánico de 4.4%, materia orgánica de 2.7%, nitrógeno de 0.05%, fósforo de 11.4 mg/kg y relación C/N de 94. Los resultados indicaron que, luego de los tratamientos orgánicos, SLE y SLB mejoraron todos sus parámetros químicos con respecto al suelo control, mientras que las propiedades físicas mostraron cambios menores. SLE y SLB aumentaron el contenido en materia orgánica en un 47% y en un 94%, y el de nitrógeno en un 140% y en un 380%, respectivamente. Ambas vermicompostas resultarían ser una alternativa viable para mejorar la productividad de los suelos para uso agrícola. Sin embargo, con LB se alcanzarían mejores resultados en los parámetros químicos en un tiempo más corto. La enmienda LB resultaría un inóculo adecuado para el suelo, que favorece la bioactividad de los microorganismos y permite lograr un equilibrio óptimo entre los procesos de descomposición, mineralización y humificación.

1. INTRODUCCIÓN

El suelo es un sistema dinámico desarrollando múltiples interacciones en la pedosfera. A pesar de la importancia del suelo como recurso ambiental y servicio de soporte, durante las últimas décadas el crecimiento de la población humana a través de los desechos y contaminantes generados, han ocasionado cambios significativos en la calidad de los suelos. Recientemente, tanto en el mundo como en México, ha crecido el desarrollo de biotecnologías tendientes a sanear el recurso suelo para revertir los daños ocasionados por la degradación de la cubierta edáfica. El uso de diversas enmiendas orgánicas (residuos de origen animal o vegetal, compostas, lodos orgánicos) aplicadas a los suelos se ha convertido en una alternativa sostenible que permite mejorar de manera rápida y económica las características físicas, químicas y biológicas del suelo, creando un medio adecuado para el crecimiento óptimo de los cultivos (por ejemplo, Ben Achiba et al., 2009; Asensio et al., 2013). Es por ello que este trabajo tiene como objetivo efectuar determinaciones físicas y químicas en un suelo control luego del tratamiento con enmiendas orgánicas (lombricomposta de lodo de biodigestor a partir de residuos hortícolas y lombricomposta de estiércol bovino) a fin de evaluar si se mejoran las condiciones de fertilidad del suelo y aumenta el potencial para su uso en actividades agrícolas.

2. TEORÍA

El suelo interactúa con todos los componentes de las esferas de la Tierra. En las últimas décadas, la interacción con el Hombre ha roto el equilibrio entre estos subsistemas, debido a su uso en la agricultura, en la industria, en la minería, en la ganadería, etc., ocasionando su degradación y contaminación. Lo anteriormente expuesto ha motivado a nivel mundial el desarrollo de alternativas viables que mejoren las características de los suelos. Una alternativa con creciente auge ha sido la utilización de residuos orgánicos con participación en el bioproceso de lombrices, para obtener productos de alto valor agronómico (por ej., Edwards y Bater, 1992). El abono que se obtiene es un material enriquecido, tanto física, química como biológicamente, por la actividad misma de las lombrices, y por la dinámica microbiana y bioquímica que se establece durante y después del proceso (Hernández Rodríguez, 2009). Según Aira y Domínguez (2011), las lombrices juegan un rol crítico en la descomposición de la materia orgánica, acelerando significativamente las tasas de descomposición y el reciclado de nutrientes. El vermicomposteo es una estrategia que permite aumentar la materia orgánica de los suelos, la biomasa microbiana y su actividad, y permite el aprovechamiento de diversos residuos orgánicos, dándole un valor fertilizante a los mismos.

3. PARTE EXPERIMENTAL

Preparación de las muestras y análisis de laboratorio

Dentro del campo experimental de la División de Ciencias de la Vida (DICIVA, Universidad de Guanajuato), se prepararon tres parcelas de cultivo de 2 m de ancho, 3 m de longitud y 0.40 m de profundidad. Todas las parcelas se rellenaron con suelo control o testigo (T) y sólo a dos parcelas (Parcelas 2 y 3) se le adicionaron compostas de humus de lombrices. A la parcela 2 se le añadió una cubierta de 5 cm de espesor de lombricomposta de estiércol bovino (muestra LE), constituyendo la muestra SLE. A la parcela 3 se le agregó otra cantidad similar de lombricomposta de residuos de biodigestor (muestra LB), conformando la muestra SLB. La lombricomposta de estiércol bovino fue proporcionada por la empresa Biogemex mientras que la lombricomposta elaborada con biosólidos de biodigestor fue desarrollada en el campo experimental de la DICIVA. Para su preparación se utilizaron los lodos de un biodigestor anaeróbico tubular que trabajó con diversos residuos hortícolas provenientes del mercado local. Los lodos del biodigestor fueron posteriormente composteados utilizando lombriz roja californiana (*Eisenia foetida*), siguiendo las especificaciones de la norma mexicana NOM-FF-109-SCFI-2007. Con posterioridad, las parcelas con suelo fueron utilizadas para la siembra de frijol pinto, siguiendo el crecimiento de dicho cultivo (resultados no reportados en este trabajo). Antes de la cosecha del cultivo, se procedió a tomar las muestras de suelo de las tres parcelas (suelos T, SLB Y SLE), obteniendo una muestra compuesta de 3 kg. Luego se procedió al secado de las muestras, molienda y tamizado con un tamiz de malla 10.

Las determinaciones de las características fisicoquímicas de los suelos y lombricompostas fueron llevadas a cabo en el Laboratorio de Tecnologías para la Sustentabilidad de la DICIVA, siguiendo la norma NOM-021-SEMARNAT-2000 para los suelos y la norma NOM-FF-109-SCFI-2007 para las lombricompostas. El contenido de agua se determinó mediante el método gravimétrico, la textura mediante la técnica Bouyoucos y para la determinación de la densidad aparente se siguió el método de la probeta. El valor de pH se obtuvo empleando el método potenciométrico, medido en agua en una relación 1:2. La cuantificación de los contenidos de carbono orgánico se obtuvo con la técnica Pérdida por Ignición. El contenido de materia orgánica se determinó mediante el método de combustión húmeda de Walkley y Black. Por su parte, la determinación de nitrógeno total se realizó siguiendo el método micro-Kjeldahl y el fósforo disponible fue determinado siguiendo el procedimiento de Olsen.

Resultados y Discusión

En la Tabla 1 se muestran los resultados de las propiedades físicas del suelo T, las lombricompostas LE y LB, y los suelos con tratamientos SLE y SLB.

Tabla 1. Propiedades físicas de las muestras de suelo y lombricompostas.

MUESTRA	H ₂ O (%)	TEXTURA	DA (g/cm ³)
T	9.70	Arcillosa	1.10
LE	11.12	Arcillosa	0.56
LB	10.76	Arcillosa	0.66
SLE	10.24	Arcillosa	1.10
SLB	10.48	Arcillosa	1.07

DA: densidad aparente

Los resultados indican que los contenidos de agua de los suelos y lombricompostas analizadas variaron entre 9.70 a 11.12%. Luego de la aplicación de enmiendas orgánicas, el suelo control aumentó levemente su contenido en agua, exhibiendo SLB una mayor humedad (10.48%) comparado con SLE (10.24%). El incremento en los contenidos de agua en los suelos enmendados puede ser debido a una mayor retención de agua resultado de los altos contenidos de materia orgánica y la creación de macro y microporos por la actividad de las lombrices. La clase textural de los suelos T, SLB y SLE resultó arcillosa, con porcentajes de arcilla muy elevados variando desde 56.80 (SLB) a 62.80% (T). En cuanto a la densidad aparente, las enmiendas orgánicas presentaron los valores más bajos (LE: 0.56 y LB: 0.66 g/cm³). SLB registró una leve disminución en la densidad aparente (1.07 g/cm³) con respecto al suelo T (1.10 g/cm³). La adición de abonos orgánicos hizo disminuir la densidad aparente en los suelos tratados, que sumado al predominio granulométrico de fracción arcillosa garantiza un producto de baja compactación y alta porosidad.

La Tabla 2 muestra los valores obtenidos de las determinaciones químicas del suelo T, las lombricompostas LE y LB, y los suelos con tratamientos SLE y SLB. Con respecto al pH, los suelos SLE y SLB adquirieron valores más alcalinos (7.61 y 7.60, respectivamente) luego del proceso de lombricomposteo en comparación con el suelo testigo (pH: 7.17). Según Durán y Henríquez (2007), los valores altos de pH en las lombricompostas pueden relacionarse con la secreción de carbonato de calcio en los procesos digestivos de las lombrices. Sin embargo, el descenso de los valores de pH en los suelos con respecto a sus correspondientes enmiendas, puede ser debido a la producción de ácidos orgánicos por parte de los microorganismos descomponedores del suelo (hongos y bacterias), que contrarrestan el incremento de alcalinidad en los mismos.

Tabla 2. Propiedades químicas de las muestras de suelo y lombricompostas.

MUESTRA	pH H ₂ O	CO (%)	MO (%)	N (%)	C/N	P (mg/kg)
T	7.17	4.44	2.74	0.05	94.49	11.39
LE	7.65	38.45	59.61	1.82	21.12	10.91
LB	8.66	24.31	49.78	1.45	16.79	8.37
SLE	7.61	5.30	4.03	0.12	44.60	13.41
SLB	7.60	6.51	5.33	0.24	27.68	11.85

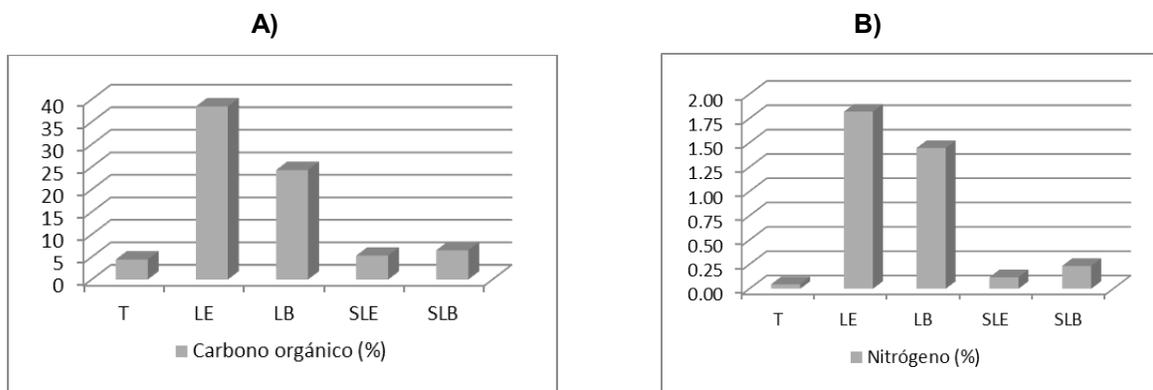
CO: carbono orgánico; MO: materia orgánica; N: nitrógeno; P: fósforo.

El manejo del suelo testigo con los dos residuos orgánicos (LE y LB) contribuyó a incrementar el carbono orgánico de la muestra T, con aumentos que van desde 19.37 (SLE) a 46.62% (SLB; Figura 1A). Asimismo, se evidenciaron grandes aumentos de materia orgánica en los suelos, para SLE un 47% y para SLB un 94%. Los mayores porcentajes de carbono orgánico y materia orgánica de SLB se relacionarían con una mejor integración entre el sustrato orgánico y los microorganismos contribuyendo a una buena humificación de la materia orgánica. Considerando que en los suelos la clase textural corresponde a la arcilla aunada a las elevadas concentraciones de materia orgánica presentes, se esperaría un buen desarrollo de complejos arcillo-húmicos en los suelos. Las partículas del complejo arcillo-húmico se unen entre sí mediante cationes bivalentes

o el mucus segregado por las lombrices que actúa como cementante, dando lugar a la formación de micro y macro-agregados en el suelo, favoreciendo una buena estructuración, aireación e infiltración.

En cuanto al nitrógeno, se observó un incremento significativo en las concentraciones de este macronutriente en los suelos luego de la aplicación de abonos orgánicos (Figura 1B), debido a que los materiales orgánicos utilizados y particularmente el estiércol, son ricos en este elemento. Se evidenciaron incrementos del 140% para SLE y del 380% para SLB. Respecto al fósforo, los dos suelos con enmiendas mejoraron sus contenidos, aumentando SLB un 4.04% y SLE un 17.73%.

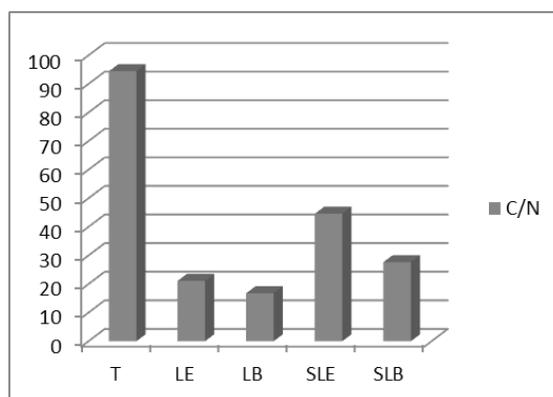
Figura 1. A) y B) Contenidos de carbono orgánico (%) y nitrógeno total (%) en las muestras de suelo y lombricompostas.



La concentración más baja en fósforo de LB (8.37 mg/kg) en comparación con LE (10.91 mg/kg) podría deberse a que la primera se caracteriza por un pH fuertemente alcalino (8.66), lo que ocasionaría una disminución en la solubilidad del nutriente (Porta et al., 2010).

La relación C/N es un parámetro que sirve para describir la mineralización y humificación de la materia orgánica del suelo (Lindbo et al., 2012). El suelo T fue el que mostró una relación mayor (94), debido al bajo contenido en nitrógeno total de este suelo (Figura 2).

Figura 2. Relación C/N para las muestras de suelo y lombricompostas.



Este valor alto de C/N indica un proceso de descomposición lento que requeriría de nitrógeno adicional para acelerar el proceso de desintegración y una posible competencia del nitrógeno orgánico por los microorganismos y el cultivo del suelo (Hernández Rodríguez et al., 2009). Por su parte, la vermicomposta de lodo de biodigestor evidenció una relación C/N de 17 y la de estiércol de 21, valores indicativos de un compost debidamente estabilizado (ver Figura 2). El tratamiento del suelo control con las lombricompostas LB y LE permitió un descenso importante de la relación C/N en los suelos (T: 94; SLE: 45; SLB: 28), alcanzando un valor menor el suelo SLB. En particular, el suelo enmendado con LE continuó con una relación C/N muy alta (45), lo que reflejaría grandes proporciones de materiales recalcitrantes (hemicelulosa y lignina) que provienen de la dieta del ganado bovino, permaneciendo en buenas cantidades en la materia prima utilizada (Durán y Henríquez, 2007).

4. CONCLUSIONES

- Las propiedades fisicoquímicas en las vermicompostas y suelos mostraron una gran variabilidad, con mayores cambios en las propiedades químicas y en menor medida, en las propiedades físicas.
- Todas las propiedades químicas analizadas en los suelos enmendados (carbono orgánico, la materia orgánica, el nitrógeno y el fósforo) incrementaron significativamente sus valores luego del tratamiento de los suelos con ambas vermicompostas.
- Las propiedades físicas (contenido de agua y densidad aparente) mostraron pequeños cambios luego de los tratamientos orgánicos.
- Las propiedades físicas resultarían más difíciles de corregir en el corto plazo en comparación con las propiedades químicas, por lo que para evidenciar cambios considerables se debería extender el tiempo de interacción lombricomposta-suelo.
- Al aplicar los dos abonos orgánicos, el suelo control mejora más su relación C/N con la lombricomposta de lodos, disminuyendo significativamente su relación C/N.
- El vermicomposteo resulta ser una alternativa viable para mejorar la fertilidad de los suelos para uso agrícola, en especial en suelos sometidos a climas áridos, semiáridos o sub-húmedos o con efectos de degradación, problemas crecientes en muchas áreas de El Bajío Guanajuatense.

BIBLIOGRAFÍA

1. M. Aira, J. Dominguez, "Earthworm Effects without Earthworms: Inoculation of Raw Organic Matter with Worm-Worked Substrates Alters Microbial Community Functioning", *PLoS ONE*, 6, 2011, pp. 1-8.
2. V. Asensio, F.A., Vega, R. Bam Singh, E.F. Covelo, "Effects of tree vegetation and waste amendments on the fractionation of Cr, Cu, Ni, Pb and Zn in polluted mine soils", *Science of the Total Environment*, Vol. 443, 2013, pp. 446-453.
3. W. Ben Achiba, N. Gabteni, A. Lakhdar y J. Du Laing, M. Verloo, N. Jedidi, T.Gallali, "Effects of 5-year application of municipal solid waste compost on the distribution and mobility of heavy metals in a Tunisian calcareous soil", *Agriculture, Ecosystems and Environment*, Vol. 130, 2009, pp. 156-163.
4. L. Durán, C. Henríquez, "Caracterización química, física y microbiológica de vermicompostes producidos a partir de cinco sustratos orgánicos", *Agronomía Costarricense*, Vol 31, 2007, pp. 41-51.
5. C. Edwards, J. Bater, "The use of earthworms in environmental management", *Soil Biology and Biochemistry*, 24, 1992, pp. 1683-1689.

6. A. Hernández Rodríguez, D. Ojeda Barrios, C. Vences Contreras y C. Chávez González, "Situación actual del recurso suelo y la incorporación de abonos orgánicos como estrategia de conservación", *Aventuras del pensamiento*, 2009, pp. 1-6.
7. D. Lindbo, J. Havlin, D. Kozlowski, C. Robinson, "Know Soil, Know Life", in *Know Soil, Know Life* (Soil Science Society of America, USA, 2012), Chapter 1, pp. 1-13.
8. SCFI NMX-FF-109-SCFI-2007, "Humus de Lombriz (lombricomposta) - Especificaciones y Métodos de prueba", *Diario Oficial de la Federación (DOF)*, 20 de Marzo de 2007.
9. SEMARNAT, "Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000", Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, *Diario Oficial de la Federación (DOF)*, martes 31 de diciembre de 2002.

Comparación de la tasa de propagación *in vitro* y *ex vitro* de la especie endémica de Michoacán, *Echeveria purhepecha*

C. Ayala-González^a, E. N. Obledo-Vázquez^b,

^aEstudiante de Posgrado, Doctorado en Ciencia y Tecnología Programa Interinstitucional en Ciencia y Tecnología, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, cynthiaayala@hotmail.com

^bUnidad de Biotecnología Vegetal Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C., nobleddo@ciatej.mx

RESUMEN

Echeveria purhepecha es una especie vegetal endémica del estado de Michoacán, México. Fue descrita en el año 2011 y no se ha determinado, hasta la fecha, el estado de conservación de sus poblaciones silvestres. Por observaciones hechas en campo, se ha considerado como una especie en posible situación de vulnerabilidad ocasionada, principalmente, por el cambio de uso de suelo en su hábitat natural. Ante esta situación, es apremiante buscar herramientas que faciliten su conservación. El cultivo *in vitro* de especies vegetales es una herramienta que se ha utilizado en la conservación de especies en alguna categoría de riesgo. Esto ocurre sobre todo en especies cuya propagación sexual se torna difícil o cuya tasa de propagación vegetativa es baja. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue propagar *in vitro* y *ex vitro* la especie y comparar la cantidad de individuos propagados. Para ello, se propagó *E. purhepecha in vitro* y *ex vitro* a partir de tallos y de hojas. Para el cultivo *in vitro* se utilizaron sales MS, vitaminas MS, 30g/l de sacarosa, 4 mg/l de 6-Bencilamino purina, 0.2 mg/l de Ácido Indolacético y 8g/l de agar. Los cultivos se mantuvieron a 23°C con un fotoperíodo de 16 horas de luz. Para el cultivo *ex vitro* se utilizó como sustrato musgo canadiense y tepojal 1:1. Los esquejes fueron tratados con el enraizador Clonex® y se mantuvieron bajo condiciones de invernadero. La tasa de propagación de las plantas bajo condiciones de cultivo *in vitro* fue mayor respecto a las propagadas *ex vitro*. Por lo tanto, se concluye que para la propagación de *E. purhepecha* a partir de hoja y tallo, la herramienta de cultivo *in vitro* es más eficiente que la propagación *ex vitro*.

1. INTRODUCCIÓN

El cultivo *in vitro* de especies vegetales consiste en el establecimiento de material vegetal (tejido, semillas, células, embriones, meristemos, etc.) en medios de cultivos sintéticos dentro de contenedores estériles y aislados de elementos contaminantes creciendo bajo condiciones ambientales controladas. Entre las ventajas de este tipo de cultivo, encontramos que los ejemplares pueden permanecer libres de patógenos y que en el medio de cultivo se pueden incorporar reguladores de crecimiento que promueven la propagación vegetativa los cuales pueden acelerar la tasa de propagación en comparación con las condiciones bajo los cultivos tradicionales *ex vitro*. Los objetivos del presente trabajo de investigación fueron: desarrollar un protocolo de propagación vegetativa *in vitro* por organogénesis directa mediante el empleo de los reguladores de crecimiento 6-Bencilamino purina y Ácido Indolacético y determinar si la propagación vegetativa *in vitro* presenta ventajas sobre la propagación vegetativa *ex vitro*.

2. TEORÍA

La familia Crassulaceae presenta una distribución cosmopolita, presentando una mayor diversidad de especies en Asia Central, Sudáfrica, la región del Mediterráneo y México (Reyes-Santiago, 2009). A esta familia pertenecen plantas suculentas ampliamente cultivadas como ornamentales debido a su arreglo foliar en forma de rosetas coloridas (Carrillo-Reyes *et al.*, 2009). Está integrada por unos 30 géneros y cerca de 1,400 especies (Carrillo-Reyes *et al.*, 2009; Reyes-Santiago, 2009) las cuales distribuyen en condiciones de clima semiárido y presentan adaptaciones a crecimiento en superficies rocosas (Byalt, 2011). Además de su uso ornamental, algunas especies de la familia han sido empleadas en la medicina tradicional. Entre las propiedades de las especies de esta familia se ha reportado que presentan propiedades antivirales (Berezin *et al.*, 2002), antihiperlipidémicas (Kamgang *et al.*, 2008) y espermicidas (Delgado *et al.*, 1999).

En México se han reportado entre 330 (Carrillo-Reyes *et al.*, 2009) y 350 especies (Reyes-Santiago, 2009) de crasuláceas, entre las que destacan los géneros *Echeveria*, *Pachyphytum*, *Graptopetalum* y *Sedum* (Carrillo-Reyes, 2009; Reyes-Santiago, 2009). 18 especies de crasuláceas presentes en México se encuentran en categoría de protección de acuerdo a la legislación ambiental mexicana en la NOM-059-SEMARNAT (SEMARNAT, 2011). De estas 18 especies, 12 son representantes del Género *Echeveria* del cual México es considerado como su centro de diversificación y endemismo. De las 140 especies del género *Echeveria* que se han descrito a nivel mundial, 95% se encuentran en México (Vázquez-García *et al.*, 2013) y constantemente se están describiendo nuevas especies cuyas poblaciones se encuentran en riesgo aun cuando no han sido incorporadas a la legislación ambiental mexicana. Ejemplo de ello son las especies *Echeveria cerrograndensis* (Nieves-Hernández, *et al.*, 2014) *Echeveria yalmanantlanensis* (Vázquez-García *et al.*, 2013), *Echeveria novogaliciana* (Reyes-Santiago *et al.*, 2011) y *Echeveria purhepecha* (García-Ruíz, 2011).

Echeveria purhepecha (Crassulaceae) fue descubierta para la ciencia en el año 2011 (García-Ruíz, 2011) y colectada en el Parque Nacional Pico de Tancitaro al norte del poblado de Nuevo San Juan Parangaricutiro a una altitud de 1900 msnm y dentro de un bosque de encino-pino, creciendo sobre rocas de origen volcánico y ocasionalmente como epífita sobre individuos de *Quercus* spp. (García-Ruíz, 2011). Debido a que *E. purhepecha* es una especie recientemente descrita, se desconoce la situación de sus poblaciones silvestres, pero, por observaciones hechas en campo por su descriptor (García-Ruiz, comunicación personal), probablemente se encuentre en alguna situación de riesgo ya que su distribución parece ser limitada.

La biotecnología vegetal constituye una herramienta para complementar las acciones enfocadas a la conservación *ex situ* de especies vegetales, sobre todo de aquellas que están en peligro de extinción (Fay, 1992; Sarasan *et al.*, 2006; Barnicoat *et al.*, 2010). Estas técnicas resultan de mayor importancia sobre todo cuando el material vegetal disponible bajo condiciones ambientales es escaso o las tasas de propagación vegetativa o sexual son bajas (Kitamura *et al.*, 2002). Es por esto, que en jardines botánicos se cuenta con laboratorios de biotecnología vegetal para la propagación y conservación de especies vegetales (Fay, 1992). En el laboratorio de la Unidad de Biotecnología Vegetal del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, se ha trabajado en los últimos años con la especie *Echeveria purhepecha* realizando estudios enfocados en la propagación de esta especie. De estudios previos realizados, en este laboratorio, con distintos reguladores de crecimiento, se logró determinar los tipos de reguladores de crecimiento potenciales para la promoción de la organogénesis directa en la especie.

Sin embargo, se requería determinar si el establecimiento *in vitro* presentaba ventajas sobre el establecimiento *ex vitro*.

Al ser *Echeveria purhepecha* una especie endémica descubierta recientemente y cuyo hábitat natural está expuesto a amenazas por cambio de uso de suelo, su propagación y conservación es apremiante desarrollar un método de propagación vegetativa *in vitro* que promueva su propagación por organogénesis directa.

3. PARTE EXPERIMENTAL

Se utilizaron explantes de hoja y tallo de ejemplares adultos de *E. purhepecha*, procedentes de semillas bajo condiciones de cultivo *in vitro* y *ex vitro*.

El establecimiento de hojas y tallos bajo condiciones *in vitro* se realizó mediante la desinfección del material vegetal de acuerdo al método descrito por Verastegui (2009) y Ramírez-Portilla (2012). Se utilizaron rosetas de *E. purhepecha* las cuales se lavaron con jabón líquido (AXION®) y se enjuagaron con agua corriente. Posteriormente, en condiciones de asepsia, dentro de una campana de flujo laminar, las rosetas fueron sumergidas (sin raíces) en etanol al 80% durante 90 segundos en agitación constante utilizando un agitador magnético, en seguida el material fue enjuagado con agua estéril durante 5 minutos para retirar el exceso de alcohol y las rosetas fueron sumergidas en una solución de hipoclorito de sodio comercial al 25% (Cloralex®) con dos gotas de Tween 20 por cada 100 ml de solución y 8 gotas de Microdyn® por cada litro de agua. Los explantes se mantuvieron en agitación constante durante 25 minutos, y posteriormente se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril (2 minutos por enjuague) para eliminar el hipoclorito de sodio. Los explantes desinfectados se sembraron en medio de cultivo con sales MS (SIGMA), vitaminas MS (SIGMA), 30g/l de sacarosa, 4 mg/l de 6-Bencilamino purina, 0.2 mg/l de Ácido Indolacético y 8g/l de agar. Los cultivos se mantuvieron a 23°C con un fotoperiodo de 16 horas de luz. El tratamiento fue realizado presentando 8 réplicas.

El establecimiento *ex vitro* se realizó mediante el corte de esquejes de tallo con hojas de *E. purhepecha* y hojas obtenidas de ejemplares adultos originalmente provenientes de semilla. Tanto los tallos como las hojas fueron retirados de la planta adulta e inmediatamente después del corte, la herida de los esquejes fue tratada con enraizador Clonex® y los esquejes fueron sembrados en sustrato previamente esterilizado y constituido por musgo canadiense y tepojal (1:1), los esquejes fueron mantenidos bajo condiciones de invernadero aplicando durante las dos primeras semanas dos riegos semanales.

Tanto para el cultivo *in vitro* como para el cultivo *ex vitro* se hicieron mediciones semanales durante 30 días después de haber realizado la siembra. Se registró la presencia de raíz, la longitud de la raíz más larga, la presencia de brotes y la cantidad de brotes.

Propagación *in vitro* hojas

Se desarrolló un protocolo de propagación *in vitro* eficiente para la especie *E. purhepecha*. Los explantes de hoja desarrollaron explantes a partir de los 27 días de cultivo. Las hojas presentaron zonas de crecimiento múltiple en donde varias yemas foliares pudieron ser observadas en cada zona. El método de desinfección resultó agresivo para los tejidos. Al respecto podemos mencionar que las hojas soportan mejor la manipulación a diferencia que los tallos, ya que en todos los tallos se observó oxidación de tejidos a diferencia de las hojas, además se observa un menor porcentaje

de contaminación en las hojas *in vitro* (ver Tabla 1) en comparación con los tallos. El método de desinfección resultó agresivo para hojas pequeñas y delgadas las cuales se oxidaron y no sobrevivieron, en su mayoría, al tratamiento de desinfección. Para el caso específico de esta especie, y a diferencia de lo reportado para la especie *Echeveria laui* (Verastegui *et al.*, 2009), las mejores hojas resultaron las hojas más grandes, las cuales comúnmente pueden ser las hojas de ubicación más basal en el tallo de la planta. En ninguno de los casos, se pudo apreciar el desarrollo de callo. La ausencia de callo es una condición considerada como favorable para la conservación de especies silvestres ya que se evita la variación somaclonal. Al comparar los datos con la propagación *ex vitro* de hojas se observó que la propagación *in vitro* es más eficiente que la *ex vitro*. La respuesta *in vitro* resultó más rápida que la respuesta *ex vitro* ya que se observaron la aparición de yemas foliares a partir de los 17 días en caso de los tallos y 27 en caso de las hojas establecidas *in vitro* a diferencia de los 30 días que se requirieron en los tallos *ex vitro*. Con base al ANOVA, se encontró que el tratamiento *in vitro* en esquejes de hojas presentó una influencia altamente significativa sobre los puntos múltiples de crecimiento a diferencia del cultivo *ex vitro*. Presentando un valor de $P=0.000$. La prueba de rangos múltiples mostró que el tratamiento esquejes de hoja *in vitro* fue distinto al *ex vitro* con una media de 2 puntos de crecimiento múltiple a diferencia de 0 puntos de crecimiento múltiple en el cultivo *ex vitro* a los 17 días de cultivo (ver Fig. 1).

Propagación *ex vitro* hojas

Durante el periodo de observación de 30 días, las explantes de hoja *ex vitro*, no presentaron ningún tipo de respuesta, no se logró observar desarrollo de hojas o raíces a lo largo del experimento (ver Fig. 1).

Propagación *in vitro* tallos

Los tallos *in vitro* respondieron rápidamente al tratamiento presentando desarrollo de yemas a partir de los 17 días. Sin embargo, la totalidad de los tallos presentaron oxidación y presentaron un mayor porcentaje de contaminación que los explantes de hojas *in vitro* (ver Tabla 1). En caso de que los tallos sobrevivan al proceso de oxidación seguramente producirán una mayor cantidad de yemas foliares. Sin embargo, la manipulación resulta más complicada que la de hojas, ya que el 21% de los tallos presentaron contaminación a diferencia de las hojas, al igual el 100% de los tallos presentaron oxidación a diferencia de un 18% de oxidación en las hojas.

Al comparar la producción de yemas foliares entre los tallos *in vitro* sobre los tallos *ex vitro*, obtuvimos resultados similares a los encontrados en las hojas. Con base al ANOVA se encontró que el tratamiento *in vitro* en esquejes de tallo presentó una influencia altamente significativa sobre los puntos múltiples de crecimiento a diferencia del cultivo *ex vitro*; presentando un valor de $P=0.00$. ($P=0.0503$) La prueba de rangos múltiple mostró que el tratamiento esquejes de tallo *in vitro* fue distinto al *ex vitro* con una media de 1.6 puntos de crecimiento múltiple a diferencia de 0 puntos de crecimiento múltiple para el tratamiento de esquejes de tallo *ex vitro* (ver Fig. 1).

Propagación *ex vitro* tallo

Para el caso de los esquejes de tallo *ex vitro* se observó la aparición de raíces a partir de los 15 días y se pudieron observar pequeñas yemas foliares a partir de los 30 días, a diferencia del cultivo *in vitro*, cuyos brotes pudieron observarse a partir de los 17 días en el caso de los tallos. Los esquejes de tallo *ex vitro*, presentaron a los 30 días zonas de crecimiento único en donde se observó una yema por zona de crecimiento.

La velocidad de propagación *in vitro* de *E. purhepecha* fue mayor que la reportada para otras crasuláceas como *Echeveria laui* (Verastegui et al., 2009) y *Graptopetalum amethystinum* (Ramírez-Portilla, 2012) y menor que la reportada para *Kalanchoe tomentosa* (Khan et al., 2006).

Tabla1. Porcentajes de contaminación y oxidación presentadas *in vitro*

Tipo de explante y tratamiento	Porcentaje oxidación	Porcentaje contaminación
Hojas <i>in vitro</i>	18%	8%
Tallos <i>in vitro</i>	100%	21%

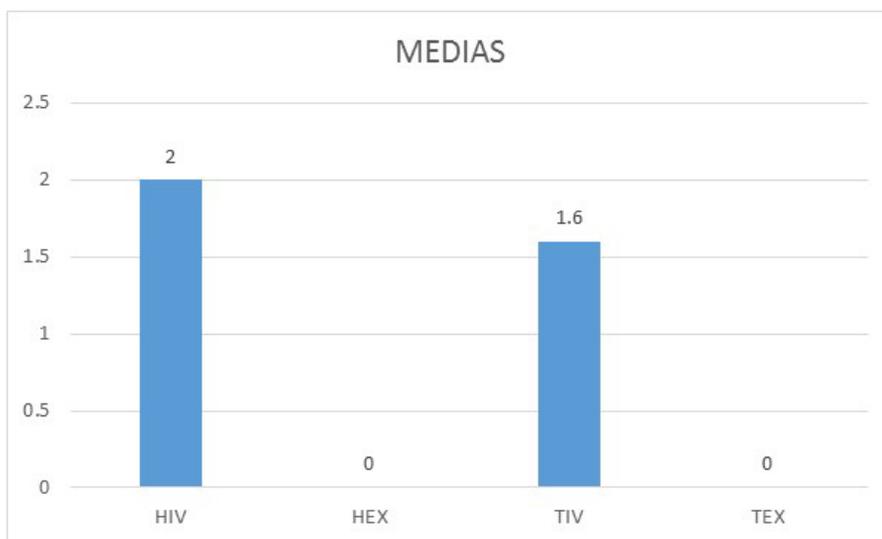


Fig.1 Comparación de las medias con respecto a las zonas de crecimiento múltiple. HIV=Hojas *in vitro*, HEX =Hojas ex vitro, TIV= Tallos *in vitro*, TEX= Tallos ex vitro

El método de propagación *in vitro* desarrollado en el presente trabajo es idóneo para la conservación de la especie ya que no presenta la formación de callo lo cual evita la variación somaclonal y es un requisito deseado en los proyectos de conservación de especies silvestres.

4. CONCLUSIONES

De este trabajo, se concluye que el cultivo *in vitro* para *E. purhepecha* es más eficiente que el cultivo *ex vitro*

A diferencia de otras especies del género, para esta especie es mejor emplear las hojas más grandes para su establecimiento *in vitro* ya que resisten mejor a la manipulación por desinfección. Los mejores explantes para el establecimiento *in vitro* resultaron las hojas.

El empleo de los reguladores de crecimiento: 6-Bencilaminopurina y Ácido Indolacético (concentraciones 4 mg/l y 0.2 mg/l respectivamente) indujo organogénesis directa de *E. purhepecha*.

BIBLIOGRAFÍA

1. H. Barnicoat, R. Cripps, J. Kendon, V. Sarasan, "Conservation in vitro of rare and threatened ferns –case studies of biodiversity hotspot and island species", *In Vitro Cell.Dev.Biol. –Plant*, Vol. 47, 2011, 37-45.
2. V.E. Berezin, A. P. Bogoyavlenskii, V. P. Tolmacheva, D. Y. Korul'KIN D. Y., S. S. Khudyakova, S. V. Levandovskaya, "Antiviral activity of preparations from herbs of the Crassulaceae family", *Pharm. Chem. J.*, Vol 36, 10, 2002, 546-547. 2002.
3. P. Carrillo-Reyes, V. Sosa, M. E. Mort, "Molecular phylogeny of the Acre clade (Crassulaceae): Dealing with the lack of definitions for *Echeveria* and *Sedum*", *Molecul. Phylogenet. Evol.*, Vol 53, 2009, 267-276.
4. N. M. Delgado, J. Taboada, A. Ortega A., H. Merchant-Larios, M. L. Sánchez Vázquez G. Ramírez, R. Reyes, "Effects of a purified fraction from *Echeveria gibbiflora* aqueous crude extract on guinea-pig spermatozoa", *Phytother. Res.*, Vol. 12, 1999, 46-49.
5. M. F. Fay, "Conservation of rare and endangered plants using in vitro methods", *In Vitro Cell. Dev. B-Pl.*, Vol. 28, 1, 1992, 1-4.
6. I. García-Ruiz, "Nueva especie de *Echeveria* (Crassulaceae) del centro-occidente de Michoacán, México", *Rev. Mex. Biodivers.*, Vol. 82, 2001, 63-67.
7. R. Kamgang, R. Y. Mboumi, A. F. Fondjo, M. A. F. Tagne, G. P. R. N'dillé, J. N. Yonkeu, "Antihyperglycaemic potential of the water-ethanol extract of *Kalanchoe crenata* (Crassulaceae)", *J. Nat. Med.*, Vol 63, 2008, 34-40.
8. S. Khan, S. Naz, K. Alli, S. Zaidi, "Direct organogenesis of *Kalanchoe tomentosa* (Crassulaceae) from shoot-tips", *Pak. J. Bot.*, 38, 4, 2006, 977-981.
9. Y. Kitamura, K. Kubo, L. u. Rahman, T. Ikenaga, "Reproduction of *Sedum drymarioides*, an Endangered Rare Species, by Micropropagation", *Plant Biotechnol.*, 19, 5, 2002, 303-309

10. J. Reyes-Santiago, C. Gomez-Lozano, E. Sanchez-Martinez. A. E. Molina-Marquez, R. Romero-Aparicio, S. Sarabia-Hernandez, M. P. Contreras-Garcia, D. E. Perez-Torres, S. Galvan, J. A. Mendoza-Gutierrez, "Conservación y restauración de cactáceas y otras plantas suculentas mexicanas". Manual Práctico; 2009.
11. J. Reyes-Santiago, I.C. Brachet, O. González-Solorzano, "*Echeveria novogaliciana*, una nueva especie de la familia Crassulaceae para los estados de Aguascalientes y Jalisco, México", *Cact. Suc. Mex.*, Vol.56, 3, 2011, 82-95.
12. G. Nieves-Hernández, J. A. Vázquez-García, M. A. Muñoz-Castro, M. Cházaro-Basáñez, "*Echeveria cerrograndensis* (Crassulaceae) a new species from Eastern calcareous Sierra de Manantlán, Colima, Mexico", *Phytotaxa*, Vol. 172, 3, 2014, 247-255.
13. M. S. Ramírez-Portilla, "Protocolo de propagación *in vitro* para *Graptopetalum amethystinum* (Rose) E. Walther (CRASSULACEAE)", Tesis en Licenciatura en Biología, Universidad Veracruzana, México, 2012, 32 p.
14. W. Sarasan, R. Cripps, M. M. Ramsay, C. Atherton, M. McMichen, G. Prendergast, J. K. Rowntree, "Conservation in vitro of threatened plants –progress in the past decade", *In Vitro Cell. Dev. Biol.–Plant*, Vol. 42, 2006, 206-214.
15. J. A. Vázquez-García, D. Jimeno-S., R. Cuevas-G, M. Cházaro-B., M. A. Muñoz-Castro, "*Echeveria yalmanantlanensis* (Crassulaceae): A new species from Cerro Grande, Sierra de Manantlán, western Mexico", *Brittonia* Vol. 65, 3, 2013, 273-279.
16. M. A. Verastegui, "Establecimiento de métodos de propagación vegetativa in vivo E in vitro de *Echeveria laui* (CRASSULACEAE)", Tesis en licenciatura en Biología, Facultad de Estudios Superiores de Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México, Tlalnepantla, Estado de México, 2009, 65 p.

RIESGOS DEL USO DE VERDE DE MALAQUITA EN LA ACUACULTURA UN PANORAMA ACTUAL

^aGonzález-Rentería, Mariela; Cortez -García, Araceli, Bustamante-González, Jesús Dámaso y Rodríguez-Gutiérrez, Martha.

Universidad Autónoma Metropolitana – Xochimilco, Laboratorio de Genética, Reproducción y sanidad acuícola. Departamento el Hombre y su Ambiente. ^a biomarielagonzalez@gmail.com

RESUMEN

Introducción. En la actualidad gran cantidad de productos químicos y farmacéuticos son producidos y usados en grandes volúmenes en la acuicultura a nivel mundial. Entre los protocolos para combatir las enfermedades, se incluyen fármacos veterinarios y químicos como son el verde de malaquita, formalina, peróxido de hidrogeno, solución de yodo, azul de metileno, ozono e hipoclorito de sodio entre otras muchas (Chambel *et al.*, 2014) que lamentablemente en algunos países son legales y de uso regular. Sin embargo, existe gran variedad de literatura científica que ha confirmado que el verde de malaquita es un carcinógeno potencial, con propiedades teratogénicas y mutagénicas. **Material y métodos:** Se realizó una búsqueda bibliográfica extensiva, en dos bases de datos: Science direct y Scopus usando la plataforma en línea de la Biblioteca: Ramón Villareal Pérez de la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, de los últimos 15 años. **Resultados:** De las dos bases de datos analizadas, Science direct fue la que más resultados arrojó con respecto a las categorías. Estos resultados hacen evidente que en los últimos 5 años, se ha elevado el número de artículos publicados en torno al uso del verde de malaquita en la acuicultura, en cuanto a sus riesgos y efectos entre los que destacan, carcinogénesis, teratogénesis, mutagénesis, daño orgánico y daños ambientales que implican contaminación y resistencia bacteriana. Se concluye con este análisis que es necesario abrir nuevas líneas investigación enfocada al control y detección de este compuesto con fines de regulación en la acuicultura y que hay un buen número de países como Chile, Inglaterra y Estado Unidos en que su uso está prohibido.

Palabras clave: Verde de Malaquita, Acuicultura, Riesgos, Efectos.

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, gran cantidad de productos químicos y farmacéuticos son producidos y usados en grandes volúmenes en la acuicultura a nivel mundial; ya que en ésta industria uno de sus principales problemas son las enfermedades que involucran elevados costos y manejo (Subasinghe, 2009). Por ejemplo, el daño ocasionado por hongos en los huevos de los peces es en promedio del orden del 20% de la producción pudiendo llegar hasta un 40% (Forneris *et al.*, 2003).

Razón por la que algunos protocolos para la desinfección de huevos de peces y de tratamientos para combatir las enfermedades de origen fúngico y bacteriano, incluyen soluciones o fármacos veterinarios como el verde de malaquita, la formalina, el peróxido de hidrogeno, solución de yodo, azul de metileno, ozono e hipoclorito de sodio entre otras muchas (Chambel *et al.*, 2014) y que, en algunos países como México, son legales y de uso regular.

El verde de malaquita es usado extensivamente en la industria de la acuicultura desde 1933 para el tratamiento de problemas causados por protozoarios y hongos (Bergwerff y Scherpenisse, 2003; Srivastava *et al.*, 2004). Sin embargo, existe gran variedad de literatura que ha confirmado que el verde de malaquita es un carcinogénico potencial, teratogénico y mutagénico; por ello, ha sido prohibido por la FDA (Food and Drug Administration) para su uso en Estados Unidos, Canadá, la Unión Europea y algunos otros países como Inglaterra y Chile (Eissa *et al.*, 2013).

2. MATERIAL Y METODOS

2.1 Investigación bibliográfica y recuperación

El estudio incluye la búsqueda extensiva en dos bases de datos: Science direct y Scopus usando una plataforma en línea de la Biblioteca Ramón Villareal Pérez perteneciente a la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco de los últimos 15 años. Cada base de datos fue sometida al escrutinio de artículos concernientes al verde de malaquita principalmente en tres categorías, 1) verde de malaquita en la acuicultura, 2) riesgos del verde de malaquita en la acuicultura y 3) efectos del verde de malaquita en la acuicultura.

2.2 Criterios de inclusión y exclusión

Los artículos recuperados se limitaron a aquellas publicaciones que cumplieron con las categorías antes mencionadas, en la que los artículos trataban temáticas dirigidas a la evaluación de los efectos en la salud humana y animal, estudios experimentales en animales o *in vitro*, artículos de revisión y casos clínicos y de revistas indexadas, publicados entre el 2000 al 2015.

2.3 Estrategias de búsqueda

Tabla 1. Cuadro explicativo de las estrategias de búsqueda de información.

Base de datos	Tipo de búsqueda	Categoría
Science Direct	Concepto	Green malachite in aquaculture
Scopus		Risks of green malachite in aquaculture
		Effects of green malachite in aquaculture

Lugar de la publicación u origen Todo el mundo

Límites 2000-2015

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las tres categorías se localizó una mayor cantidad relacionados al verde de malaquita en la acuicultura seguido de los efectos y riesgos. De las dos bases de datos analizadas, Science direct fue la que más resultados aportó (Tabla 2).

Tabla 2. Resultados de búsqueda en las bases de datos de acuerdo a las tres categorías.

Clave	Categorías	Resultados Science Direct	Resultados Scopus
1	Green malachite in aquaculture	447	91
2	Risks of green malachite in aquaculture	194	11
3	Effects of green malachite in aquaculture	421	35

Estos resultados hacen evidente que en los últimos 5 años, se ha elevado el número de artículos publicados en torno al uso del verde de malaquita en la acuicultura, sus riesgos y efectos.

Scopus				
Categorías				
Año		1	2	3
2015	3		1	-
2014	<u>12</u>	<u>3</u>	<u>5</u>	
2013	12	1	4	
2012	11	1	3	
2011	11	<u>3</u>	4	
2010	5	-	1	
2009	5	-	2	
2008	3	-	1	
2007	5	-	3	
2006	3	-	1	
2005	7	-	3	
2004	3	1	2	
2003	2	-	1	

2002	1	-	1
2001	5	1	3
2000	3	-	1

Tabla 3. Resultados de artículos publicados en el periodo 2000-2015 de acuerdo a las tres categorías.

Science Direct			
Categorías			
Año	1	2	3
2015	28	9	25
2014	59	21	55
2013	54	23	53
2012	51	27	49
2011	41	18	37
2010	33	12	31
2009	34	14	32
2008	34	15	31
2007	22	11	21
2006	20	8	19
2005	11	6	10
2004	15	6	14
2003	18	12	17
2002	7	4	7
2001	6	3	6
2000	14	5	14

De acuerdo con el análisis de la información, los principales riesgos y efectos a la salud reportados son: carcinogénesis, teratogénesis, toxicidad respiratoria, mutagénesis, incremento en la formación de tumores, daño orgánico; en ratas se ha hallado adenoma en tiroides, adenomas hepatocelulares, carcinomas en glándulas mamarias.

De acuerdo con algunos autores como Nebot *et al.* (2013), Zhang *et al.* (2012), Srivastava *et al.*, (2004) al verde de maquita se le ha clasificado como altamente citotóxico en bacterias y células de mamíferos *in vitro* mediante la reducción de la capacidad de proliferación y menoscabar la actividad mitocondrial, efectos en los parámetros hematológicos, incrementos en los valores de hematocrito, anemia entre otros.

Entre los riesgos y efectos ambientales se ha reportado: contaminación ambiental a través de los residuos evacuados al ambiente, vía aguas residuales y el potencial de estimular la creciente resistencia microbiana en ambientes acuáticos (Canada-Canada *et al.*, 2009).

Los países con restricciones y prohibiciones con respecto al uso del fármaco en producción de peces de alimento de acuerdo a lo revisado son: Estados Unidos desde 1981, Canadá, Unión Europea, 2000, China, Chile, 2002, Japón, 2003.

Aunque en países como México, la prohibición no es clara puesto que no existe ninguna restricción o normatividad sobre ello, se continúa utilizando y se puede encontrar en cualquier tienda de productos de acuario, en donde se vende sin información adicional sobre los riesgos de su uso

además que es un producto de bajo costo, alta disponibilidad y eficacia. No obstante en los países que tienen regulaciones también se se utiliza de manera ilegal, teniendo efectos negativos en la salud pública y ambiental (Zhang, 2012).

Esta revisión permitió mostrar información publicada en los últimos 15 años en torno al tema que presenta un panorama poco grato acerca del uso de este fármaco en la acuicultura.

Hay suficiente evidencia de muestran que los fármacos que se utilizan en la acuicultura no son del todo inocuos y que necesitan ser controlados, se recomienda ampliar la búsqueda no solo al uso y efectos del verde de malaquita sino que también al uso de otro tipo de fármacos como el cristal violeta considerados también como agente tóxico y mutagénico.

4. CONCLUSIÓN

Con esta contribución se amplía el panorama dando la pauta a los investigadores a fines, sobre nuevas líneas investigación enfocadas al control y detección de este compuesto con fines de regulación en la acuicultura, sobre todo de los organismos que se venden para consumo humano. Además de incrementar el número de investigaciones dedicadas a la prevención, tal es el caso al desarrollo de vacunas y buenas prácticas para evitar el uso de estas sustancias.

5. LITERATURA

Bergwerff, A., y Scherpenisse, P. 2003. Determination of residues of malachite green in aquatic animals. *Journal of Chromatography B Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*. 7:88 ,351-359.

Canadá - Canadá, F., Muñoz de la Peña, A., Espinosa-Mansilla, A. 2009. Analysis of antibiotics in fish samples. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 39:5, 987–1008.

Chambel, J., Costa, R., Gomes, M. Mendes, S., Baptista, T. y Pedrosa, Rui. 2014. Hydrogen peroxide, iodine solution and methylene solution highly enhance the hatching rate of freshwater ornamental fish species. *Aquacult Int*. 22:1743-1751.

Eissa, A.E., Abdelsalam, M., Tharwat, N. y Zaki, M. 2013. Detección de *Saprolegnia parasitica* in eggs of angelfish *Pterophyllum scalare* (Cuvier-Valenciennes) with a history of decreased hatchability. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*. 1, 7-14.

Forneris G, Bellardi, S., Palmegiano, G. B., Saroglia, M., Sicuro, B., Gasco, L., Zoccarato, I. 2003. The use of ozone in trout hatchery to reduce saprolegniasis incidence. *Aquaculture* 221:157–166.

Li, Z., Tang, B., Zhang, H. 2015. Investigation on the interaction between an antimicrobial in aquaculture, malachite green and hemocyanin from Mud Crab *Scylla paramamosain*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 135, 669-675.

Nebot, C., Iglesias, A., Barreiro, R., Miranda, J. M., Vázquez, B., Franco, C. M., Cepeda, A. 2013. A simple and rapid method for the identification and quantification of malachite green and its metabolite in hake by HPLC- MS/MS. *Food Control*. 31, 102-107.

Srivastava, S., Sinha, R. y Roy. D. 2004. Toxicological effects of malachite Green. *Aquatic Toxicology*. 66: 319-329.

Subasinghe, R., Soto, D., y Jia, J. 2009. Global aquaculture and its role in sustainable development. *Reviews in Aquaculture*, 1, 2-9.

Zhang, Y., Huang, Y., Zhai, F., Du, R., Liu, Y., Lai, K. 2012. Analyses of erofloxacin, furazolidone y malachite green in fish products with surface-enhanced Raman spectroscopy. *Food Chemistry*.135,845-850.

Efecto del ultrasonido y la agitación mecánica en la extracción del mucilago de las semillas de *Hyptis suaveolens*

Ana Laura Jiménez Flores¹, Blanca E. Gómez Luna¹, Juan Carlos Ramírez Granados¹, Brenda E. García Mier¹, Adriana Martínez Ríos¹, Rubén A. Torres Lopez¹, Graciela M. L. Ruiz Aguilar² y Rafael Alejandro Veloz García¹

¹Departamento de Ingeniería Agroindustrial, División de Ciencias de la Salud e Ingenierías, Campus Celaya-Salvatierra, Universidad de Guanajuato.

²Departamento de Ciencias Ambientales, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca Universidad de Guanajuato.
alejandroveloz@ugtomx.onmicrosoft.com

RESUMEN

Los mucílagos son considerados un grupo de hidrocoloides compuestos de polisacáridos y proteínas principalmente, que interactúa fuertemente con el agua (Wen & Lih, 2014; Malviya *et al.*, 2011). La utilización de los mucílagos depende de sus propiedades funcionales únicas, tales como viscosidad, emulsionante y espumante, gelificante, etc., así como, su papel bioactivo en la prevención y/o tratamiento de ciertas enfermedades (Kaewmanee *et al.*, 2013). Existe literatura canalizada hacia la investigación de hidratación y extracción de mucilago, a partir, de la modificación de la temperatura, del solvente, la adición de sales al medio de extracción, etc.

Hyptis suaveolens denominada comúnmente como Chan, produce una semilla, que ser remojada en agua, se cubre con un polisacárido mucilaginoso.

Explicado lo anterior, el proyecto se enfocó en comparar la agitación mecánica y el ultrasonido en la extracción del mucilago de la semilla de *Hyptis suaveolens*. Para lo cual, se evaluó el efecto de la agitación mecánica a 600 RPM y ultrasonido a 20 KHz. Para ambos procesos de extracción, se valoraron las variables: temperatura (25 y 80 °C), pH (6, 7, 8 y 9) y relación agua-semillas (1:20, 1:30 y 1:40). Teniendo como principal resultado el desprendimiento del mucilago de la semilla mediante la extracción con ultrasonido.

Palabras Clave: *Hyptis suaveolens*, ultrasonido, mucilago.

1. INTRODUCCIÓN

Entre las plantas silvestres sometidas a proceso de domesticación, se encuentra el *Hyptis suaveolens*, especie de la familia *labitae*, que fue ampliamente cultivada en la época prehispánica de México debido a sus semillas comestibles, y actualmente catalogada como un "pseudocereal", con probable origen en mesoamérica y norte américa (Harlan, 1992). Esta planta presenta una amplia distribución geográfica, y en la mayoría de los lugares donde se encuentra establecida, lo hace como componente de la vegetación natural.

El mucilago es un constituyente común de las plantas, que puede ser extraído de las semillas o tallos suaves, por ejemplo, okra (*Hibiscus esculentus*), mostaza amarilla (*Sinapis alba*) y la linaza (*Linum usitatissimum*) (Izydorczyk, *et al.*, 2005). El mucilago proviene del material de la pared secundaria en la capa más externa (Daun, *et al.*, 2003). Este fácilmente se extrae de la cubierta de la semilla por inmersión en agua. Cuando se hidrata, las células de mucilago se hinchan, y su contenido exudan en la superficie de las semillas. El mucilago constituye aproximadamente el 8 % del peso total de la semilla. Varios informes mostraron que el rendimiento

de la extracción, el contenido de proteína y las propiedades fisicoquímicas del mucílago resultante, dependen tanto el procedimiento y la variedad de la materia prima (Barbary, *et al*, 2009 ; Fedeniuk y Biliaderis, 1994).

2. ANTECEDENTES

Los mucilagos son polímeros complejos (con estructuras ramificadas) de polisacáridos que al ser expuestos al agua, forman hidrocóloides. Estos compuestos se obtienen de diversas especies vegetales y son unos de los ingredientes más utilizados, debido principalmente, a que son muy abundantes en la naturaleza y relativamente económicos, aunado a esto, se resalta el hecho que no son reactivos, ni producen alergias lo que los hace seguros, y por lo tanto, biocompatibles (Muñoz 2012; Naqvi, 2011; Prajapati, 2013; Lai, 2012). Son muy usados debido a su capacidad para retener agua y también por sus propiedades espesantes, gelificantes, estabilizadores de emulsión, etc., es por ellos que dichos mucilagos son muy apreciados en la industria, cosmética, textil, papelera, alimentaria y farmacéutica (Naqvi, 2011; Prajapati, 2013). Se estima que el mercado mundial de mucilagos durante el 2008 fue de 2.8 billones de euros (IMR internacional, 2008), lo cual, recalca su importancia económica (oferta y demanda) de este tipo de producto.

Los mucilagos son ésteres de ácido sulfúrico, que lo hace un polisacárido complejo. Los mucilagos están estrechamente relacionados con la hemicelulosa, excepto que los azúcares de composición de la hemicelulosa son glucosa, manosa y xilosa, mientras que en la composición de los mucilagos están involucradas la galactosa y la arabinosa (Muñoz 2012; Naqvi, 2011; Prajapati, 2013).

El Aparato de Golgi está involucrado en la síntesis y excreción del mucílago, este es un componente principal de las semillas. Los mucilagos están presentes en forma deshidratada dentro de la epidermis de la semilla. En estado hidratado, el mucílago envuelve la semilla entera y forma un hidrogel de pectina que ayuda al proceso de germinación (Muñoz, 2012).

Los mucilagos se clasifican en 3 grupos:

1. Mucilagos intracelulares.
2. Mucilagos de membrana celular.
3. Mucilagos excretados por las raíces.

Usos y Aplicaciones de los Mucilagos

En la industria alimentaria son utilizados como estabilizadores, solubilizadores, agentes espesantes y emulsificantes. En la industria farmacéutica se emplean como agentes gelificantes, desintegrantes, espesantes, bioadhesivos, emulsificadores, agentes mucoadhesivos, solubilizadores y para la formación de nanopartículas en sistemas de liberación prolongados, entre otras aplicaciones. En la industria cosmética se utilizan como espesantes, estabilizadores, solubilizadores, etc (Muñoz 2012; Naqvi, 2011; Prajapati, 2013, Lai, 2012).

Procesos de Extracción y de Hidratación de los Mucilagos.

Lai y Liang reportaron en el 2012, la extracción de mucílago a partir de la especie vegetal *asplenium australasicum*, utilizando un proceso de reflujo a 25, 50, 70 y 90 °C por 4 horas usando bicarbonato de sodio a una concentración de 0.14M en agua desionizada. Balke y Diosady (2000) evaluaron el efecto de la temperatura (25, 50, 70 y 95 °C), el pH (4, 5, 6, 7, 8 y 9), el y diferentes concentraciones de NaCl (0.05 y 0.2 M) durante la extracción de mucílago en semillas de mostaza en donde las condiciones óptimas fueron a un pH de 8 y en un periodo de 3 hr a una temperatura de 50 °C.

Tamez y colaboradores (2006), publicaron el uso de ultrasonido (40 khz) para la extracción del mucílago de la semilla de *salvia hispánica*. En donde, además controlaron la hidratación, la temperatura, el pH y la velocidad de agitación.

Por otro lado Galindo y colaboradores (2010) reportan la extracción del mucílago de *Hyptis suaveolens* (L.) Poit, utilizando el método de Gowda (1984), el cual, consistía en hidratar la semilla

durante una hora a 37 °C, seguida de una agitación por 2 horas y el uso de solventes como acetona y etanol para la separación de dicho mucilago.

Es preciso comentar que una gran parte del uso de mucilagos se justifica a través de la hidratación de los mismos, una vez extraídos. Esto por que debe ser de fácilmente reconstitución, para favorecer su uso en las diferentes aplicaciones que tienen estos. Por lo cual, los investigadores se han dado a la tarea de buscar las condiciones idóneas de hidratación, como es el caso del reporte publicado por Muñoz y colaboradores en el 2012, donde evaluaron el efecto del pH, la adición de sales y la temperatura sobre la hidratación del mucilago. Ellos encontraron que había un efecto negativo en la hidratación cuando se utilizaba la relación pH-sales y temperatura-sales. El mejor efecto de hidratación lo consiguieron a un pH de 9 y a una temperatura de 80 °C.

Hyptis suaveolens

En México, la especie vegetal *Hyptis suaveolens* comúnmente denominado chan, se utilizaba desde la época prehispánica en rituales con fines medicinales y en la dieta diaria, ya que al consumirla se creía que "ya nada hacia falta para alimentar el cuerpo" (Vergara y Bravo, 1992; Rojas, 1985; Torres, 1985). El chan se sembraba entre el maíz y el frijol. Se cree que esta práctica se debía a que esta planta protegía los cultivos del ataque de las plagas (Nuevos Documentos, 1946).

En la medicina tradicional, a mediados del siglo XVI, el códice florentino señala: para las "carencias de cámaras" (diarrea) se usa la semilla cruda, molida y comida, tanto la pasta como el zumo. Para las mujeres que no pueden parir, se usa la semilla molida en agua, en cambio para los que escupen sangre y tienen tos, se usa la raíz molida. A inicios del siglo XVIII Juan de Esteyneffer la refiere como refrescante en las calenturas. En la actualidad el uso más común de esta especie corresponde al tratamiento contra la diarrea. En el Estado de Michoacán, para este fin se toma la decocción de la raíz en ayunas; en Yucatán se bebe la infusión de las hojas, en Veracruz también se usa para lo mismo. Otros padecimientos gastrointestinales en los que se utiliza, son: disentería, dolores estomacales y latido. En el Estado de Oaxaca a esta planta se le emplea como antiséptico.

Por su contenido químico *Hyptis suaveolens* es considerado como un pesticida natural, ya que posee propiedades antisépticas, antimicóticas, antibacterianas, anticonceptivas, antiinflamatorias; sin embargo, representa un cultivo marginado (Santos *et al.*, 2007; Grassi *et al.*, 2006; Rojas *et al.*, 1992; Krishnamurthy *et al.*, 2006).

Hyptis suaveolens ha sido utilizado en la preparación de bebidas, salsas y como agente espesante, ya que cuando se remoja en agua, la semilla se cubre de un polisacárido mucilaginoso (l- fuco-4-metil-d-glucorono- d- xilano) (Gowda, 1984; Aspinall, *et al.* 1991). En México se ha utilizado como medicamento contra fiebres, diarreas, estreñimiento y regulación de la secreción biliar (Hernández, 1959).

El objetivo de este trabajo fue comparar la agitación mecánica y el ultrasonido en la extracción del mucilago de la semilla de chan.

3. MATERIALES Y METODOS

El proceso utilizado para la extracción de mucilago a partir de semillas de *Hyptis suaveolens*, se muestra en el Figura 1. El pH se controló y se ajusto mediante la adición de soluciones de HCl y NaOH a 0.2 M. Los experimentos se hicieron por triplicado. El análisis de datos se hizo a través de un estudio ANOVA de 2 vías utilizando el análisis de comparación múltiple de Turkey con un $\alpha=0.05$.

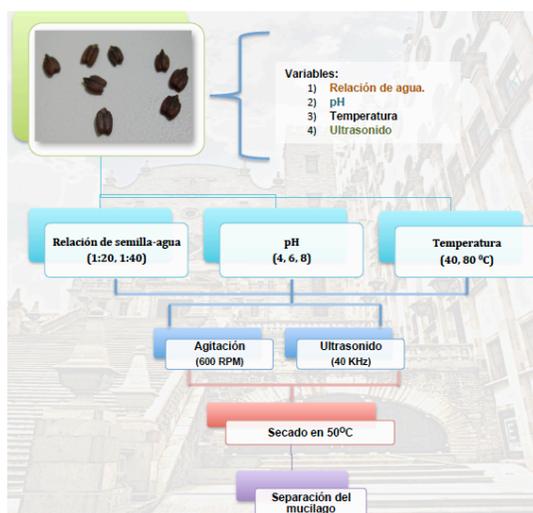
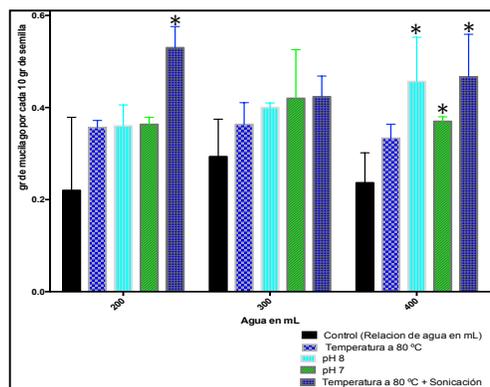


Figura 1. Proceso de extracción del mucilago a partir de la semilla de *Hyptis suaveolens*.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

El mejor rendimiento fue de 0.530 ± 0.046 gr donde se utilizó ultrasonido con un relación agua:semilla 1:20 a temperatura de 80°C y pH 7, lo que representa 41% más en comparación con el grupo control (relación agua:semilla 1:20 a 25°C y pH 7 sin agitación y sin ultrasonido) que tuvo un rendimiento de 0.220 ± 0.159 gr de mucilago. En la Grafica 1 se muestran los resultados más relevantes de este proyecto. Los tratamientos con ultrasonido mostraron el desprendimiento del mucilago de la semilla.



Grafica 1. Resultados más relevantes del proceso de extracción del mucilago. (*) indican diferencia significativa con respecto al control (ANOVA de 2 vías utilizando el análisis de comparación múltiple de Turkey con un $\alpha = 0.05$).

A la fecha son pocos los estudios donde se involucra la aplicación del ultrasonido en el proceso de extracción de mucilagos. Tamez y colaboradores (2006) reportan que la extracción con ultrasonido a 40 Hz únicamente involucra un proceso de hinchazón del mucilago que facilita su desprendimiento, sin embargo en este trabajo, se logró el desprendimiento del mucilago de la semilla lo que favorece su extracción.

5. CONCLUSIONES.

Los tratamientos con ultrasonido presentaron mejores rendimientos en la extracción del mucilago, pero la mayor ventaja esta en el hecho de que al ser tratados con ultrasonido ocasionan el desprendimiento del mucilago de la semilla, lo que representa una operación unitaria menos en la extracción de dicho compuesto, esto porque, en los tratamientos con agitación mecánica el mucilago queda adherido a la semilla lo que complica su extracción.

6. BIBLIOGRAFÍA.

- Aspinall GO, Capek P, Carpenter RC, Gowda DC, Szafranek J. A novel L-fuco-4-O-methyl-D-glucurono-D-xylan from *Hyptis suaveolens*. *Carbohydr Res.* 1991, 214(1):107-113.
- Gowda C. D. Polysaccharide components of the seed-coat mucilage from *hyptis suaveolens*. *Phytochemistry.* 1984, 23(2):337-338.
- Grassi P, Urías Reyes TS, Sosa S, Tubaro A, Hofer O, Zitterl-Eglseer K (). Anti-inflammatory activity of two diterpenes of *Hyptis suaveolens* from El Salvador. *Z Naturforsch.* 2006, 61(3-4):165-170.
- Hernández, F. Historia natural de la Nueva España, en obras completas. México: UNAM. Tomos I y II, 1959. pp. 233.
- Krishnamurthy YL, Shashikala J. Inhibition of aflatoxin B production of *Aspergillus flavus*, isolated from soybean seeds by certain natural plant products. *Lett Appl Microbiol.* 2006, 43(5):469-474.
- Lai Lih-Shiuh, Liang Hui-Yuan. Chemical compositions and some physical properties of the water and alkali-extracted mucilage from the young fronds of *Asplenium australasicum* (J. Sm.) Hook, *Food Hydrocolloids*, Volume 26, Issue 2, March 2012, Pages 344-349, ISSN 0268-005X.
- Lautié E, Fliniaux MA, Villareal ML. Updated biotechnological approaches developed for 2,7'-cycloignan production. *Biotech Appl Biochem.* 2010, 55(3):139–153).
- Lautié E, Quintero R, Fliniaux MA, Villareal ML. Selection methodology with scoring system: Application to Mexican plants producing podophyllotoxin related lignans. *J Ethnopharm.* 2008, 120(3):402-412.
- Martínez M . Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas (1ª. ed). México: Fondo de Cultura Económica. 1979, pp. 1095.
- Matsuhira B., Luis E. Lillo, Carmen Sáenz, Carlos C. Urzúa, Oriette Zárate. Chemical characterization of the mucilage from fruits of *Opuntia ficus indica*, *Carbohydrate Polymers*, Volume 63, Issue 2, 3 February 2006, Pages 263-267, ISSN 0144-8617.
- Misra TN, Singh RN, Upadhyay J. A natural triterpene acid from *Hyptis suaveolens*. *Phytochemistry.* 1983, 22(11): 2557-2558.
- Muñoz L.A., A. Cobos, O. Diaz, J.M. Aguilera. Chia seeds: Microstructure, mucilage extraction and hydration, *Journal of Food Engineering*, Volume 108, Issue 1, January 2012, Pages 216-224, ISSN 0260-8774.
- Prajapati ipul D., Pankaj M. Maheriya, Girish K. Jani, Prasant D. Patil, Bhumit N. Patel. *Lepidium sativum* Linn.: A current addition to the family of mucilage and its applications, *International Journal of Biological Macromolecules*, Volume 65, April 2014, Pages 72-80, ISSN 0141-8130.
- Summar A. Naqvi, M.M. Khan, M. Shahid, M.J. Jaskani, Iqrar A. Khan, Mohammad Zuber, Khalid Mahmood Zia. Biochemical profiling of mucilage extracted from seeds of different citrus rootstocks, *Carbohydrate Polymers*, Volume 83, Issue 2, 10 January 2011, Pages 623-628, ISSN 0144-8617.
- Ziolkovska Anna. Laws of flaxseed mucilage extraction, *Food Hydrocolloids*, Volume 26, Issue 1, January 2012, Pages 197-204, ISSN 0268-005X.

OPTIMIZACIÓN DEL AGUA POR PARTE DEL SECTOR ACUÍCOLA DE MÉXICO: PERSPECTIVAS Y RETOS

Ana G. Fracchia-Durán^a, A.R. Malpica-Sánchez^b, L.A. Ayala-Pérez^b,

^aUniversidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, D.F., Maestría en Ecología Aplicada,
ana0qurban@gmail.com

^bUniversidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, D.F., Departamento El Hombre y su Ambiente,
aidamalpicas@gmail.com, luayala@correo.xoc.uam.mx

RESUMEN

En la última década, el sector acuícola mexicano ha presentado una rápida tasa de crecimiento. En el 2007, México fue el décimo-noveno país con mayor participación acuícola en el contexto mundial, y el séptimo dentro de la producción de camarón. Debido a ello, la acuicultura se considera una actividad prioritaria para el suministro de alimentos, generación de empleos e ingresos en el país. Por otro lado, actualmente en el norte de México se presentan problemas de escasez física del agua, mientras que el centro de la república se aproxima a ese estado, y la extracción del agua por parte del sector agropecuario (incluyendo la acuicultura) representa el 77% del gasto de agua dulce en el país. Por esto, es importante que en la acuicultura se optimice el uso del agua y los procesos productivos sean eficientes. En el presente trabajo se realizó una revisión bibliográfica de las características productivas y socioeconómicas de la acuicultura en México, con objetivo de identificar limitantes pero sobre todo áreas de oportunidad y estrategias necesarias para que el sector acuícola minimice su huella hídrica. Se detectó que la mayoría de las granjas acuícolas son de pequeña escala, predominan los cultivos extensivos y semi-intensivos, con baja asistencia técnica, rendimientos y capitalización. Los cultivos suelen depender de altos recambios de agua para mantener su calidad, lo cual genera un impacto ambiental, e incrementa la demanda sobre este limitado recurso. Consecuentemente se resalta la importancia de que a nivel nacional se fomenten programas de capacitación dirigidos a la implementación de las buenas prácticas acuícolas y la optimización de los insumos, así como se promueva la transferencia tecnologías de cultivo sustentables, y exista un mayor acompañamiento institucional en el monitoreo y vigilancia de las prácticas acuícolas.

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente en la escala mundial, la acuicultura es el sector de producción de alimentos con mayor crecimiento (Dediu *et al.*, 2012), y desde 1970 ha presentado una tasa promedio anual de 8.9%, mientras que para el mismo periodo de tiempo, la pesca y ganadería han presentado una tasa de crecimiento promedio de 1.2% y 2.8% respectivamente (FAO, 2004). Este crecimiento contrasta con el estado actual de las pesquerías, donde la mayoría de los stocks comerciales están sobre explotados. En el 2012, la acuicultura participó con el 42.2% del total del abastecimiento de peces a nivel mundial (FAO, 2014), y se calcula que en el 2015 sobrepasará el aporte pesquero (FAO, 2013).

En México, en la última década el sector acuícola ha presentado una rápida tasa de crecimiento. En el periodo 2004- 2006, México alcanzó el décimo lugar dentro de los países con mayor tasa de crecimiento en este sector, con un incremento promedio anual de 23.3% (FAO, 2008). En el 2007, fue el décimo-noveno país con mayor participación acuícola en el contexto mundial, y el séptimo dentro de la producción de camarón (CONAPESCA, 2010). Debido a ello, la acuicultura se considera una actividad prioritaria para el suministro de alimentos, generación de empleos e ingresos en el país (SAGARPA, 2001).

Por otro lado, actualmente en el norte de México se presentan problemas de escasez física del agua, mientras que el centro de la república se aproxima a ese estado (UNESCO, 2012), y la extracción del agua por parte del sector agropecuario (incluyendo la acuicultura) representa el 77% del gasto de agua dulce en el país (AQUASTAT, 2012). Aunque no se cuentan con datos precisos de la participación acuícola en dicha extracción, se ha reportado que este sector sobresale en la tasa de gasto de agua por tonelada de producto cosechado, cuando se compara con otras actividades del sector primario, secundario y terciario (Yeo *et al.*, 2004). Por esto, es importante que en la acuicultura se optimice el uso del agua y los procesos productivos sean eficientes.

2. METODOLOGÍA

Se realizó una exhaustiva revisión bibliográfica de las características productivas y socioeconómicas de la acuicultura en México, con objetivo de identificar limitantes pero sobre todo áreas de oportunidad y estrategias necesarias para que el sector acuícola minimice su huella hídrica.

3. RESULTADOS

En México, la acuicultura nace como una actividad complementaria de apoyo social a las comunidades rurales, con la cual se pretendía incrementar el consumo de proteína animal y mejorar así los niveles nutricionales de la población. Es así como se promovió esta actividad productiva, pero sobre todo a través de las pesquerías acuaculturales de tilapias y carpas. Hasta 1998 la acuicultura fue una actividad económica reservada por ley para los ejidos, enfocándose como actividad productiva para comunidades beneficiadas por la reforma agraria, posteriormente se abrieron las puertas a la inversión acuícola para el sector privado (Juárez-Palacios, 1990; SAGARPA, 2002; Haws y Rojas-Umaña, 2006).

La acuicultura en el país está conformada por dos formas productivas principales: las pesquerías acuaculturales y los sistemas controlados. Las pesquerías acuaculturales siguen siendo importantes, representando el 49.1% de la producción acuícola nacional. Así mismo, las tilapias y carpas siguen siendo de las especies predominantes en este sector (SAGARPA, 2011).

A pesar del crecimiento acuícola que ha presentado el país en las últimas décadas, aproximadamente el 80% de los cultivos son de tipo extensivo y con bajo rendimiento (Norzagaray-Campos *et al.*, 2012). En México se ha observado una relación entre en el nivel de tecnificación y productividad, y la tenencia de la tierra; donde el sector privado suele presentar cultivos más intensivos que el ejidal (DeWalt *et al.*, 2002). El sector rural está más enfocado a la piscicultura, sobre todo al cultivo de tilapia y carpa, sea a escala comercial o de subsistencia, y la producción se caracteriza por presentar baja inversión, capitalización y rendimientos productivos (Segovia-Quintero, 2011). Un factor clave para incrementar la productividad es la capacitación y asistencia técnica que presenten los productores. Sin embargo, en general la acuicultura en México (a excepción de la camaricultura) se caracteriza por presentar baja asistencia técnica. En el 2008, se contaba con 1,905 unidades productivas registradas, de las cuales 403 estaban dedicadas a la camaricultura y 1,502 a la piscicultura o cultivo de otros organismos acuáticos a excepción de camarones. Para este año, se registró la presencia de 1,380 técnicos acuícolas o pesqueros dependientes de la razón social, de los cuales el 82.8% trabajan en granjas camareras, y únicamente el 17.2% en granjas piscícolas o de otros organismos (INEGI, 2011).

La baja inversión, capitalización, capacitación, asistencia técnica y rendimientos productivos de un gran porcentaje de unidades de producción acuícolas en la escala nacional, conlleva a que se dependa de altos recambios de agua para mantener la calidad de ésta. Estas prácticas son comunes en el sector rural debido a la falta de regulación, desconocimiento y/o imposibilidad de invertir en tecnologías más intensivas, sustentables, y de mayor eficiencia productiva, donde exista un manejo de la calidad del agua sin depender de altos recambios para mantener una calidad adecuada para el cultivo.

Para minimizar la huella hídrica del sector acuícola, es importante se fortalezcan los siguientes puntos: mejorar el manejo técnico del cultivo a través de la implementación de las buenas prácticas

acuícolas, integrar procesos biorremediativos a los procesos productivos, e incorporar tecnologías de cultivo más eficientes. Actualmente existen una variedad de tecnologías sustentables, entre ellas sistemas de bajos-nulos recambios como los de recirculación, biofloc, acuaponia; sin embargo la selección dependerá del contexto socioeconómico y ambiental existente, así como de las prácticas productivas empleadas en la escala local (Jhamtani, 2007; Keating y Jacobsen, 2012). Se deberán considerar las potencialidades y limitaciones presentes, tanto sociales, económicas, ambientales, políticas e institucionales (FAO, 2011).

En este contexto, dadas las condiciones limitantes mencionadas para el desarrollo acuícola en el sector rural, para minimizar el gasto de agua e incrementar la productividad de los cultivos, es más factible iniciar mejorando el manejo técnico de los cultivos, e ir escalando a través del tiempo a sistemas de producción más intensivos y eficientes (en los cuales se necesita mayor dominio técnico, Hernández-Barranza *et al.*, 2009; Fracchia-Durán, 2013). Mejorar el manejo técnico implica que se optimicen los insumos (agua, alimento, energía eléctrica) lo cual deriva en que se mantenga la calidad del agua disminuyendo las tasas de recambios, y se incrementen los rendimientos productivos por unidad de volumen y cantidad alimento empleado (SAGARPA y CIAD, 2008). También se pueden incorporar sistemas de agro-acuicultura integrada, donde los efluentes y lodos acuícolas sean aprovechados con fines productivos en vez de ser vertidos como productos de desecho. La implementación de estos sistemas requiere de menores costos de producción e inversión y son tecnologías más sencillas que los sistemas de producción intensivos mencionados anteriormente (Yeo *et al.*, 2004).

4. CONCLUSIONES

La baja inversión, capitalización, capacitación, asistencia técnica y rendimientos productivos de un gran porcentaje de unidades de producción acuícolas en la escala nacional, deriva a que se dependan de altos recambios de agua para mantener la calidad de ésta, impactando así al ambiente e incrementando la demanda sobre este limitado recurso.

Para minimizar la huella hídrica de la acuicultura mediante la mejora del manejo técnico o de la aplicación de otras tecnologías y sistemas productivos, se requiere de un apoyo y seguimiento institucional, por ejemplo a través programas de capacitación, asistencia técnica y de transferencia tecnológica, así como mediante el monitoreo y vigilancia de las prácticas acuícolas. Finalmente, los sistemas comúnmente empleados por el sector rural, son aquellos que fueron transferidos de manera inicial.

Adicionalmente, debido a que mediante estas estrategias se logra optimizar los insumos y obtener mayores rendimientos productivos, se generan mayores utilidades netas para los productores. Por ello, la implementación eficiente de programas de capacitación y transferencia técnica, permitirá disminuir la huella hídrica del sector, y minimizar el impacto ambiental generado, pero también brindaría beneficios socioeconómicos.

BIBLIOGRAFÍA

1. AQUASTAT, 2012. Water withdrawal by sector, around 2006. FAO, AQUASTAT database.
2. CONAPESCA, 2010. Anuario estadístico de acuicultura y pesca 2008. 207 p.
3. Dediu, L., Cristea, V., Xiaoshuan, Z., 2012. Waste production and valorization in an integrated aquaponic system with bester and lettuce. *African Journal of Biotechnology* 11(9), 2349-2358.
4. DeWalt, B.R., Ramírez Zavala, J.R., Noriega, L., González, R.E., 2002. Shrimp Aquaculture, the People and the Environment in Coastal Mexico. Report prepared under the World Bank, NACA, WWF and FAO Consortium Program on Shrimp Farming and the Environment. Work in Progress for Public Discussion. Published by the Consortium. 73 p.
5. FAO, 2004. State of World Fisheries and Aquaculture. Roma, Italia.
6. FAO, 2008. Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura. Factores que afectan su sustentabilidad en America Latina. Taller técnico regional de FAO. Puerto Montt, Chile. 377 p.

7. FAO, 2011. The state of world's land and water resources for food and agriculture. Managing systems at risk. FAO Fiat Panis y Earthscan, Roma, Italia, 308 p.
8. FAO, 2013. FAO Statistical Yearbook 2013: World Food and Agriculture. Roma, Italia, 307 p.
9. FAO, 2014. El estado mundial de la pesca y acuicultura. Oportunidades y desafíos. Roma, Italia, 274 p.
10. Fracchia-Durán, A., 2013. Caracterización y diversificación de la acuicultura en Colima. Tesis, Universidad de Colima, 267 p.
11. Haws, M., Rojas-Umaña, A. (eds), 2006. Salud, ambiente y acuicultura en la costa pacífica de México. 149 p.
12. Hernández-Barranza, C.A., Aguirre-Guzmán, G., López-Cantú, D.G., 2009. Sistemas de producción de acuicultura con recirculación de agua para la región norte, noreste y noroeste de México. Revista Mexicana de Agro-negocios, Vol. 25., 14 p.
13. INEGI, 2011. Pesca y acuicultura. Censos Económicos 2009. México, 83 p.
14. Jhamtani, H., 2007. Putting farmers first in sustainable agriculture practices. Third World Network, Penang, Malasya, 31 p.
15. Juárez-Palacios, J., 1990. El aprovechamiento de los embalses en América Latina a través de la práctica de la acuicultura de repoblación. Reporte interno de Proyecto GCP/RLA/075/ITA FAO/AQUILA.
16. Keating, M., y Jacobsen, K., 2012. Sustainable agriculture. Publicación de University of Kentucky- College of Agriculture. 5 p.
17. Norzagaray- Campos M., Muñoz-Sevilla P., Sánchez-Velasco L., Capurro-Filograsso L., Liñanes- Cárdenas O., 2012. Acuicultura: estado actual y retos de la investigación en México. Revista AquaTIC 37: pp. 20-25
18. SAGARPA, 2001. Cómo vamos a lograrlo? Programa de Acuicultura y Pesca. Programa sectorial de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación 2001-2006. 18 p.
19. SAGARPA, 2002. Reunión nacional sobre cultivo de peces marinos. 168 p.
20. SAGARPA, 2011. Anuario estadístico de acuicultura y pesca 2011. 311 p.
21. SAGARPA, CIAD, 2008. Manual de Buenas Practicas de Producción Acuícola de Tilapia para la Inocuidad Alimentaria. 158 p.
22. Segovia-Quintero, M., 2011. An overview on desert aquaculture in Mexico. In V. Crespi & A. Lovatelli, eds. Aquaculture in desert and arid lands: development constraints and opportunities. FAO Technical Workshop. 6–9 July 2010, Hermosillo, Mexico. FAO Fisheries and Aquaculture Proceedings No. 20. Rome, FAO. 2011. pp. 187–202.
23. UNESCO, 2012. Managing water under uncertainty and risk. The United Nations World Water Development Report 4, volume 1. France, 407 p.
24. Yeo, S.E., Binkowski, F.P., Morris, J.E., 2004. Aquaculture effluents and waste by-products. Characteristics, potential recovery, and beneficial reuse. Publicación de North Central Regional Aquaculture Center (NCRAC), EUA, 47 p.

CALIDAD BROMATOLÓGICA DE LÍNEAS DE TRIGO (*Triticum aestivum* L) SEMBRADOS EN TRES LOCALIDADES DEL ESTADO DE MÉXICO

Adriana L. Orihuela Peláez, Dora L. Pinzón-Martínez*, M. D. Mariezcurrena-Berasain, A. T. Gutiérrez-Hernández, L. R. Bernal-Martínez, P. López-Perea.

Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, Edo. de México. arluc_9@hotmail.com, dlpinzonm@uaemex.mx, nekkane16@hotmail.com, atarini@uaemex.mx, lbernalb@uaemex.mx

RESUMEN

La demanda de consumo de trigo sortea la heterogeneidad ambiental y la búsqueda de variantes genéticas de calidad panadera y tecnológica. Existen investigaciones enfocadas a la mejora de su producción, disminución de los efectos mencionados, para abastecer del producto a la población. El motivo de esta investigación fue determinar los genotipos sobresalientes en cuanto a calidad bromatológica de granos de diferentes genotipos sembrados en tres localidades del Estado de México^{1,3, 5}. Los granos correspondieron a 10 líneas avanzadas de trigo harinero de Resource Seed Mexicana y un genotipo comercial (CV. Tollocan) como testigo. Se realizó un ANOVA al 5% en donde las variables de estudio fueron las líneas avanzadas y las tres localidades, y las variables respuesta fueron materia seca (MS), proteína (P), fibra neutra ácida (FND), lignina (LI), cenizas (CE), grasa (GR). Existieron diferencias significativas ($P < 0.05$) para MS, FND, FAD, LI, CE, y GR; y no para en la variable proteína, indicando que no hubo efecto de la línea avanzada sobre la variable proteína. En relación a la localidad existieron diferencias significativas ($P < 0.05$) para las variables FAD, CE y GR y no para las variables MS, P, LI, indicando que no hubo efectos de la localidad sobre estas últimas cuatro variables. Se estudió también la interacción entre los genotipos con el ambiente para cada localidad (datos en proceso). Como conclusiones existieron diferencias significativas para los rendimientos de fibra y minerales como respuesta de los genotipos probados para las localidades estudiadas^{1,2,5}. El contenido de proteínas no fue afectado durante la experimentación presentada, por lo que se sugiere que la calidad nutricional de los genotipos utilizados resultaron viables para población mexiquense.

INTRODUCCIÓN

La demanda de consumo de trigo por la humanidad sortea la heterogeneidad ambiental y la búsqueda de aquellas variantes genéticas que provean de un trigo con calidad panadera aceptable, donde dichos aspectos son considerados parte de la calidad funcional del trigo. En la República Mexicana este cereal corresponde al segundo grano básico más importante. En tal sentido, existen diferentes estrategias e investigaciones enfocadas a la mejora de su producción, disminución de los efectos de los factores antes mencionados, así como lograr el abastecer del producto a la población. La caída en la superficie sembrada en los últimos 4 años y la pérdida de cosechas por sequías o heladas en algunas regiones, ha limitado que su producción nacional y el atender las necesidades actuales de la población (6,8 millones t aproximadamente) (SIAP-SAGARPA, 2015). La producción nacional de trigos panificables no es suficiente para abastecer la demanda interna, por lo que en 2013 se importaron 3 millones 997 mil t, 18,5% menos que el año agrícola inmediato anterior.

La calidad de su grano depende de la composición genética de la variedad (genotipo) y por este motivo, es necesario incrementar las investigaciones para disminuir los efectos de los factores

adversos mencionados¹. Por lo tanto, realizar investigaciones complementarias con el fin de identificar genotipos sobresalientes de Trigo (*Triticum aestivum* L) es una buena estrategia, para asegurar su mejoramiento genético a fin de obtener un mayor rendimiento del grano y a su vez, aumentar la producción para satisfacer la demanda de empresas que adquieren dicho cereal. Para lo cual, se propuso que al menos una Línea Avanzada de trigo cultivada en las localidades del Estado de México a evaluar San Mateo Oztzacatipan, Jocotitlán y Metepec puede tener las características bromatológicas deseables para ser propuesta para procesos de panificación.

TEORÍA

El trigo es un cereal del género de las Gramíneas, es cultivado como alimento en regiones templadas y frías situadas desde a 60° de latitud norte y de 27 a 40° latitud sur. Crece en suelos con buen drenaje, con precipitación de 37,5-87,5 cm y desde el nivel del mar hasta 3 000 m. Su temperatura óptima para ser cultivado es de 10–25 °C. Su principal productor a nivel mundial, es China siguiéndole la India, Estados Unidos, Rusia, Francia y Canadá. En Latinoamérica, destaca Argentina y México². Este cereal es el segundo grano básico más importante en México, después del maíz, pero su producción se ha visto amenazada por el cambio climático y por el aumento en la demanda de las empresas harineras^{2, 5}.

En la actualidad, la cadena agroalimentaria del trigo en México enfrenta la competencia con productos extranjeros que satisfacen las crecientes demandas de calidad por la industria de panificación, galletera, pastas alimenticias y pastelería.

Más del 95,0% de las variedades de trigo sembradas a nivel nacional descienden de las líneas avanzadas del programa de mejoramiento genético del CIMMYT, a fin de aumentar la producción de trigo y cubrir su demanda a nivel nacional. La Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma del Estado de México ha trabajado con CIMMYT para evaluar diferentes materiales genéticos de trigo y encontró algunos como promisorios y potenciales para algunas regiones del Estado mexiquense, en Metepec y en El Cerrillo Piedras Blancas, inicialmente. Así la producción de trigo en el Valle de México requiere encontrar las zonas donde el cultivo de trigo sea geográfica, económica y socialmente más rentable que la producción de maíz. Por lo tanto, se requiere analizar la calidad bromatológica de los granos junto con los parámetros agronómicos y determinar los genotipos con tentativa calidad industrial

Interacción Genotipo x Ambiente

La calidad industrial del trigo, se encuentra importantemente relacionada con el genotipo. Sin embargo, el contenido de proteína del grano, se encuentra definido por las condiciones ambientales y tiene influencia en su calidad. Así, ésta interacción contribuye a la variabilidad en menor proporción que el efecto ambiental o el de genotipo por separado, y los parámetros de calidad panadera se han reportado con mayor variación con las condiciones ambientales que entre cultivares. El comportamiento agronómico del trigo y sus características como planta, hacen una nueva elección del genotipo (G) que resulta de relevancia, para aprovechar de manera óptima la oferta de recursos del ambiente (A) de producción y tolerar cada vez más, las líneas sobresalientes, mediante los efectos de la interacción genotipo x ambiente (G x A) involucrados en la expresión fenotípica. Lo cual, se refleja en las diferencias tanto agronómicas como en la calidad bromatológica del mismo, como una respuesta a la interacción G x A. Cuando se evalúa el cultivo por pruebas experimentales en ambientes diferentes, las interacciones G x A se detectan como diferencias significativas en el comportamiento relativo de los genotipos. La identificación de los genotipos sobresalientes de trigo con base en rendimiento de grano, aún en ambientes heterogéneos, ha sido y es una estrategia importante en el mejoramiento genético y en la generación de nuevas tecnologías.

Diversos autores han confirmado que los máximos rendimientos en cuanto a los parámetros agronómicos del trigo, se relacionan con la oferta y la demanda de los recursos (agua, nutrientes, radiación) y por el ambiente (temperatura)^{1,3,5}.

Composición bromatológica del grano de trigo

El grano de trigo es como un almacén de nutrientes, necesarios para el hombre y que han sido utilizados desde el inicio de las civilizaciones. El valor nutritivo que aportan los cereales es más del 50,0% del total de energía requerida por la población humana, debido a su aporte de proteínas, principalmente en el caso del trigo. Su composición incluye principalmente proteínas y carbohidratos, así como ácido pantotéico, niacina, tiamina, riboflavina, principalmente.

Composición de proteínas en el Grano de Trigo

En la clasificación de la calidad del grano es el contenido de proteínas, ya que éstas constituyen el 80,0-85,0% de su composición total del grano y forman el gluten, determinante de la calidad de la harina para productos de panificación. La proteína constituida por aminoácidos unidos por enlaces peptídicos se determina por el método Kjeldahl que obtiene la cantidad de nitrógeno, mediante un proceso de digestión y destilación de la muestra, multiplicado los resultados por un factor ^{1, 2,3}. El gluten compuesto por varias proteínas, conocidas como Prolaminas por su alto contenido en Prolina y Glutamina y por Gluteninas, que son la porción a la que se atribuye el papel de firmeza y fuerza, en tanto que las Gliadinas actúan como adhesivo que mantiene unidas las partículas de glutenina. La calidad del gluten esta fundamentalmente bajo el control genético, pero la expresión de sus genes es afectada por factores externos tales como: las condiciones del clima, el manejo del cultivo y las enfermedades. Estas proteínas son almacenadas en cuerpos proteicos de las células del endospermo, sirviendo de reserva alimenticia en la germinación ^{3,6}.

Materia Seca

Este análisis se determina mediante la cuantificación de la materia seca que permanece en el grano de trigo después de la eliminación del agua, sólidos totales. Es un factor de calidad importante para la conservación y manipulación del grano para la obtención de harina (Antolín, 2001). Su determinación de Materia Seca es mediante el método de la balanza de humedad basado en la evaporación de agua mediante calor, es rápido y económico.

Determinación de Cenizas

Las cenizas son todo material inorgánico conformado por minerales. La mayoría de los minerales están asociados con el pericarpio y la capa aleurona. Se realiza mediante gravimetría y se determina el residuo inorgánico después de la calcinación. Se determina el % de ceniza contenida en cada muestra en estudio a través del cálculo de porcentaje ^{5,6,7}.

Determinación de Fibra

La constituyen aquellos carbohidratos estructurales solubles e insolubles. Su análisis se basa en digestión ácida y alcalina, una calcinación posterior y la determinación de la fibra cruda presente en la muestra analizada. Los componentes de la fibra (soluble e insoluble) ejercen distintos efectos en la salud. La fracción soluble, se le asocia con la reducción de colesterol en sangre. La insoluble afecta el tránsito intestinal y la tasa de absorción de nutrientes. Se le considera agente engrosante o de relleno y como un compuesto terapéutico para prevenir o combatir la constipación mediante la activación de los movimientos peristálticos. La fibra insoluble baja la biodisponibilidad de los minerales, pero ayuda a reducir la tasa de absorción de glucosa, lo que es benéfico para diabéticos.

Determinación de Fibra Ácido Detergente y Neutro Detergente

Su determinación permite tener una aproximación del grado de digestibilidad de las fibras en un alimento. La muestra es sometida a una digestión por cetil-trimetil-amonio en ácido sulfúrico y el residuo es considerado como la fibra no digerible.

Para la Neutro detergente, su método tiene limitaciones en su precisión cuando los valores de proteína son muy altos y los valores de fibra son bajos. Los procedimientos de determinación de fibra ácida y neutra detergente están diseñados para cuantificar los componentes de las paredes celulares y la lignina.

Por lo anterior, el objetivo de esta investigación evaluar las líneas avanzadas de trigo provenientes del Programa de Mejoramiento Genético de la Empresa privada "Resource Seed Mexicana",

sobresalientes en cuanto a calidad bromatológica sembradas en localidades (San Mateo Oztzacatipan, Jocotitlán y Metepec) del Estado de México.

PARTE EXPERIMENTAL

Se evaluaron 10 Líneas Avanzadas de trigo harinero provenientes del programa de mejoramiento genético de la empresa privada "Resource Seed Mexicana S. A. de R. L. de C.V.", así como un genotipo comercial, utilizado como testigo (CV. Tollocan) en tres localidades del Estado de México, Metepec, Jocotitlán y San Mateo Oztzacatipan.

Análisis Bromatológicos

La determinación de ceniza se realizó por el método de estufa con aire forzado de acuerdo a Acero (2007). Las grasas se extrajeron mediante la técnica de extracción tipo Soxhlet (AOAC 991.36, 1980), con hexano. Una vez terminada la extracción y eliminado el solvente para obtener la grasa libre de hexanos, se pesó nuevamente el matraz (M2) para calcular el porcentaje de grasa cruda. Se utilizó el método de Kjeldahl para determinar las proteínas (AOAC, 1980) mediante el del volumen de HCl gastado y el cálculo del porcentaje de proteína. Para la determinación de fibra el análisis se basó en el método de digestión ácida y alcalina de la muestra, obteniéndose un residuo de fibra cruda y sales que junto con la calcinación posterior permitió la determinación de la fibra cruda presente en la muestra.

Diseño Experimental

Mediante un diseño completamente al azar se realizó un análisis de varianza, los datos de cada variable se analizaron con el Sistema para Análisis Estadístico (Statiscal Analysis System, SAS; 2014). Las pruebas de F y de comparación de medias entre líneas de trigo se realizaron a un nivel de significancia del 0.05, con la prueba de DMS. Con la finalidad de seleccionar estadísticamente a las líneas avanzadas que presenten mejor calidad bromatológica. Las variables de estudio fueron las diez líneas avanzadas de trigo. Las variables respuesta fueron Materia Seca, Fibra Neutro Detergente, Fibra Ácido Detergente, Proteína, Grasa, Cenizas, Lignina y se realizaron con dos repeticiones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Se realizó un ANOVA al 5% ($P < 0.05$) en donde las variables de estudio fueron 10 Líneas Avanzadas de Trigo así como las tres localidades donde fueron sembrados; las variables respuesta fueron materia seca, proteína, fibra, lignina, cenizas, grasa. Los resultados del ANOVA para estas variables se presentan en el Cuadro 1.

Como se observa en el Cuadro 1 existieron diferencias significativas ($P < 0.05$) en las variables MS, FND, FAD, LI, CE, y GR; sin embargo no existieron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$) en la variable proteína, indicando que no hay efecto de la Línea Avanzada sobre la variable proteína.

En relación a la Localidad existieron diferencias significativas ($P < 0.05$) para las variables FAD, CE y GR y no existieron diferencias significativas ($P > 0.05$) para las variables MS, P, FND, LI, lo cual indica que no hubo efecto de la Localidad sobre estas últimas cuatro variables.

Cuadro 1. Resultados del ANOVA ($P \leq 0.05$) para Materia Seca, Proteína, Fibra Neutro Detergente, Fibra Ácido Detergente, Lignina, Cenizas, Grasa.

F. V.	G. L.	MS	P	FND	FAD	LI	CE	GR
Línea avanzada	9	0.00	0.29	0.00	0.05	0.01	0.00	0.00
Localidad	2	0.34	0.35	0.39	0.00	0.16	0.00	0.00
Línea avanzada*Localidad	18	0.96	0.45	0.08	0.00	0.01	0.00	0.00
Media (x)		97.61	17.08	34.22	5.00	3.19	1.85	16.07
C. V. %		1.31	38.62	20.66	19.69	33.26	15.36	11.36

Las Fuentes de Variación analizadas fueron el tratamiento (Línea Avanzada), la Localidad y la combinación de ambas.
 $P \leq 0.05$ = Diferencia Significativa, G.L.=Grados de Libertad, MS=Materia Seca, P=Proteína, FND=Fibra Neutro Detergente, FAD=Fibra Ácido Detergente, LI=Lignina, CE=Cenizas, GR=Grasa, C.V.=Coeficiente de Variación

Para la combinación Línea avanzada*Localidad se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) para las variables FND, FAD, LI, CE y GR; no existieron diferencias ($P < 0.05$) para las variables MS y P, indicando que no hay efecto de la interacción Línea Avanzada*Localidad, sobre las variables Materia Seca y Proteína.

En relación a las variables donde existieron diferencias significativas ($P < 0.05$), para Líneas avanzadas de trigo, Localidades, Líneas Avanzadas*Localidad se realizó una comparación de medias mediante DMS al 5% para determinar la mejor Línea Avanzada en cuanto a variables mencionadas, resultados que se presentan en el Cuadro 2.

Cuadro 1. Resultado de la Comparación de las Medias de DMS al 5 % para Líneas avanzadas de Trigo de las variables Materia Seca, Proteína, Fibra, Lignina, Cenizas y Grasa.

Línea avanzada	MS %	P %	FND g	FAD g	LI %	CE %	GR %
1	94.49 ^e	15.99 ^b	35.40 ^{abc}	5.03 ^{abc}	3.45 ^{abc}	1.35 ^d	15.29 ^{cde}
2	96.87 ^{cd}	17.03 ^b	36.18 ^{ab}	6.08 ^a	3.97 ^a	1.70 ^{bc}	13.78 ^e
3	97.99 ^{abcd}	16.75 ^b	30.81 ^{bcd}	4.51 ^{bc}	3.35 ^{abc}	2.15 ^a	18.17 ^{ab}
4	96.80 ^d	15.91 ^b	39.62 ^a	4.91 ^{bc}	3.80 ^a	1.66 ^{bcd}	19.49 ^a
5	98.99 ^a	25.28 ^a	41.23 ^a	5.52 ^{ab}	3.72 ^{ab}	1.91 ^{ab}	17.27 ^{bc}
6	96.98 ^{bcd}	16.53 ^b	41.16 ^a	5.59 ^{ab}	3.81 ^a	1.95 ^{ab}	17.17 ^{bcd}
7	99.01 ^a	15.13 ^b	42.99 ^a	4.09 ^c	3.32 ^{abc}	2.23 ^a	17.32 ^{bc}
8	98.36 ^{abc}	15.45 ^b	27.53 ^{cde}	4.68 ^{bc}	2.25 ^{cd}	1.96 ^{ab}	15.04 ^{de}
9	98.48 ^{ab}	14.81 ^b	22.31 ^e	5.00 ^{abc}	2.50 ^{cd}	1.52 ^{cd}	15.61 ^{cde}
10	98.12 ^{abcd}	17.89 ^{ab}	24.97 ^{de}	4.63 ^{bc}	1.75 ^{cd}	2.04 ^a	11.61 ^f
DMS	1.50	7.77	8.34	1.16	1.25	0.33	2.15

$P \leq 0.05$ = DMS: Diferencia Mínima Significativa, MS: Materia Seca, P: Proteína, Fibra ND: Fibra por Detergente Neutro, Fibra AD: Fibra por Detergente Acido, LI: Lignina, CE: Cenizas, GR: Grasa, C.V.: Coeficiente de Variación

Los resultados de análisis de varianza ($P \leq 0.05$) indicaron que no existieron diferencias significativas para Materia Seca, Proteína, Fibra Neutro Detergente y Lignina. En el resto de las variables, en donde existieron diferencias significativas para la localidad, se aplicó un análisis de comparación de medias de DMS al 5%. Los resultados se presentan en el cuadro 3.

Cuadro 3. Resultados de la comparación de medias de DMS por Localidad para las variables Materia Seca, Proteína, Fibra Neutro Detergente, Fibra Acido Detergente, Lignina, Cenizas y Grasa.

Localidad	MS	P	FND	FAD	LI	CE	GR
1	97.94 ^a	15.36 ^a	33.59 ^a	5.18 ^a	3.15 ^a	1.70 ^b	15.13 ^{ab}
2	97.53 ^a	18.26 ^a	35.99 ^a	5.46 ^a	3.54 ^a	2.00 ^a	15.74 ^{ab}
3	97.36 ^a	17.61 ^a	33.08 ^a	4.37 ^b	2.88 ^a	1.84 ^{ab}	17.34 ^a
DMS	0.82	4.26	4.56	0.63	0.68	0.18	1.18

MS: Materia Seca, P: Proteína, Fibra ND: Fibra Detergente Neutro, Fibra AD: Fibra Detergente Acido, LI: Lignina, CE: Cenizas, GR: Grasa, DMS: Diferencia Mínima Significativa $P \geq 0.05$, Localidad 1 San Mateo Otzacatipan, Localidad 2 Jocotitlán, Localidad 3 Metepec.

Para la variable FAD se formaron 2 grupos estadísticamente diferentes, el grupo de medias más alto fue para las Localidades 1 y 2 con 5,18g y 5,46 g, respectivamente. La más baja fue para la localidad 3 con 4,37g. Los resultados obtenidos se encontraron por encima del rango propuesto por Esposito *et al.*, (2005) quien propone un rango de 0,9 g a 4,1 g de FAD. Por lo que los valores obtenidos en las localidades de este trabajo no se encuentran en los rangos indicados por el autor. Para la variable Cenizas se formaron 3 grupos estadísticamente diferentes, el grupo de medias más alto fue para la Localidad 2 con 2,0%, seguido de la Localidad 3 (1,84%) y finalmente, la Localidad 1 con 1,70%.

Los valores para ceniza reportados por los autores Serna (2001) y Cuniberti *et al.*, (2011) se encontraron entre 1,55 y 2,00%. Por lo que los valores encontrados en esta investigación se encuentran dentro del rango mencionado.

Para la grasa, se formaron 2 grupos estadísticamente diferentes, el grupo con los valores de medias más alto incluyó a la Localidad 3 con 1,73%. El segundo grupo se conforma por las Localidades 1 y 2 con a 1,51% y 1,57%. A pesar de haberse formado dos grupos estadísticamente diferentes los resultados de las tres localidades se encuentran muy cercanos a los reportados por Surco y Alvarado (2010), quienes obtuvieron valores de 2,0%.

Análisis de Correlación

Se realizó un Análisis de Correlación ($P \leq 0.05$) entre las variables para saber si existía o no, entre ellas esta condición y los resultados se presentan en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Resultados del análisis de Correlación entre las variables Proteína, Materia Seca, Fibra Acido Detergente, Fibra Neutro Detergente, Grasa, Ceniza, Lignina.

	MS	P	FND	FAD	LI	CE	GR
MS	1.00	0.13	0.05	- 0.08	- 0.07	0.22	- 0.06
P		1.00	0.22	0.04	- 0.45	0.05	0.03
FND			1.00	0.14	0.52	- 0.09	0.19
FAD				1.00	0.48	- 0.15	0.14
LI					1.00	- 0.19	0.27
CE						1.00	0.16
GR							1.00

MS: Materia Seca, P: Proteína, Fibra ND: Fibra Detergente Neutro, Fibra AD: Fibra Detergente Ácido, LI: Lignina, CE: Cenizas, GR: Grasa. $P \leq 0.05$: Análisis de Correlación.

Las variables que aparecen en el Cuadro 4, que presentaron alguna correlación fueron:

1.- MS con FND (positiva), FAD (negativa), LI (negativa) y GR (negativa). Lo anterior indica que en tanto los valores de materia seca aumentaron de la misma forma aumentan los de FND pero disminuyen los demás. Esta relación se debe a que la FND muestra los carbohidratos como celulosa, hemicelulosa y lignina. Los análisis fueron realizados en harina debido a ello la relación con la lignina es negativa, de hacerse los análisis con grano los resultados serían positivos.

2.- P con FAD (positiva), CE (positiva), GR (positiva)

La correlación indica que en tanto los valores de Proteína aumentaron, de la misma forma aumentaron Fibra Ácido Detergente, Cenizas y Grasa. La anterior correlación se debe a que el principal residuo al determinar FAD consiste principalmente en lignocelulosa y al aplicar el ácido sulfúrico, queda la ceniza insoluble y lignina, ésta última con fuertes enlaces químicos entre alguna proteínas.

CONCLUSIONES

- Las variables estudiadas, Materia Seca, Proteína, Fibra Neutro Detergente, Fibra Ácido Detergente, Lignina, Cenizas, Grasa de las Líneas Avanzadas de RSM analizadas en este trabajo, se encontraron dentro de los rangos marcados por diferentes autores para su uso en panificación.

- La línea avanzada 5 con el siguiente pedigree CMSS93Y0363IT-6Y-3AL-010M 10Y-0M-0LPY-2SJ-0Y-05T-05CJ-0T, presentó las mejores características bromatológicas, ya que el contenido de proteína está por encima de los estipulado por otros autores analizados. Sin embargo, el contenido de ceniza y grasa se hallaron dentro de los rangos obtenidos por la mayoría de los reportes similares.

Cabe señalar que este material biológico es mexicano y se sembró en tres zonas con las mismas características microclimáticas entre ellas.

- Todas las Líneas Avanzadas mostraron un buen contenido de Proteína, con valores de 25,28% y 14,81%.

BIBLIOGRAFÍA

1. Acero G. M. G. 2007. Manual de Prácticas de Bromatología. Universidad Autónoma de Aguascalientes.
2. Avedaño, C. M. E. 2002. Avance genético en parámetros de calidad panadera en trigo (*Triticum aestivum* L.) combinando mejoramiento convencional y selección asistida por marcadores moleculares en poblaciones segregantes. Tesis de Licenciatura. Universidad Austral de Chile. Valdivia Chile.
3. Antolín, D. S. 2001. Evaluación de la Calidad de Harina de Trigo (*Triticum vulgare*) para la industria de panificación. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de México. Cerrillo Piedras Blancas, Estado de México.
4. Balbuena, M. A, González H. A, Rosales R. E, Domínguez L. A, Franco O y Pérez López D. "Identificación de Genotipos sobresalientes de trigo en el Valle de Toluca". Agricultura Técnica en México. Vol. 34, 2, 2008, pp. 257-261.
5. Hewstone, M.c. 2003. Rediseño de componentes de rendimiento y su interacción con el manejo. In: Seminario Internacional sobre estrategias y Metodologías Utilizadas en el Mejoramiento de Trigo: Un enfoque Multidisciplinario (eds). CIMMYT-INIA: La Estancuela, Uruguay, 1: 25-35.

6. Izadi-Darbandi, A., Bahman Y.-S., “Marker-assisted selection of high molecular weight glutenin alleles related to bread-making quality in Iranian common wheat (*Triticum aestivum* L.)”. *Journal of genetics*. Vol. 91, 2, 2012, pp.193–8
7. FAO. 2015. Manual de Técnicas para Laboratorios de Nutrición de Peces. Programa Cooperativo Gubernamental FAO – Italia.
<http://www.fao.org/docrep/field/003/AB489S/AB489S04.htm> (En línea). Consultado en Enero 2015.
8. Mondragón, S, L. 2006. Parámetros de estabilidad para evaluar trigo cristalino en el Estado de México. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de México. p. 73

GERMINACIÓN *IN VIVO* DE TAMARINDO (*Tamarindus indica* L.)

María Luisa Cárdenas-Avila*¹ Noemí Chávez-Gutiérrez¹ Sergio Moreno Limón¹
Rahim Foroughbakhch P., Ma. Adriana Núñez González, José Guadalupe
Almanza Enríquez, Libertad Leal Lozano¹ y Nancy Dalia Garza Moreno²

¹Universidad Autónoma de Nuevo León, UANL, Facultad de Ciencias Biológicas,
AV. Universidad s/n, Cd. Universitaria San Nicolás de los Garza Nuevo León. Dpto
de Biología Celular. ² Ecología Marina UAGro. * maria.cardenasvl@uanl.edu.mx
* cardenasavila@yahoo.com

INTRODUCCIÓN

Descripción: El tamarindo, *Tamarindus indica* (L) es un árbol caducifolio, de 20 a 30 m de altura, el fruto es una vaina oblonga o linear, algo comprimida lateralmente y comúnmente curvada; con una capa externa (epicarpio) pardo delgada, seca y escamosa (se quiebra irregularmente al secarse); una capa mediana (mesocarpio) pulposa combinada con fibras y una capa coriácea interna (endocarpio) septada entre las semillas, de 5 a 15 cm de largo por 2 a 3.5 cm de ancho y 1.5 cm de espesor; conteniendo 1 a 12 semillas. Los frutos persisten en el árbol por varios meses, las semillas ovaladas, comprimidas lateralmente, lisas, con la testa café lustrosa, de 1 cm de largo y unidas entre sí, carecen de endospermo como reserva nutritiva, presentan un par de cotiledones gruesos y la radícula es pequeña y recta (Fig. 1 a y b).

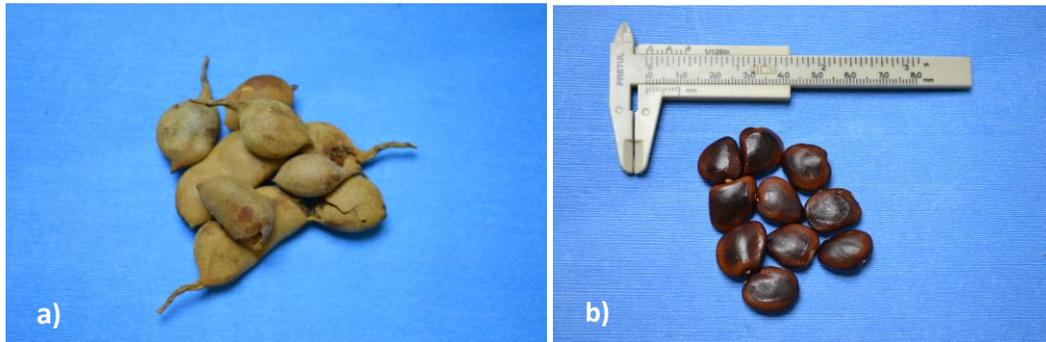


Fig. 1 a) Fruto y b) semilla del tamarindo (*Tamarindus indica* L.)

La cosecha se efectúa cuando los frutos alcanzan su madurez fisiológica, manifestando un cambio de color en su vaina, tornándose de un color verde al café claro.

Distribución: El tamarindo es nativo de las sabanas secas del África Tropical, en lugares como Etiopía, Kenia y Tanzania, incluyendo la zona oeste del África. La introducción del tamarindo al continente americano se dio entre los años 1700 y 1800. En México se llega a encontrar en forma silvestre en las costas del pacífico, principalmente en los estados de Jalisco, Colima, Chiapas y Guerrero. Es una especie ampliamente cultivada en la mayoría de las regiones tropicales y subtropicales. (www.siap.sagarpa.gob.mx).

Usos del tamarindo: El fruto del tamarindo, tiene propiedades diuréticas, esto se debe a que posee una gran cantidad de potasio. Esta propiedad genera un aumento de la diuresis, por lo cual sirve para el tratamiento y la prevención de los cálculos renales e infecciones urinarias; tiene propiedades depurativas, ya que ayuda a eliminar toxinas presentes en nuestro organismo, posee vitaminas entre sus componentes, destacando su aporte en vitamina C (ácido ascórbico) y vitaminas del complejo B. Por otra parte, cerca del 2% es proteína y el 0.5% corresponden a grasas, contiene una gran cantidad de fibras, las cuales favorecen la realización de los procesos digestivos. Alrededor del 8% del tamarindo corresponde a fibra, de esta cantidad cerca del 50% es fibra insoluble. La pulpa del fruto (Fig. 2), tiene un variado número de usos, que van desde la

preparación de refrescos, confitería, conservas, salsas hasta como medicina natural. Una de las mejores formas de aprovechar esta propiedad es consumiendo zumos de tamarindo o ingiriendo directamente fruto. (www.agroecostasat.jimdo.com). Al tamarindo (*Tamarindus indica* L.) se le atribuyen muchas propiedades positivas, por lo que es prudente investigar y avalar científicamente los usos para el beneficio del ser humano.



Fig. 2. Pulpa de tamarindo

Siembra. El Tamarindo se puede propagar por semilla o por injerto, para lo cual se deben seleccionar previamente los árboles “madre” que tengan la característica de alta productividad, frutos de buena calidad y sanos.

Germinación. Las semillas germinan rápidamente con ayuda de tratamientos pregerminativos. En seco, las semillas se conservan muy bien por mucho tiempo. Algunos tratamientos pre germinativos constan de: Inmersión en agua caliente por algunos minutos, en ácido sulfúrico concentrado a diferentes tiempos, incubación con temperaturas hasta de 40°C, estratificación en arena, estratificación con temperatura constante, escarificación (manual).

En este trabajo se plantea: Determinar la viabilidad de semillas comerciales de tamarindo (*Tamarindus indica* L.) mediante la prueba topográfica de Tetrazolio y Evaluar la germinación *in vivo* del tamarindo con y sin tratamiento de escarificación.

PARTE EXPERIMENTAL

El presente trabajo se llevó a cabo en el Departamento de Biología Celular y Genética de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

Material biológico: Se trabajó con semillas orgánicas de frutos de tamarindo (*Tamarindus indica* L.) de locales comerciales de Monterrey, Nuevo León, México.

Pruebas de viabilidad

La prueba topográfica de viabilidad del Tetrazolio se realizó de acuerdo a ISTA (2010). La prueba se realizó con semillas completas (con testa) y con semillas a las que se les se cortó manualmente la testa (escarificación) con una navaja para ayudar a la penetración del reactivo a la región del embrión; se mantuvieron en solución de tetrazolio durante 48 a 72 horas y oscuridad a 25°C. Se realizaron 5 repeticiones de 6 semillas en cada caso. La prueba de viabilidad se considera como positiva, al virar el indicativo de cristalino a rojo. Se realizaron observaciones a partir de las 48 horas.

Germinación *in vivo* de semillas de tamarindo (*Tamarindus indica* L.).

Se realizó la siembra de semillas orgánicas comerciales de frutos de tamarindo (*Tamarindus indica* L.) en charolas germinadoras de 36 cavidades (una semilla por cada cavidad), usando como sustrato tierra-perlita en proporción 1:1. También se realizó una

siembra en cajas petri con papel filtro humedecido con agua corriente que constó de 10 cajas petri con 3 semillas cada una de ellas. En ambos casos (y de acuerdo a los resultados de viabilidad) sólo se sembraron las semillas escarificadas. Condiciones del cultivo: en cámara bioclimática (Biotronette Mark III), fotoperiodo de 14 horas luz, temperatura de $26 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y riego constante.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Prueba de viabilidad

Bajo las condiciones a las que se sometió la prueba (oscuridad y 25°C) el indicador tetrazolio color cristalino, viró a rojo a partir de las 48 horas, en semillas de tamarindo (*Tamarindus indica* L.) que fueron sometidas al tratamiento pregerminativo de escarificación (corte manual de la testa), lo que se considera **positivo** de acuerdo a ISTA (2010) (Fig. 3). En las semillas de tamarindo con testa completa (sin escarificación) no dio positiva la prueba (no viró el indicador tetrazolio).



Fig. 3. Prueba de tetrazolio positiva en semillas de *Tamarindus indica* (L.) escarificadas manualmente.

Germinación *in vivo* de *Tamarindus indica* (L.)

En las cajas de petri con papel filtro humedecido, la germinación inició a los 10 días del cultivo con la emergencia de radícula en el 100% de las semillas con escarificación (se eliminó los restos de la testa, para la foto)(Fig. 4).



Fig. 4. Germinación de semillas de *Tamarindus indica* L. en placa petri a los 10 días de la siembra.
Nota: (se eliminó los restos de la testa, para la foto)

De las semillas sembradas en tierra con perlita (1:1) germinó el 100% con escarificación también a los 10 días del cultivo (Fig. 5). En las semillas sin escarificación no hubo germinación.



Fig. 5. Germinación de *Tamarindus indica* (L) en tierra con perlita (1:1).

CONCLUSIONES

En base a los resultados se concluye que las semillas de tamarindo (*Tamarindus indica* L.) requieren de un tratamiento pregerminativo, (en este caso se probó la escarificación mecánica) para su germinación y que en la germinación *in vivo* tanto en caja petri como en sustrato tierra:perlita (1:1) se alcanzan altos y rápidos resultados de germinación (100% en 10 días) bajo las condiciones controladas de luz y temperatura de este estudio.

Este trabajo apoya la posibilidad de establecer cultivos de *Tamarindus indica* L. en lugares en donde no se presenta en forma silvestre.

Bibliografía

<http://agroecostasat.jimdo.com/el-tamarindo-caracter%C3%ADsticas-y-beneficios/>

<http://w4.siap.sagarpa.gob.mx/AppEstado/Monografias/Frutales/Tamarindo.html>

ISTA 2010.(International Seed Testing Association – ISTA)

Reglas Internacionales para el Ensayo de Semillas. Ministerio de Agricultura. Dirección General de Producción Agraria.

RESCATE DEL ZAPOTE NEGRO *DIOSPYROS XOLOCOTZII*

Miguel Guzmán^a, Santiago Arizaga^a, Rosa García^b.

^aEscuela Nacional de Estudios Superiores Unidad Morelia–UNAM; Antigua Carretera a Pátzcuaro No. 8701 Col. Ex-hacienda de San Jose de la Huerta, Morelia Michoacán. C.P 58190, ^bFacultad de Químico Farmacobiología, UMNSH. Tzintzuntzan No. 173 Col. Matamoros C.P. 58234 Morelia, Michoacán, México. rmgarcim@umich.mx

RESUMEN

Diospyros xolocotzii es un árbol de reciente descubrimiento que está al borde de su extinción por el poco valor que tiene. En el pasado, la gente consumía sus frutos. Actualmente es raro e incluso se ha señalado que son venenosos. Se distribuye en la Mintzita, Santiago Undameo y Santa María, dentro del Municipio de Morelia. Los sexos están separados entre individuos (planta diótica). La densidad poblacional actual está conformada por menos de los 30 individuos reproductivos; sólo cinco árboles femeninos producen frutos. Muchos individuos están dentro de parcelas agrícolas. Los frutos experimentan cambios de consistencia y color, lo que sugiere que hay cambios metabólicos y bioquímicos muy acentuados que fueron motivo de estudio en este trabajo. Se realizaron estimaciones bioquímicas para determinar la humedad, cenizas, nitrógeno proteico, extracto etéreo y fibra cruda en frutos de las tres especie de zapotes (*D. digyna*, *D. kaki* y *D. xolocotzii*). Además se evaluó la presencia de taninos en la última especie. Se encontraron diferencias en la bioquímica de los frutos de las tres especies, pero en general, el fruto de *D. xolocotzii* presenta mayor valor nutricional. Además, presentó taninos pero en concentraciones bajas que minimizan su efecto desagradable al paladar y nocivo a la salud. El fruto es climatérico y por lo tanto, puede ser cosechado aún verde para luego concluir su maduración fuera del árbol. Los resultados demuestran que frutos de *Diospyros xolocotzii* tienen importancia económico ya que son comestibles y de calidad nutricional, lo que sugiere encauzar acciones para su aprovechamiento mediante huertos. Esto a su vez coadyuvar hacia su rescate de la extinción.

1. INTRODUCCIÓN

El zapote prieto (*Diospyros xolocotzii*) es una planta leñosa endémica del Occidente mexicano que se está extinguiendo en Michoacán porque no se aprovecha. El mesocarpio del fruto sufre cambios de sabor: insípido cuando está verde y dulce cuando madura. Muy pocas personas consumen el fruto, otras dicen que es venenoso. Sin embargo, la mayoría de la gente no conoce el fruto y/o la planta, por lo que es catalogada como una planta sin valor de uso.

Lo anterior es la causa que condujo a esta investigación para cuantificar si el fruto del zapote prieto es comestible y caracterizar su valor nutricional. A finales de 2013, se realizaron análisis toxicológicos y bioquímicos del mesocarpio de frutos colectados de ANP La Mintzita, Michoacán. Con fines comparativos, también se analizaron estos parámetros bioquímicos en pèrsimo (*D. kaki*) y zapote negro (*D. digyna*).

Los resultados de los análisis bioquímicos demuestran que el fruto del zapote prieto es comestible y de alto valor nutricional, comparable a otros frutos de consumo tradicional, pero que generalmente son exóticos a México. El fruto es climatérico, ya que madura después de ser cosechado verde de la planta, además presenta tóxicos pero en cantidades bajas lo que minimiza su efecto desagradable al paladar y nocivo a la salud.

Estos resultados demuestran que *Diospyros xolocotzii* tiene potencialmente importancia económico ya que los frutos son comestibles y de calidad nutricional. Por lo tanto, entre las acciones que se podrían implementar para cambiar la percepción del aprovechamiento del zapote prieto, se encuentra su uso como planta frutícola. Colateralmente, estas iniciativas podrían ayudar en el rescate y conservación de la especie de su extinción.

2. TEORÍA

El zapote prieto, cuyo nombre científico es *Diospyros Xolocotzii* es una especie vegetal leñosa descubierta en Morelia, Michoacán en 1988. En 2010 se decretó la protección especial de la especie por la Semarnat (NOM-059-SEMARNAT-2010), debido a su escasa distribución. (Arizaga 2012).

Al madurar, los frutos consumen proteínas, grasas, carbohidratos (almidones en su mayoría) y ciertos minerales, que convierten en energía útil para su proceso de crecimiento. A este proceso le llamamos maduración (Moreno, 2010).

El principal objetivo de este estudio radicó en confirmar si el fruto del zapote prieto *D. xolocotzii* es apto para el consumo humano al madurar. Con fines comparativos, el estudio bioquímico también se realizó en otras dos especies de zapotes, uno exótico (*D. kaki*) y otro mexicano (*D. digyna*).

En torno al origen, el zapote negro (*D. digyna*) es una especie nativa mexicana distribuida a lo largo del país y que se comercializa a lo largo del continente americano, mientras que el pèrsimo o caqui (*D. kaki*) es una especie exótica que procede del Este de Asia y que actualmente se mercantiliza en todo el mundo. Las tres especies de zapotes utilizadas en esta investigación pertenecen al género *Diospyros* y se ubican dentro de la familia de las Ebenáceae (Carranza, 2000).

3. PARTE EXPERIMENTAL

Se realizó un análisis toxicológico, mediante una prueba preliminar para determinar la presencia de taninos, los cuales están asociados a diferentes enfermedades.

Para la medición de las características alométricas se basó en cuantificar los cambios morfológicos y fisiológicos experimentados en una muestra no aleatoria de 10 frutos seleccionados por especie de zapote durante un periodo de 10 días.

Se determinó la caracterización bioquímica, la cual consistió en realizar un análisis químico proximal de los frutos en las 3 especies de zapotes estudiados, el estudio comprende las siguientes determinaciones, Humedad, cenizas, N₂ proteico, extracto etéreo y fibra cruda.

Dentro de los que respecta de resultados en referencia a la concentración de taninos, se encontró que la concentración de taninos se incrementó pero sin alcanzar valores tóxicos en las dos especies de zapotes analizados con la maduración de los frutos. Asimismo, los taninos resultaron estar presentes en mucha mayor cantidad en las hojas de *D. xolocotzii*, esto se encuentra resumido en la Tabla 1.

Tabla 1. Concentración de taninos presentes en zapotes mexicanos

Especie	Estructura Anatómica			
	Hojas	Fruto verde	Fruto olivo	Fruto negro
<i>D. Digyna</i>	–	–	1.3065 X 10 ⁻⁰⁶	1.5797 X 10 ⁻⁰⁶
<i>D. Xolocotzii</i>	0.1346	5.0935 X 10 ⁻⁰⁸	9.9412 X 10 ⁻⁰⁷	1.4614 X 10 ⁻⁰⁶

Las determinaciones de la siguiente tabla (2) se realizaron en frutos verdes con las características propias del estadio, consistencia dura y concentraciones bajas de grados °Brix. Cabe destacar la similitud entre las características fenotípicas de las especies mexicanas con la única diferencia significativa en el tamaño del fruto y las consecuencias que esto conlleva.

Tabla 2. Parámetros Alométricos del género Diospyros

PARÁMETRO	<i>D. kaki</i>	<i>D. digyna</i>	<i>D. xolocotzii</i>
Peso del Fruto (g)	216.916	141.61	30.88
Peso de la Pulpa (g)	186.62 ± 1.94	112.92 ± 12.44	20.28 ± 2.39
(%)	-86.03	-79.74	-65.67
Peso de la Cáscara (g)	27.50 ± 1.90	18.49 ± 1.56	7.11 ± 0.72
(%)	-12.68	-13.06	-23.02
Peso de la Corona (g)	2.796 ± 0.13	1.01 ± 0.07	0.54 ± 0.05
(%)	-1.29	-0.71	-1.75
Peso de las Semillas (g)	0	9.19 ± 0.62	2.95 ± 0.59
(%)	-	-6.49	-9.56
Cantidad de Semillas	0	5.8± 0.36	3.8± 0.50
Diámetro Polar	78.01 ± 0.58	71.71 ± 1.77	39.44 ± 1.28
(mm)			
Diámetro Ecuatorial	72.08 ± 1.24	74.80 ± 1.86	36.61 ± 1.25
(mm)			

Tabla 3. Parámetros Fisiológicos del género Diospyros

	<i>D. xolocotzii/ D. digyna</i>	<i>D. xolocotzii/ D. digyna</i>	<i>D. xolocotzii/ D. digyna</i>	<i>D. kaki</i>
Color	Verde	Olivo	Negro	Naranja
Consistencia (kg/cm ²)	4.95 ± 0.045	0.345± 0.015	0.27	0.3
Peso perdido (%)	0	3.32	6.7	-

Los frutos de color verde mostraron un peso promedio de 172.29 g en *D. digyna* y 19.89 g en *D. xolocotzii*. Finalmente, cuando los frutos se tornan negros, el peso promedio se redujo un 5.83% (9.73 g) y un 2.70% (0.52 g) con respecto a los frutos verdes, entre *D. digyna* y *D. xolocotzii*, respectivamente.

Tabla 4. Concentración de azúcar (Bx*) en zapotes del género Diospyros

Especie	Día									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>D. xolocotzii</i> (Bx*)	7.9	8.7	9	11.9	14.3	16.4	18.5	21.5	22.4	23.1
<i>D. digyna</i> (Bx*)	8.2	13.1	15.9	18.6	23.5	24.1	24	26.33	29.11	29.55
<i>D. Kaki</i> (Bx*)	16.8	17	19.6	22	23.4	25.8	25.75	26.75	29	30

Dentro de los resultados de concentración de azúcar, las tres especies de zapotes exhibieron el mismo patrón de incremento paulatino en su concentración de azúcares como una función del tiempo de monitoreo, esto se puede observar en la Tabla 4.

De los resultados del análisis proximal, se tuvieron los siguientes expresados en la Tabla 5:

Tabla 5. Analisis quimico proximal de las especies de zapotes

Parametro	Especie		
	<i>D. xolocotzii</i>	<i>D. digyna</i>	<i>D. kaki</i>
Humedad (%)	80,22	82,3	78,06
Base seca (%)	19,27	17,69	21,93
Ceniza (%)	0,47	0,57	0,46
Fibra Cruda*(%)	1,97	1,57	0,61
N ² Proteico (%)	3,24	0,21	4,42
Extracto Etereo (%)	1,22	1,82	1,6

Los valores del análisis químico proximal revelan que el fruto de *D. xolocotzii* es comestible y de valor nutricional comparable a las especies comerciales analizadas.

4. CONCLUSIONES

Sánchez-Atanasio (2009), encontró que el fruto del zapote prieto (*Diospyros xolocotzii*) tiene tres fases de maduración que son apreciables a través del color y la consistencia que experimentan. En primera instancia, los frutos son de color verde brillante posteriormente pasan aún color verde olivo y finalmente cambian a un tono café oscuro. Este tiempo es ligeramente menor al reportado en 2009. La diferencia radica seguramente en la edad del fruto en el que fue cosechado. Este patrón de maduración observado en los zapotes mexicanos, es típico de muchos otros tal como por la pera (*Pyrus communis*), el plátano (*Musa sapientum*), el mango (*Mangifera indica*). Hemos documentado que los frutos de las especies mexicanas de zapotes experimentan pérdida de peso en forma exponencial, quizás debido a que cuando el fruto está unido al árbol, mantiene la continuidad vascular para recibir agua que compensa las pérdidas por transpiración, por lo que, al desprenderlo del árbol, experimenta estrés hídrico. Los grados Brix han sido usados para medir la cantidad aproximada de azúcares en las frutas, en esta investigación, se observó que conforme el fruto madura fisiológicamente, la concentración va en aumento. El incremento de azúcar en función del estado fenológico de los frutos es muy similar entre *D. digyna* y *D. xolocotzii*. En torno a la toxicología analizada entre los zapotes mexicanos, se encontró que el mesocarpio de los frutos analizados exhibe la presencia de taninos, pero en concentraciones bajas por lo cual no debería de mostrar problemas toxicológicos durante su ingesta.

BIBLIOGRAFÍA (ARIAL, bold, 10 pt. justificado a la izquierda)

1. Arizaga, S. 2012. Al rescate Del Zapote Prieto en el Occidente mexicano. El Faro la Luz De la Ciencia. Boletín Informativo de la coordinación de la investigación científica UNAM año XII No. 140 pp: 12
2. Carranza, G.E. 2000. Flora del Bajío y de regiones adyacentes. Instituto de Ecología, A.C. Centro Regional del Bajío, Pátzcuaro, Michoacán. pp:1-9
3. Luis 2005. Cambios bioquímicos y fisiológicos durante la maduración de frutos de zapote negro (*Diospyros digyna* Jacq.) Publicado como ARTÍCULO en Agrociencia 39 pp: 173-181.
4. Moreno, F. 2012. ABC de Frutas Y Verduras. (Manual Técnico de Frutas y Verduras) Grupo PM pp: 2 – 45
5. Morrillas 2012 Análisis nutricional de alimentos vegetales con diferentes orígenes: Evaluación de capacidad antioxidante y compuestos fenólicos totales 2012 Nutr. clin. diet. hosp. 2012; 32(2):8-20

6. Nakano, R., Y. Kubo, A. Inaba, and S. Harima. 2003, b. Involvement of stress. induced ethylene biosynthesis in fruit softening of "Saijo" persimmon fruit. *Acts Horticulture* 601pp: 219-226.
7. NOM-059-SEMARNAT 2010; Semarnat, 2010.
8. Pearson. D; *Técnicas de laboratorio para el análisis de alimentos*; Acribia, S.A. Zaragoza (España) 1993.
9. Sánchez Atanasio, F. 2009. Bases biológicas y agronómicas del manejo del Zapote prieto (*Diospyros xolocotzii*), especie endémica de Michoacán". Tesis de Licenciatura en Ingeniero Agrónomo. Instituto Tecnológico del Valle de Morelia. Morelia, Michoacán. pp.
10. Shibamoto, T. Y Bjeldanes, L. (1996). *Introducción a la toxicología de los alimentos*. Editorial Acribia, S.A., Zaragoza. pp: 99

ZARZAMORAS SILVESTRES: PLANTAS MEXICANAS CON POTENCIAL ANTIMICROBIANO

María Blanca Silva-Adame, L.V. Pedraza-Arriola, Pedro Antonio García-Saucedo

Facultad de Agrobiología "Presidente Juárez", Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Uruapan, Michoacán

RESUMEN

La zarzamora es una planta perteneciente al género *Rubus* la cual se desarrolla en distintos países, registrándose en México más de 20 especies silvestres y en el mundo más de 700. Diversos estudios han evidenciado la bioactividad de extractos obtenidos de plantas pertenecientes a este género resaltando su potencial antioxidante, antiinflamatorio³ y antimicrobiano, los cuales han sido atribuidos principalmente al contenido en compuestos polifenólicos. Los polifenoles actúan, entre otras funciones, como mecanismo de defensa contra insectos y patógenos; en este sentido se ha reportado la actividad antimicrobiana de polifenoles extraídos de plantas del género *Rubus* frente a patógenos de humanos como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Campilobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, etc.

En el presente trabajo se evaluó el potencial antimicrobiano de dos especies de zarzamora silvestre, *Rubus adenotrichos* y *Rubus coriifolius*, colectadas en el estado de Michoacán mediante la obtención de extractos metanólicos a partir de hojas y tallos deshidratados y la determinación del potencial de inhibición de los microorganismos fitopatógenos *Pantoea stewartii* y *Fusarium* sp. Se registró el mejor resultado de actividad antibacteriana con el extracto de tallo de la especie *Rubus adenotrichos* alcanzando un 97.78 % de inhibición de *Pantoea stewartii*, el cual presentó un contenido de polifenoles totales de 0.045 ± 0.03 µg EAG/µL. Por otro lado, el mejor resultado de actividad antifúngica fue exhibido por el extracto de hoja obtenido por extracción sucesiva en equipo Soxhlet de *Rubus adenotrichos* alcanzando un 36.335 % de inhibición de micelio de *Fusarium* sp. Estas son las primeras evidencias del potencial antimicrobiano de estas plantas; aún es necesaria la realización de mayores evaluaciones a reportar su efecto inhibitorio contra fitopatógenos de interés para el sector agroalimentario.

Palabras clave: actividad antimicrobiana, polifenoles, *Pantoea stewartii*, *Fusarium* sp.

1. INTRODUCCIÓN

El género *Rubus* presenta plantas como la zarzamora que se desarrollan en México, destacando Michoacán. En el estado, estas plantas forman parte importante de la herbolaria en el tratamiento de distintos padecimientos e infecciones. En México se registran cerca de 20 especies silvestres pertenecientes a este género y 700 especies han sido reportadas a nivel mundial, de las cuales sólo se ha evaluado la bioactividad de un reducido número de ellas, generalmente bajo la perspectiva de beneficio para la salud humana (Rzedowski y Calderón, 2005; Cuevas-Rodríguez *et al.*, 2010; Quave *et al.*, 2012).

Las plantas producen una gran variedad de metabolitos secundarios y algunos pueden ser usados como moléculas o biopesticidas que eviten el desarrollo de insectos y microorganismos, tal es el caso de los polifenoles los cuales desempeñan funciones de protección contra la radiación UV y

mecanismo de defensa contra patógenos y herbívoros, entre otras; por lo anterior, existe un creciente interés en la búsqueda de moléculas con la actividad y su aplicación en el manejo integrado de plagas y para el control de microorganismos patógenos, lo cual ha llevado a la búsqueda de nuevas fuentes de productos biológicamente activos, la identificación de moléculas bioactivas y los sus mecanismos de acción (Conner *et al.*, 2000; Céspedes *et al.*, 2014).

Actualmente los estudios realizados sobre polifenoles extraídos de especies de *Rubus* mexicanas y su efecto antimicrobiano, son escasos, más aún para el control de fitopatógenos; por ello, en el presente trabajo se determinó el potencial de inhibición extractos polifenólicos obtenidos de dos plantas silvestres de zarzamora sobre *Pantoea stewartii* y *Fusarium* sp., microorganismos patogénicos, aportando así evidencias sobre su actividad antimicrobiana para el control de fitopatógenos.

2. PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal. Se colectaron las especies *Rubus adenotrichos* y *Rubus coriifolius* en el cerro “La Charanda” en la ciudad de Uruapan, Michoacán, ubicado con los datos georreferenciales N 19° 26'17.6" W 102° 03'49.3" con una elevación de 1. Las dos morfoespecies colectadas fueron seleccionadas de acuerdo a características morfológicas contrastantes, destacando la presencia o ausencia de pubescencias en el tallo, así como el color de dicho órgano.

Obtención de extractos metanólicos. Hojas y tallos deshidratados de ambas especies fueron sometidos a extracción metanólica por maceración y extracción sucesiva en equipo Soxhlet. El primer método se realizó por un periodo de 5 días a 4 °C, considerando una proporción 1:10 de material vegetal y solvente; transcurrido ese tiempo, los extractos se filtraron con papel filtro Whatman # 4 y posteriormente se concentraron en evaporador rotatorio a 40 °C por triplicado. Por otro lado, el equipo Soxhlet fue utilizado para una extracción sucesiva con los solventes n-hexano, cloroformo y metanol, en ese orden. Se pesaron 5 g de material vegetal deshidratado el cual fue colocado en una bolsa hecha con papel filtro Whatman # 4 y se introdujo en un dedal de celulosa; se usó un volumen de 150 mL de cada solvente llevándolos a ebullición durante 4 horas. Finalmente, los EC se resuspendieron en una solución de DMSO (dimetil sulfóxido) y agua destilada en proporción 1:10 v/v y se almacenaron a 4 °C hasta su utilización. La extracción Soxhlet se realizó por triplicado utilizando únicamente hoja de la especie *Rubus adenotrichos*.

Cuantificación de compuestos polifenólicos. Se siguió el protocolo establecido por Estupiñán *et al.* (2011) con algunas modificaciones de acuerdo a Singleton *et al.* (1999). La mezcla de reacción consistió en 50 µL de extracto, 100 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu (FC) 1N y 550 µL de agua destilada, dando un tiempo de incubación de 8 min con previa homogenización de la mezcla; posteriormente se agregaron 300 µL de Na₂CO₃ al 7.5 % y se incubó durante 15 min a temperatura ambiente. Finalmente se registró la absorbancia a 760 nm en espectrofotómetro UV-Vis marca Nanodrop 2000c®.

Evaluación de actividad antibacteriana. Se realizó una cinética de crecimiento de *Pantoea stewartii* para la determinación del tiempo de incubación necesario para determinar el potencial antibacteriano, registrando la densidad óptica y las UFC/mL. Se preparó el inóculo bacteriano en medio PD incubando a 37 °C y 150 rpm durante 20 horas, corroborando que registrara una densidad óptica de 0.9-1 y una población microbiana aproximada a 1 x 10⁹ UFC/mL, para posteriormente inocular los tratamientos y controles con 500 µL, estableciéndolos por triplicado. El porcentaje de inhibición y las UFC/mL de *Pantoea stewartii* obtenidos se evaluaron a las 10 horas de ensayo empleando los métodos de diluciones seriales y siembra en placa.

Evaluación de actividad antifúngica. Se utilizó el protocolo descrito por Rodríguez-Vaquero *et al.* (2007) con algunas modificaciones, utilizando cajas Petri que contenían medio de cultivo agar papa-dextrosa (PDA) formando una delgada capa de espesor de aproximadamente 0.5 cm; posteriormente se agregó 1 mL de los EC o de disolución DMSO-H₂O, se homogenizaron y finalmente se adicionó medio PDA suficiente para cubrir la capacidad de la caja. Después de la solidificación del medio de cultivo, Todas las cajas Petri fueron inoculadas con el hongo fitopatógeno *Fusarium* sp. en el centro de la caja por picadura con ayuda de palillos de madera estériles, se sellaron e incubaron a temperatura ambiente. Cada tratamiento y control fue establecido por triplicado. Los resultados fueron expresados como diámetro de la zona de inhibición de crecimiento del micelio, para lo cual se registró el diámetro micelial a partir de las 72 horas de incubación y hasta las 168 horas.

3. RESULTADOS

Actividad antibacteriana. Todos los extractos evaluados registraron más del 80 % de inhibición de la bacteria (Figura 1), destacando el tratamiento con extracto de tallo de *R. adenotrichos*, el cual presentó un bajo contenido en polifenoles al compararlo con el resto de los extractos y alcanzó un 91.18 % de inhibición.

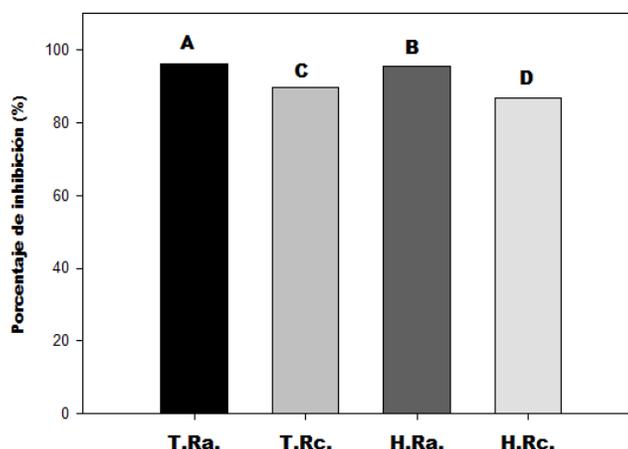


Figura 1. Porcentaje de inhibición de *Pantoaea stewartii* por efecto de su exposición a extractos de hojas (H.Ra y H.Rc) y tallos (T.Ra y T.Rc) de dos especies silvestres de zarzamora. R.c.: *Rubus coriifolius*, R.a.: *Rubus adenotrichos*. Literales distintas denotan diferencias significativas, Tukey ($p > 0.05$).

Pocas especies del género *Rubus* han sido evaluadas con la finalidad de evidenciar su potencial antimicrobiano, tal es el caso de *Rubus chamaemorus*, *Rubus coriifolius*, *Rubus urticaefolius* y *Rubus ulmifolius*, cuyos extractos metanólicos y acuosos en distintas concentraciones han inhibido el desarrollo de microorganismos patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, etc. (Sisti *et al.*, 2008; Panizzi *et al.*; 2002). Sin embargo, no existe un reporte sobre el potencial antimicrobiano exhibido por plantas silvestres del género *Rubus* para control de fitopatógenos.

Actividad antifúngica. El extracto de hoja *R. adenotrichos* resultó ser el más activo, como ya se mostraba en el cuadro 9, mostrando una zona de inhibición máxima de 20.86 mm a las 144 h; por otro lado, el extracto con menor actividad fue tallo *R. coriifolius* el cual registró una zona de

inhibición máxima de 6.43 mm a la misma hora que el tratamiento más activo. De manera interesante, todos los extractos registraron la mayor inhibición a las 144 h y, 24 horas después, éste valor disminuye. Lo anterior podría atribuirse a una posible adaptación del hongo al medio con los extractos. Céspedes *et al.* (2014) establecen que diámetros de zonas de inhibición de 6-9 mm son considerados como el resultado de una elevada actividad antifúngica; para esta evaluación, la zona de inhibición exhibida por el extracto de hoja *R. adenotrichos* a las 72 h, de acuerdo a este criterio, evidencia una elevada actividad de inhibición de *Fusarium* sp.

Tabla 1. Actividad antifúngica de extractos metanólicos de *R. adenotrichos* y *R. coriifolius* frente a *Fusarium* sp. expresada como diámetro de zona de inhibición del micelio.

Tratamiento	Concentración de polifenoles (µgEAG/µL)	Diámetro de zona de inhibición del micelio (mm)				
		72h	96h	120h	144h	168h
Control Absoluto	0	-	-	-	-	-
DMSO: H ₂ O 1:10 v/v	0	0.320	0.310	-	-	-
<i>R. adenotrichos</i> hoja	1.878 ± 0.038	4.850	4.600	5.630	9.610	7.280
	9.390 ± 0.159	6.440	8.390	11.160	18.260	15.870
<i>R. adenotrichos</i> tallo	0.454 ± 0.030	2.520	3.550	4.620	8.850	6.360
	2.271 ± 0.159	5.020	6.750	8.830	13.950	12.730
<i>R. coriifolius</i> hoja	3.608 ± 0.239	1.740	6.580	2.780	6.850	5.000
	18.044 ± 0.159	6.560	7.930	8.080	14.540	11.280
<i>R. coriifolius</i> tallo	0.761 ± 0.036	0.770	0.890	0.770	4.600	1.560
	3.807 ± 0.159	2.750	2.810	3.490	6.130	4.820
<i>R. adenotrichos</i> hoja (Soxhlet)	0.813 ± 0.02	4.060	7.740	3.920	6.430	3.600
	4.065 ± 0.16	7.660	10.520	13.880	20.860	19.560

4. CONCLUSIONES

Gracias a los resultados obtenidos puede concluirse que la concentración y tipo de polifenoles están ligados a la técnica de extracción empleada. Por otro lado, aunque no se realizó un análisis de perfil fitoquímico, las diferencias en el grado de inhibición observadas hacen suponer que existen distintos tipos de polifenoles en los materiales colectados. En lo referente a la bioactividad, el extracto metanólico de tallo de *Rubus adenotrichos* resultó ser el más efectivo para la inhibición de *Pantoea stewartii*. Asimismo los extractos metanólicos de ambas especies evaluadas afectaron el desarrollo micelial de *Fusarium* sp. en distinto grado, por lo que pueden ser propuestos como alternativa de control. Las investigaciones bibliográficas permiten establecer que este es el primer trabajo donde se reporta el efecto inhibitorio de extractos obtenidos a partir de especies silvestres del género *Rubus* con enfoque fitopatológico. Además, las evidencias científicas sobre la bioactividad de especies silvestres de zarzamora mexicanas son escasas o nulas, más aun considerando que en este trabajo se evaluaron dos órganos vegetales de manera independiente.

Los resultados mostrados en esta investigación permiten proponer a dos materiales silvestres de zarzamora, *R. coriifolius* y *R. adenotrichos* para su uso como fuente de compuestos con potencial antimicrobiano, pudiendo ser considerados como alternativas para el control de microorganismos fitopatógenos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Céspedes, C. L.; Salazar, J. R.; Ariza-Castolo, A.; Yamaguchi, L.; Ávila, J. G.; Aqueveque, P.; Kubo, I.; Alarcón, J. Biopesticides from plants: *Calceolaria integrifolia* s.l. *Environ Res*, 132, 2014 pp. 391-406.
2. Conner, W. E.; Boada, R.; Schroeder, F. C.; Gonzalez, A.; Meinwald, J.; Eisner, T. Chemical defense: bestowal of a nuptial alkaloidal garment by a male moth on its mate. *Proc Nat Acad Sci*, 97, 2000, pp. 14406-14411.
3. Cuevas-Rodríguez, E. O.; Dia, V. P.; Yousef, G. G.; García-Saucedo, P. A.; López-Medina, J.; Paredes-López, O.; González de Mejía, E.; Lila, M. A. Inhibition of pro-inflammatory responses and antioxidant capacity of mexican blackberry (*Rubus* spp.) extracts. *J Agric Food Chem*, 58, 2010, pp. 9542-9548.
4. Daglia, M. Polyphenols as antimicrobial agents. *Curr Op Biotech*, 23, 2012, pp.174-181.
5. Estupiñán, D. C.; Schwartz, S. J.; Garzón, G. A. Antioxidant activity, total phenolics content, anthocyanin and color stability of isotonic model beverages colored with Andes berry (*Rubus glaucus* Benth) anthocyanin powder. *J Food Sci*, 76, 2011, pp. S26-S34.
6. Panizzi, L.; Caponi, C.; Catalano, S.; Cioni, P. L.; Morelli, I. In vitro antimicrobial activity of extracts and isolated constituents of *Rubus ulmifolius*. *J Ethnopharm*, 79, 2002, pp. 165-168.
7. Paredes-López, O.; Cervantes-Ceja, M. L.; Vigna-Pérez, M.; Hernández-Pérez, T. Berries: Improving human health and healthy aging, and promoting quality life-A review. *Plant Foods Hum Nutri*, 65, 2010, pp. 299-308.
8. Puupponen-Pimiä, R.; Nohynek, L.; Alakomi, H. L.; Oksman-Caldentey, K. M. Bioactive berry compounds-novel tools against human pathogens. *Appl Microbiol Biotechnol*, 67, 2005, pp. 8-18.
9. Quave, C. L.; Estévez-Carmona, M.; Compadre, C. M.; Hobby, G.; Howard, H.; Beenken, K. E.; Smeltzer, M. S. Ellagic acid derivatives from *Rubus ulmifolius* inhibit *Staphylococcus aureus* biofilm formation and improve response to antibiotics. *Plos ONE*, 7, 2012, pp. e28737.
10. Rodríguez-Vaquero, M. J.; Alberto, M. R.; Manca de Nadra, M. C. Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food control*, 18, 2007, pp. 93-101.
11. Rzedowski, J. y Calderón, R. G. Rosaceae. Flora del Bajío y de regiones adyacentes, Fascículo 135, Co-edición entre el Instituto de Ecología, A.C. y la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Morelia, Michoacán, 2005, pp. 123-143.
12. Singleton, V. C.; Orthofer, R.; Lamuela-Raventós, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Meth Enz*, 299, 1999, pp. 152-178.
13. Sisti, M.; De Santi, M.; Fraternali, D.; Ninfali, P.; Scoccianti, V.; Brandi, G. Antifungal activity of *Rubus ulmifolius* Schott standardized in vitro culture. *LWT-Food Sci Tech*, 41, 2007, pp. 946-950.

DESARROLLO DE UN NANO-INMUNOSENSOR BASADO EN NANOPARTICULAS METALICAS DE ORO

Leslie Susana Arcila Lozano^a, Marlon Rojas López^a.

^aCentro de Investigación en Biotecnología Aplicada del Instituto Politécnico Nacional.
lsarcila@gmail.com, marlonr1@hotmail.com

RESUMEN

Se desarrolló un inmunosensor basado en nanopartículas metálicas de oro. El sensor fue obtenido conjugando las nanopartículas de oro con la proteína estreptavidina en un primer paso y posteriormente con anticuerpos biotinilados en su superficie. El arreglo obtenido (nanopartícula de oro-estreptavidina-inmunoglobulina) fue caracterizado por espectroscopia UV/Vis. El nanoinmunosensor diseñado posee características que le permitirán ser utilizado en la biodetección de analitos de interés biotecnológico.

1. INTRODUCCIÓN

Las nanopartículas de oro (AuNps) son empleadas en diversas áreas del conocimiento: como la óptica, catálisis, ciencia de los materiales, así como en nanomedicina e inocuidad alimentaria¹. Una variedad de biomoléculas, enzimas, toxinas, ácidos nucleicos y proteínas, pueden ser adsorbidas a la superficie de las nanopartículas de oro confiriéndoles a éstas la capacidad de ser utilizadas como marcadores biológicos². La conjugación de nanopartículas inorgánicas con moléculas biológicas genera materiales híbridos donde se fusionan las propiedades y funcionalidad de ambos sistemas, por ejemplo la fluorescencia o propiedades ópticas de las partículas inorgánicas y la capacidad de las biomoléculas para unirse y reconocer específicamente un sitio blanco³. En la naturaleza se han descrito sistemas basados en poseer una alta afinidad y especificidad similares al sistema enzima/sustrato, ejemplo de ello es el sistema Estreptavidina/Biotina. La afinidad y especificidad del sistema estreptavidina/biotina ha permitido que los investigadores lo empleen para un gran número de aplicaciones en bio-nanotecnología, ya que pueden acoplarse biomoléculas, colorantes fluorescentes o anticuerpos biotinilados al sistema⁴. El objetivo del trabajo fue desarrollar un inmunosensor coloidal basado en nanopartículas de oro. El cual fue obtenido conjugando las nanopartículas de oro con la proteína estreptavidina en un primer paso y posteriormente con anticuerpos biotinilados en su superficie. El arreglo obtenido (nanopartícula de oro-estreptavidina-inmunoglobulina) fue caracterizado por espectroscopia UV/Vis.

2. PARTE EXPERIMENTAL

Se llevaron a cabo una serie de reacciones de síntesis de nanopartículas de oro por el método de reducción con citrato de sodio, las cuales fueron caracterizadas individualmente por espectrofotometría UV/Vis con la finalidad de observar la resonancia del plasmón superficial (RPS), que es la frecuencia a la cual oscilan los electrones de conducción en respuesta al campo eléctrico alternante de una onda electromagnética incidente. La RPS es responsable de los colores atractivos de las soluciones coloidales de algunas partículas metálicas. Las nanopartículas de oro (~20 nm) absorben en el intervalo visible con un pequeño valle en 521nm, Figura 1.

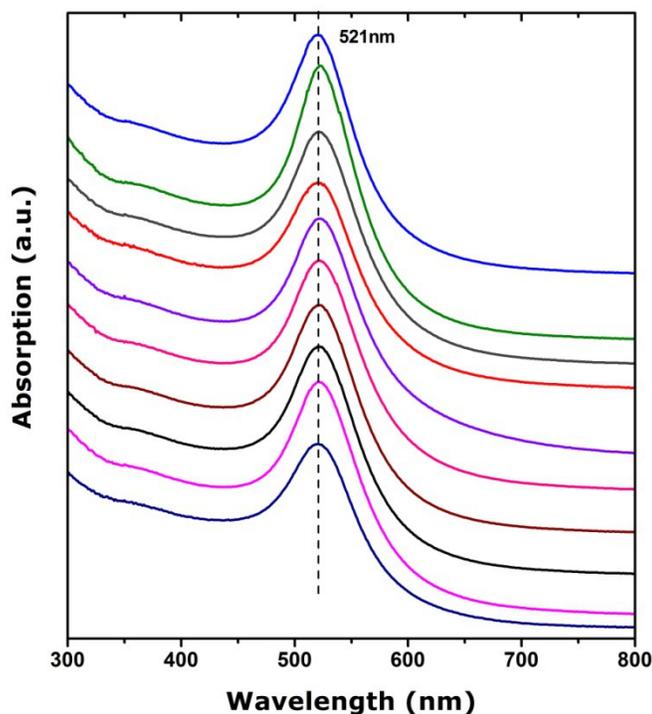


Figura 1. Bandas de resonancia características de nanopartículas de oro de ~20 nm de tamaño.

Las nanopartículas de oro, una vez que han sido sintetizadas poseen una superficie cargada negativamente formada principalmente por grupos citratos, provenientes de la síntesis de las mismas. Esta carga negativa de la superficie produce repulsión entre cada una de ellas, constituyendo así el estado coloidal, manteniéndose estables durante algún tiempo. Sin embargo, con el paso de tiempo esta carga negativa va debilitándose por la adherencia de cargas positivas constituidas por compuestos remanentes del proceso de síntesis. Una vez que la carga superficial de las nanopartículas se agota, no existen fuerzas electrostáticas de repulsión que impidan el acercamiento entre ellas, dando origen así al proceso de agregación. En este proceso, se adhieren grandes cantidades de nanopartículas para formar micropartículas que no son estables y que tienden incluso a precipitarse⁵. Por esta razón es necesario aplicar intencionalmente a la superficie de las nanopartículas de oro moléculas mucho más grandes como son las proteínas. Las proteínas podrían unirse a la superficie de la nano partícula mediante interacciones de tipo: iónica, covalente o hidrofóbica⁶. Una vez que la proteína se ha unido a la nanopartícula, esta se vuelve más estable y mucho menos susceptible a la presencia de iones en el medio en donde se encuentran suspendidas. La proteína estreptavidina es una opción viable para ser utilizada debido a que por una parte sirve como agente estabilizador de las nanopartículas de oro, y por otra, como elemento receptor de anticuerpos biotinilados⁷. El inmunosensor fue obtenido conjugando las nanopartículas de oro con la proteína estreptavidina en un primer paso y posteriormente con anticuerpos biotinilados en su superficie.

El arreglo obtenido (nanopartícula de oro-estreptavidina-inmunoglobulina) fue caracterizado por espectroscopia UV/Vis. La identificación de las posiciones espectrales de cada uno de los componentes del sistema es importante ya que permite realizar un monitoreo sistemático en la construcción del biosensor en cada una de las etapas que lo constituyen. En la figura 2 se muestran los espectros UV/Vis de los diferentes componentes que constituyen el inmunosensor. La

banda de absorción del anticuerpo biotinilado tiene una posición espectral de $\lambda=276\text{nm}$, la banda de absorción de la proteína estreptavidina tiene un $\lambda=278\text{nm}$ y la banda de absorción de la nanopartícula de oro tiene un $\lambda_{\text{spr}}=521\text{nm}$. Cuando se lleva a cabo la funcionalización de la nanopartícula con la proteína estreptavidina se observa un corrimiento de la banda de resonancia del plasmón superficial de $\lambda_{\text{spr}}=521\text{nm}$ a $\lambda_{\text{spr}}=527\text{nm}$. Una vez que se llevó a cabo la conjugación con el anticuerpo biotinilado se observó una banda de absorción $\lambda_{\text{spr}}=528\text{nm}$. A pesar del corrimiento de 1nm de la banda de absorción del arreglo (nanopartícula de oro-estreptavidina-anticuerpo) respecto al conjugado (nanopartícula de oro-estreptavidina), fue suficiente para poder establecer que se había llevado a cabo la conjugación con el anticuerpo biotinilado.

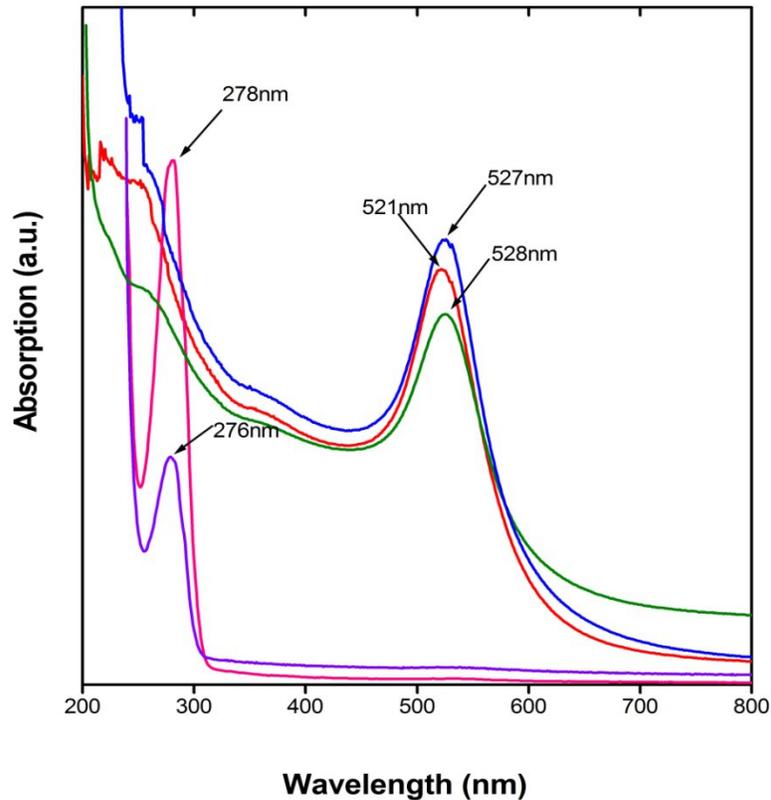


Figura 2. Espectros UV/Vis de los constituyentes del nano-inmunosensor.

3. CONCLUSIONES

Se desarrolló un nano-inmunosensor coloidal basado en nanopartículas de oro (~20 nm). Estas nanopartículas fueron conjugadas con estreptavidina y posteriormente con un anticuerpo biotinilado. El sensor obtenido podrá utilizarse en áreas diagnósticas como la salud y los alimentos.

BIBLIOGRAFÍA

1. S.Park, K. Hamad-Schifferli, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2010, 14:616-622.
2. N.T.K.Thanh, L.A.W. Green, *Nano Today*, 2010, (5):213-230.

3. K.E.Sapsford,W.R. Algar,L. Berti,K.B. Gemmill,B.J. Casey,E. Oh,I.L. Medintz, *Chem. Rev.*,2013, 113(3), 1904–2074.
4. E.Boisselier,Astruc,Didier, *Chem. Soc. Rev.*,2009,38,1759-1782.
5. W.Haiss,N.T.K. Thanh,J. Aveyard, &D.G. Fernig, *Anal. Chem.*, 2007, 79 (11), 4215–21.
6. K.E.Sapsford,K.M. Tyner,B.J. Dair,J.R. Deschamps, &I.L. Medintz, *Anal. Chem.*,2011, 83(12), 4453–88.
7. S.Thobhani, S. Attree,R. Boyd,N. Kumarswami,J. Noble,M. Szymanski,R.A. Porter, *J. of Immunol. Methods*, 2010, 356:60-69.

DETERMINACION DE MELAMINA Y ACIDO CIANURICO EN FORMULAS PARA LACTANTES POR FTIR-ATR Y QUIMIOMETRIA

Edwin Garcia Miguel¹, Tzayhri Gallardo Velazquez¹ y Guillermo Osorio Revilla¹

¹ Instituto Politécnico Nacional – Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, México D.F. garame@86hotmail.com, gtzayhri@yahoo.com, osorgi@gmail.com.

INTRODUCCION

El aumento de la adulteración en alimentos con la adición de ingredientes de bajo costo motivada por fines económicos ha creado problemas no solo de índole económica, sino también se ha convertido en un riesgo para la salud de los consumidores. (Sharma y Paradkar, 2010).

En China se hizo público un incidente importante de seguridad alimentaria en septiembre del 2008, las fórmulas para lactantes y la leche habían sido adulteradas con melamina, lo cual produjo cálculos renales, insuficiencia renal, y efectos adversos en el tracto urinario de aproximadamente 300,000 niños, además de las seis muertes que fueron reportadas (Gossner et al., 2009 y Yan et al., 2009).

Por lo anterior se convierte en una necesidad contar con métodos de análisis que permitan detectar y cuantificar melamina y sus análogos en los alimentos, la espectroscopia infrarroja se ha convertido en una opción para el análisis en el área de los alimentos, el desarrollo de métodos quimiométricos utilizando espectroscopia MID-FTIR-ATR se ha aplicado para resolver problemas de autenticidad, adulteración y caracterización en diferentes matrices alimentarias (Meza *et al.*, 2012). En el presente trabajo se aprovechan las ventajas analíticas que brinda el uso de la espectroscopia MIR-FTIR-ATR acoplada al análisis multivariable, para la detección y cuantificación de melamina y ácido cianurico en formula lactantes.

MARCO TEORICO

La Melamina (2, 4, 6-triamino-1, 3, 5-triazina) es un trímero de cianamida con un esqueleto de 1, 3, 5-triazina, es un compuesto orgánico que se sintetiza comercialmente a partir de la urea y se produce en grandes cantidades principalmente para su uso en la síntesis de resinas: melamina-formaldehído para la fabricación de laminados, plásticos, revestimientos, filtros comerciales, pegamentos, adhesivos, vajillas y utensilios de cocina (Bizzari and Yokose, 2008; Tyan et al., 2009). La melamina puede ser hidrolizada a otros compuestos conocidos como; análogos de la melamina, estos derivados son subproductos formados dependiendo del proceso de purificación, el producto final puede contener subproductos estructuralmente relacionados como: el ácido cianúrico (2,4,6-trihidroxi-1,3,5-triazina), amelina (4,6-diamino-2-hidroxi -1,3,5-triazina), y amelida (6-amino-2,4-dihidroxi, 3,5-triazina. (Yu-Chang *et al.*, 2009).

No se tienen datos concluyentes de la toxicidad de la melamina en los seres humanos (después del suceso en China en 2008). Sin embargo, los efectos más comúnmente observados en experimentos con animales a la exposición de la mezcla entre melamina y ácido cianúrico cuando se administraron por vía oral, incluyen; pérdida de peso corporal, cálculos renales, cristaluria, y la hiperplasia epitelial de la vejiga urinaria (Tyan *et al.*, 2009).

La OMS y expertos de la FAO fijaron el límite de seguridad de 1.0 mg/kg para las fórmulas infantiles, al mismo tiempo que la Unión Europea y la FDA han determinado para la melamina un límite máximo de 2.5mg/kg en los demás productos lácteos (WHO, 2008; Vaclavik et al., 2010). Mientras que, en las normas y legislaciones mexicanas no se cuenta con un límite máximo permisible de melamina en leche y productos lácteos.

El contenido de nitrógeno en la melamina es alto y representa el 66% en masa, lo que le confiere una relación cercana a la de las proteínas, además, su aspecto físico es un polvo blanco cristalino, razón por la cual es utilizada como adulterante de fórmulas lácteas y en la leche. Debido a su alto contenido de nitrógeno, ya que el método de análisis para la cuantificación de proteína de ciertos alimentos e ingredientes alimentarios se realiza mediante un procedimiento no específico,

como es la reacción de Kjeldahl (la cual no puede distinguir entre nitrógeno proteico y nitrógeno no proteico), la melanina resulta ser un adulterante para varios alimentos. Por tal razón, algunos fabricantes añaden deliberadamente melamina a los productos alimenticios: como la leche, fórmula para lactantes, galletas, dulces, harina de trigo, café en bebida y alimentos para mascotas con el fin de aumentar el nivel de nitrógeno y reducir los costos (Fengxia et al., 2010).

La Espectroscopia Infrarroja Media por Transformada de Fourier (MIR-FTIR) ha probado ser de gran utilidad en la detección de contaminantes en el área de alimentos y en consecuencia se ha propuesto como una alternativa de métodos tradicionales, ya que acoplado al análisis multivariante se pueden desarrollar modelos de predicción que permiten conocer cuantitativamente la composición de una muestra sin llevar a cabo un pretratamiento de la misma, ni el uso de disolventes y demás reactivos (Dion et al., 2008).

MATERIALES Y METODOS

- Como materia prima se utilizó una fórmula para lactantes de 0 a 6 meses, se eligió la marca más comercial que se maneja en el mercado nacional de acuerdo a las últimas publicaciones de Profeco.
- Los reactivos más importantes que se utilizaron fueron: melamina y ácido cianurico grado analítico adquiridos de la empresa SIGMA-ALDRICH®.
- Se utilizó un espectro FTIR PerkinElmer GX para obtener los espectros, acoplado con un accesorio de Reflectancia Total Atenuada (ATR) con punta de diamante.
- Para desarrollar los modelos quimiométricos se utilizaron programas computacionales para el análisis de espectros y análisis multivariable: Spectrum, Spectrum Quant+ y Microsoft Excel para facilitar el análisis y manejo de los datos numéricos y espectrales obtenidos.

PARTE EXPERIMENTAL

Las muestras se reconstituyeron primeramente en solución, y posteriormente se realizaron las mezclas las cuales fueron preparadas en un intervalo de concentración de 0.5 a 20ppm (mg/l), con cambios de concentración de 0.5 en 0.5 ppm, se prepararon mezclas de fórmulas con melanina y ácido cianúrico. Una vez preparados estos estándares se procedió a liofilizar cada una de ellos, teniendo una cantidad final de 5 g. Los polvos de los estándares se tamizaron a tamaños de partículas de 75 micras con una criba de número 200, posteriormente se mezclaron mecánicamente, para alcanzar un tamaño de partícula homogéneo.

Para obtener los espectros se utilizó un espectro FTIR PerkinElmer GX, acoplado con un accesorio de Reflectancia Total Atenuada (ATR) con punta de diamante. Se utilizaron 64 barridos ("scans") a una resolución de 4 cm^{-1} , en el intervalo de número de onda de $4000\text{ a }550\text{ cm}^{-1}$. Previo a la lectura de cada muestra se tomó un espectro de aire "background", luego se agregó la muestra (cubriendo completamente la superficie del diamante) y se obtuvieron espectros por triplicado de cada una de las muestras, para utilizarlos en la construcción de los modelos quimiométricos.

Inicialmente se realizó la calibración de los modelos, alimentando al programa Spectrum Quant+ con los espectros de cada muestra, así como los valores especificados es decir la concentración de melamina y ácido cianurico, este programa cuenta con 3 algoritmos (PCR, PLS¹, PLS²), obteniéndose un modelo por algoritmo. Posteriormente se construyeron n-modelos a partir de los primeros (a estas pruebas se les conoce con el nombre de optimización), variando pretratamientos aplicados a los espectros, con el fin de mejorar los resultados de predicción que arroja cada modelo quimiométrico. Así, se seleccionó el mejor modelo con base al error estándar de calibración (SEC) más bajo y el coeficiente de correlación (R^2) más cercano a 1. La precisión del mejor modelo optimado fue evaluada con la etapa de validación, en la cual se utilizaron 5 muestras independientes al conjunto de calibración. En la validación se buscó que el error estándar de Predicción (SEP) fuera lo más bajo posible, que el coeficiente de correlación (R^2) fuera lo más cercano a 1, así como una distancia de Mahalanobis menor a 1 y una relación de residuales menor a 3, cumpliendo estos parámetros estadísticos podemos decir que se ha logrado obtener un buen modelo de predicción.

RESULTADOS

La optimación de los modelos quimiométricos se basó en seleccionar la combinación de pretratamientos que arrojara el mejor comportamiento del modelo en cuestión y de la región

espectral que presentó mejores resultados, el número de componentes o factores, el coeficiente de determinación (R^2) y el Error estándar de calibración (SEC) de los algoritmos PCR, PLS¹ y PLS² son los datos más importantes a analizar, ya que estos determinan cuál de los algoritmos predice mejor la concentración del adulterante. En la Tabla 1, se muestran los parámetros estadísticos de los modelos después de ser optimados. Para melamina y ácido cianúrico de los tres algoritmos evaluados, el que estadísticamente mostró mejores resultados fue el PLS¹, así fue el seleccionado para la etapa de validación.

Tabla 1.0. Datos de calibración de los modelo quimiométricos para predecir la concentración de melamina/ácido cianúrico en fórmula para lactante.

Adulterante	Algoritmo	Factores ^a	R^2 ^b	SEC ^c
Melamina	PCR	9	0.9401	2.884
	PLS₁	10	0.9998	0.0793
	PLS ₂	14	0.9969	0.3459
Ácido Cianúrico	PCR	12	0.796	3.196
	PLS₁	6	0.9998	0.0817
	PLS ₂	14	0.9993	0.1496

^aNúmero óptimo de factores.

^bCoefficiente de determinación (R^2), debe ser lo más cercano a 1.

^cError Estándar de Calibración (SEC), debe ser lo más bajo posible. Sus unidades son ppm.

La validación externa se llevó a cabo con 5 muestras independientes al conjunto de calibración, pero que estaban dentro de los intervalos para los cuales fue desarrollado el modelo quimiométrico. De dichas muestras ya se conocía la concentración de ambos adulterantes. En la Tabla 2 se presentan de forma general los resultados de la validación del modelo optimado (PLS¹).

Tabla 2.0. Datos obtenidos de la validación del mejor modelo quimiométrico optimado.

Adulterante	Algoritmo	Factores ^a	R^2 ^b	SEP ^c
Melamina	PLS ₁	10	0.9998	0.5545
Ácido Cianúrico	PLS ₁	6	0.9998	0.4942

^aNúmero óptimo de factores. ^bCoefficiente de determinación (R^2), debe ser lo más cercano a 1.

^cError Estándar de Predicción (SEP), debe ser lo más bajo posible.

La validación externa se realizó para corroborar la capacidad predictiva del método quimiométrico, en esta etapa se obtuvieron parámetros estadísticos buenos que se pueden observar en la Tabla anterior, el SEP nos indica el error promedio entre el valor real y el valor predicho por el modelo; el cual es bajo y aceptable, además de que el coeficiente de determinación se acerca bastante a 1. Esto nos indica que el modelo obtenido es confiable y capaz de hacer predicciones en muestras diferentes de las utilizadas para la construcción del modelo.

En la Tabla 3 se muestran individualmente los datos de predicción obtenidos de cada muestra de validación del quimiométrico optimado para melamina y ácido cianúrico. También observamos otros parámetros que deben analizarse durante la validación como lo son la Distancia de Mahalanobis y la relación de residuales, dichos parámetros deben ser no mayor de 1 y no mayor de 3, respectivamente. De lo contrario esto indicaría que la muestra que intentamos analizar, posee características que no han sido incluidas por el método quimiométrico durante la calibración. Se observa entonces que todos los parámetros son aceptables, corroborando de esta manera que las predicciones en las muestras de validación son confiables.

Tabla 3.0 Resultados de la validación externa para modelos quimiométricos cuantitativos.

Sistema de Adulteración	Muestra ^a	Valor Especificado	Valor predicho	Total M-Distance ^a	Relación de residuales ^b
Melamina	1	3	3.028	0.2232	1.228

	2	7	6.931	0.2815	1.47
	3	7.5	7.424	0.0899	1.355
	4	11.5	11.68	0.2734	0.9926
	5	16	16.05	0.2332	1.082
	Ácido Cianúrico	1	2	2.035	0.2894
	2	5	4.985	0.2596	1.116
	3	10	10.1	0.0470	1.09
	4	10.5	10.36	0.0315	0.9941
	5	14.5	14.42	0.1037	1.384

^aTotal M-Distance debe ser menor a 1.

^bRelación de residuales debe ser menor de 3.

CONCLUSIONES

Para los modelo quimiométrico que cuantifican melamina y ácido cianúrico el algoritmo que arrojó mejores resultados fue PLS¹. Los modelos PLS¹ para cuantificar melamina y ácido cianúrico, fueron validados con 5 muestras (independientes al conjunto de calibración); arrojando resultados óptimos y teniendo una excelente capacidad predictiva para muestras desconocidas.

Con base a parámetros estadísticos, se sabe que se ha logrado obtener un buen modelo de predicción que es capaz de cuantificar de forma rápida y sencilla los adulterantes melamina y ácido cianúrico en una matriz compleja, como lo es la fórmula para lactantes.

Actualmente se encuentra en desarrollo un modelo quimiométrico SIMCA (Soft Independent Modeling Class Analogy) que permitirá clasificar cualitativamente diferentes materiales (leche no adulterada, leche adulterada con melamina o con ácido cianurico) y discriminar muestras desconocidas (que no pertenezcan a la población).

BIBLIOGRAFIA

1. Bizzari S, Yokose K. (17 de November de 2008). *Melamine. In: Chemical economics handbook*. Obtenido de Menlo Park, CA, SRI, Consulting, Inc.: <http://www.sriconsulting.com/CEH/Public/Reports/673.3000/>
2. Dion Mam, Saskia M. (2008). An overview of analytical methods for determining the geographical origin of food products. *Food Chemistry* 107, 897-911.
3. Fengxia Sun, Wei Ma, Liguang Xu, Yinyue Zhu, Liqiang Liu, Chifang Peng, Libing Wang, Hua Kuang, Chuanlai Xu. (2010). Analytical methods and recent developments in the detection of melamine. *Trends in Analytical Chemistry*, Vol. 29, 11.
4. Gossner, C. M. E., Schlundt, J., Embarek, P. B., Hird, S., Lo-Fo-Wong, D., Beltran, J. J. O., ... & Tritscher, A. (2009). *The Melamine Incident: Implications for International Food and Feed Safety*. Geneva, Switzerland: World Health Organization, Department of Food Safety and Zoonoses.
5. Meza-Márquez, Ofelia G; Gallardo-Velázquez, Tzayhrí; Osorio-Revilla, Guillermo;

Dorantes-Álvarez, Lidia. (2012). Detection of clenbuterol in beef meat, liver and kidney by

mid-infrared spectroscopy (FT-Mid IR) and multivariate analysis. *International Journal of Food Science & Technology*, 2342–2351.

6. Sharma Kirti and Paradakar Manish. (2010). The melamine adulteration scandal. *Food Security*, 97 - 107.
7. Tyan, Yu-Chang; Yang, Ming-Hui; Jong, Shiang-Bin; Wang, Chih-Kuang; Shiea, Jentaie. (2009). Melamine contamination. *Analytical & Bioanalytical Chemistry*, 729-735.
8. Vaclavik Lukas, Rosmus Jan, Popping Bert, Hajslova Jana. (2010). Rapid determination of melamine and cyanuric acid in milk powder using direct analysis in real time-time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 4204–4211.
9. WHO, (World Health Organization). (2008). *Reporte - Reunión de expertos para revisar la toxicología de la melanina y el ácido cianúrico*. Ottawa (Canadá): En colaboración con la FAO - Respaldo por Health Canada.
10. Yan Na, Zhou Lei, Zhu Zaifang and Chen Xingguo. (2009). Determination of Melamine in Dairy Products, Fish Feed, and Fish by Capillary Zone Electrophoresis with Diode Array Detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 807–811.

FERTILIZACIÓN NITROGENADA EN LA CONCENTRACIÓN DE FENOLES TOTALES EN INFLORESCENCIAS *Tagetes erecta* VAR. INCA

María Guadalupe Peralta-Sánchez^a, Libia Iris Trejo-Téllez^a, Fernando Carlos Gómez-Merino^b,
María de las Nieves Rodríguez-Mendoza^a, Miguel Ángel Serrato-Cruz^c y
J. Cruz García-Albarado^b

^aColegio de Postgraduados Campus Montecillo, mgperalta@colpos.mx; tlibia@colpos.mx; marinie@colpos.mx

^bCampus Córdoba, fernandg@colpos.mx; icruz@colpos.mx;

^cUniversidad Autónoma Chapingo serratocruz@gmail.mx

RESUMEN

En esta investigación se evaluó la concentración de fenoles totales en flores de plantas de cempasúchil (*Tagetes erecta* L.) var. Inca, tratadas con cuatro concentraciones de N (0, 4.2, 8.4 y 12.6 mg L⁻¹) en la solución nutritiva, durante la fase de floración. Como sustrato se empleó una mezcla de tezontle:perlita (60:40, v:v). Los tratamientos fueron evaluados en un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones. La unidad experimental estuvo constituida por tres plantas. Solo se observaron diferencias estadísticas significativas entre las dosis de fertilización de 0 y 4.2 mg L⁻¹. Con la ausencia de N se registró la menor concentración de fenoles totales en inflorescencias; mientras que la más alta con la dosis de N de 4.2 mg L⁻¹, superando al tratamiento testigo en 36.37%. Los resultados permiten concluir que la fertilización nitrogenada tiene influencia en la concentración de fenoles totales en las inflorescencias de cempasúchil, compuestos importantes por sus propiedades antioxidantes.

1. INTRODUCCIÓN

Las plantas producen una gran diversidad de sustancias que podrían ser útiles en muchos campos de estudio. El género *Tagetes* pertenece a la familia Asteraceae, la más grande de las plantas vasculares con más de 23 000 especies (Jeffrey, 2007). Estas plantas tienen importancia industrial, médica, como ornamentales y en la agricultura, esto se debe a que contienen compuestos bioactivos, los cuales exhiben actividad nematicida, fungicida, bactericida e insecticida (Roca *et al.*, 2009). Dentro de la amplia diversidad se encuentran los compuestos fenólicos o polifenoles, que constituyen un grupo de sustancias químicas, con diferentes estructuras y actividad biológica abarcando 8000 compuestos distintos (Avella *et al.*, 2008).

Los compuestos fenólicos o polifenoles son sintetizados por las plantas como productos secundarios que sirven como mecanismo de defensa de las plantas (Barreira *et al.*, 2008). Los compuestos fenólicos reciben atención debido al papel que han mostrado contra el cáncer y enfermedades del corazón, lo cual puede atribuirse a su actividad antioxidante (Mond *et al.*, 2011).

Por otra parte, el nitrógeno juega un papel importante en el crecimiento y desarrollo de plantas (Scott, 2008). Este elemento es un constituyente de las proteínas, ácidos nucleicos y nucleótidos que son esenciales para la función metabólica de las plantas (Bijimol y Singh, 2001). También es vital en el desarrollo y la división celular, y en la biosíntesis de componentes activos de las plantas medicinales (Rahmani, 2012). Aunado a lo anterior, poco se sabe acerca de la influencia de la fertilización nitrogenada en la síntesis de los compuestos fenólicos; recientemente Mohd (2011), demostró que

la fertilización con altos niveles de nitrógeno puede reducir la producción de flavonoides y fenoles totales en *Labisia Pumila*. Así también en tubérculos de papa incrementa la concentración de fenoles totales con la disponibilidad de N (Giletto *et al.*, 2013).

En el contexto anterior, el objetivo del presente estudio es evaluar el efecto de diferentes concentraciones de N en la solución nutritiva, sobre la producción de fenoles totales en inflorescencias de la planta de cempasúchil (*Tagetes erecta* L.) var. Inca.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en el Campus Montecillo del Colegio de Postgraduados, Texcoco, Estado de México (19° 29' N y 98° 53' O y 2250 m de altitud), bajo condiciones de invernadero.

Se utilizaron plántulas de cempasúchil (*Tagetes erecta* L.) var. Inca. Las plántulas fueron trasplantadas a macetas de plástico conteniendo como sustrato una mezcla de tezontle:perlita (60:40, v:v). El riego fue suministrado a través de un sistema de riego por goteo. El pH de la solución nutritiva fue ajustado a 5.5.

La aplicación de tratamientos inició cuando se observó la aparición del primer botón floral. Se evaluaron cuatro concentraciones de nitrógeno: 0, 4.2, 8.4 y 12.6 mg L⁻¹ adicionadas a la solución nutritiva Steiner al 5%. Cada uno de los tratamientos tuvo cuatro repeticiones, mismas que fueron distribuidas de manera aleatoria. La unidad experimental consistió de cuatro plantas por tratamiento seleccionadas al azar. La extracción de fenoles se realizó de acuerdo al método de Folín y Ciocalteu descrito por Waterman y Mole (1994), se leyó a 760 nm en un espectrofotómetro. Se utilizó ácido gálico como estándar.

Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente mediante un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias por Tukey con un nivel de confianza de 95% con el software Statistical Analysis System (SAS, 2002).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En ausencia de N en la solución nutritiva durante la fase de floración, las inflorescencias mostraron una reducción significativa en la concentración de fenoles totales; mientras que por el contrario, la más alta concentración de fenoles totales se tuvo con 4.2 mg L⁻¹, superando al tratamiento testigo en 36.37%. Contrario a lo aquí observado, Mohd *et al.* (2011) al evaluar cuatro niveles de fertilización nitrogenada (0, 90, 180 y 270 kg ha⁻¹) en *Labisia Pumila* Blume, encontraron la mayor producción de fenoles totales en ausencia de nitrógeno. En contraste a nuestro estudio en *Vaccinium myrtillus* estudiaron los efectos de la fertilización nitrogenada, la aplicación de una dosis moderada de N en no afectó de manera significativa la concentración y el contenido de compuestos fenólicos; en altas dosis de N se incrementaron estas variables en forma significativa (Witzell y Shevtsova, 2004). De la misma manera Giletto *et al.* (2013) en papa concluyeron que el incremento de fenoles totales se relaciona de manera positiva con el aumento en la dosis de N. Stumpf *et al.* (2015) investigaron la influencia de la fertilización nitrogenada y el grano de madurez de la concentración de fenoles totales en trigo (*Triticum aestivum*), concluyen al incrementar la dosis de N, los compuestos fenólicos aumentan.

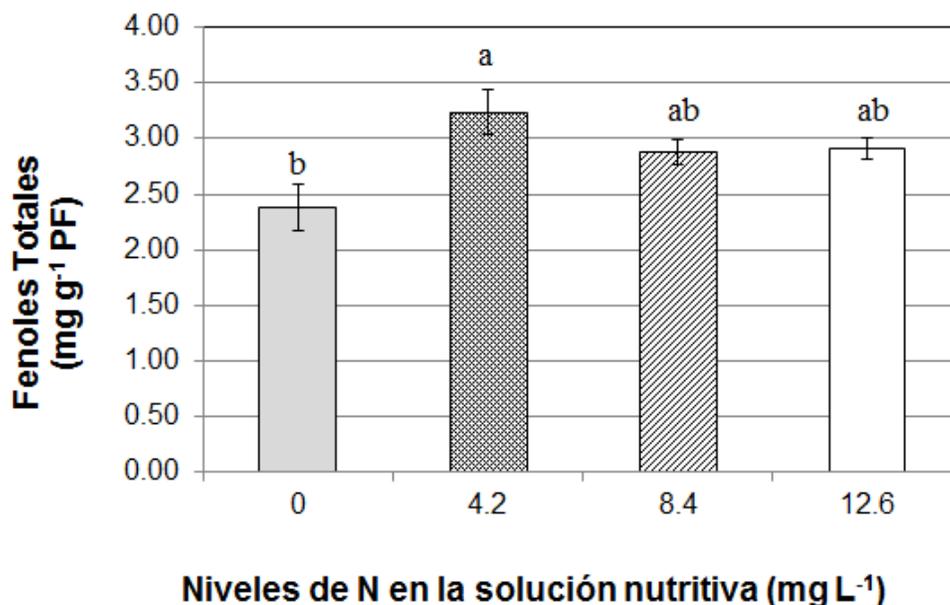


Figura 1. Fenoles Totales en inflorescencias de cempasúchil (*Tagetes erecta*) con cuatro niveles de nitrógeno. Barras \pm DE con letras diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos (Tukey, 0.05).

4. CONCLUSIONES

Se concluye que la fertilización nitrogenada tiene influencia en la concentración de fenoles totales en las inflorescencias de *Tagetes erecta* var. Inca, compuestos importantes por sus propiedades antioxidantes, donde la mayor concentración de fenoles totales es al aplicar 4.2 mg L⁻¹ de N en la solución nutritiva.

BIBLIOGRAFÍA

1. B. Stumpf, F. Yan and B. Honermeier "Nitrogen fertilization and maturity influence the phenolic concentration of wheat grain (*Triticum aestivum*)" J. Plant Nutr. Soil Sci, Vol, 178, 2015, pp. 118-125.
2. B.L. Roca, B.G. Hung, A.M.G. Botta, E.S. Hernández, M.P. González y B. N. Aguilar, "Caracterización fitoquímica de la especie *Tagetes erecta* Lin.", Revista Cubana de Química, Vol. XXI, 2, 2009, pp. 10-15.
3. C. Giletto, M.C Monti, P. Ceroli y H. Echeverría, "Efecto de la fertilización con nitrógeno sobre la calidad de tubérculos de papa (Var. Innovator) en el sudeste Bonaerense", Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, Vol.14, 2, 2013, pp. 217-222.

4. C. Jeffrey, "Compositae: Introduction with key to tribes, *in* Families and Genera of Vascular Plants", vol. VIII, Flowering Plants, Eudicots, Asterales (J. W. Kadereit and C. Jeffrey, eds.). Springer-Verlag, Berlín, 2007, pp. 61-87.
5. D. Avella, C. Ortiz y A. Mendoza, "Medición de fenoles y actividad antioxidante en malezas usadas para alimentación animal", Universidad Autónoma de Queretano, México. 2008.
6. G. Bijimol and A. K. Singh, "Effect of spacing and nitrogen on flowering, flower quality and post harvest life of gladiolus", J. Appl. Hort., Vol. 3, 1, 2001, pp. 48-50.
7. H.I. Mohd, J.Z.E. Hawa, R. Asmah and R.A. Zaharah, "Effects of nitrogen Fertilization on Synthesis of primary and Secondary Metabolites in three varieties of Kacip Fatimah (*Labisia Pumila* Blume)", International Journal of Molecular Sciences, Vol. 12, 8, 2011, pp. 5238-5254.
8. J. Barreira, C. Ferreira, B. Oliveira and J. Pereira, "Antioxidant activities of the extracts from chestnut flower, leaf, skin and fruits", Food chemistry, , Vol. 107, 3, 2008, pp. 1106-1113.
9. J. Witzell, and A. Shevtsova, "Nitrogen-induced changes in phenolics of *Vaccinium myrtillus* implications for interaction with a parasitic fungus", Journal of Chemical Ecology, Vol. 30, 10, 2004, pp. 1937-1956.
10. N. T. Rahmani, T. Taherkhani, P. Zandi, and A. Moradi, "Effect regulated deficit irrigation and nitrogen levels on flavonoid content and extract performance of marigold (*Calendula officinalis* L.)", Annals of Biological Research, Vol. 3, 6, 2011, pp. 2624-2630.
11. P. Scott, "Mineral nutrition of plants In: Physiology and Behavior of Plants", Wiley, New York. 2008, pp. 75-87.
12. P.G. Waterman and S. Mole, "Analysis of phenolic plant metabolites", Blackwell scientific publications, Oxford, UK., 1994, pp. 238.
13. SAS High-Performance Forecasting 2.2: User's Guide. (Vol. 1 & 2). Cary, NC: SAS Institute Inc. Ver. 9), 2002, 652 p.

ELEMENTOS BENÉFICOS EN LA MADURACIÓN DE CAÑA DE AZÚCAR (*Saccharum officinarum*)

Héctor E. Senties-Herrera^a, Libia I. Trejo-Téllez^a, Fernando C. Gómez-Merino^b, Víctor H. Volke-Haller^a,

^aColegio de Postgraduados Campus Montecillo, hector.senties@colpos.mx, tlibia@colpos.mx, vvolke@colpos.mx

^bColegio de Postgraduados Campus Córdoba, fernandg@colpos.mx

RESUMEN

Los elementos benéficos inciden en el crecimiento y desarrollos de las plantas, afectando la productividad agrícola y rendimiento en función a la concentración y disponibilidad de los mismos, la etapa fenológica del cultivo y variedades. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la aspersión foliar de Si, V y I a diferentes concentraciones en la maduración de tres variedades de caña de azúcar (CP 72-2086, Mex 79-431 y Mex 69-290). Las concentraciones en las soluciones foliares fueron para Si de 0.5 y 1.0 mM, para V de 10 y 20 μ M y para I de 11.8 y 23.6 mM; como testigo se asperjó agua sin ninguno de los elementos benéficos. Se empleó un diseño experimental completamente al azar con diez repeticiones. Se realizaron dos aplicaciones foliares, la primera a los 8 meses y la segunda a los 9 meses de edad. A los 13 meses de edad de la planta (4 después del inicio de tratamientos) se evaluó la floración, la médula, la oquedad y los grados Brix. Los resultados mostraron una inhibición de la floración y en la formación de médula en la variedad CP 72-2086 con la aplicación de V y I, mientras que la oquedad aumentó en la variedad Mex 69-290 con la aplicación de I. Los grados Brix no fueron afectados por ninguno de los elementos. En conclusión, la aplicación foliar de 10 μ M de V resulta efectiva en la inhibición de la floración y en la reducción de la médula. Por otra parte, en las variedades Mex 79-341 y Mex 69-290, no se observaron respuestas al tratamiento con elementos benéficos, con excepción del I que incrementó la oquedad en la variedad Mex 69-290.

1. INTRODUCCIÓN

Para el desarrollo normal de una planta, se necesitan los elementos esenciales o nutrimentos; además de éstos, existe un grupo de elementos que sin ser esenciales para las plantas, al suministrarse por diferentes vías, ejercen un efecto favorable en el crecimiento y desarrollo de las plantas, ya que pueden intervenir en diferentes rutas metabólicas, que activen mecanismos de defensa a estrés biótico y abiótico, favorecer el aprovechamiento de otros nutrimentos y mejorar características de calidad (Trejo-Téllez *et al.*, 2007). En lo que se refiere a calidad, el proceso de maduración es de importancia relevante, debido a que es cuando ocurre la capacidad de síntesis se hace mayor que el gasto de azúcares en los procesos de respiración y crecimiento, se produce una acumulación del exceso de azúcares formados (Borroto *et al.*, 2003). En este sentido, una alta concentración de sacarosa en los tallo moledores, es afectada por las formación de estructuras tales como médula y oquedad y sobre todo la floración (IMPA, 1975). El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la aspersión foliar de Si, V y I a diferentes concentraciones en la maduración de tres variedades de caña de azúcar: CP 72-2086, Mex 79-431 y Mex 69-290.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento de campo se llevó a cabo en el campo experimental del Campus Córdoba del Colegio de Postgraduados, localizado a 18° 50' latitud norte y 96° 51' longitud oeste, a una altitud de 650 m. El clima de la zona es templado húmedo con lluvias en verano y temperatura media de 20 °C, máxima de 35 °C y mínima de 10 °C, con una precipitación media anual de 1 807 mm (Soto-Esparza, 1986). Los ensayos correspondientes a este estudio se efectuaron durante los meses de septiembre a diciembre de 2014. Se realizaron dos aplicaciones foliares (la primera en a principios de septiembre y la segunda a principios de octubre) de tres elementos benéficos con dos niveles de concentración (Si 0.5 y 1 mM; V 10 y 20 µM, I 11.8 y 23.6 mM) y H₂O como testigo, en tres variedades de caña de azúcar: CP 72-2086, Mex 79-431 y Mex 69-290, de maduración temprana, media y tardía, respectivamente. La aplicación fue con aspersor de mochila y se utilizó agua purificada (3 L). Las fuentes de Si, V y I fueron SiO₂, NH₄VO₃ y KI, respectivamente. Las variables evaluadas después de cuatro meses de tratamiento en plantas de 13 meses de edad fueron grados Brix (°Brix), floración, médula y oquedad. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con 10 repeticiones. Se realizó de manera independiente para cada variedad el análisis de la varianza (ANOVA) y prueba de comparación de medias de Tukey ($P < 0.05$), con el programa InfoStat.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Grados Brix. En la Figura 1 se muestra las variaciones promedio de los grados Brix de las tres variedades estudiadas. El análisis de la varianza nos indica en las variedad CP 72-2086 el suministro de yodo a baja concentración redujo significativamente esta variable, mientras que en Mex-79-431 el silicio en la dosis alta evaluada redujo significativamente este indicador.

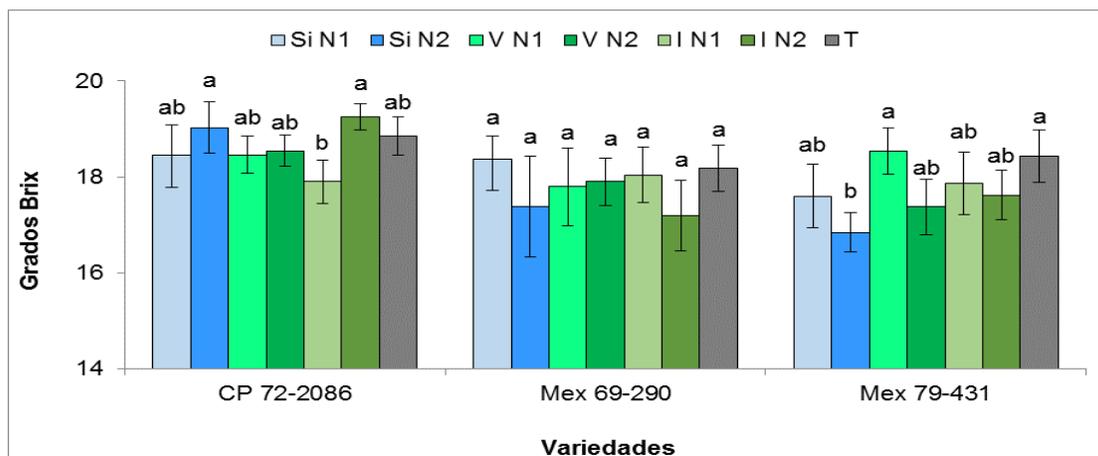


Figura 1. Grados Brix en tres variedades de caña de azúcar tratadas vía foliar con los elementos benéficos I, Si y V. Medias \pm DE con la misma letra indican que no existieron diferencias estadísticas entre tratamientos (Tukey, $P > 0.05$). Si N1 = [0.5 mM]; Si N2 = [1 mM]; V N1 = [10 µM]; V N2 = [20 µM]; I N1 = [11.8 mM]; I N2 = [23.6 mM]; T = Testigo.

Floración. El porcentaje de floración mostró diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0.05$) entre tratamientos solo en la variedad CP 72-2086; donde se observa que la aplicación de vanadio en sus dos concentraciones evaluadas (10 y 20 µM), y de yodo a una concentración de 11.8 mM inhibieron la floración en un 100 y 80%, respectivamente. Cabe mencionar que esta variedad es de

maduración temprana y con un alto porcentaje de floración. Por otra parte, no se observaron efectos de los tratamientos en las variedades Mex 69-290 y Mex 79-431 (Figura 2).

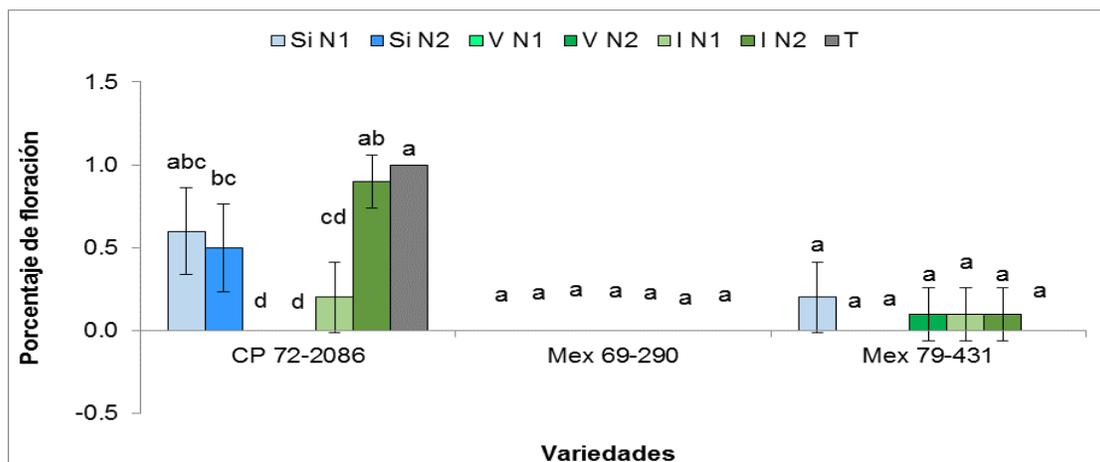


Figura 2. Porcentaje de floración en tres variedades de caña de azúcar tratadas vía foliar con los elementos benéficos I, Si y V. Medias \pm DE con la misma letra indican que no existieron diferencias estadísticas entre tratamientos (Tukey, $P > 0.05$). Si N1 = [0.5 mM]; Si N2 = [1 mM]; V N1 V = [10 μ M]; V N2 = [20 μ M]; I N1 = [11.8 mM]; I N2 = [23.6 mM]; T = Testigo.

Médula. La producción de médula en el tercio superior de la planta está estrechamente relacionada con el proceso de floración (Salgado *et al.*, 2013). A medida que incrementan el porcentaje de flores y el tiempo de permanencia, la médula va en aumento, abarcando más entrenudos del tercio superior. El análisis de la varianza nos indica que no hubo efectos significativos de la aplicación de elementos benéficos; sin embargo, en la variedad CP-72-2086 la aplicación de V en sus distintas concentraciones (10 y 20 μ M) inhibió en un 100% la formación de médula; mientras que el I a concentración de 11.8 mM la redujo en 80 (Figura 3).

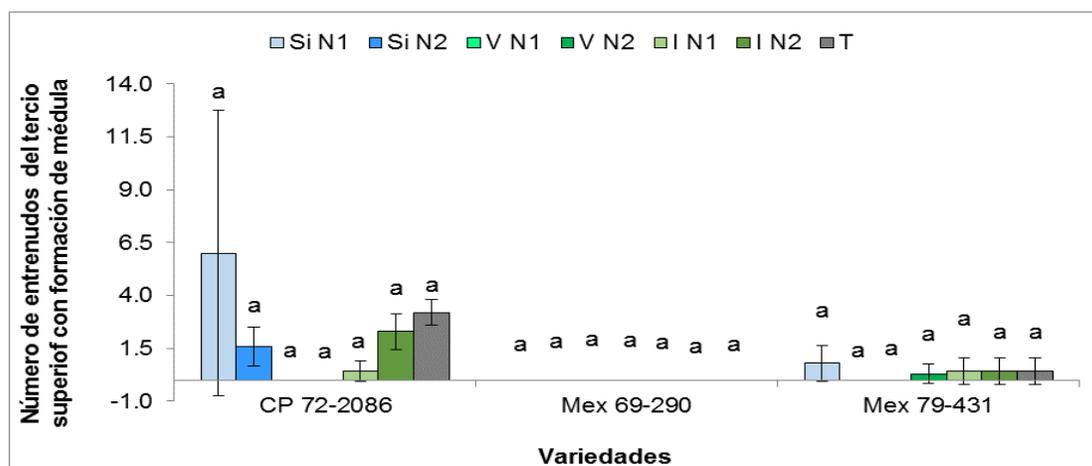


Figura 3. Número de entrenudos del tercio superior con formación de médula en las tres variedades de caña de azúcar. Si N1 = [0.5 mM]; Si N2 = [1 mM]; V N1 V = [10 μ M]; V N2 = [20 μ M]; I N1 = [11.8 mM]; I N2 = [23.6 mM]; T = Testigo.

Oquedad. Solo en la variedad Mex 69-290 se observaron efectos significativos de los tratamientos ensayados en la variable oquedad. La aplicación foliar de yodo a una concentración de 23.6 mM en la variedad Mex 69-290, incrementó la cantidad entrenudos del tercio inferior con formación de oquedad en comparación con el testigo (Figura 4).

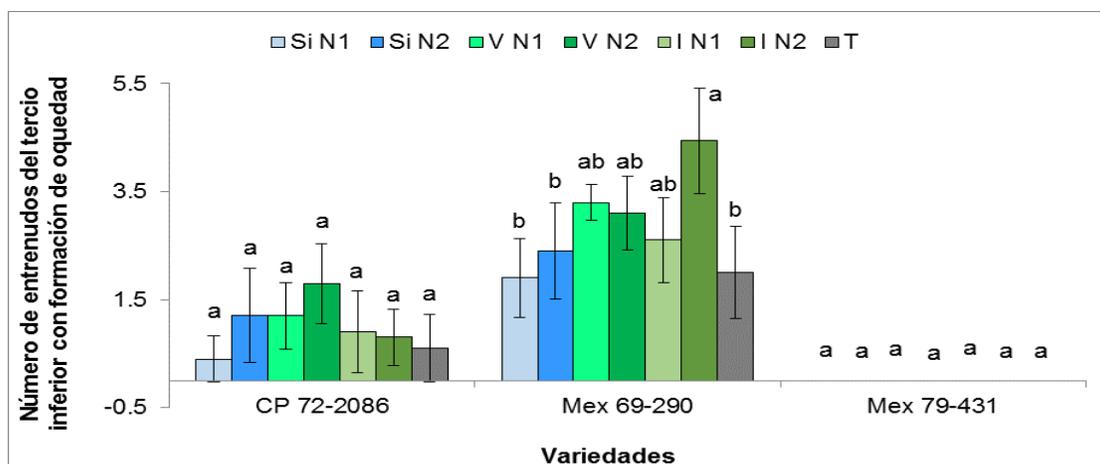


Figura 4. Número de entrenudos del tercio inferior con formación de oquedad en las tres variedades de caña de azúcar. [n = 10, \pm SD, t-Student: * ($P \leq 0.05$)]. Si N1 = [0.5 mM]; Si N2 = [1 mM]; V N1 V = [10 μ M]; V N2 = [20 μ M]; I N1 = [11.8 mM]; I N2 = [23.6 mM]; T = Testigo.

Dentro de los elementos clasificados como benéficos, el Si es el más estudiado en caña de azúcar. De acuerdo con Henrique-Krondörfer (2010), éste es considerado como un elemento esencial para la caña de azúcar desde el punto de vista nutricional y agronómico. Silvia-Zossi *et al.* (2010) han encontrado Si en los jugos de caña de azúcar en diferentes variedades con valores comprendidos entre 2265 a 2536 mg L⁻¹ como dióxido de silicio (SiO₂). Dicho elemento se encuentra relacionado con protección de la actividad fotosintética, supresión de la amilasa e inhibición de la actividad invertasa sobre la sacarosa. Contario al Si, se conoce muy poco sobre los efectos de elementos como I y V en el crecimiento y desarrollo de la caña de azúcar. Varios autores han descrito los efectos de estos elementos en diferentes especies de plantas. Entre los efectos benéficos del I podemos enlistar los siguientes: mejora la eficiencia de la utilización de nitrógeno (Blasco *et al.*, 2011) y estimula procesos de floración, por efecto de un incremento en la actividad fotosintética, lo que conduce a una mayor acumulación de azúcares (Landini *et al.* 2012). Al respecto, en la presente investigación se observó un efecto contrario en la floración. Al vanadio se le han atribuido efectos tales como la muerte de plantas antes del periodo de floración (Chongkid *et al.*, 2007), mutaciones en plantas de ajos por efecto de genotoxicidad (Marcano *et al.*, 2006), así como disminuir la biomasa por efecto a elevadas concentraciones de este elemento (Saco *et al.*, 2013). Sin embargo, el efecto que se observó en este estudio fue positivo, dado que la inhibición de la floración en caña de azúcar es deseable, ya que permite mantener los contenidos de sacarosa por más tiempo hasta el momento de la cosecha.

4. CONCLUSIONES

La aplicación foliar de 10 μ M de V y de 11.8 mM de I, resultan efectivos en la inhibición de la floración y en la reducción de la médula en la variedad CP 72-2086. Por otra parte, la aplicación de

23.6 mM de I incrementó la oquedad en la variedad Mex 69-290. En la variedad Mex 79-341, no se observaron respuestas al tratamiento con elementos benéficos.

BIBLIOGRAFÍA

1. B. Blasco, J.J. Ríos, R. Leyva, L.M. Cervilla, E. Sánchez-Rodríguez, M. M. Rubio-Wilhelmi *et al.*, Does iodine biofortification affect oxidative metabolism in lettuce plants? *Biol. Trace Elem. Res.*, 142, 2011, pp. 831–842.
2. B. Chongkid, N. Vachirapatama, and Y. Jirakiattikul, Effects of V on rice growth and vanadium accumulation in rice tissues. *Kasetsart Journal (Nat. Sci.)*, 41, 2007, pp. 28-33.
3. B. Silvia Zossi, G.J. Cárdenas, N. Sorol, y M. Sastre, Influencia de compuestos azúcares y no azúcares en la calidad industrial de caña de azúcar en Tucumán (R. Argentina) Parte 1: caña limpia y despuntada. *Rev. Ind. y Agríc. de Tucumán.*, Vol. 87, 1, 2010, pp. 15-27.
4. D. Saco, S. Martin, and P. San-Jose, Vanadium distribution in roots and leaves of *Phaseolus vulgaris*: morphological and ultrastructural effects. *Biol Plantarum.*, Vol. 57,1, 2013, pp. 128-132.
5. G. Henrique-Krondörfer, “Sílicio,” in *Cana-de-acucar* (Instituto Agronomico, Ribeirao Preto, Brasil, 2010), Capítulo 16, pp. 337-346.
6. IMPA, Veinticinco años de investigación cañera en México. Cámara Nacional de la Industria Azucarera y Alcohólica, (CNIA, México, 1975), 303 p.
7. J.J. Rodríguez-Mercado, y M.A. Altamirano-Lozano, Vanadio: contaminación, metabolismo y genotoxicidad. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental.*, Vol. 22, 4, 2006, pp. 173-189.
8. L. I. Trejo-Téllez, F.C. Gómez-Merino, G. Alcántar-González, “Elementos benéficos”, in *Nutrición de cultivos*, (Mundi Prensa, México, 2007), Capítulo 3, pp. 50-91.
9. M. Landini, S. Gonzali, C. Kiferle, M. Tonacchera, P. Agretti, A. Dimida, *et al.*, Metabolic engineering of the iodine content in *Arabidopsis*. *Sci. Rep.*, Vol. 2,338, 2012, pp. 1-6.
10. S. Salgado-García, L.C. Lagunes-Espinoza, R. Núñez-Escobar, C.F. Ortiz-García, L. Bucio-Alanis, L. y E. Aranda-Ibañez, Caña de azúcar. *Producción sustentable*, (Mundi Prensa-Colegio de Postgraduados, México, 2013) 528 p.
11. J. Borroto, M.A. Blanco, Y. Tambara, Y. Capdesuñer, J.L. Golle, A. Balbé, M. Rivas, A. León, J. Hormaza, H. Peralta, Contenido de carbohidratos asociados al crecimiento y desarrollo de cuatro variedades de caña de azúcar (*Saccharum* sp). *Agronomía Costarricense.*, Vol. 27, 1, 2003, pp. 91-100.

CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LA FRUTA COMESTIBLE DEL MAMUYO COLECTADO EN MICHOACÁN.

Andrés Romero Anaya¹, Tsanda Sánchez Rico², Alejandro Morales Guerrero³, Juvenal Esquivel Córdoba⁴, Pedro Antonio García Saucedo¹ *garsapan@hotmail.com

¹Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH), ²Escuela Preparatoria "Gral. Lázaro Cárdenas", ³Centro de Educación y Capacitación Forestal (CECFOR N°1), ⁴Instituto Tecnológico Superior de Uruapan (ITSU)

Resumen

El género *Styrax* perteneciente a la familia *Styracaceae* que incluye aproximadamente 130 especies de árboles y arbustos ampliamente distribuidos en Asia, América y la parte sur de Europa. El mamuyo (*Styrax ramirezii* Greenm) es una especie endémica y silvestre de México perteneciente al género *Styrax* que se distribuye en los bosques centro occidentales del país presentado buena adaptación en los bosques de pino encino. Su fruto por lo general es irregularmente cilíndrico elipsoide, testa rugosa, semilla de color café, sin embargo solo se ha colectado en el estado de Michoacán. A diferencia de otras especies reportadas del mismo género, el mamuyo produce drupas comestibles pero hasta el momento los estudios son escasos sobre sus propiedades fisicoquímicas o funcionales del fruto. El objetivo de este estudio fue evaluar las características físicas y químicas de los frutos de mamuyo colectados en la comunidad del Señaladero municipio de Hidalgo Michoacán, evaluado en madurez de consumo referido por los locatarios. Las variables evaluadas y los resultados que nos arrojaron los análisis físicos y químicos del fruto fueron: Sólidos Solubles Totales (15 ± 0.12 °Brix), pH (5.51 ± 0.09), peso (0.73 ± 0.16 g). También se midió su tamaño obteniendo un diámetro ecuatorial de (9.89 ± 0.94 mm); diámetro longitudinal (12.27 ± 1.20 mm), volumen ($0.65 \text{ cm}^3 \pm 0.9 \text{ cm}^3$), porcentaje de semilla (27.03 ± 4.37 %), porcentaje de ceniza (0.61 ± 0.07 %), porcentaje de jugosidad (76.3 ± 1.2 %) firmeza (2.91 ± 1.56 N), humedad (84.65 ± 1.21 g), extracto etéreo (0.61 ± 0.07 g). En lo que respecta al color del epicarpio los resultados obtenidos fueron: L* (56.11 ± 2.01), a* (0.75 ± 0.18) y b* (9.86 ± 1.24). Las características evaluadas del mamuyo lo sitúan como un importante fruto con potencial económico y también para proponerse en programas de fitomejoramiento.

Introducción

El género *Styrax* pertenece a la familia Styracaceae e incluye aproximadamente 130 especies de árboles y arbustos ampliamente distribuidos en Asia, América y la parte sur de Europa (Fritsch, 1999), lugares donde se han utilizado como ornamentales o se les ha dado un uso medicinal (Park y col., 2009; Yoshikama y col., 2000; Mendoça y col., 2000; Breuer, 1987). Las especies dentro del género comprende árboles y arbustos glabros con hojas alternas y simples, sus flores contienen un ovario semi-infero densamente pubescente y producen drupas como frutos en forma globosa a oblonga, que en su mayoría (Dos Santos, 2005; Fritsch, 1997; Carranza, 1993; Pacheco 1983).

El mamuyo o *Styrax ramirezzi* es una especie silvestre poco estudiada pero con gran presencia en cuanto a su distribución dentro del estado de Michoacán se refiere y teniendo como gran atractivo el tener frutos comestibles, característica sobresaliente en comparación con otras especies con frutos no comestibles del género *Styrax* (Pauletti y col., 2006; Carranza, 1993; Pacheco, 1983). El fruto del mamuyo ha sido consumido única y exclusivamente por los habitantes de las zonas donde desarrolla, sin que sea explotado comercialmente; aunado a esto y con la información que reporta a *Styrax ramirezzi* con los únicos frutos comestibles producidos por las especies que se incluyen en el género *Styrax*, es fundamental su caracterización y análisis (Carranza, 1993). Por ello, la presente investigación tuvo como objetivo realizar un análisis fisicoquímico del fruto maduro de *Styrax ramirezii*.

Materiales y métodos

Descripción geográfica del lugar y la colecta del fruto

Para la ubicación de los distintos sitios de poblaciones de materiales de *Styrax ramirezzi*, se recurrió a revisión bibliográfica, encargados de jardines botánicos y habitantes cercanos de las zonas referenciadas en donde existía la posibilidad de encontrar plantas adecuadas para la investigación.

Ya identificados los sitios, se realizó la colecta de los frutos completamente al azar, obtenidos de arbustos de 1 a 2 metros de altura. La drupa se cosecho en una etapa de consumo maduro referido por los locatarios. Los frutos se transportaron manteniéndolos a una temperatura de 6 a 9 °C hasta llegar al laboratorio de bromatología de la Facultad de Agrobiología "Presidente Juárez", en Uruapan Michoacán en donde se procedió a las determinaciones fisicoquímicas del mamuyo en diciembre del 2014.

Diseño y unidad experimental

Para la determinación de los análisis fisicoquímicos se utilizó un diseño experimental completamente al azar y los parámetros evaluados se interpretaron mediante tablas de frecuencia.

Análisis fisicoquímico bromatológico

Tamaño

El tamaño del fruto se evaluó con un calibrador vernier digital marca Truper, se midió la fruta por su diámetro ecuatorial y diámetro longitudinal. Se obtuvo la lectura en milímetros (mm) directamente en la escala del vernier según lo establecido en la Norma Mexicana NMX-FF-009-1982.

Peso

Para determinar el peso del fruto se utilizó una balanza analítica marca Sartorius modelo 210S, pesándose cada fruto de manera individual y expresando los resultados en gramos.

Volumen

El volumen se evaluó con una probeta de 10 ml, en donde se insertaron los frutos por separado, midiendo el desplazamiento del agua y tomando la lectura de la probeta. En referencia que 1 mL mililitro es igual a cm^3 , esto para expresar el volumen del fruto.

Porcentaje de semilla

En el porcentaje de semilla se utilizó una balanza analítica, se pesaron diferentes frutos de mamuyo por separado y posteriormente se retiró la semilla a cada una para pesarla, la diferencia entre las lecturas (peso con semilla y peso sin semilla) nos permitió determinar el porcentaje de semilla.

Firmeza

Para determinar la firmeza del fruto fue utilizado un Texturómetro con una sonda tipo plataforma (para resistencia a la compresión) modelo Taxt express, que se ajustó a Pre-spd de 2.0 mm, Trig. Frc 0.5 g, Test Spd 2.0 mm, Retn spd 1.0 mm, 1 cycle y con una distancia de compresión de 1.0 mm, seguido a esto se tomó lectura de la cantidad de gramos fuerza necesarios para comprimir el fruto, los resultados fueron convertidos a Newtons ($\text{gf} = 0.0098 \text{ N}$) para su interpretación y análisis.

Humedad

Según lo indicado por la Norma Mexicana NMX-F-083-S, la humedad se determinó pesando una cantidad de muestra molida y homogenizada de la parte comestible del fruto del mamuyo y posteriormente las capsulas se colocaron en el horno de aire forzado a una temperatura de 90°C durante 75 minutos.

Después se transfirió la capsula a un desecador donde se dejó enfriar durante 30 minutos y finalmente se pesó para aplicar la siguiente formula:

$$\% \text{ en Humedad} = \frac{(P - P_1)}{P_2} \times 100$$

Donde:

P = Peso del recipiente con la muestra húmeda, en gramos.

P1 = Peso del recipiente con la muestra seca.

P2 = Peso de la muestra en gramos.

Con esto y por diferencia de peso pudimos calcular la cantidad de materia seca que se encuentra en la parte comestible del fruto.

Ceniza

Para la determinación de ceniza se siguió el protocolo que señala la Norma Mexicana NMX-F-066-S, la cual indica utilizar un crisol a peso constante y agregar 2 g de muestra sin humedad para analizarla, posteriormente colocamos el crisol con la muestra en una parrilla y hasta quemarla lentamente hasta que ya no desprenda humo.

Después se llevó el crisol a una mufla en donde se sometió a una temperatura de 600 °C durante 3 horas para efectuar la calcinación completamente. Después se dejó enfriar en la mufla para transferir la muestra al desecador para su completo enfriamiento y registrar el peso del crisol con cenizas, la cantidad de ceniza se determinó aplicando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ en Humedad} = \frac{(P - p) \times 100}{M}$$

Donde:

P = Masa del crisol con las cenizas en gramos.

p = Masa de crisol vacío en gramos.

M = Masa de la muestra en gramos.

Sólidos solubles totales

Se utilizó un refractómetro manual marca Atago con rango de 0 – 30°Brix, según lo indicado por la Norma Mexicana NMX-FF-015-1982, que consistió en agregar de dos a tres gotas de pulpa para colocar en el prisma del refractómetro y tomar la lectura directamente.

Ph

Se tomó lectura directamente del potenciómetro Oaklon (previamente calibrado con soluciones reguladoras de pH 4 y pH) en donde se midió la muestra (1 g de pulpa diluida en 10 ml de agua destilada), como lo indica la Norma Mexicana NMX-F-317-S-1978.

Acidez titulable

Se pesó 1 g de la pulpa y se diluyó con 10 ml de agua destilada, y se adicionaron 3 gotas de solución de fenofaleína al 1%, posteriormente se tituló con NaOH al 0.1 N hasta obtener un color ligeramente rosado persistente por 30 segundos, lo anterior basado en la Norma Mexicana NMX-FF-011-1982, los mL gastados de la solución tituladora se sometieron a la siguiente fórmula:

$$\text{Acidez} = \frac{100 \times N \times V}{M}$$

V = Volumen en centímetros cúbicos de la solución de NaOH gastada en la determinación.

N = Normalidad (concentración) de la solución de NaOH.

M = Masa en gramos de la muestra.

Finalmente se multiplica la acidez por la constante del ácido cítrico (0.064) para obtener la acidez titulable.

Color

Para la medición del color del pericarpio y pulpa del mamuyo se utilizó un colorímetro de Reflectancia Marca Lovibond (con patrón de calibración blanco de $L^* = 94.43$, $a^* = -1.01$, $b^* = 0.24$) para obtener las coordenadas del sistema de color CIE- $L^*a^*b^*$.

La medición se realizó en un punto al azar sobre 200 frutos, una vez determinados los componentes L^*a^* y b^* se calculó el Índice de color (I.C.) a través de la siguiente ecuación:

$$I.C. = \frac{1000(a^*)}{(L^*)(b^*)}$$

Porcentaje de jugosidad:

En el porcentaje de jugo se utilizaron 100 g de fruta (133 frutos) que se introdujeron a un mortero para retirar la semilla y obtener la pulpa de forma homogénea para estrujar la pulpa y conseguir la mayor cantidad de jugo, finalmente el jugo adquirido se vertió a un matraz de 100 mL donde se tomó la lectura de la cantidad de jugo obtenido.

Extracto etéreo

Para la determinación de extracto etéreo o grasa bruta se utilizó 1 g de muestra cubierta con un papel filtro, para colocarlo en un dedal de celulosa y posteriormente se insertó en el aparato de Soxhlet. En la parte inferior se ajustó un matraz con 200 mL de hexano (para calentarse a 100 – 110 °C) y se agregó refrigerante para condensar los vapores del hexano, después de que se calentó se reguló la temperatura de la parrilla para obtener 1 gota por segundo.

La extracción se efectuó durante 5 horas para posteriormente quitar el matraz y retirar la muestra del dedal, para finalizar se evaporó el hexano del matraz hasta obtener un peso constante y se pesó la muestra. Se realizaron los cálculos correspondientes para la determinación de grasa como lo indica el protocolo de la Norma Mexicana NMX-F-089-S-1978 y la fórmula fue la siguiente:

$$\% \text{ de Extracto Etéreo} = \frac{P - p \times 100}{M}$$

Donde:

P = Masa en gramos del matraz con grasa.

p = Masa en gramos del matraz sin grasa.

M = Masa en gramos de la muestra.

Resultados

Peso

La determinación del peso de los frutos arrojó que el 72.4 % de los frutos muestreados tienen un peso entre 0.55 y 0.92 (Figura 8); además los momentos estadísticos (media = 0.73; desviación estándar = 0.16; curtosis = 0.07 y moda = 0.69) revelan que se encuentran distribuidos normalmente y que el comportamiento de la población respecto a su peso es cercano a la media, con lo cual, un fruto de mamuyo con madurez de consumo tiene un peso aproximado de 0.73 g, es decir, en 1 kg hay 1370 frutos.

Tamaño

Los resultados preliminares obtenidos para el tamaño (ecuatorial y longitudinal) del fruto demuestran y confirman lo descrito por Carranza (1993) acerca que *S. ramirezii* produce frutos ovoides. Las Figuras 9 y 10 muestran la distribución de los tamaños ecuatorial y longitudinal, en donde se aprecian distribuciones normales con tendencias leptocúrticas (curtosis de 0.22 y 0.69 para tamaño ecuatorial y longitudinal) cercanas a 9.89 mm de tamaño ecuatorial y 12.27 mm de tamaño longitudinal (medias aritméticas), medidas que tendría un fruto habitualmente consumido por los pobladores (modas = 10.01 y 12.28 respectivamente).

Volumen

El volumen medio de los frutos de mamuyo es de 0.65 cm^3 (desviación estándar = 0.09; curtosis = 0.34 y moda = 0.63) y el 73.1 % de la muestra registraron valoren entre 0.55 y 0.80 cm^3 (Figura 11), lo cual describe un comportamiento homogéneo en cuanto al espacio ocupado por cada fruto.

Densidad

Los datos obtenidos en el cálculo de la densidad absoluta (Figura 12) tuvieron una media de 0.123 g/cm^3 (desviación estándar = 0.03; curtosis = 1.10 y moda = 0.120) y el 50 % de los frutos muestreados registraron valores dentro del intervalo de 0.110 y 0.140 g/cm^3 mismos valores para la densidad relativa con la referencia del agua.

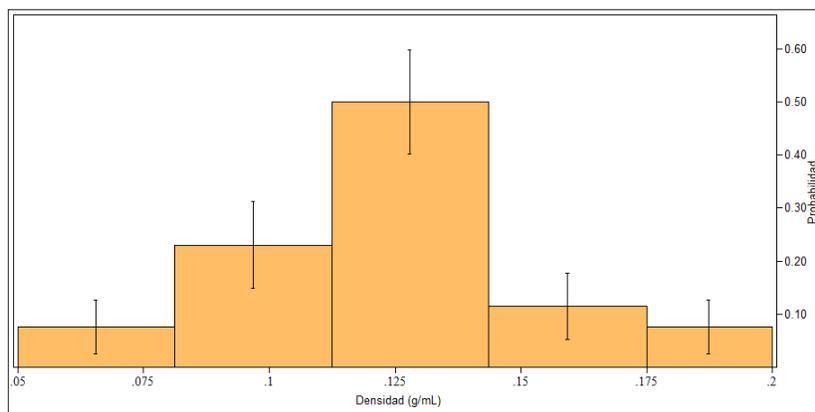


Figura 1. Densidad de frutos de *S. ramirezii*.

Porcentaje de semilla

El porcentaje de semilla (Figura 13) reveló que cada fruto tiene en promedio el 27.03 % de su peso total de semilla, es decir que de cada 100 g de fruto obtendríamos aproximadamente 80 g de

pulpa, teniendo en cuenta que habitualmente los pobladores consideran únicamente la semilla como no comestible. Los momentos estadísticos fueron: desviación estándar = 4.37; curtosis = -0.86 y moda = 28.2.

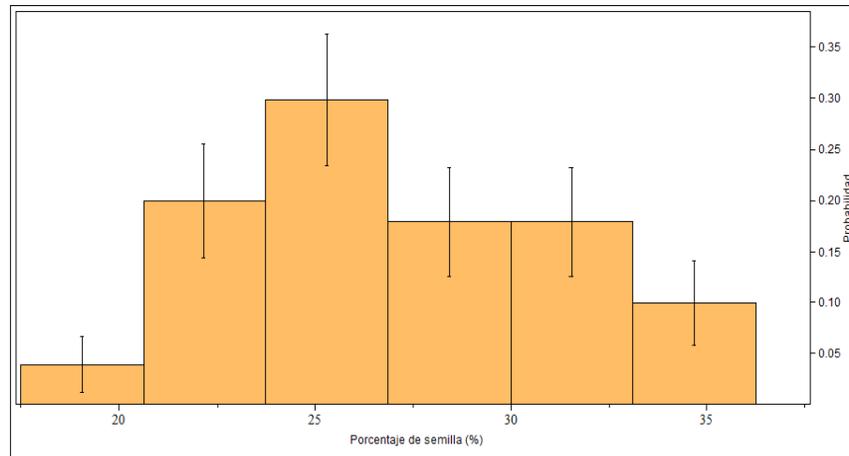


Figura 2. Porcentaje de semilla de frutos de *S. ramirezii*.

Color

El índice de color (I.C.) calculado a partir del sistema de color CIE $L^*a^*b^*$ y representado en la Figura 14 tuvo una media aritmética de -1.37 (desviación estándar = 0.21; curtosis = -0.03 y moda = -1.35) y el 100 % de los frutos (debido a que el color fue un criterio de selección de los frutos con madurez de consumo) están presentes en el intervalo de -2 y 2, lo que visualmente son colores violetas; lo cual corresponde con la coloración morácea en la que se basan los pobladores para su consumo.

Adicionalmente las medias de los componentes son $L^* = 56.11 (\pm 2.01)$, $a^* = 0.75 (\pm 0.18)$ y $b^* = 9.86 (\pm 1.24)$.

Firmeza

La firmeza (Figura 15) calculada como resistencia a la compresión tuvo una media de 2.91 N como fuerza máxima para comprimir 1 mm el fruto, visualmente el fruto se deforma una vez que la sonda regresa a su posición inicial. Los momentos estadísticos son: desviación estándar = 1.56, curtosis = 2.41 y moda = 2.88.

Porcentaje de jugosidad

El mamuyo tiene un 76.3 ± 1.2 % de jugo, es decir que por cada 100 g de fruto sin semilla (pulpa) se pueden obtener aproximadamente 76.3 mL. Tomando el peso total del fruto (con semilla) el porcentaje es de 55.6 %.

Sólidos solubles

Los sólidos solubles presentes en el jugo del mamuyo oscilan entre 14.9 y 15.1 °Bx y lo que indica es cociente es que existen en promedio 15 g de azúcar (sacarosa principalmente) por cada 100 mL de jugo.

pH

Las lecturas del jugo muestran que el mamuyo tiene un promedio de pH de 5.51 ± 0.09 , valor más neutro en comparación con el pH del jugo de arándano azul (*Vaccinium corymbosum*) que oscila entre 2.5 y 3.0 (FAO, 2011).

Acidez titulable

La acidez titulable promedio del mamuyo es de 1.15 % (± 0.13) de ácido cítrico, valores inferiores a los registrados ante la FAO (2011) para el arándano, que en promedio tiene 2.42 % de ácido cítrico.

Humedad

La cantidad de humedad presente en la parte comestible del fruto es de 84.65 ± 1.21 g por cada 100 g, por lo cual la cantidad de materia seca es de 15.35 ± 1.21 g por cada 100 g, valores que indican alto contenido de agua disponible para una eventual deshidratación y conservación de sus nutrientes.

Ceniza

En la determinación de ceniza se obtuvo una media de 0.61 ± 0.07 g por cada 100 g de la parte comestible del fruto, es decir, un 0.61 %.

Extracto etéreo

La cantidad de extracto etéreo fue de 0.52 ± 0.04 g por cada 100 g de la parte comestible del mamuyo (0.52 %), valores superiores a los 0.33 g que contiene 100 g de arándano azul (FAO, 2011).

Conclusiones

Las características evaluadas del mamuyo lo sitúan como un importante fruto con potencial económico y también para proponerse en programas de fitomejoramiento.

Esta investigación permitió evidenciar la importancia alimenticia del mamuyo como alimento apto para consumir.

Hasta donde se tiene conocimiento, este es el primer reporte de análisis de fisicoquímicos de las especies *S. ramirezii*.

Bibliografía

Carranza, E. (1993). Styracaceae. Flora del bajío y regiones adyacentes. 21, 1-14.

Carranza, E. (1996). Una nueva variedad de *Styrax argenteus* (Styracaceae) del estado de Oaxaca, México. *Acta Botánica Mexicana*. 36, 15-19.

Yoshikama, K., Hirai, H., Tanaka, M. y Arihara, S. (2000). Antisweet natural products. XV.1) Structures of Jegosaponins A—D from *Styrax japonica* SIEB. et ZUCC. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 48 (7), 1093-1096.

Mendoça, P. P., Regina, A. A., Marx, Y. M., Giesbrecht, A. M. y Da Silva B. V. (2000). nor-Lignans from the leaves of *Styrax ferrugineus* (Styracaceae) with antibacterial and antifungal activity. *Phytochemistry*. 55, 597-601.

Breuer, B., Stuhlfauth, Fock, H. y Huber, H. (1987). Fatty acids of some Cornaceae, Hydrangeaceae, Aquifoliaceae, Hamamelidaceae and Styracaceae. *Phytochemistry*. 26 (5), 1441-1445.

Fritsch, P. W. (1997). A revision of *Styrax* (Styracaceae) for western texas, Mexico and mesoamerica. *The Annals of the Missouri Botanical Garden*. 84 (4), 705-761.

CARACTERIZACION DE TORTILLA DE MAÍZ ADICIONADA CON *Pleurotus dryinus*

Perla María Reyes Huerta, Berenice Yahuaca Juárez, Ivone Huerta Aguilar

¹Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia Mich.
qfb.perlareyes@gmail.com

RESUMEN

Las setas son altas en fibra y proteínas, caso particular *Pleurotus dryinus*. Estos componentes nutricionales hacen que las setas sean atractivas para su consumo en fresco, procesadas como materia prima o como suplementos alimenticios. El maíz posee baja calidad proteica, cuando se nixtamaliza se aumenta el balance de aminoácidos esenciales, pero no lo convierte en un alimento de alta concentración proteica, una alternativa para mejorar la calidad nutricional de la tortilla en función del aporte proteico es la adición de setas. El objetivo fue evaluar las características fisicoquímicas de tortilla de maíz adicionada con *Pleurotus dryinus*. El material de estudio fue seta deshidratada, maíz variedad Sinaloa, el cual se caracterizó mediante un análisis químico proximal. Se nixtamalizó el maíz con 1 % de Hidróxido de calcio a 94 °C por 45 min., se reposó por 12 h, se lavó y molió para obtener masa; la masa se deshidrató a temperatura ambiente y se molió para obtener harina. Se desarrollaron tres concentraciones: 2.5 % de seta – 97.5 % de harina de maíz 3.5 % de seta – 96.5 % de harina de maíz y 1.5 % de seta – 98.5 % de harina de maíz. A cada formulación se le determinó adhesión y consistencia. Posteriormente se formaron las tortillas y se cocieron a 270 °C. Se realizará un panel de degustación con 30 panelistas, a los cuales se les dará a evaluar la tortilla, para determinar la concentración de mayor agrado. El análisis químico proximal destaca que la seta es alta en proteína (10.72 g%) lo que permite incrementar la concentración de proteínas en tortilla. Las formulaciones desarrollan en la tortilla una coloración entre amarillo y naranja con un grado de inflado similar y de buena consistencia. Las tortillas elaboradas con la concentración de 2.5% presentan mejores características y son de calidad comestible.

1. INTRODUCCIÓN

El maíz es el cereal de los pueblos y culturas del continente americano. Las más antiguas civilizaciones de América –desde los olmecas y teotihuacanos en Mesoamérica, hasta los incas y quechuas en la región andina de Sudamérica– estuvieron acompañadas en su desarrollo por esta planta. El maíz es el cereal que más importancia ha tenido en varios sectores de la economía a escala mundial durante el siglo XX y en los inicios del XXI. En los países industrializados, el maíz se utiliza principalmente:

- Forraje
- Materia prima para la producción de alimentos procesados
- Etanol.

Por el contrario, en algunos países de América Latina y, cada vez más en países africanos, un gran porcentaje del maíz que se produce o importa se destina al consumo humano. La tortilla de maíz es uno de los principales alimentos en la dieta de todo mexicano; aporta una buena cantidad de carbohidratos, fibra, grasa y un poco de proteína. Al día se consumen en el país 300 millones de kilogramos de tortilla, tan sólo en el DF el consumo por habitante es de 9 tortillas diarias.

2. TEORÍA

El maíz posee baja calidad proteica; cuando se aplica la nixtamalización para obtener tortillas se aumenta el balance de aminoácidos esenciales, sin embargo no lo convierte en un alimento de alta concentración proteica. La cocción alcalina y el remojo provocan la disolución y el hinchamiento de las capas del pericarpio, esto hace que las paredes celulares y los componentes de la fibra dietaria de esta parte del grano se vuelvan frágiles, facilitando su remoción. La digestibilidad de la proteína disminuye ligeramente tanto en el nixtamal como en la tortilla, lo cual está relacionado con el tiempo de cocción y la concentración de cal, ya que la cocción altera las prolaminas provocando que sean menos susceptibles a la digestión. El maíz carece de los aminoácidos esenciales Lisina y Triptófano.

Una alternativa para mejorar el aporte proteico es adicionar la tortilla con setas. Los hongos comestibles tienen gran demanda en el mercado por su uso gastronómico, nutricional y medicinal. Las setas son altas en fibra y proteínas, caso particular de la seta *Pleurotus dryinus*.

3. PARTE EXPERIMENTAL

Materiales: La seta fue recolectada en la localidad de Tirio Morelia, Mich., fue proporcionada deshidratada y molida en polvo, por la empresa KAMHURO, HONGOS EXÓTICOS ®. Maíz variedad sinaloa, adquirido en el mercado independiente de la ciudad de Morelia Mich.

Métodos: Nixtamalización del maíz 95 °C/ 40 min con 1% Hidroxido de calcio. Reposo 12 hrs., posterior molido en molino de piedra tradicional para la obtención de la masa. La masa se deshidrató a temperatura ambiente por 2 días, para la obtención de harina de maíz nixtamalizada, posteriormente fue molido en equipo Pulvex 400® pasando por la malla n° 60. Se prepararon tres diferentes concentraciones 2.5% de seta – 97.5% de harina de maíz 3.5% de seta – 96.5% de harina de maíz y 1.5% de seta – 98.5% de harina de maíz. Se rehidrató para medir consistencia y adhesividad a la masa en Texturometro TA-XT2i. Posteriormente se preparan los discos (tortilla) a manera tradicional cocidas en comal a 270 °C, a los cuales se les midió resistencia al corte en Texturometro TA-XT2i, y color con Colorimetro HunterLab MiniScan®.

También se llevó a cabo el análisis químico proximal de la seta deshidratada, maíz crudo, tortilla patrón (sin seta) y tortilla adicionada a las diferentes concentraciones antes mencionadas, con la metodología de indican las NMX. Se realizará un panel de degustación con 30 panelistas, a los cuales se les dará a evaluar la tortilla, para determinar la concentración de mayor agrado.

Resultados y Discusión

En la Tabla 1 se presentan los resultados obtenidos sobre la consistencia y adhesión de la masa elaborada con harina de maíz nixtamalizada y la sustitución a diferentes porcentajes de *Pleurotus dryinus*.

Tabla1. Consistencia y adhesión de la masa

DETERMINACIÓN/ CONC.	1.5%	2.5%	3.5%	Patrón
Consistencia	Buena	Buena	Buena	Buena
Adhesión (g/f)	27.12	26.62	25.05	28.49

La consistencia de la masa se midió subjetivamente al rehidratar la harina de maíz nixtamalizada, todas las concentraciones y la masa patrón (sin seta) presentan una consistencia adecuada. La adhesión se encontró entre 25.05 y 28.49 g/f sin diferencias estadísticas entre las diferentes concentraciones, lo cual se encuentra dentro de parámetros normales (Jiménez-juárez et al. 2012)

En referencia a la tortilla, la tabla 2 muestra las características de corte y grado de inflado. Para determinar la fuerza a la tensión y al corte se utilizó el equipo Texture Analyzer TA-XT2, con accesorio TA-18, reportando los datos en g/f.

Tabla 2. Corte y grado de inflado de la tortilla

DETERMINACIÓN/ CONC.	1.5%	2.5%	3.5%	Patrón
Corte (g/f)	1308.25	853.99	945.67	1756.68
Grado de inflado	2	2	2	2

El grado de inflado de las tortillas nos indica la calidad de la cocción de la tortilla, se evaluó durante el cocimiento, mediante el uso de la siguiente escala subjetiva: 1) tortilla con inflado completo, 2) inflado intermedio y 3) sin inflado. Obteniendo como resultado un grado de inflado 2 y un corte entre 853.99 g/f y 1756.68, esto nos habla de una tortilla medianamente dura.

En cuanto al análisis químico proximal, se determinaron los siguientes parámetros, humedad, materia seca, extracto etéreo, fibra cruda, cenizas, E.L.N., todo ellos en base seca, descritos en las NMX. El procedimiento se le realizó a la seta deshidratada y maíz crudo (tabla 3), tortilla adicionada a concentraciones (tabla 4) y tortilla patrón (tabla 5)

Tabla 3. Análisis químico proximal de la seta deshidratada y el maíz crudo.

DETERMINACIÓN/ MUESTRA	<i>Pleurotus dryinus</i> (seta)	Maíz sinaloa
Humedad g%	8.80	9.20
Materia seca g%	91.20	90.80
Extracto etéreo (grasa) g%	1.94	4.49
Fibra cruda g%	9.32	13.54
Proteína cruda g%	10.72	9.10
Cenizas (minerales) g%	8.31	1.34
E.L.N. (Carbohidratos) g%	69.71	71.54

Tabla 4. Análisis químico proximal de la tortilla adicionada con seta en sus diferentes concentraciones.

DETERMINACIÓN/ MUESTRA	Tortilla 1.5 %	Tortilla 2.5%	Tortilla 3.5%
Humedad g%	41.20	37.80	42.80
Materia seca g%	58.80	62.20	57.20

Extracto etéreo (grasa) g%	1.25	0.50	0.93
Fibra cruda g%	11.21	10.66	9.08
Proteína cruda g%	10.02	9.19	9.63
Cenizas (minerales) g%	2.08	8.31	2.67
E.L.N. (Carbohidratos) g%	75.55	78.06	77.69

Tabla 5. Análisis químico proximal de tortilla sin seta

DETERMINACIÓN/ MUESTRA	Tortilla
Humedad g%	39.60
Materia seca g%	60.40
Extracto etéreo (grasa) g%	0.93
Fibra cruda g%	10.59
Proteína cruda g%	8.71
Cenizas (minerales) g%	2.51
E.L.N. (Carbohidratos) g%	77.26

Los resultados de los análisis químicos proximales indican que en efecto la proteína se ve aumentada en las tortillas adicionadas con seta *Pleurotus dryinus*, y no hay cambios significativos en el resto de los parámetros analizados.

Finalmente, con referencia al análisis sensorial, se desarrolló la hoja de evaluación que consistirá de una escala hedónica de 9 puntos, con 30 panelistas no entrenados, los cuales calificarán las siguientes características de las tortillas, acatando las siguientes instrucciones: Frente a usted tiene 4 muestras de tortilla mejorada. Observe y pruebe cada una de ellas, de izquierda a derecha y enjuagándose la boca entre cada una. Indique el grado en que le gusta o disgusta cada atributo de cada muestra, de acuerdo al puntaje/categoría, escribiendo el número correspondiente en la línea del código de la muestra.

Puntaje	Categoría	Puntaje	Categoría
1	Disgusta extremadamente	6	Gusta levemente
2	Disgusta mucho	7	Gusta moderadamente
3	Disgusta moderadamente	8	Gusta mucho
4	Disgusta levemente	9	Gusta extremadamente
5	No gusta ni disgusta		

CÓDIGO	PUNTUACIÓN			
	OLOR	COLOR	SABOR	TEXTURA

Para el análisis de los datos, los puntajes numéricos para cada muestra, se tabulan y analizan utilizando análisis de varianza (ANOVA) con la prueba de Tukey ($\alpha = 0,05$), para determinar si existen diferencias significativas en el promedio de los puntajes asignados a las muestras.

4. CONCLUSIÓN

El análisis químico proximal destaca que la seta es alta en proteína (10.72 g%) lo que permite incrementar la concentración de proteínas en tortilla, este incremento es proporcional a la concentración de seta agregada. La tortilla con 2.5% de seta muestra mejores características fisicoquímicas. Los resultados de la evaluación sensorial se presentarán en la segunda etapa de desarrollo del proyecto.

BIBLIOGRAFÍA

1. La tortilla. Luis Amador. Alimentación y nutrición. PROFECO.
2. Curso de granos harinas, masa, tortilla y tostadas. Cisvestav Unidad Querétaro
3. PRODAR. Manual de Procesos Agroindustriales. Proyecto de Capacitación para el Fomento de la Agroindustria Rural. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. San José – Costa Rica. Documento sin publicar. 120 p.© FAO, 2006
4. Manual de producción de Setas. I.B.Q. Ivone Huerta Aguilar. CENTRO DE INVESTIGACIONES GENÉTICAS DE MORELIA A.C.
5. El origen y la diversidad del maíz en el continente americano. Dr. José Antonio Serratos Hernández. UNAM-Greenpeace 2009.
6. La nixtamalización. Octavio Paredes López *et al.* IPN 200
7. Características del grano, masa y tortilla producida con diferentes genotipos de maíz del trópico mexicano. JA Jiménez-Juárez , G Arámbula-Villa, E de la Cruz-Lázaro, MA Aparicio-Trapala. 2012.
8. Norma NMX-F-607-NORMEX-2002
9. Norma NMX-F-083-S-1986.
10. Norma NMX-F-608-NORMEX-2002
11. Norma NMX-F-NORMEX-2003

DETERMINACION DE COLIFAGOS EN LODOS RESIDUALES TRATADOS ALCALINAMENTE

María Andrea Olivares Luna¹, Fernando López Valdez¹ y Minerva Rosas Morales¹

Centro de Investigaciones en Biotecnología Aplicada, IPN, Carr. Est. Sta. Inés Tecuexcomac-Tepetitla km 1.5, s/n. Tepetitla de Lardizábal, Tlaxcala. 90700, México
andyluna1819@hotmail.com, flopez2072@yahoo.com.

RESUMEN

Los lodos residuales son residuos que se caracterizan por su alto contenido en materia orgánica, así como minerales que pueden ser benéficos para el crecimiento y desarrollo de las plantas, además estos lodos pueden tener aplicación como mejoradores del suelo. Su uso está condicionado por la presencia de organismos patógenos en estos residuos. Su aplicación al suelo agrícola debe ser después de su proceso de estabilización, debido a su alto contenido de microorganismos patógenos que pueden representar un peligro para la salud. La concentración de los colifagos en los lodos residuales puede alcanzar hasta 7.3×10^8 UFP g^{-1} ST, superando los límites establecidos por la United States Environmental Protection Agency (USEPA) para su aplicación en suelos agrícolas sin restricción. El objetivo de este trabajo fue evaluar el tratamiento alcalino en la inactivación de los colifagos presentes en lodos residuales. Se monitoreo la concentración de virus colifagos durante 15 y 45 días en dos temporadas (cálida y fría). Los resultados obtenidos mostraron que el óxido de calcio al 10% elevó el pH a 12 al momento de contacto. El tratamiento alcalino fue significativamente diferente comparado con el tratamiento sin alcalinizar.

Palabras Clave: Lodos residuales, Inactivación de colifagos, Tratamiento alcalino

1. INTRODUCCIÓN

Los lodos residuales son desechos que se caracterizan por su alto contenido en materia orgánica, particularmente nitrógeno mineral y orgánico, así como minerales que pueden ser benéficos para el crecimiento y desarrollo de las plantas, además estos lodos pueden tener aplicación como mejoradores del suelo. La aplicación de lodos residuales en la agricultura es una práctica recomendable para reutilizar los nutrimentos y la materia orgánica presentes en este subproducto de las plantas de tratamiento de aguas residuales [United States Environmental Protection Agency (USEPA), 1989; Outwater, 1994; Figueroa *et al.*, 2002]. En México, el volumen de aguas residuales es de 187 m³/s, y sólo el 22% recibe algún tipo de tratamiento, lo cual produce 640,000 ton base seca de lodos al año (CONAGUA, 2000); por otra parte, 63% del territorio nacional (1.2 millones de km²) es suelo que representa erosión desde moderada a severa. Algunas ciudades como, Monterrey, Ciudad Juárez y Toluca ya han empezado a reutilizar sus lodos sobre todo como mejoradores de suelo (Barrios y Jiménez, 2001); sin embargo su aplicación al suelo agrícola debe ser después de su proceso de estabilización, debido a su alto contenido de microorganismos patógenos que pueden representar un peligro para la salud, esto limita su aplicación directa al

suelo implicando un alto riesgo sanitario para los cultivos destinados a consumo humano. Los virus entéricos son de particular importancia con respecto a la aplicación de lodos residuales en el suelo, debido a la lixiviación que involucra el movimiento viral a través del suelo hacia acuíferos subterráneos (Bean, 2007).

Los bacteriófagos están normalmente presentes en las aguas residuales y como resultado, se acumulan en la materia orgánica (lodos residuales) por efecto de la precipitación-floculación. Los colifagos son virus que infectan a las bacterias coliformes, son representativos de los virus derivados por vía fecal. Se han considerado como organismos indicadores útiles para evaluar la eficacia de tecnologías de tratamiento para eliminar los virus enteropatógenos humanos potenciales (por ejemplo, rotavirus y calicivirus). Debido a su importancia como organismo indicador la inactivación de los virus ha sido estudiada en un número limitado de casos. Es por ello que el objetivo de este trabajo fue evaluar el tratamiento alcalino en la inactivación de los colifagos presentes en lodos residuales.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo

Las muestras de lodos residuales se obtuvieron de la planta de tratamiento de aguas residuales RECICLAGUA, S.A de C.V. (Lerma, Estado de México). Se muestrearon seis kilogramos de lodos residuales asépticamente en bolsas de plástico después de pasar por el filtro de banda, y fueron almacenados en refrigeración a 4 °C, para su caracterización. Se determinaron las concentraciones iniciales de colifagos en unidades formadoras de placas (UFP).

Cuantificación de colifagos

Se utilizó el Método de dos capas de agar de acuerdo a la APHA, AWWA, WPCF (1995). Los colifagos se determinaron utilizando el método de capa doble de agar, este cuantifica el número de placas líticas por factor de dilución, que corresponde al total de colifagos en la muestra; se utilizó *Escherichia coli* como hospedero en un medio de agar bacteriológico suave. El agar suave solidifica sobre una primera capa de agar nutritivo y se incubó a 37 °C por un período de 12 a 16 h.

Tratamiento

Se realizaron dos experimentos por duplicado, el primero se estableció durante el mes de diciembre (temporada fría) y el segundo, durante el mes de marzo (temporada cálida). Se realizaron dos tratamientos, uno alcalino (CaO, al 10% m/m) y el tratamiento control (sin CaO), bajo condiciones de invernadero. Se colocó 1 kg de lodos residuales en recipientes de plástico (de 0.30 x 0.25 x 0.12 m) y se agregaron 100 g de CaO. En el primer experimento, el periodo de exposición al tratamiento fue de 15 días, en el segundo experimento fue de 45 días, considerando el día de aplicación como el día 0. La cuantificación de los colifagos se realizó a los 0, 5 y 15 días para la temporada fría; y a los 0, 5, 10, 15, 30, y 45 días para la temporada cálida. Además, se determinó el pH y la temperatura durante el tratamiento.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados por ANOVA usando la prueba LSD, con un nivel de significancia de 0.05. El análisis se realizó utilizando el paquete SAS versión 9.0.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las características fisicoquímicas de los lodos residuales se muestran en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Caracterización de los lodos residuales

Características Fisicoquímicas	
pH	8.1
Conductividad eléctrica (dS m ⁻¹)	11.04
Contenido de agua (g kg ⁻¹)	853
Nitrógeno total (g kg ⁻¹)	69.02

La concentración promedio inicial para colifagos fue de 7.26×10^8 UFP g^{-1} ST. De acuerdo a los resultados, los lodos residuales presentaron características microbiológicas (clase B) según los límites establecidos por la USEPA (2003), por lo que el lodo presenta restricciones para su aplicación a suelos agrícolas, lo cual indica la importancia de implementar una tecnología que permita la reducción de estos organismos patógenos y de esta manera poder aprovechar los lodos residuales sin riesgos para el ambiente.

Se realizaron dos tratamientos uno adicionado con álcali (CaO) y el tratamiento control. La adición del álcali aumentó la temperatura de los lodos residuales, registrándose $33\text{ }^{\circ}\text{C}$ en la temporada fría y $38\text{ }^{\circ}\text{C}$ para la temporada cálida, durante la primera hora de contacto. Posteriormente, disminuyó la temperatura a $24\text{ }^{\circ}\text{C}$ (temporada fría) y $31\text{ }^{\circ}\text{C}$ (temporada cálida), permaneciendo constante a partir de las tres horas posteriores a la adición del CaO, para ambas temporadas. En el tratamiento alcalino, se elevó el pH del lodo a 12 unidades al momento del contacto con el óxido de calcio y permaneció por encima de este valor por 72 horas, independientemente de la temporada fría o cálida. El incremento del pH fue el principal factor relacionado con la reducción de los colifagos. La temperatura alcanzada por la adición del óxido de calcio no tuvo efecto sobre los virus, debido a que se encuentra en niveles tolerables por los colifagos y/o su bacteria huésped.

Los resultados en la reducción de los bacteriófagos durante el tiempo de exposición se observan en las figuras 1 y 2.

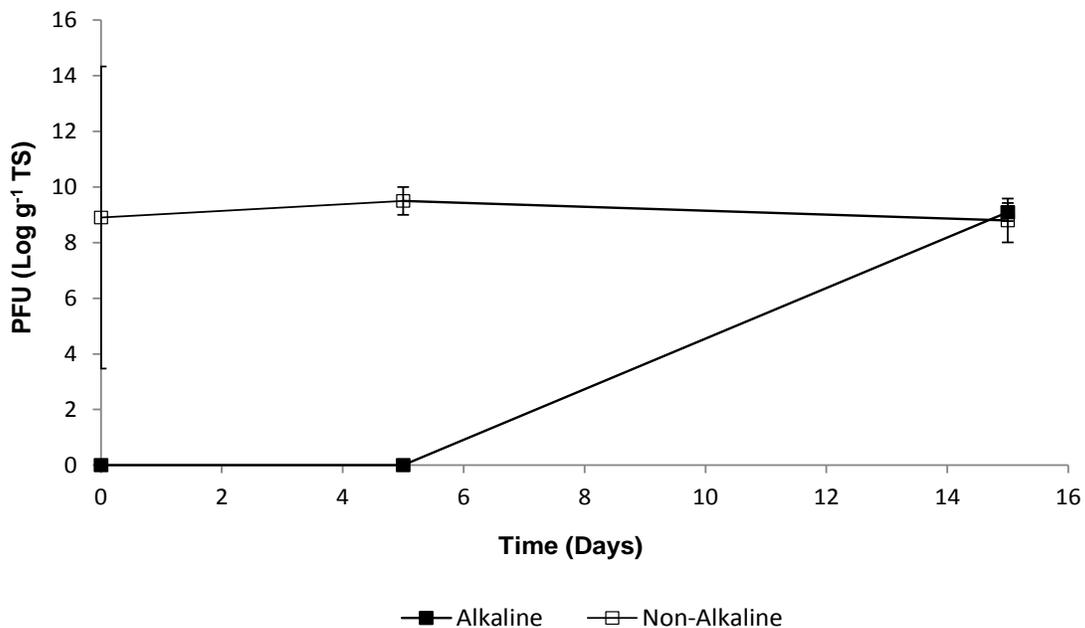


Figura 1. Inactivación de colifagos durante la temporada fría

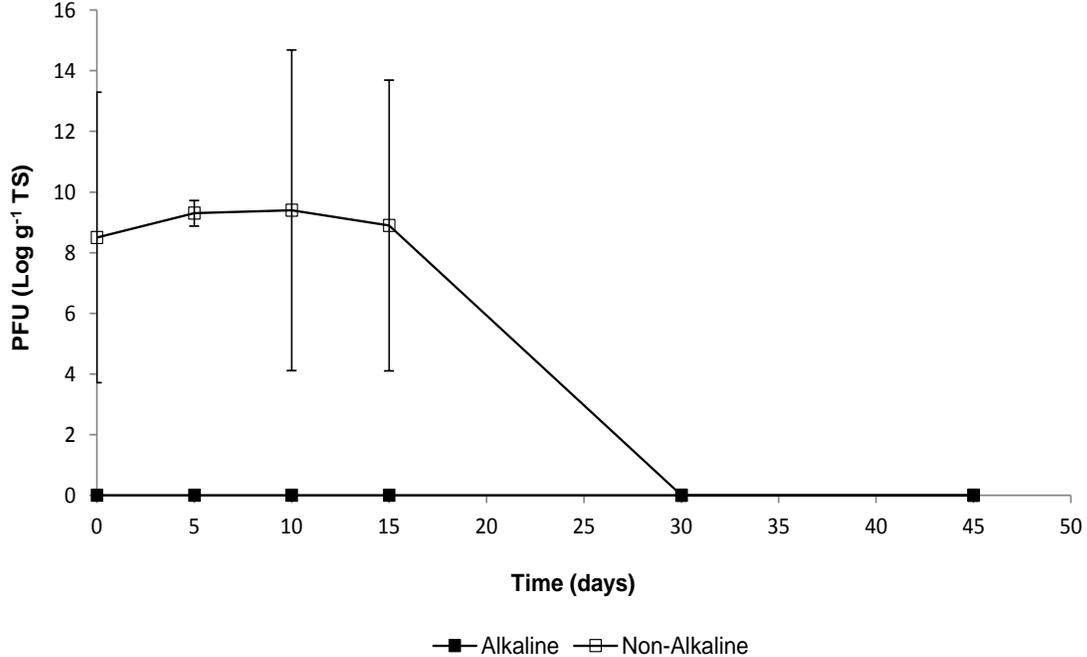


Figura 2. Inactivación de colifagos durante la temporada cálida

La utilización del óxido de calcio afectó considerablemente las poblaciones de colifagos las cuales disminuyeron a niveles no detectables, logrando la obtención de un lodo de “clase A” a partir del día 0 de contacto en ambas temporadas. En el segundo experimento, el lodo se mantuvo estable durante los 45 días de experimentación. Sin embargo, durante la temporada fría, el efecto persistió solamente hasta aproximadamente 8 días. Para el día 15 se observó un aumento en la cuenta e incluso mayor que la cuenta inicial. El aumento de la cuenta de bacteriófagos en el tratamiento alcalino es debido a que se presentaron condiciones de temperatura y contenido de agua, de 33°C y 14.6% favorables para la re-población de colifagos.

Si bien es cierto que la adición del álcali es el principal factor de reducción de la cuenta virus, el aumento puede estar directamente relacionado con la temperatura, el contenido de agua y la posible disminución del pH a lo largo del experimento, dado existen las condiciones favorables para el crecimiento de bacterias coliformes (huésped) que pueden multiplicarse incluso durante el tratamiento con cal a pH 9.6 (Grabow, 1978).

Por otro lado, se observa una relación entre la disminución de bacteriófagos y el aumento de la temperatura ambiental, dado que en la temporada fría se alcanzaron temperaturas máximas de 33 °C, en donde no se observaron diferencias significativas durante el experimento, mientras que en la temporada cálida se alcanzaron los 55 °C, manteniéndose entre los 50 °C y 55 °C. En el tratamiento no alcalino, el día 10 es significativamente diferente con respecto a los otros días (Cuadro 2), en donde se observa un aumento en la cuenta del día 0 al 5, alcanzando un máximo a los 10 días y disminuyendo significativamente para el día 30 ($p < 0.05$).

Cuadro 3. Comportamiento de la cuenta viral en el tratamiento alcalino y el control durante la temporada cálida.

DIA	ALCALINO	NO ALCALINO	LSD
	VIRUS / UFP g ⁻¹ ST		
0	0.1 A ^a a ^b	484,444,445 BC a	5.93x10 ⁸
5	0.1 A b	2,458,888,889 AB a	2.08x10 ⁹
10	0.1 A b	4,803,333,333 A a	3.63x10 ⁹
15	0.1 A a	581,666,667 BC a	7.42x10 ⁸
30	0.1 A b	0.1 C a	0
45	0.1 A b	0.1 C a	0
LSD	0 0	2.36x10 ⁹	

^a Valores con la misma letra mayúscula no tienen diferencia significativa sobre el tiempo,

^b Valores con la misma letra no tienen diferencia significativa entre tratamientos.

4. CONCLUSIONES

El tratamiento alcalino fue significativamente diferente comparado con el tratamiento sin alcalinizar. Aunque los colifagos se incrementaron a los 5 días durante la temporada fría en el tratamiento alcalinizado debido a que las bacterias sobrevivieron adaptándose a las condiciones alcalinas, lo que indica que a concentraciones de 60% de alcalinizante puede o no haber reducción de colifagos, esta reducción no solo dependerá de la alcalinización del medio; sino también de otros factores como el pH, y la temperatura del medio ambiente. Estos tres factores en conjunto son determinantes para la reducción de colifagos.

BIBLIOGRAFÍA

1. APHA. AWWA, WPCF. 1995. Standard methods for the examination of water and wastewater. Washington, D.C.
2. Barrios, J. A., A. Rodríguez, A. González, B. Jiménez, and C. Maya. 2001. Quality of sludge generated in wastewater treatment plants in Mexico: meeting the proposed regulation. pp. 54-61. *In: Specialized Conference on Sludge Management: Regulation, Treatment, Utilization and Disposal.* International Water Association (IWA)-Universidad Nacional Autónoma de México-Universidad Autónoma Metropolitana. Acapulco, México.
3. Bean, C.L., J. J. Hansen, A. B. Margolin, H. Balkin, G. Batzer and G. Widmer. 2007. Class B Alkaline Stabilization to Achieve Pathogen Inactivation. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 4(1), 53-60
4. Figueroa V., U., M. A. Flores O. y M. Palomo. 2002. Uso de biosólidos en suelos agrícolas. Folleto Técnico 3. Campo Experimental Valle de Juárez-Centro de Investigación Regional
5. Grabow, W.O.K., I.G. Middendorff and N.C. Basson. 1978. Role of lime treatment in the removal of bacteria, enteric viruses, and coliphages in a wastewater reclamation plant. *Applied and Environmental Microbiology.* 35 (4): 663-669.
6. Outwater, A. B. 1994. Reuse of sludge and minor wastewater residuals. Lewis Publishers. Boca Raton, FL, USA.
7. United States Environmental Protection Agency (USEPA). 2003. Control of pathogens and vector attraction in sewage sludge under 40 CFR part 503. Office of Water/Office Science and Technology Sludge/ Risk Assessment Branch. Washington. 173 p.
8. United States Environmental Protection Agency (USEPA). 1989. Environmental regulations and technology. Use and disposal of municipal wastewater sludge. EPA625/10-84-003. Washington, DC, USA.

EFFECTO DE LA TEMPERATURA EN LA INDUCCION DE LATENCIA EN

1 línea en blanco

^aAdriana Natividad Avendaño López, ^aPadilla-García,J.M., ^aSánchez-Martínez J, ^aArellano Rodríguez, L.J. y ^bQuintana Camargo, M.

^aUniversidad de Guadalajara, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias

^bUniversidad de Guadalajara, Centro Universitario de la Ciénega.

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo determinar que tanto interviene el factor temperatura sobre la inducción de latencia en semilla de pasto *Andropogon gayanus* (pasto llanero) Para ello fueron utilizadas 8 muestras de semilla comercial del pasto forrajero,; previamente caracterizadas con presencia de latencia. El trabajo se estableció bajo invernadero en un diseño en bloques al azar con cuatro repeticiones de 20 plantas. Se registró la temperatura mínima y máxima diaria, así como la caracterización de los materiales respecto a altura de planta, número de tallos, área foliar, días a floración masculina y femenina y a madurez fisiológica; se determinaron los grados días de desarrollo para cada etapa fenológica. En el laboratorio de análisis de semillas del CUCBA se realizaron los ensayos de germinación y viabilidad,. El ANVA fue el programa SAS, ($P \leq 0.05$); un análisis de correlación de Pearson, detecto interacción altamente significativa entre la temperatura y la germinación. Concluyendo que hay respuesta lineal a mayor temperatura durante el desarrollo de semilla mayor presencia de latencia. El efecto de la temperatura durante la formación de semilla juega un papel determinante en la inducción de latencia de semilla. La respuesta fisiológica de la semilla luego de experimentar temperatura igual o menor a 10°C fue notoria, esto debido a que se trata de una especie tropical

1. INTRODUCCIÓN,

La latencia en semilla, es la propiedad de inhibir la germinación durante un determinado periodo de tiempo, una semilla latente evita la competencia entre individuos y asegura su sobrevivencia a catástrofes naturales al eludir periodos inadecuados para el desarrollo de la planta. Es de origen hereditario y se considera un rasgo fuertemente influenciado por las condiciones ambientales bajo las cuales se desarrolla la planta progenitora (Bewley y Black, 1997; Baskin y Baskin, 2001). La latencia es común en semillas de plantas que crecen en estado silvestre ya que en el ambiente natural no siempre una semilla se encuentra en condiciones de germinar, frecuentemente sus expectativas de supervivencia serían escasas si germinara inmediatamente, así, semillas que maduran en otoño, pueden permanecer en estado de latencia hasta que aparezcan en primavera, las condiciones ideales para su crecimiento. Como resultado de la interacción planta-ambiente y durante el proceso de adaptación a su entorno, se ha comprobado incluso que las condiciones climáticas influyen tanto en la forma (tipo) como en la intensidad de la latencia en la semilla (Benech-Arnold, 2000)

Por otra parte, los factores ambientales de mayor importancia en la inducción de latencia, son las variaciones de temperatura, debidas a características fisiográficas y ecológicas del sitio de origen; ya que si se presentan temperaturas que excedan los umbrales de germinación, las semillas

Estratégicamente recurrirán a la inducción de un periodo de latencia, evitando las temperaturas que en algunos casos son letales. En tiempo en que una semilla permanece latente varía dependiendo de la especie y lo extremosos del clima; incluso una vez superado un primer periodo de latencia, un cambio repentino de temperatura puede propiciar un segundo periodo de latencia, conocido como latencia secundaria (Baskin,1998; Fenner y Thompson, 2005; Turner et al., 2005)

Una prioridad fundamental, en el desarrollo de la producción de semillas forrajeras, ha sido la selección de especies y cultivares bien adaptados. Estas especies naturalmente varían en sus características fisiológicas. Gramíneas forrajeras de los géneros *Brachiaria*, *Panicum* y *Andropogon* presentan en ciertas regiones características ventajosas, como resistencia a la sequía o poca exigencia en fertilidad de suelo, recuperación rápida después del pastoreo y tolerancia a plagas o enfermedades. La expansión de la oferta y demanda de semillas y la investigación aplicada sobre técnicas de producción de especies forrajeras han venido desarrollándose en forma paralela. Las semillas de especies forrajeras se caracterizan por presentar latencia.

En Venezuela la latencia característica en semillas de las diversas especies de *Brachiaria* y *Andropogon*, ha sido superado mediante periodos de almacenamiento variable. Sin embargo, este sistema no ha resultado muy eficiente debido a que la duración y condiciones que involucra este tipo de manejo no pueden ser aplicados por igual a todas las especies forrajeras y, en muchos casos, ha ocasionado problemas comerciales debido a la baja germinación en algunos lotes de semillas.

Las causas más comunes de latencia en semillas forrajeras son las siguientes:

1. Cubiertas florales duras e impermeables al agua y al oxígeno: El término cubierta incluye estructuras, externas o internas que cubren al embrión. Estas pueden ser duras y resistentes a la entrada de agua, lo cual puede limitar la difusión del oxígeno y resistir la expansión del embrión.
2. Inmadurez del embrión; se presenta en la mayoría de las gramíneas forrajeras, al no haber completado la semilla la madurez embrionica al momento de cosecha, a causa de la desuniformidad en la etapa de floración (Ballard,1971). La especie *B. decumbens* es un ejemplo típico.
3. Presencia de inhibidores de la germinación: los inhibidores más comunes son compuestos orgánicos aromáticos, ácidos grasos o iones metálicos. Muy común en semillas de *Andropogon gayanus* y *Panicum maximum* (Bonman, 1979).

La aplicación de altas temperaturas como mecanismo de romper latencia ha sido frecuentemente utilizado. Al parecer estas producen incrementos de la respiración y metabolismo, especialmente en semillas húmedas, cambiando el balance de los componentes intermedios del ciclo respiratorio, sin embargo, su mantenimiento por tiempo prolongado puede ser desfavorable para la germinación de las semillas (14).

En semillas de leguminosas forrajeras de los géneros *Leucaena*, *Stylosanthes*, *Centrosema*, *Pueraria* y *Macroptilium* se han obtenido incrementos en germinación de 40 a 80%, al sumergir estas en agua hirviendo por determinado tiempo

El objetivo del presente trabajo fue determinar que tanto influye la temperatura de experimentafda por la semilla durante su formación en el establecimiento de un periodo de latencia.

PARTE EXPERIMENTAL

Fueron utilizadas 8 muestras de semilla comercial del pasto forrajero, previamente caracterizadas con presencia de latencia, como antecedente de la presencia del gen. El trabajo se estableció bajo invernadero en un diseño en bloques al azar con cuatro repeticiones de 20 plantas. Se registró la temperatura mínima y máxima diaria, así como la caracterización de los materiales respecto a altura de planta, número de tallos, área foliar y a madurez fisiológica; Una práctica común en la obtención de semilla de esta especie es la poda de tallos, lo cual ayuda a uniformizar la floración y consecuente formación de semilla.

La siembra se programó para que la formación de semilla se realizará en los meses de Octubre a Noviembre cuando las temperaturas más bajas fueron de alrededor de 15° C esto es por debajo de la temperatura dada en condiciones normales de este pasto tropical.

Así mismo se establecieron en laboratorio condiciones de almacenamiento de semilla por 3 meses a 12, 15, 20, 25,30 y 40 °C. Posteriormente se realizaron ensayos de germinación estándar para determinar el efecto de la temperatura dada en el proceso de germinación.

RESULTADOS

La semilla obtenida en el invernadero se evaluó respecto al nivel de latencia presentado y se clasifico de acuerdo a diferente nivel de latencia donde

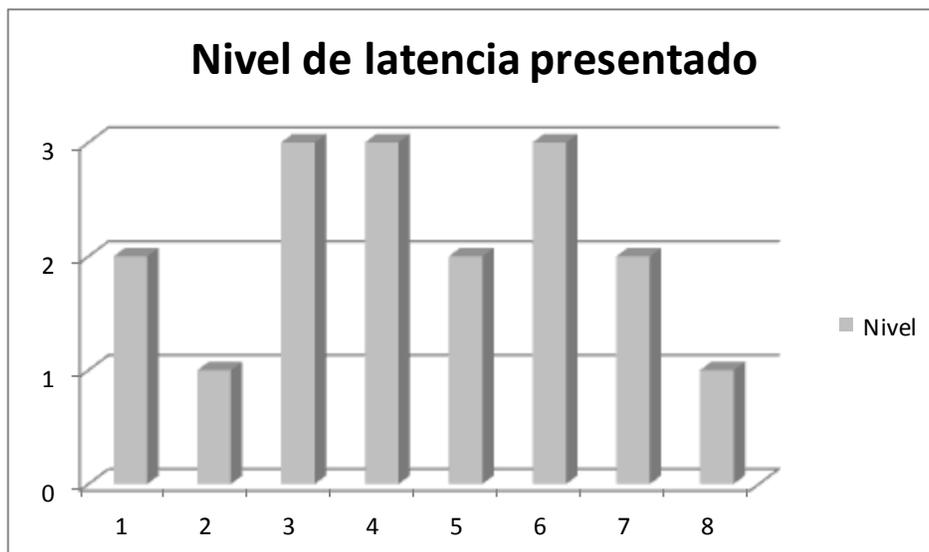
nivel 0 = semilla sin latencia

nivel 1 = semilla con más de 2 meses de latencia

nivel 2 = semilla con más de 4 meses de latencia

nivel 3 = semilla con más de 6 meses de latencia

Como se puede apreciar en el gráfico número 1 todos los materiales presentaron algún nivel de latencia en promedio fue de 3, es decir toda la semilla cosechada presentó latencia, el periodo promedio de latencia fue de 6 meses. El ANVA obtenido de las pruebas de germinación se presenta a continuación fue significativo entre los lotes.

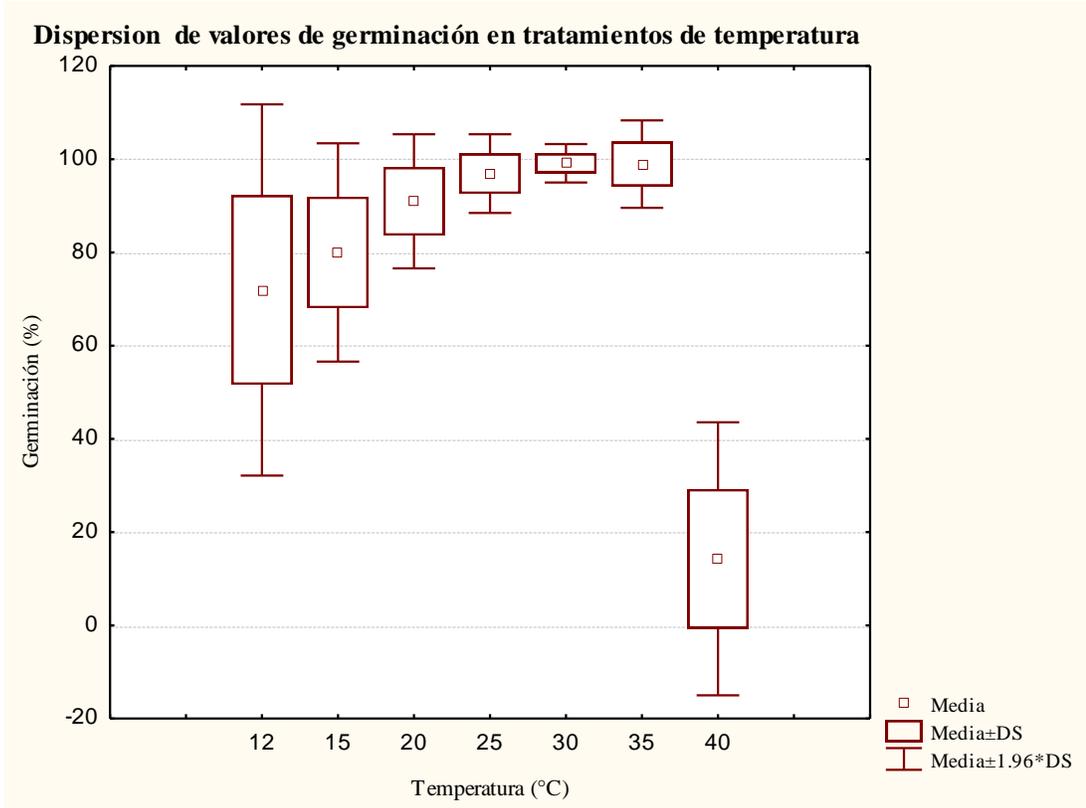


Cuadro No. 1 Nivel de latencia presentado en semilla de *Andropogon gayanus*

Respecto al efecto de la temperatura durante el almacenamiento de la semilla, al respecto se encontró a temperaturas de almacenamiento de 10 y 15° C el rango de germinación fue menor que el presentado a temperaturas de 25 y 30°C en los cuales se presentó mayor porcentaje de germinación, incluso la semilla almacenada a 35 C presentó mayor porcentaje de germinación que la almacenada a bajas temperaturas.

A medida que la temperatura aumenta también lo hace la velocidad del crecimiento vegetal hasta alcanzar un valor óptimo, por encima del cuál un aumento de temperatura provoca una disminución de ella, por lo que al graficar el efecto de la temperatura en el crecimiento se obtiene una curva asimétrica típica. La principal razón de esto es el efecto de la temperatura sobre las reacciones enzimáticas pues a medida que la temperatura aumenta se incrementa la energía cinética de las moléculas aumentando la velocidad de las reacciones; sin embargo, si la temperatura aumenta mucho se alteran los procesos fisiológicos al producirse una desnaturalización de las enzimas y desorganización de algunas estructuras celulares. En cambio, las bajas temperaturas afectan los procesos fisiológicos disminuyendo la velocidad de las reacciones enzimáticas. Una disminución de pocos grados produce un cambio significativo en la tasa de crecimiento, Fernandez y Johnston, 2006.

Estos resultados sugieren que las temperaturas cardinales de almacenamiento de la semilla germinación de semilla están muy cerca a las temperaturas de germinación, sin embargo es necesario establecer, cuál sería el tiempo de almacenamiento seguro bajo estas condiciones



CONCLUSIONES

Temperaturas menores a 20°C pueden considerarse como temperaturas de inducción de latencia para el pasto *Andropogon gayanus*.

Con relación a las temperaturas cardinales de almacenamiento de semilla la temperatura umbral mínima (Tumín) se ubica entre 10 y 12 °C, la temperatura umbral máxima (Tumax) entre 35 y 40 °C y la Temperatura óptima (Top) entre 30 y 35 °C. Sin embargo es necesario establecer, cuál sería el tiempo de almacenamiento seguro bajo estas condiciones

BIBLIOGRAFÍA

1. Azcón-Nieto, J. y Talón, M. 2008. Fundamentos de Fisiología Vegetal. Mc Graw Hill
ISBN: 978-84-481-5168-3
2. Ballard, L. 1971. Dormancy. Australian Seed. Res. Conf. Camberra, Australia.
3. Bonman, J. 1979. Producción de Semillas en pastos Tropicales, en Africa con referencia especial a Kenya. En: Producción de Pastos en Suelos Acidos de los Trópicos. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). 385 p.
4. Baskin, C.C. 1998. Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination. Academic Press. San Diego, California
5. Baskin, J.M. y Baskin, C.C. 2001. Taxonomy, anatomy and evolution of physical dormancy in seeds. *Plant Species Biology*. 15:139-152
6. Fernandez, G y Johnston, 2006 M Fisiología Vegetal Ediciones Universidad de La Serena, La Serena, Chile.

Síntesis verde de nanopartículas de oro a partir de albúminas obtenidas de *Jatropha curcas*.

Valentin Lopez Gayou^a, Ada Maria Rios Cortes^a, Orlando Zaca Moran^a, Baudelia Chavez Aguilar^a,
A. Zamilpa^b..

^aCIBA-IPN, Tlaxcala valgayou@hotmail.com, adarioscort@yahoo.com.mx,

^bCIBIS-IMSS, Morelos. azamilpa_2000@yahoo.com.mx

RESUMEN

Jatropha curcas es un arbusto cuyo interés en el mundo ha sido en la obtención de su aceite con el fin de generar biodiesel, no obstante; la pasta residual que se genera en el momento de la extracción del aceite ha quedado relegada. Se ha analizado que dicha pasta residual posee un alto contenido proteínico, por lo que pudiera ser aprovechada. Debido a esto en el presente trabajo se realizó el análisis de las diferentes fracciones proteínicas de la harina de *Jatropha* con el fin de conocer la capacidad de sintetizar nanoestructuras metálicas de oro. Para esto se realizó el fraccionamiento proteico por el método de Montiel, obteniendo albúminas, globulinas, glutelinas y prolaminas. Para cada una de estas fracciones se probó su capacidad de biosintetizar nanopartículas de oro, observándose que solo la fracción de albuminas presento esta capacidad. Las nanopartículas de oro que se obtuvieron presentan una morfología cuasi-esférica con un tamaño promedio de 60nm y funcionalizadas en su superficie con grupos amino. Por lo que con este nuevo elemento reductor se contribuye con al proponer un nuevo elemento a la síntesis biológica como una alternativa amigable con el ambiente.

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad la demanda de materiales nanoestructurados se ha incrementado debido a las diversas aplicaciones que se les han encontrado en campos como la medicina, la electrónica la óptica por nombrar algunos, es por ello que se han desarrollado diversos métodos de síntesis de estos materiales, cabe destacar que hoy en día se buscan métodos ecológicos y amigables con el medio ambiente, es aquí donde entra la química verde, que consiste en utilizar elementos que nos proporciona la misma naturaleza, como son la implementación de bacterias¹⁻⁴, hongos⁵⁻⁶ y compuestos de plantas⁷⁻⁹ que tienen la capacidad de sintetizar nanoestructuras de diverso materiales. Dentro de estos elementos las plantas tienen la ventaja de manipularse sus componentes sin la necesidad de utilizar ambientes restrictivos, ni de requerir tiempos prolongados del proceso. Es por ello que en este trabajo utilizaremos una proteína extraída de la semilla de *Jatropha curcas*, que es una planta que su semilla es utilizada para la obtención de biodiesel y la pasta residual es desechada, por lo que con esta metodología eliminaríamos un residuo y generaríamos nanoestructuras metálicas de oro, el cual es un metal muy utilizado en medicina por sus propiedades de biocompatibilidad.

2. METODOLOGIA

Las semillas silvestres de *Jatropha curcas* fueron recolectadas de plantas nativas de la Sierra de Puebla en el Municipio de Huitzilán, Puebla con clima semicálido húmedo con lluvias todo el año, precipitación pluvial de 2021 mm y una altitud de 900 m sobre el nivel del mar. A las semillas de *Jatropha curcas* se les eliminó la testa manualmente, posteriormente se trituraron, tamizaron y fueron desgrasadas con hexano en una proporción 1:3 (P/V) con agitación continua durante un periodo de 24 horas a 4°C, este procedimiento se realizó por triplicado para eliminar el máximo contenido de grasa. Una vez transcurrido este tiempo se eliminó el exceso de disolvente por decantación y se colocó en una campana de extracción a temperatura ambiente con la finalidad de evaporar el exceso de hexano y obtener de esta manera la harina para realizar el fraccionamiento

proteico. Se realizó un fraccionamiento proteico en base al criterio de solubilidad reportado por Montiel¹⁰, una vez obtenidas las albuminas, globulinas, glutelinas y prolaminas estas fueron liofilizadas y almacenadas a -20°C, hasta su utilización. Las sales metálicas utilizadas fueron adquiridas en sigma-aldrich y estas fueron preparadas a 1mM. Una vez obtenidas las proteínas y preparadas las sales estas son mezcladas a diferentes razones v/v y se colocan en agitación a 300rpm a temperatura ambiente por 24hrs.

La caracterización de las nanopartículas de oro fueron caracterizadas por espectrofotometría UV-Visible y FTIR además de microscopía electrónica de transmisión (TEM).

3. RESULTADOS

En la figura 1 presentamos la evaluación visual realizada de la síntesis de las nanopartículas de oro utilizando albuminas, que en este caso fueron las únicas que presentaron esta actividad. Observamos cómo se da el cambio de coloración de la solución inicial de semitransparente a una coloración que va del rojo hasta el morado que son colores característicos de la generación de nanopartículas de oro¹¹, lo que nos indica que las albuminas están actuando como un agente reductor de las especies metálicas.



Figura 1. Muestras de nanopartículas de oro biosintetizadas con albuminas a diferentes concentraciones

Para corroborar el proceso de biosíntesis de las nanopartículas de oro utilizamos espectroscopia Uv-Vis, donde por medio del plasmón de resonancia característico para el oro (520nm) podemos confirmar la generación de las nanopartículas. En la figura 2 observamos como para las diferentes razones (Au/Albumina) tenemos diferentes intensidades y posiciones del pico del plasmón de resonancia, lo cual nos indica una variación en la concentración de las nanopartículas y en el tamaño.

El tamaño y la forma de las nanopartículas de oro fue analizado mediante microscopía electrónica de transmisión, donde en la figura 3 se presenta una imagen de las nanopartículas biosintetizadas, donde podemos observar que las nanopartículas presentan una forma cuasi-esférica y con un tamaño promedio de 60nm.

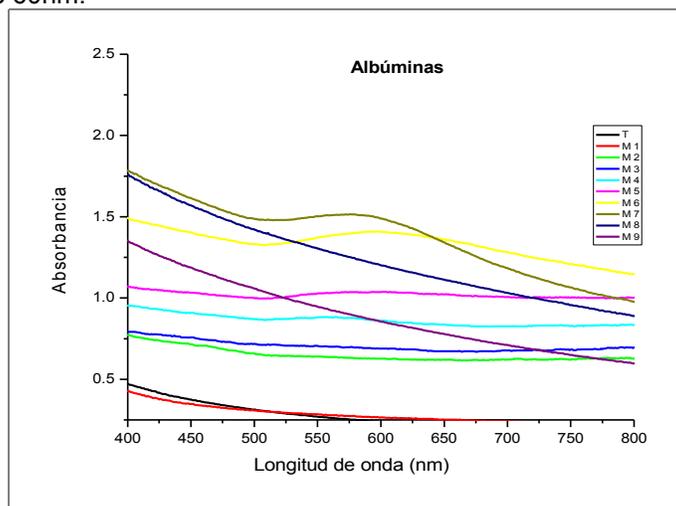


Fig.2 Espectro de absorción de nanopartículas de oro sintetizadas con Albúminas a temperatura ambiente

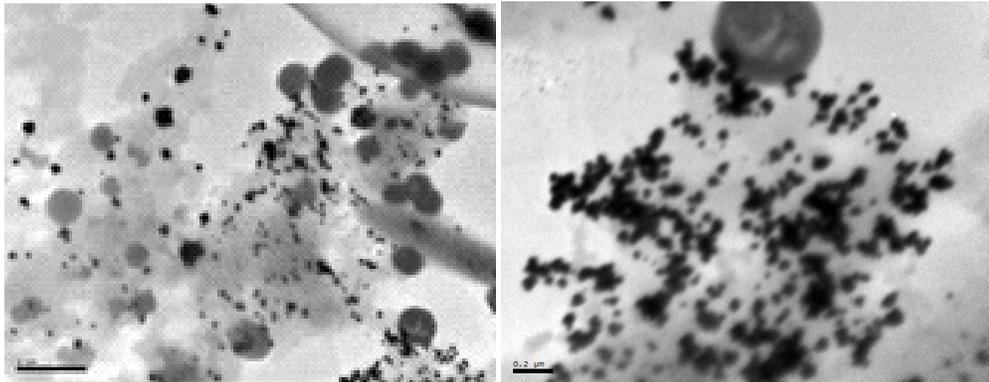


Fig. 3 Micrografía de nanopartículas de oro sintetizadas a temperatura ambiente utilizando albúmina

Las muestras sintetizadas fueron analizadas por espectroscopia de infrarrojo con el objeto de determinar posibles interacciones entre las partículas y las proteínas. Para esto En la figura 4 se presenta la comparación de los espectros tomados para la proteína sola y para las nanopartículas biosintetizadas. De estos espectros podemos observar una banda a los 1036 cm^{-1} característica de una amina alifática con un movimiento de estiramiento del enlace C-N, a los 1650 y 1550 cm^{-1} se presentan dos bandas correspondientes a amida I y II, la amina primaria se caracteriza por el doblamiento del grupo NH_2 y la amina secundaria por el estiramiento C-N, una banda más fue encontrada a los 1415 cm^{-1} que pertenece al grupo CO_2^- con un estiramiento simétrico característico del Ácido glutámico¹².

Observamos que las nanopartículas de oro quedan funcionalizadas en su superficie con grupos amino, lo cual le permitiría implementarlas en diversas aplicaciones.

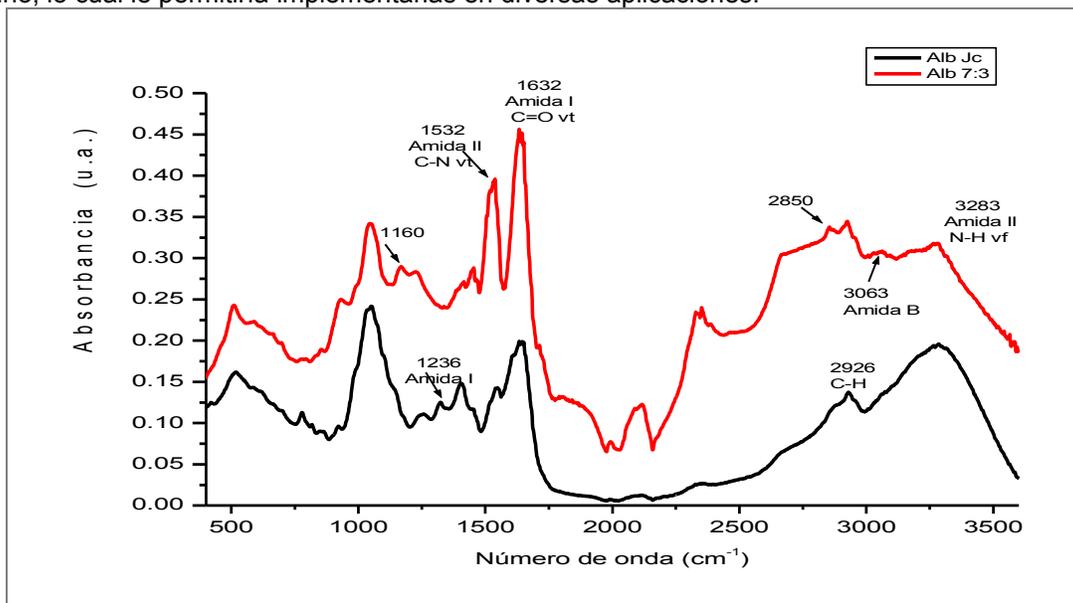


Fig. 3 Espectros de absorción en el infrarrojo para albúmina y nanopartículas de oro biosintetizadas.

4. CONCLUSIONES

Se demostró que una de las fracciones proteicas de la harina de la semilla de *Jatropha curcas* presenta la actividad de biosintetizar nanopartículas de oro y esta fracción fue de albuminas. Las nanopartículas obtenidas de este proceso tiene forma cuasi-esférica y un tamaño promedio de 60nm, además de presentar una superficie funcionalizada con grupos aminos. Por lo tanto encontramos un nuevo elemento reductor que nos permitirá biosintetizar este metal de una manera ecológica y amigable con el medio ambiente.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bai H J. y Z. M. Zhang. 2009. Microbial synthesis of semiconductor lead sulfide nanoparticles using immobilized *Rhodobacter sphaeroides*. *Materials Letters* 764–766.
2. Bai H.J., Z.M. Zhang, Y. Guo y G.E. Yang. 2009. Biosynthesis of cadmium sulfide nanoparticles by photosynthetic bacteria *Rhodospseudomonas palustris*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 142–146.
3. Husseiny M. I., M. A. El-Aziz, Y. Badr y M.A. Mahmoud. 2006. Biosynthesis of gold nanoparticles using *Pseudomonas aeruginosa*. *Spectrochimica Acta Part A* 67 1003–1006.
4. Zaki S., M.F. El Kady y D. Abd-El-Haleem. 2011. Biosynthesis and structural characterization of silver nanoparticles from bacterial isolates. *Materials research bulletin*. 1571–1576.
5. Balaji D.S., S. Basavaraja, R. Deshpande, D. Bedre Mahesh, B.K. Prabhakar y A. Venkataraman. 2009. Extracellular biosynthesis of functionalized silver nanoparticles by strains of *Cladosporium cladosporioides* fungus. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 88–92.
6. Vigneshwaran N., N.M. Ashtaputre, P.V. Varadarajan, R.P. Nachane, K.M. Paralikar y R.H. Balasubramanya. 2007. Biological synthesis of silver nanoparticles using the fungus *Aspergillus flavus*
7. Bar. H., Kr. Dipak., Bhui, P. Gobinda., Sahoo, P. Sarkar, P. Sankar y M. De Ajay. 2009. Green synthesis of silver nanoparticles using latex of *Jatropha curcas*. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 134–139.
8. Dhar A. D. y K. Gopal. 2010. Biosynthesis of silver and gold nanoparticles using *Chenopodium album* leaf extract. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 27–33.
9. Kumar D. R, B. B. Borthakur y U Bora. 2010. Green synthesis of gold nanoparticles using ethanolic leaf extract of *Centella asiatica*. *Materials Letters* 64 1445–1447.
10. Montiel, L. (2012) Obtención y caracterización de películas biodegradables elaboradas a partir de proteínas de semillas de *Jatropha curcas* L. Tesis de grado CIBA-IPN..
11. Praveen K, Willi P y Sharma Ch.(2011). *Process Biochemistry*. 46: 2007–2013..
12. Stuart B. (2004). *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*. John Wiley & Sons. England. 70-82.

INFLUENCIA DE LA MICORRIZACIÓN EN EL CRECIMIENTO DE PLANTAS DE MAÍZ Y TRIGO

Sandra Aguilar^a, E.E Quiñones-Aguilar^b, G. Rincón-Enríquez^b, Luis López-Pérez^a

^aInstituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, UMSNH., Michoacán. Sandi-linda@hotmail.com, lexquifax@yahoo.com.mx.

^bCentro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco. Eqaguilar08@gmail.com.

Palabras Clave: Consorcios micorrízicos, crecimiento, inóculos.

RESUMEN. Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son microorganismos que colonizan las raíces de las plantas y establecen una simbiosis mutualista. La función principal de la planta en esta asociación, es suministrarle al hongo una fuente de carbohidratos, derivado de la fotosíntesis y un nicho ecológico. Mientras el hongo por su parte le proporciona agua y nutrimentos minerales, especialmente el fósforo, nitrógeno, potasio, calcio, magnesio, zinc y cobre, entre otros beneficios como incrementar la tasa fotosintética, mejorar la agregación del suelo, aumentar la resistencia a plagas y estrés bióticos. Las diferentes especies vegetales responden de manera diferente a la micorrización, así mismo el desarrollo de estas puede variar dependiendo del tipo de hongo con el cual se encuentran asociadas. Este trabajo tuvo como objetivo, evaluar el efecto de la inoculación micorrízica en el crecimiento de plantas de maíz y trigo. Para esto, se realizó un experimento en invernadero, donde se estableció un diseño experimental completamente al azar, donde se evaluaron tres diferentes niveles de micorrización: un consorcio nativo de micorrizas denominado Barranca de las Nueces (BN), un inóculo comercial a base de *Glomus intraradices* y un tratamiento sin micorriza (S/HMA) en plántulas de maíz y trigo. Se generaron 6 tratamientos repetido cada uno 36 veces. A los 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 y 60 días después de la inoculación, se evaluaron las variables de crecimiento: altura de planta, diámetro de tallo y número de hojas. Los resultados mostraron un incremento de las variables de crecimiento evaluadas en ambas especies de plantas cuando se micorrizaron con el inóculo nativo, respecto a plantas sin micorrizar. Se puede concluir que la micorrización de especies de interés agrícola con micorrizas nativas, es una opción para promover el crecimiento vegetal.

INTRODUCCIÓN

Los hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA), son asociaciones ecológicamente mutualistas entre hongos del phylum Glomeromycota y la inmensa mayoría de la plantas (cultivadas y silvestres). Se trata de una simbiosis prácticamente universal, no sólo porque casi todas las especies vegetales son susceptibles de ser micorrizadas sino también porque puede estar presente en la mayoría de los hábitats naturales (Remi *et al*, 1994). Se reportan más de 200 familias y más de 1000 géneros de plantas, distribuidos en el grupo de las Briofitas, Pteridofitas, Angiospermas y Gimnospermas, dentro de las cuales se incluyen muchas especies de cultivos importantes en la agricultura principalmente gramíneas y leguminosas (Daniell *et al.*, 2001).

Estos hongos son simbioses obligados, sus esporas germinan en el suelo y colonizan las células corticales de la raíz de la planta huésped, no pueden cultivarse fuera de las raíces vivas de las plantas, debido a que dependen totalmente de ellas. Se estima que más del 80% de las plantas terrestres forman este tipo de asociación y este porcentaje incluye muchas especies hortícolas de importancia agrícola (Smith y Read, 1997). por tal motivo su estudio contribuye a comprender su funcionamiento fisiológico, y la estructura ecológica de las poblaciones de microorganismos del suelo asociados a ellas lo que puede tener aplicaciones tanto a la agricultura como a la restauración ecológica de hábitats perturbados (Reyes, 2012).

El beneficio que aporta la simbiosis micorrízica a las plantas está determinado por la actividad del micelio externo del hongo, ya que éste posee mayor capacidad de absorción de los nutrimentos del suelo mediante la extensa red de hifas que el hongo pueda generar (Alarcon y Ferrera, 2000).

La importancia de HMA en la agricultura radica en que por su extenso micelio extra radical, se forma un vínculo entre la planta y el suelo debido a que al darse la asociación planta-hongo, las plantas micorrizadas presentan ventajas en cuanto a la absorción de nutrientes de poca movilidad (como P) con respecto a las plantas no micorrizadas, ya que en las primeras el micelio externo se extiende a una mayor distancia en el suelo que los pelos radicales de las plantas no micorrizadas (Barrera, 2009).

En los sistemas agrícolas la presencia de micorriza arbuscular puede ser limitada en las plantas por las prácticas de manejo, incluyendo la rotación de cultivos, la aplicación de plaguicidas y quizás también de los fertilizantes, con una consecuente reducción del crecimiento de las plantas. Las prácticas culturales pueden afectar indirectamente los rendimientos por la reducción de su calidad física en la simbiosis micorrízica y las prácticas culturales, la producción y crecimiento máximo de los pelos radiculares para un mejor efecto en la asociación de las micorrizas y poder mejorar así la producción de los cultivos agrícolas y aumentar su importancia económica (Tena, 2002).

OBJETIVO

Evaluar el efecto de la inoculación micorrízica en el crecimiento de plantas de maíz (*Zea mays*) y trigo (*tricum savitum*).

PARTE EXPERIMENTAL

El establecimiento del experimento se realizó en un invernadero el cual se encuentra ubicado en el Instituto de investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF) 9.5 km carretera Morelia Zinapécuaro municipio de Tarímbaro Michoacán. El material biológico utilizado fueron plántulas de maíz y trigo, las cuales se obtuvieron poniendo a germinar semillas en charolas germinadoras, las cuales contenían arena esterilizada; cuando las plántulas tuvieron dos hojas verdaderas (ponga aquí los días en que sucedió esto), se trasplantaron en macetas de un kilogramo con una mezcla de arena 50% suelo 30% y agrolita 20% esterilizada como medio de crecimiento. Al momento del trasplante, las plántulas fueron inoculadas con aproximadamente 80 esporas de los tres diferentes inóculos utilizados: consorcio nativo (Barranca de las nueces de donde se obtuvo este póngalo aquí), *Rhizophagus intraradices*, y un tratamiento sin micorriza. La inoculación se hizo directamente en las raíces de las plántulas. Se estableció un diseño experimental completamente al azar, donde se generaron 6 tratamientos y se repitieron 36 veces. A los 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 y 60 días después de establecido el experimento (DDEE), se cosecharon tres plantas de cada tratamiento, donde se evaluaron variables de crecimiento: altura de planta (AP), diámetro de tallo (DT) y número de hojas (N.H).

RESULTADOS

De acuerdo a las variables de crecimiento evaluadas se encontró para la altura en plantas de maíz que, los tratamientos con los inóculos Barranca de las Nueces y el tratamiento sin/HMA alcanzaron la mayor altura al final del experimento (60 días). El tratamiento que en general obtuvo la menor altura fue aquel inoculado con el inóculo INIFAP.

Fig.1 Efecto del crecimiento en plántulas de maíz con diferentes inóculos. T1 M-INIFAP (Maíz micorrizado con INIFAP), T2 M-BN (maíz micorrizado con Barranca de las nueces: consorcio nativo), T3 MAIZ-S/HMA (maíz sin micorriza).

En el caso de plantas de trigo se observa fig. 2 un mayor crecimiento alcanzando en plantas inoculadas con Barranca de las nueces, alcanzando su altura máxima (60 cm), a los 50 DDEE. Los tratamientos de INIFAP y sin/HMA, fueron iguales, pero menores al tratamiento de Barranca de las nueces.

Fig 2. Efecto del crecimiento en plántulas de trigo con diferentes inóculos. T4 T-INIFAP (Trigo micorrizado INIFAP), T5 T-BN (Trigo micorrizado con Barranca de las nueces: consorcio nativo), T6 MAIZ-S/HMA (Maiz sin micorriza).

Para la variable diámetro de tallo, en las plántulas de maíz como se puede apreciar en la Fig.3, No se observó una diferencia clara entre tratamientos.

Fig.3 Efecto del desarrollo en cuanto al diámetro en plántulas de maíz con diferentes inóculos.T1 M-INIFAP (Maíz micorrizado con INIFAP), T2 M-BN (Maíz micorrizado con Barranca de las nueces: consorcio nativo), T3 MAIZ-S/HMA (Maíz sin micorriza).

En el caso del trigo, de igual modo que para el caso del maíz, no se observó un efecto sobre el diámetro de tallo entre los diferentes tratamientos evaluados. Sin embargo se alcanza a distinguir un mayor desarrollo del diámetro cuando se inoculan las plantas con el inóculo de Barranca de las nueces.

Fig.4 Efecto del desarrollo en cuanto al diámetro en plántulas de trigo con diferentes inóculos. T4 T-INIFAP (Trigo micorrizado INIFAP), T5 T-BN (Trigo micorrizado con Barranca de las nueces: consorcio nativo), T6 MAIZ-S/HMA (Maiz sin micorriza).

Para la variable número de hojas, en la fig.5 se muestra el caso del maíz. No se distingue diferencia entre plantas inoculadas y no inoculadas. Sin embargo, al final del experimento (60 DDEE), plantas tratadas con el inóculo Barranca de las nueces Obtuvieron la mayor cantidad de hojas (6).

Fig.5 Efecto del desarrollo en plántulas de maíz con diferentes inóculos.T1 M-INIFAP (Maíz micorrizado con INIFAP), T2 M-BN (Maiz micorrizado con Barranca de las nueces: consorcio nativo), T3 MAIZ-S/HMA (Maiz sin micorriza).

En el caso del trigo como se puede observar en la fig.6, durante los primeros 30 DDEE, no se observó una diferencia entre tratamientos, sin embargo, el tratamiento INIFAP alcanzó el mayor número de hojas (6). A partir de esta fecha hubo una disminución en la producción de hojas en todos los tratamientos y al final del experimento el tratamiento de Barranca de las nueces tuvo la menor cantidad de hojas.

Fig.6 Efecto del desarrollo en plántulas de trigo con diferentes inóculos.T4 T-INIFAP (Trigo micorrizado INIFAP), T5 T-BN (Trigo micorrizado con Barranca de las nueces: consorcio nativo), T6 MAIZ-S/HMA (Maíz sin micorriza).

CONCLUSION

De acuerdo a los resultados obtenidos se puede concluir que el uso de hongos micorrizicos en maíz y trigo ayudo al mejor desarrollo de las plántulas esto se comprueba en las variables evaluadas: altura, número de hojas y diámetro, Comparado con el tratamiento testigo o sin inóculo. El uso de HMA en cultivos actualmente se está desarrollando como una práctica agroecológica

BIBLIOGRAFIA

Alarcón A. y R Ferrera-Cerrato. 2000. Manejo de la Micorriza Arbuscular en Sistemas de Propagación de Montecillo, Estado de México.

Barrera V.S.E. 2009. El uso de hongos micorrizicosarbusculares como una alternativa para la agricultura. Vol. 7 No. 1 Facultad de Ciencias Agropecuaria. pp. 127-132.

Daniell T.J; Husband R; Fitter A.H. y Young J.P.W. 2001. Molecular diversity of arbuscular Mycorrhizal fungí colonizing arable crops. FEMS Microbiol. Ecol. 36: 203-209.

Remy W. Taylor.T.N. Hass, H. Kerp, H. 1994. Four Hundred Million year old vesicular arbuscularmycorrhizae.procnatlacadsoci 91: 11841-11843.
<http://www.pnas.org/content/91/25/11841.full.pdf+html>.

Reyes T.A. 2012. Variación estacional de hongos micorrizicos arbusculare (HMA) asociados al agave mezcalero (*Agave cupreata* Trel & Berger) en Michoacán. Tesis de licenciatura. Facultad de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán, México. 90 pp.

Smith S. E. & Read D.J. 1997. Mycorrhizas Symbiosis. Academic Press. London. Pp.605.

Tena S.A.2002.Presencia de hongos micorrízicos arbusculares en plantas silvestres de suelos salinos en el estado de Colima. Tesis de maestría. Facultad de ciencias biológicas y agropecuarias. Universidad de Colima. Tecoman, Colima, México.pp124

Caracterización microbiológica del consorcio de granos de kéfir de agua.

Ana Laura Guzmán-Rabasa ^a, Jorge Yáñez-Fernández ^b.

^{a, b} Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología (UPIBI-IPN). Av. Acueducto s/n, col. La Lagunilla Ticomán. México D.F. Tel: (55) -57-29-6000-ext-56366, ana_rabasa@hotmail.com ^a, jyanez68@hotmail.com ^b.

RESUMEN

El Kéfir es una bebida que tiene su origen en el Cáucaso, es elaborada a base de gránulos irregulares, de color blanco o amarillento, constituidos de proteína, microorganismos (principalmente bacterias ácido lácticas) y una matriz de polisacáridos. La microbiota simbiótica del kéfir depende de su origen y región geográfica, sin embargo, la presencia de microorganismos considerados como probióticos (*Lactobacillus* y *Bifidobacterium*) le confiere beneficios para la salud. En este trabajo se pretende caracterizar morfológica y bioquímicamente al consorcio de microorganismos de los granos de Kéfir de agua.

El trabajo comprende el aislamiento de microorganismos presentes en el kéfir de agua, obtenidos de cultivos artesanales del sur de la ciudad de México. Para el aislamiento se emplearon medios enriquecidos (YM, nutritivo) y medios selectivos (WL, MRS, RBA, M17). Se aislaron 8 cepas (G3, G5, G4, G3a, G3b C1a, G1a, C2a) las cuales presentaron colonias puntiforme, redondas, cremosas, secas, cóncavas, imbricadas, brillosas, contorno definido y otras no definido, opacas, etcétera, estas mismas cepas, en el microscopio óptico, se observan levaduras ovoides y bacterias en forma de bacilos y cocos, estos últimos Gram positivas. Se puede concluir que el kéfir presenta microorganismos que podrían tener potencial probiótico, sin embargo, se requiere realizar ensayos que lo determinen.

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años existe un incremento en el consumo de alimentos nutritivos que aporten beneficios a las funciones fisiológicas del organismo humano, denominados “alimentos funcionales”, los cuales han sido definidos por la Academia Nacional de Ciencia de los Estados Unidos como “cualquier alimento o ingrediente alimenticio modificado, que pueda proporcionar un beneficio a la salud superior al de los nutrientes tradicionales que contiene” ¹. Un grupo importante de alimentos funcionales lo constituyen los probióticos. Los probióticos son un conjunto de microorganismos, que al ser administrados en dosis adecuadas, son beneficiosos para la salud ².

En la búsqueda de alimentos funcionales, se han realizado trabajos de investigación sobre el Kéfir; elaborada a base de gránulos irregulares de color blanco o amarillento; constituidos de proteína, microorganismos y una matriz de polisacáridos. La microbiota simbiótica del kéfir depende de su origen y región geográfica, sin embargo, la presencia de microorganismos considerados como probióticos (principalmente *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*) le confiere beneficios para la salud ^{3,4}. En este trabajo se pretende caracterizar microbiológicamente al consorcio de microorganismos de los granos de Kéfir de agua.

2. TEORÍA

Probióticos

Definiciones recientes de probióticos los indican como “suplemento alimenticio integrado por microorganismos vivos que al ser ingerido en cantidades suficientes, proporcionan un efecto benéfico sobre la salud del huésped, mejorando su balance microbiano intestinal” ⁵.

Actualmente, se sabe que los principales microorganismos que tienen efecto probiótico son *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, además, se han incluido especies que pertenecen a los géneros *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Saccharomyces*, *Propionibacterium* y *Streptococcus thermophilus* ⁶. Sin embargo, para obtener un efecto clínico favorable, la concentración de probióticos necesaria es $\geq 10^6$ UFC/ml en el intestino delgado y $\geq 10^8$ UFC/g en el colon ⁷. Por lo tanto, una ingesta diaria mínima de $10^8 - 10^9$ células viables proporciona un efecto terapéutico y la concentración de células que lleguen al colon será la adecuada ⁷.

La viabilidad de los probióticos puede ser considerada como una medida de su actividad probiótica, sin embargo, hay eventos en los cuales la viabilidad celular no se requiere para llevar a cabo algunas funciones de actividad probiótica, tales como mejorar la digestión de la lactosa, modular el sistema inmune y cierto efecto contra hipertensión. En este sentido, los efectos positivos de las BAL probióticas en la salud humana han sido ligados a células no viables o componentes celulares, productos de actividad enzimática o fermentación ⁸.

Los principales microorganismos clasificados como probióticos se encuentran: *Lactobacillus sp*: *L. acidophilus*, *L. casei var. Shirota*, *L. fermentum*, *L. casei*, *L. paracasei*, *L. reuteri*, *L. rhamnosus*, *L. plantarum*, *L. bulgaricus*, *L. salivarius*, *L. cellobiosus*, *L. curvatus*, *L. lactis cremoris*, *L. gasserii*. Bacterias del género *Bifidobacteriu*, *B. longum*, *B. adolescentis*, *B. animalis*, *B. infantis*, *B. bifidum*, *B. lactis*. Entre otras bacterias lácticas se tienen: *Enterococcus faecium*, *Propionibacterium freudenreichii*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis*, *Bacillus cereus*, *Clostridium butyricum*, *Enterococcus faecalis* y, dentro de los microorganismos no lácticos se encuentran: *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces boulardii*, *Streptococcus salivaris*, *Streptococcus faecium* y *Streptococcus diacetylactis* ⁷.

Kéfir de agua

El Kéfir de agua es una bebida fermentada que se hace mediante la adición de granos de kéfir de agua, que son granos de polisacáridos que sirven como inóculo, a una mezcla de agua, azúcar (sacarosa), higos secos, y posiblemente otros ingredientes tales como limón. Después de 2 a 4 días de incubación anaeróbica a temperatura ambiente se obtiene bebida fermentada de color amarillento que tiene un sabor a fruta, ligeramente espumoso y sabor ligeramente alcohólico, dulce y ácido. El Kéfir de agua está disponible en todo el mundo, pero todavía no se sabe cuál es el verdadero origen de los granos de kéfir de agua ⁹.

Los granos de kéfir de agua tienen una consistencia gelatinosa y su estructura consiste en dextrano, un polímero de glucosas unidas por enlaces α 1-6 ⁹. *Lactobacillus hilgardii* fue descrito como un organismo importante para la estabilidad del grano kéfir de agua produciendo el polisacárido ⁹. La cepa *Lb. hilgardii* aislado de kéfir de agua por Waldherr fue descrito como una bacteria gránulo de formación mediante la producción de grandes cantidades de dextrano ⁹.

Generalmente, la microbiota de kéfir de agua es conocido por ser una asociación estable de diferentes bacterias ácido lácticas y ácido acéticas, además de levaduras ⁹. Pero sólo hay pocos datos disponibles, donde se analizaron los consorcios de kéfir de agua y se identificaron diferentes microorganismos.

3. PARTE EXPERIMENTAL

A) Producción del consorcio microbiano de los granos de Kéfir de agua

Se sembraron matraces de capacidad e 250 mL con 125 mL de medio tradicional (agua con piloncillo) a 170 g/L, inoculados con 25 g de gránulos de Kéfir de agua (20% m/v) provenientes de cultivos artesanales del sur de la ciudad de México, e incubados a temperatura ambiente.

B) Aislamiento de microorganismos presentes en el Kéfir de agua

BACTERIAS

Para la caracterización microbiológica se tomaron alícuotas de 3 diferentes matraces cultivados en condiciones similares (como se explicó en el inciso A). Las alícuotas fueron del caldo y de los gránulos (5 g de gránulos macerados con 5 mL de solución de NaCl al 0.85%). Se cultivaron en Agar Nutritivo y en Agar MRS pH 6.5 ± 0.12, por la técnica de varilla acodada, utilizando diluciones en serie (10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴) Las placas fueron incubadas a 37°C. Posteriormente se sembraron colonias provenientes de las cajas de enriquecimiento en Agar MRS y M17, por la técnica de estría cruzada, incubadas a 37 °C hasta ver crecimiento colonial (48 h). La siembra se repitió con el fin de observar una morfología colonial única en cada caja y obtener colonias puras ⁹.

LEVADURAS

Se realizó una resiembra en caldo YM. Los matraces resembrados contaban con 75 mL de caldo YM, pH 4.6 ± 0.15 y se mantuvieron a 30°C, sin agitación, y la cantidad y proporción de inóculo fue igual a la que se utilizó para su producción. Después, utilizando diluciones en serie (10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴) se realizó una resiembra en Agar YM pH 4.6 ± 0.15, por la técnica de varilla acodada. Las placas fueron incubadas a 30°C hasta ver crecimiento (3 – 4 días). Subsiguientemente se resembraron colonias, cuya morfología colonial era lisa, brillosas, redondas, cremosas y contorno definido, en cajas de Agar YM pH 4.6 ± 0.15, por la técnica de estría cruzada con la finalidad de separar las colonias y obtener colonias puras. Las placas fueron incubadas a 30°C hasta ver crecimiento (3 – 4 días). En medio WL agar y RBA a 4.6 ± 0.15 se cultivaron las diferentes colonias encontradas en el medio YM (procedimiento modificado) ¹⁰.

C) Microscopía óptica de los microorganismos aislados con un microscopio electrónico.

Las bacterias fueron teñidas por Tinción de Gram y observadas al microscopio óptico con el ocular 100x. Las levaduras fueron teñidas con Azul de Metileno de Loeffler y observadas a 40x ¹¹.

D) Caracterización de los microorganismos aislados por pruebas bioquímicas API.

Las bacterias aisladas Gram positivas, catalasa negativas, fueron identificadas con pruebas bioquímicas de fermentación de azúcares utilizando el kit API® 50 CH L (*Galería de metabolismo de carbohidratos en 24-48 horas*), mientras que las bacterias Gram positivas, cocos, catalasa positivas, con el kit API® Staph (*Identificación de Estafilococos y géneros relacionados*). Mientras que las levaduras fueron analizadas utilizando el kit API® 20 C AUX (*Identificación de levaduras en 48-72 horas*) ¹².

4. RESULTADOS

El análisis al microscopio tanto del caldo como de los gránulos de Kéfir de agua se muestra en la tabla 1 y 2. Se aislaron 5 bacterias Gram positivas y 3 levaduras, las primeras presentan morfologías de cocos en racimos y bacilos tanto largos como cortos.

Tabla 1. Caracterización morfológica micro y macroscópica de bacterias presentes en Kéfir de agua.

Cepas	Morfología microscópica	Morfología macroscópica
G3	Cocos Gram positivos en racimos.	M17: Colonias translucidas cóncavas, pequeñas, contorno definido.
G5	Cocos Gram positivos, en cadena y en racimos.	M17: Colonias brillosas, translucidas, cóncavas, contorno definido.
G4	Bacilos Gram positivos largos, aglomerados, ligeramente curvos	MRS: Colonias opacas, cremosas, cóncavas contorno definido.

G3a	Bacilos Gram positivos cortos con bordes redondeados	MRS: Colonias grandes, opacas, contorno definido, cóncava, cremosa.
G3b	Bacilos Gram positivos cortos (cocobacilos), ligeramente curvos.	MRS: Colonias pequeñas, puntiformes, traslúcidas, imbricadas, cóncavas, brillosas, contorno definido.

Tabla 2. Caracterización morfológica micro y macroscópica de levaduras presentes en el Kéfir de agua.

Cepas	Morfología microscópica	Morfología macroscópica
C1a	Levaduras redondas y ovaladas de diferentes tamaños.	Colonias cóncava, grandes, cremosas, brillosas, contorno definido, color intenso (crecimiento en YM y RBA).
G1a	Levaduras redondas y ovaladas de diferentes tamaños.	Colonias cóncavas, cremosa, contorno definido, (crecimiento en YM y RBA).
C2a	Levaduras ovaladas, alargadas.	Colonias cóncavas, planas, secas, contorno irregular, opacas (crecimiento en YM, RBA y WL).

Las pruebas bioquímicas de fermentación de azúcares del kit API® 50 CH L, efectuadas a las bacterias muestran como resultado la identificación de 3 cepas de *Lactobacillus* (tabla 3). Mientras que los cocos, al ser identificados como catalasa positivos, se analizaron con el kit API® Staph. Las cepas de bacilos fueron identificadas como *L. rhamnosus*, *L. paracasei ssp paracasei 2* y *L. plantarum 1*, estos resultados concuerdan con lo reportado por Roy en 2005.

Tabla 3. Bacterias identificadas en el Kéfir de agua.

Cepas	Cepa identificada	Probabilidad (%)	Nivel de identificación
G3	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	85%	Bueno
G5	<i>Staphylococcus lentus</i>	95 %	Bueno
G4	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	87.76%	Bueno
G3a	<i>Lactobacillus paracasei ssp paracasei 2</i>	81.63%	Regular
G3b	<i>Lactobacillus plantarum 1</i>	81.63%	Regular

Los resultados de las pruebas bioquímicas efectuadas a las levaduras con el kit API® 20 C AUX, que se presentan en la tabla 4, muestran la identificación de tres levaduras no clasificadas dentro de los microorganismos no lácticos reportados como probióticos por Roy en 2005, sin embargo sería conveniente evaluar la capacidad probiótica de estos microorganismos dado que no han sido reportados para sistemas similares.

Tabla 4. Levaduras identificadas en el Kéfir de agua.

Cepas	Cepa identificada	Probabilidad (%)	Nivel de identificación
C1a	<i>Cryptococcus humicola</i>	80 %	Regular
G1a	<i>Candida guilliermondii</i>	80 %	Regular
C2a	<i>Stephanoascus ciferrii</i>	80 %	Regular

5. CONCLUSIONES

Se puede concluir que en el kéfir de agua analizado se encontraron tres cepas de *Lactobacillus*, clasificadas como probióticos, sin embargo, se requiere realizar ensayos moleculares a las cepas encontradas ya que el nivel de identificación no es alto, así como determinar el potencial probiótico de cada cepa.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cortés R Misael, (2005). "Functional foods: a history with a lot of present and future". *VITAE, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*. ISSN 0121-4004; 12 (1), 5-14-
2. FAO/ WHO FAO/WHO (2007). "Joint FAO/WHO (Food and Agriculture Organization/World Health Organization) working group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food". London, Ontario, Canada. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Joint working group report on drafting. London, Ontario, 2007: 1–11.
3. Grønnevik, H., Falstad, M., y Narvhus, J. A. (2011). "Microbiological and chemical properties of Norwegian kefir during storage". *International Dairy Journal*. 21(9), 601–606.
4. Miguel, M. G. da C. P., Cardoso, P. G., Magalhães, K. T., & Schwan, R. F. (2011). "Profile of microbial communities present in tibico (sugary kefir) grains from different Brazilian States". *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 27(8), 1875–1884, <http://dx.doi.org/10.1007/s11274-010-0646-6>.
5. Ong L. Henriksson A. Shah N., P. (2007). "Proteolytic pattern and organic acid profiles of probiotic Cheddar cheese as influenced by probiotic strains of *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. paracasei*, *Lb. casei* or *Bifidobacterium sp.*". *International Dairy Journal*. 17 (1), 67-78.
6. Cruz-Pacheco K., (2010). "Determinación de la viabilidad de *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* bajo condiciones gastrointestinales humanas simuladas in vitro." Instituto Politécnico Nacional, Distrito Federal, México.
7. Roy, Denis. (2005). "Technological aspects related to the use of bifidobacteria in dairy products". *Sciences, Lait*. 85: 39–56.
8. Salminen, S. y Van Loveren, H. (2012). "Probiotics and prebiotics: health claim Substantiation". *Citation: Microbial Ecology in Health & Disease*. 23: 18568 - <http://dx.doi.org/10.3402/mehd.v23i0.18568>.
9. Waldherr F. W., Doll V. M., Meißner D. y Vogel R. F. (2010). "Identification and characterization of a glucan- producing enzyme from *Lactobacillus hilgardii* TMW 1.828 involved in granule formation of water kefir". *Food Microbiology*, 27; 672-678.
10. Simova E., Beshkova D., Angelov A., Hristozova Ts., Frengova G. y Spasov Z. (2002). "Lactic acid bacteria and yeasts in kefir grains and kefir made from them". *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 28, 1–6 DOI: 10.1038/sj/jim/7000186.
11. Pro-Lab Diagnostics (2012). "SAFETY DATA SHEET LOEFFLER'S METHYLENE BLUE". According to Regulation (EU) No 453/2010. Pp 1-11.
12. BioMérieux ® SA Español (2011). "API ® 20 C AUX", "API ® 50 CH L" y "API ® Staph". REF 20 210, 20 500 y 50 410.

USO DE MENTOL, ESENCIA DE CLAVO Y BENZOCAINA COMO ANESTÉSICOS EN LA MANIPULACIÓN DE CRÍAS DE TRUCHA ARCO IRIS (*Oncorhynchus mykiss*)

Cortés – García A., Rodríguez – Gutiérrez, M., Bustamante - González, J. D.,
Rentería González, M. y Guardiola - Álvarez, K.

Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Xochimilco. Calz. del Hueso No. 1100.
Col. Villa Quietud. Del. Coyoacán. México 04960. acortes@correo.xoc.uam.mx.

RESUMEN

El uso de anestésicos en los centros acuícolas y en general, cuando se manipulan organismos acuáticos vivos, es contrarrestar el estrés, que altera la fisiología causando trastornos en el sistema inmune, crecimiento y reproducción. En los organismos acuáticos los anestésicos deben cumplir con algunas características como son: solubilidad en el agua; tiempo corto de sedación y recuperación rápida y espontánea; no ser tóxicos; sin dejar residuos; tener un amplio espectro de seguridad; así como, ser accesible en disponibilidad y costo.

Entre los anestésicos más utilizados y costosos en la acuicultura están: el MS-222, la xilocaína y 2-fenoxietanol, de difícil obtención en México; debido a ello, se probaron anestésicos naturales y de fácil obtención.

El presente estudio evaluó el efecto del mentol, esencia de clavo y benzocaina como anestésico en crías de tres meses, con una talla promedio de 6.00 cm y 1.50 g de peso. En cada tratamiento se utilizaron 40 crías y se evaluaron tres tiempos en segundos: sedación (TS), manipulación (TM) y recuperación (TR). La dosis empleada fue a partir de soluciones madres para benzocaina con 12 g en un litro de alcohol y el mentol con 25 g por litro de alcohol, y se empleó 3 ml/L de agua y 1 ml/L de agua respectivamente; y de esencia de clavo se utilizó 0.03 ml por litro de agua.

Los resultados obtenidos del TS en promedio fueron para benzocaina: 75.05 ± 16.54 s, con esencia de clavo 155.39 ± 46.77 y con mentol 190.27 ± 92.65 ; el TM en promedio fue de 69.27 ± 18.48 s, 48.21 ± 11.30 y 69.47 ± 19.69 s y TR de 124.74 ± 27.34 , 158.73 ± 23.92 y 150.02 ± 41.11 s, respectivamente. El ANOVA en los tres tiempos de sedación denotó diferencias significativas ($p > 0.05$); y la prueba de Tukey determinó diferencias entre mentol con esencia de clavo y benzocaina, el TM fue menor con esencia de clavo, pero suficiente para la determinación de los parámetros morfométricos y el TR de los organismos fue más rápida con benzocaina seguida del mentol, sin embargo, los resultados indican que los tres anestésicos cumplen con las características necesarias para la manipulación de peces y además son fáciles de conseguir y de bajo costo, ideales para el cuidado de una especie exigente y con alto valor comercial.

1. TEORIA

La anestesia es una técnica común para la manipulación de cualesquier organismo, y su aplicación en la acuicultura facilita la manipulación, permitiendo un muestreo más eficiente de parámetros y al mismo tiempo reduce el estrés. Los anestésicos debe cumplir los siguientes requisitos: facilitar la manipulación, proporcionar un trato humanitario, reduciendo al mínimo el sufrimiento asociado a la manipulación, evitando situaciones dolorosas, de angustia o ansiedad y su elección depende de la especie, estado del organismo, objetivo del experimento, tipo de procedimiento y duración, experiencia del investigador y medios disponibles.

En la acuicultura es común el uso de anestésicos porque facilita en gran medida los procedimientos tales como: inducción al desove, extracción de gametos, toma de morfometría y peso, biopsias, transportación entre otros (Ross y Ross, 2008) pero algunos son de alto costo y de difícil comercialización como lo es MS222, xilocaina, quinaldina, 2- fenoxietanol, metomidato y dióxido de carbono entre otros.

Debido a lo anterior, la elección de anestésico dependerá de: eficacia, costo, disponibilidad, facilidad de uso y la ausencia de efectos adversos sobre peces, seres humanos y al ambiente (McGovern-Hopkins *et al.*, 2003).

Tomando en cuenta lo anterior, se seleccionaron la benzocaína, también conocida como etil aminobenzoato, compuesto cristalino e incoloro, insoluble en agua por lo cual, debe ser previamente disuelta en acetona o etanol, los cuales por si solos son irritantes para el pez, efecto que se reduce por la baja concentración. Se prepara en una solución stock, que es relativamente inofensiva para el hombre y efectiva en especies dulciacuícolas, marinas y tropicales (Moyano, 1997).

El Mentol es una sustancia cristalina que se obtiene sintéticamente de plantas como la menta y el eucalipto. Para su utilización requiere la elaboración de una solución stock en etanol dado su baja solubilidad en el agua. Es un buen anestésico ya que actúa rápidamente además de bajo costo (Simões y Gomes, 2009).

Esencia de clavo: es un producto vegetal, actualmente empleado en medicina y odontología, es un compuesto fenólico, resultante de la destilación de las hojas, flores y tallos de la planta de clavo. Para usarlo, se puede preparar una solución madre de aceite de clavo con etanol 94% y utilizar 9 partes de etanol por una de aceite de clavo y mantenerla en un frasco oscuro en un lugar fresco y en ausencia de luz, o bien comprarla en droguerías donde ya viene preparada. A partir de ella, la dosis es de 0.03 ml/L de agua.

Para la realización de la presente investigación se seleccionaron al mentol, aceite de clavo y benzocaina por ser sustancias accesibles y de bajo costo, además de que es escasa la información de su uso en acuicultura, por otro lado el mentol no ha sido reportado para trucha, mientras que el aceite de clavo se ha utilizado con éxito en varias especies marinas como *Siganus lineatus*, *Monodactylus argenteus*, *Pomacentrus amboinensis* (Soto y Burhanuddin 1995) y dulceacuícolas *Carassius auratus*, *Xiphophorus helleri* (Taylor y Roberts 1999).

Por lo anterior, el objetivo del presente fue evaluar la eficiencia de tres anestésicos como sedantes en crías de trucha arco iris.

2. PARTE EXPERIMENTAL

El presente estudio se llevó a cabo en las instalaciones del Centro Acuícola "El Zarco". La selección de organismos fue aleatoria, obtenidas de un lote de crías de tres meses. Para cada tratamiento se emplearon 40 crías y el anestésico era cambiado cada 10 organismos para mantener la concentración.

La preparación de la solución stock de benzocaína fue de 12 g por litro de alcohol. Para la anestesia de los organismos se utilizó 3 ml de solución *stock de benzocaína* por litro de agua ocupando recipientes de 500 ml.

La solución stock de mentol se preparó con 25 g diluidos en un litro de alcohol. La anestesia de los organismos se hizo con 1 ml de solución *stock de mentol* por litro de agua.

La esencia de clavo utilizada fue comercial con una dosis de 0.03/L de agua.

Para el registro de los tiempos se utilizó un cronómetro y se cuantificó en segundos; el Tiempo de Sedación (T. S.) se consideró a partir de que fueron introducidas las crías individualmente en la solución correspondiente hasta que se iban al fondo y el movimiento opercular descendía, el Tiempo de manipulación (T. M.) transcurrió desde que los peces fueron sacados de la anestesia y se manipularon, en éste caso para la obtención de los parámetros morfométricos: longitud total con un vernier y el peso con balanza Ohaus modelo scout pro de 600 g., el tiempo de recuperación (T.R) se determinó cuando fueron introducidos en la tina de recuperación y controlados en un colador cerca de la caída del agua hasta que el pez recuperaba su movilidad y nadaba libremente.

3. RESULTADOS

La benzocaína tuvo en promedio 75.05 ± 16.54 s en TS, TM fue de 69.27 ± 18.48 s mientras que el TR de 124.74 ± 27.34 , observando que el TS es relativamente rápido mientras que el TR tiende a ser más tardado con una variación de 50 s más en promedio; el mentol tuvo TS en promedio de 190.27 ± 92.65 , TM 69.47 ± 19.69 s y el TR fue de 150.02 ± 41.11 s, lo que indica que el TR es más rápido que el TS con una diferencia de 40 s.; en cuanto a esencia de clavo el promedio de TS fue de 155.39 ± 46.77 , TM de 48.21 ± 11.30 y el TR de 158.73 ± 23.92 , siendo similar al TS.

El análisis de varianza determinó diferencias significativas ($p > 0.05$) en cuanto a TS, y la prueba de Tukey determinó que el TS de la benzocaína fue diferente con respecto al mentol y aceite de clavo, debido a la amplitud de la desviación estándar en el TS, entre éstos anestésicos, por otro lado, bezocaina también demostró al obtener el menor TR y con menor variación (Fig. 1), en cuanto al TM, en los tres tratamientos vario entre 48.21 a 69.47 segundos en promedio, no se reportando diferencias significativas, y el TM es suficiente para hacer un muestreo morfométrico o sanitario de los organismos, además en el estudio dado que no hay diferencias significativas en el TM, implica que el TR, no dependió de él, sino del anestésico empleado.

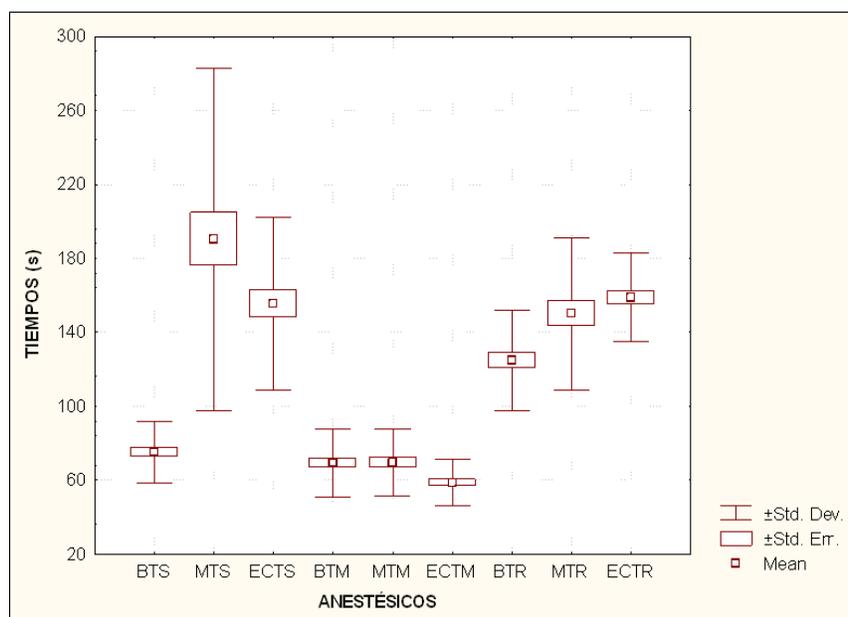


Figura 1. Comparación de los anestésicos considerando el TS, TM y TR., en donde se codifica el anestésico con la primera letra Benzocaína (B), Mentol (M) y Esencia de Clavo (EC).

En general los tres anestésicos: mentol, benzocaína y esencia de clavo, resultaron eficientes a las concentraciones de 1 mL/L, 3 mL/L y, 0.030 mL/L respectivamente para crías de trucha arco iris, llevándolas a la sedación grado 2, narcosis profunda, según Brown (1993). Los tres cumplieron con

las características de un buen anestésico, porque llevan a un nivel de sedación adecuado, en corto tiempo y el TR también es breve, no excedió los 300 s como se reporta en Llanos y Scott (2010) y no se presentó mortalidad desde el estudio hasta 24 horas después, además son económicos y de fácil adquisición.

En estudios previos de estos anestésicos los tiempos de sedación, recuperación y fuera del agua varían con forme a la dosis empleada, especie, tamaño del pez, y el grado de anestesia al que se requiere llegar.

Simões y Gomes (2009) señalan que el mentol como anestésico en juveniles de *Oreochromis niloticus*, es eficaz a una concentración 250 mg/L para un grado 3 de anestesia quirúrgica presentando un tiempo de sedación de 540 s y un tiempo de recuperación de 317 s. Los resultados obtenidos en la presente investigación fueron menores siendo de 140 s para el TS, en promedio de los tres anestésicos utilizados y 144 s en promedio en el TR.

Moyano (1997) compara tres diferentes anestésicos en *Salmon salar* entre ellos benzocaína el cual a una dosis de 0.045 mg/L alcanza una grado de sedación 1, leve sedación, reporta un tiempo de inducción de 160 s y un tiempo de recuperación de 110 segundos, en comparación a los resultados en la presente fue menor en el TS siendo de 75 s y ligeramente mayor para la recuperación de las truchas que fue de 124 s.

Llanos y Scott, evaluaron al Eugenol (aceite de clavo) como anestésico en *Xiphophorus helleri* en organismos juveniles, en la cual la dosis eficiente para machos fue de 125 mg/L, obteniendo un tiempo de sedación de 201.8 s y un tiempo de recuperación de 204 s y para hembras la dosis con mayor eficacia fue de 100 mg/L teniendo un tiempo de sedación de 279.5 s y un tiempo de recuperación de 389.8 s, llevando al pez a un grado de anestesia 2, narcosis profunda. En contraste con lo reportado en esta investigación con una dosis menor se obtuvieron tiempos menores 155 s tiempo de sedación y 158 s para la recuperación.

4. CONCLUSIONES

Benzocaína, mentol y esencia de clavo como anestésicos en crías de trucha (*Oncorhynchus mykiss*) se logra obtener un estado de anestesia suficiente para su manipulación.

Que no presentaron efectos secundarios ni mortalidades en los organismos, durante la manipulación ni 24 horas después.

El menor tiempo de sedación y recuperación se obtuvo con benzocaína.

La esencia de clavo obtuvo el segundo lugar con un promedio de 150 s para sedar y recuperar.

5. REFERENCIAS

McGovern - Hopkins, K.; Tamaru, C.; Takeshita, G. y Yamamoto, M. (2003). Procedural guide for the artificial insemination of the lyretail swordtail, *Xiphophorus helleri*. Center for Tropical and Subtropical Aquaculture, 149. 20 p.

Moyano, A. M. A. (1997). Estudio descriptivo de tres productos anestésicos en Salmón del Atlántico. Tesis de licenciatura en Veterinaria. Valdivia Chile. 24 p.

Pérez, P. A. R., Santos, C. L, Agosto, A. E, Vieira, P. R y Solís, M. D. (2010). Aceite de clavo como anestésico para el pez pacu *Piaractus mesopotamicus*. AN. VET. (MURCIA) 26: 69-76

Simões.L; L. Gomes, (2009). Eficácia do mentol como anestésico para juvenis de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). Arq.Bras.Vet.Zootec., v.61, pp613-620.

Soto, C. y Burhanuddin, S. (1995). Clove oil as a fish anaesthetic for measuring length and weight of rabbitfish (*Siganus lineatus*). *Aquaculture*, 136: 149-152.

Ross, L. y Ross, B. 2008. *Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals*. (3rd ed.). Oxford, UK: Blackwell. Publishing Ltd.

Taylor, P. y Roberts, S. 1999. Clove oil: an alternative anesthetic for aquaculture. *North American Journal of Aquaculture*, 61: 150-155.

EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DEL MÚSCULO DE ATÚN ALETA AMARILLA (*THUNNUS ALBACARES*) ANTES Y DESPUÉS DE LA ETAPA DE COCIMIENTO

Irma Lorena Sánchez-Humarán^a, Gabriela del C. Suárez-Lizárraga^a, Patricia C. Osuna-Juárez^a,

^aInstituto Tecnológico de Mazatlán, Mazatlán, Sin., irmalorenasahu@hotmail.com, gasuli@hotmail.com, pattiosuna@hotmail.com

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar microbiológicamente el músculo del atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) durante las etapas más críticas del proceso de enlatado. A las muestras seleccionadas se les realizaron análisis físicos (potencial hidrogeno y cloruros), con la finalidad de conocer las características de la materia prima. Las muestras de pescado fueron tomadas por duplicado antes y después del cocimiento, por un tiempo de doce horas después de cocinarse, para evaluar el comportamiento de la carga bacteriana en cada una de las etapas arriba señaladas y determinar la posibilidad de que desarrollara alguna toxina no termolábil. Los métodos utilizados fueron los recomendados por las Normas Oficiales Mexicanas NOM-242-SSA1-2009 bienes y servicios. Productos de la pesca. Pescados frescos-refrigerados y congelados. Especificaciones sanitarias, NOM-056-SSA1-1993 Requisitos sanitarios del equipo de protección personal, NOM-092-SSA1-1994 Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa, NOM-109-SSA1-1994 Procedimiento para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para sus análisis microbiológicos y NOM-110-SSA1-1994 Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico y guías de la FDA. Los resultados microbiológicos en pescado crudo y cocido destinados para el proceso de enlatado se encuentran dentro de los límites permitidos por las Normas Oficiales Mexicanas. Se concluye que el producto es apto para consumo humano.

1. INTRODUCCION

Como consecuencia de la creciente globalización económica, la industria nacional de la alimentación ha tenido que contemplar la producción de productos de mayor calidad; exigencia que conlleva necesariamente un mayor contenido tecnológico. En este sentido se puede decir, que la industria alimentaria ha enfrentado nuevos retos como son: la producción de alimentos sanos, saludables, nutritivos, pero sobre todo inocuos. Se puede considerar, que los productos marinos tendrán una buena calidad cuando conserven adecuadamente sus características organolépticas, químicas y microbiológicas para ser consumidos de una manera segura por el ser humano (Torres y Castillo, 2006).

El objetivo de este trabajo fue evaluar microbiológicamente el músculo del atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) antes y después del cocimiento y antes del proceso de esterilizado. Los objetivos específicos alcanzados fueron elaboración del diseño muestral mediante preliminares para segmentación del muestreo, determinación de análisis físicos (Cloruros y Potencial Hidrógeno) en músculo de atún, evaluación microbiológica mediante la técnica dilución en placa del músculo de atún antes y después del cocimiento y antes del esterilizado según la normatividad, determinación y evaluación del tiempo máximo de exposición del pescado desde el proceso de cocimiento hasta el momento de introducirlo al autoclave y establecimiento de límites críticos de tiempo y exposición de atún.

2. PARTE EXPERIMENTAL

Elaboración del diseño muestral: para la realización de preliminar se muestrearon distintas tallas de pescado para determinar las tallas más críticas. Se continuó el análisis hasta antes del enlatado. Se eligieron las tallas más críticas del atún aleta amarilla de la etapa de eviscerado mediante la selección de piezas por talla con mayor tiempo de exposición, (pescados de la misma especie, talla, tanque, barco y viaje). Se determinó el tiempo máximo de exposición de eviscerado a obtención de carne blanca de tallas más frecuentes durante el periodo de muestreo de las subtallas y se realizaron análisis en tres secciones (a) pescado eviscerado después del descongelado, (b) pescado después del cocimiento y (c) pescado después de un tiempo de exposición antes del esterilizado comercial.

Técnica de dilución en placa antes, después del cocimiento y antes del esterilizado: Las muestras se tomaron del músculo de atún como se establece en el procedimiento NOM-109-SSA1-1994. La toma de muestra se realizó de acuerdo a NOM-056-SSA1-1993 con ayuda de la técnica de NOM-110-SSA1-1994.

Análisis Estadístico: los resultados de los análisis bacteriológicos se procesaron mediante un análisis de varianza de una sola vía ANDEVA ($p < 0.05$).

Determinación de Cloruro de Sodio: tomar 1 muestra por cada lote recibido (tallas menores 12 k). **Pescado congelado:** pesar 12 g de muestra molida, adicionar 150 mL de agua bidestilada, homogenizar 1 min aprox, medir 25 mL libres de espuma, añadir un gotero de cromato de potasio al 5%, (color amarillo), titular la muestra (nitrato de plata), observe un vire de amarillo a color rojo ladrillo. **Pescado precocido:** pesar 2 g de muestra homogenizada, adicionar 50 mL de agua bidestilada, calentar a ebullición, agregar un gotero de cromato de potasio (color amarillo), titular la muestra, (vire de amarillo a color rojo ladrillo). **Cálculos:** multiplicar mL gastados de Nitrato de Plata por el factor 0.29 registrar como % de NaCl.

Determinación de potencial de hidrógeno: Tomar una alícuota de la muestra, colocarla en un vaso de precipitado y medir con un potenciómetro calibrado.

Comparativo de Sensores en la incubadora: Colocar 9 sensores en los tres niveles (sensor no toque el metal), esperar tiempo requerido (48 h), registrar datos del sensor en una hoja de cálculo (Excel), analizar estadísticamente los datos y repetir durante 3 ocasiones como mínimo.

3. RESULTADOS

Técnica de dilución en placa antes, después del cocimiento y antes del esterilizado: El promedio de los resultados obtenidos del conteo de bacterias mesófilas aerobias en pescado crudo y pescado precocido se muestran en Figura 1 y 2 respectivamente. Los límites críticos no exceden los límites permitidos por la Norma Oficial Mexicana. En Figura 3 se muestra el comportamiento que tiene el pescado antes de ser enlatado muestra una carga mínima y en algunos casos nula.

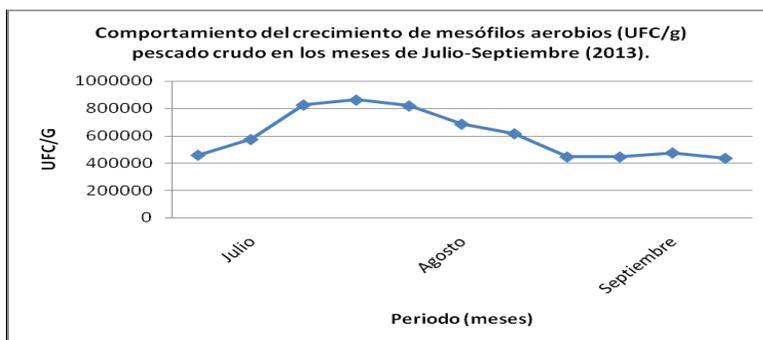


Figura 1. Comportamiento del crecimiento de mesófilos aerobios (UFC/g) pescado crudo.

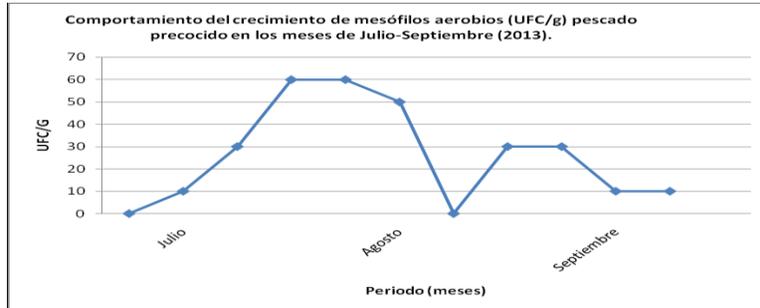


Figura 2. Comportamiento del crecimiento de mesófilos aerobios (UFC/g) pescado precocido.

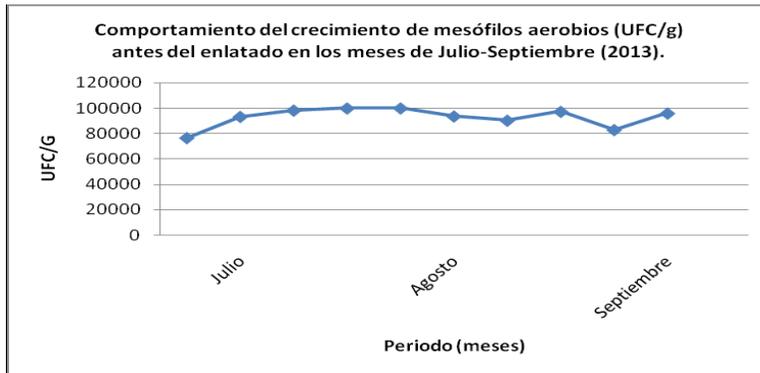


Figura 3. Comportamiento del crecimiento de mesófilos aerobios (UFC/g) pescado antes del enlatado.

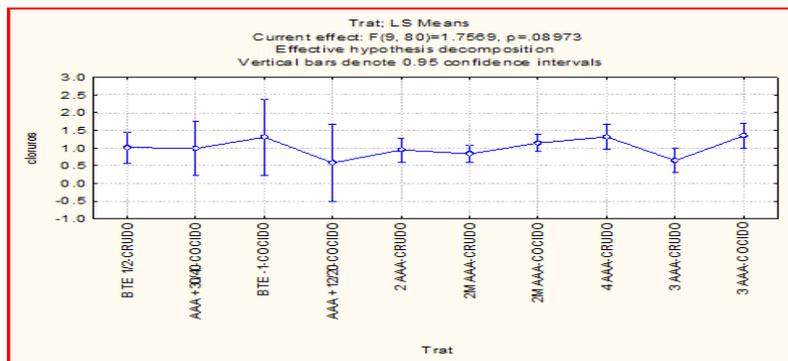


Figura 4. Determinación de cloruros en distintas tallas de Atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) y Barrilete (*Katsuwonus pelamis*)

De acuerdo a la figura anterior se puede observar que el Barrilete después de un cocimiento tiene una diferencia significativa de 0.8% NaCl respecto a la especie de atún aleta amarilla esto se puede atribuir a la diferencia de tamaño que existe entre ambas especies (Tomlinson, 2009).

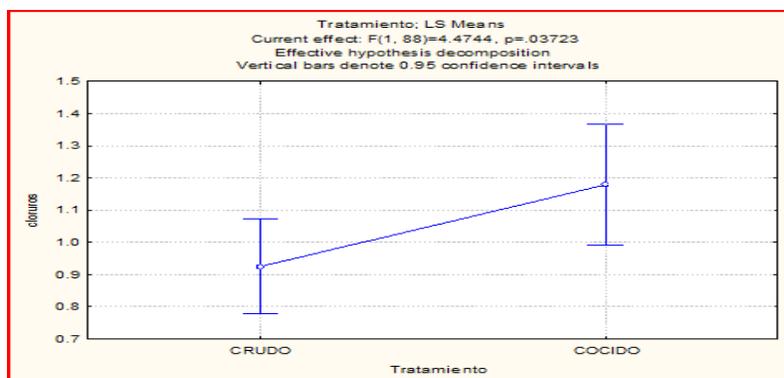


Figura 5. Determinación de cloruros en distintas tallas de Atún aleta amarilla.

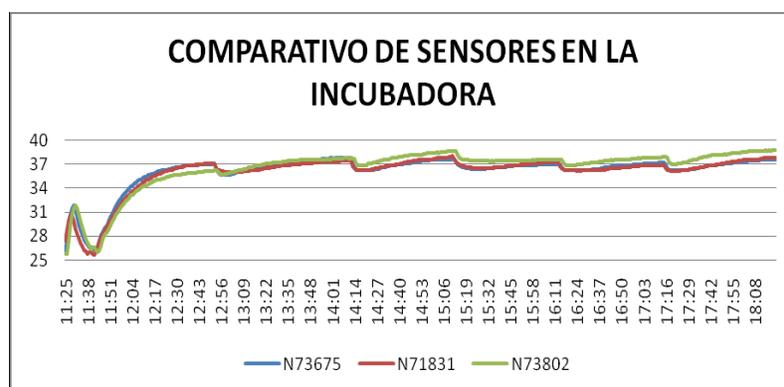


Figura 6. Tendencia de temperaturas en incubadora

5. CONCLUSIONES

Con la aplicación de las técnicas microbiológicas para el control de producto en proceso y producto terminado es posible dar garantías de que los tiempos de exposición no son considerables para que la carga bacteriana presente alcance UFC capaces de producir toxinas. Los resultados obtenidos al realizar los diferentes análisis permiten conocer la calidad del pescado antes y después del tratamiento así como confirmar que las condiciones de operación que se requieren para el proceso sean óptimas. El control y monitoreo de pH y cloruros al músculo de atún arrojaron resultados satisfactorios cumpliendo con los parámetros específicos ya establecidos. Aunque se presentaron algunas variaciones de cloruros en atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) atribuidas a 3 factores: especie de atún, tamaño del pez y tipo de barco, esto se deriva al tiempo de conservación en agua con salmuera en la embarcación. Para evaluar microbiológicamente el atún se revisó que la incubadora cumpliera con el factor de temperatura aceptable, con la finalidad de que no hubiera variaciones entre cada nivel. Los resultados microbiológicos en pescado crudo y cocido destinados para el proceso de enlatado están dentro de la norma y de acuerdo a los límites establecidos. El tiempo máximo de exposición cumple con un mínimo de 12 horas sin que haya crecimiento (10^5 UFC/g), ya que al exceder a este resultado se propician condiciones para que las bacterias patógenas de interés puedan iniciar la formación de toxinas.

6. BIBLIOGRAFIA

1. Contreras, E. 2004. "Bioquímica de pescados y derivados". Editorial Funep. Brasil. pp. 22-26
2. Food and Agriculture Organization. (FAO). 1999. El pescado fresco: su calidad y cambios en su calidad. Documento técnico. Disponible en línea. Recuperado el día 25 de 09 de 2012 de: <http://www.fao.org/DOCREP/V7180S/v7180s06.htm#5.3>
3. Huss, H. 2007. "Aseguramiento de la Calidad de los Productos Pesqueros". Laboratorio Tecnológico- Ministerio de Pesca. Dinamarca. pp. 10-11.
4. Norma Oficial Mexicana (NOM-027-SSA1-1993). Bienes y servicios. "Productos de la pesca. Pescados frescos-refrigerados y congelados". Especificaciones sanitarias.
5. Norma Oficial Mexicana (NOM-056-SSA1-1993). "Requisitos sanitarios del equipo de protección personal".
6. Norma Oficial Mexicana (NOM-092-SSA1-1994). "Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa". Secretaría de Economía, México.
7. Norma Oficial Mexicana (NOM-109-SSA1-1994). "Procedimiento para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico". Secretaría de Economía, México.
8. Norma Oficial Mexicana (NOM-110-SSA1-1994). "Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico". Secretaría de Economía, México
9. Norma Oficial Mexicana (NOM-242-SSA1-2009), Bienes y servicios. "Productos de la pesca. Pescados frescos-refrigerados y congelados". Especificaciones sanitarias. Secretaría de Economía, México.
10. Pérez, M. 2000. "Tecnología de Tratamiento Térmico un enfoque sistemático". Jun F. Valdés ed. F. Varela, La Habana.
11. Tomlinson, P. 2009. "Estructura del atún aleta amarilla en el Océano Pacífico". Inter-American Tropical tuna. pp. 165
12. Torres, M. R. y Castillo, A. 2002. "Agentes patógenos transmitidos por los alimentos". Vol. II. Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco, México. pp. 17.
13. Torres, V. y Castillo, A. 2006. "Microbiología de los alimentos". Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco, México. pp. 184-186.

PRODUCCIÓN, COMERCIO EXTERIOR Y CONSUMO DE PRODUCTOS PECUARIOS EN MÉXICO (1980-2000).

Lucio Domínguez, R.¹; Sesento García L.²; Pérez Luna O.¹; Bedolla Cedeño J. L. C.¹; Sánchez Parra V.M.¹; Herrera Camacho J.³; Cruz Hernández A. R.¹

¹ *Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.* ² *Colegio Primitivo y Nacional de San Nicolás de Hidalgo.* ³ *Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales.*

E-mail: dr.rlucio@hotmail.com

RESUMEN

El presente documento tiene como objetivo presentar un panorama general de la industria de alimentos procesados en México y a nivel mundial, el cual sirva como herramienta para la toma de decisiones en la búsqueda de oportunidades de exportación e inversión. El trabajo incluye un diagnóstico de la industria a nivel global, descripción y tendencias, análisis de los indicadores de consumo, producción, exportación e inversión, situación de la industria en México y marco regulatorio principalmente. Además, se realizó un análisis detallado de la industria nacional en temas de oportunidades de negocio, empresas mexicanas exitosas, tamaño de mercado, cámaras y asociaciones, programas de fomento y normatividad. Lo anterior para demostrar que el sector de alimentos procesados en México es altamente productivo y especializado, por lo tanto representa una oportunidad para atraer inversión extranjera directa y aumentar la presencia de productos mexicanos en el exterior. En consecuencia se deben impulsar acciones conjuntas entre productores, gobierno e instituciones de educación superior afines a las actividades agropecuarias para implementar paquetes tecnológicos médico-zootécnicos y económico-administrativos que aumenten la productividad de las unidades productivas, para elevar la competitividad, generar empleo e ingreso y disminuir los indicadores de pobreza en la población del ámbito rural.

Palabras clave: Consumo, producción, carne, leche, comercio exterior.

INTRODUCCIÓN.

La cría y explotación de bovinos, porcinos, aves, ovinos y caprinos para la producción de carne, la explotación de bovinos para la producción de leche, la explotación de aves para la producción de huevo, la acuicultura, apicultura, explotación de équidos, cunicultura y explotación de animales con pelaje fino, así como la explotación de otros animales constituyen actividades importantes de la economía mexicana.

Según el Plan Nacional de Desarrollo 2013-2018 del Gobierno de la República Mexicana: “La ganadería tiene un alto potencial que no se ha aprovechado a cabalidad, debido a la descapitalización de sus unidades productivas”¹.

El alcance del presente artículo consiste en analizar de manera específica una de las múltiples actividades económicas ya mencionadas anteriormente, concretamente se analizará la producción, comercio exterior y consumo en México de la carne en canal de bovinos del periodo comprendido del año de 1980 al 2000, periodo de 20 años, en donde se podrá apreciar con claridad, la evolución económica de estas variables.

La importancia de este artículo radica en analizar las implicaciones socioeconómicas que conlleva esta evolución económica en el sentido de la generación de empleo e ingreso en productores y trabajadores ligados a esta actividad económica del sector pecuario del país.

Además de delinear causantes estructurales que expliquen el porqué de esta evolución de los indicadores económicos, así como de igual manera delinear alternativas para su desarrollo e implementación.

DESARROLLO DEL TEMA.

Según información de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación con datos del Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, la producción de carne en canal de bovino del año 1980 al 2000 creció en un 32 % debido a que ésta pasó de 1,065,070 toneladas a 1,449,717 toneladas en el periodo de tiempo mencionado. Además, las exportaciones de esta industria en el mismo periodo aumentaron en un 374 %, exportando 26,090 toneladas en 1980 y llegando a las 123,611 toneladas en el año 2000. No obstante lo anterior, en el tema de las importaciones, éstas incrementaron en un 29,112 %, importando 1,157 toneladas en 1980 y alcanzando las 337,986 toneladas en el año 2000. De esta manera, el consumo nacional aparente², en el periodo de tiempo en cuestión, aumentó en un 56 %, pasando de 1,040,137 toneladas en 1980 a 1,622,993 toneladas en el año 2000. Por último y en rubro del consumo per cápita, éste tuvo un incremento del 5 %, pasando de un valor de 15.5 en el año de 1980 a 16.3 en el año 2000 (Ver Tabla 1).

1 Plan Nacional de Desarrollo 2013-2018. Gobierno de la República Mexicana. Página 82.

2 Sumatoria de la producción nacional más las exportaciones menos las importaciones.

Tabla 1.

Producción, comercio exterior y consumo de productos pecuarios: carne en canal bovino (toneladas)^{1/}

Año	Producción	% ^{2/}	Importación ^{3/}	% ^{2/}	Exportación ^{3/}	% ^{2/}	Consumo	% ^{2/}	Consumo per cápita (kg)	% ^{2/}
Crecimiento ^{4/}	1.32	32%	292.12	29,112%	4.74	374%	1.56	56%	1.05	5%
1980	1,065,070	-	1,157	-	26,090	-	1,040,137	-	15.5	-
1985	979,574	-8.0%	10,513	808.6%	60,151	130.6%	929,936	10.6%	12.3	-20.6%
1990	1,113,919	13.7%	50,819	383.4%	134,424	123.5%	1,030,314	10.8%	12.3	0.0%
1991	1,188,687	6.7%	163,073	220.9%	123,727	-8.0%	1,228,033	19.2%	14.4	17.1%
1992	1,247,195	4.9%	196,754	20.7%	104,341	-15.7%	1,339,608	9.1%	15.4	6.9%
1993	1,256,478	0.7%	103,385	-47.5%	129,624	24.2%	1,230,239	-8.2%	13.9	-9.7%
1994	1,364,711	8.6%	140,203	35.6%	104,701	-19.2%	1,400,213	13.8%	15.5	11.5%
1995	1,412,336	3.5%	41,784	-70.2%	166,988	59.5%	1,287,132	-8.1%	14.0	-9.7%
1996	1,329,947	-5.8%	110,402	164.2%	47,366	-71.6%	1,392,983	8.2%	14.9	6.4%
1997	1,340,071	0.8%	197,558	78.9%	66,835	41.1%	1,470,794	5.6%	15.5	4.0%
1998	1,379,768	3.0%	262,996	33.1%	72,089	7.9%	1,570,675	6.8%	16.3	5.2%
1999	1,399,629	1.4%	287,769	9.4%	104,505	45.0%	1,582,893	0.8%	16.1	-1.2%
2000	1,408,618	0.6%	337,986	17.5%	123,611	18.3%	1,622,993	2.5%	16.3	1.2%

1/ Los consumos per cápita se calcularon con base en las proyecciones del CONAPO. Para 1980 y 1985, la información se obtuvo del Anuario de Comercio Exterior.

2/ Variación porcentual respecto al periodo inmediato anterior.

3/ Incluye carne fresca y congelada, en canales o medias canales, los demás cortes y deshuesada, así como el equivalente en carne en canal de los animales para abasto y para abasto previa engorda.

4/ Valor final (año 2000) menos valor inicial (año 1980) entre valor inicial (año 1980) por 100%.

Derivado del análisis de la información estadística anteriormente expuesta, se puede observar que la producción se rezagó respecto al consumo. Efectivamente, en la década de los ochentas, la producción superaba el consumo, sin embargo de 1990 a 1995 se empataron prácticamente estas variables, y posterior al año 1995 se amplió la brecha del consumo respecto a la producción (Ver Gráfico 1).

En el aspecto de las exportaciones e importaciones, puede observarse que del año 1980 a 1990 las exportaciones superaban a las importaciones de este producto pecuario, no obstante en el primer quinquenio de la década de los noventas prácticamente se empataron estos valores y para el segundo quinquenio de ésta década las importaciones superaron ampliamente a las exportaciones (Ver Gráfico 2).

Lo anterior ha tenido un importante impacto en el país, pues la balanza comercial de carne en canal de bovino³ pasó de tener saldos positivos de 24, 933 toneladas en 1980 a saldos negativos por el orden de las 214, 375 toneladas en el año 2000 (Ver Tabla 2 y Gráfico 3).

Tabla 2.

Balanza Comercial de Carne en

Canal de Bovino (toneladas).

Año	(X – M) ^{1/}	% ^{2/}
1980	24,933	-
1985	49,638	99.1%
1990	83,605	68.4%
1991	-39,346	-147.1%
1992	-92,413	134.9%

³ Valor resultante de la diferencia de las exportaciones menos las importaciones o la producción menos el consumo.

1993	26,239	-128.4%
1994	-35,502	-235.3%
1995	125,204	-452.7%
1996	-63,036	-150.3%
1997	-130,723	107.4%
1998	-190,907	46.0%
1999	-183,264	-4.0%
2000	-214,375	17.0%

1/ X = Exportaciones; M = Importaciones.

2/ Variación porcentual respecto al periodo inmediato anterior.

Fuente: Elaboración propia derivada de Tabla 1.

Como puede observarse, en la década de los ochentas la industria de la carne en canal de bovino en México tuvo una balanza comercial positiva, en los años de 1991, 1992 y 1994 tuvo valores negativos, sin embargo en el año de 1995 tuvo una recuperación importante respecto al año inmediato anterior, pero desde el año 1996 y hasta el 2000, la balanza comercial ha sido negativa y la tendencia va en aumento.

Implicaciones socioeconómicas.

Del análisis expuesto hasta este momento, se muestra con total y absoluta contundencia que la actividad económica de la carne en canal de bovino se encontró con indicadores positivos en la década de los ochentas, la producción era superior al consumo nacional, las exportaciones superiores a las importaciones y en consecuencia se encontraba una balanza comercial superavitaria. El primer quinquenio de la década de los noventas se empataron los indicadores. Y ya para el segundo quinquenio de ésta década todos los indicadores antes mencionados se revirtieron, el consumo nacional superó a la producción, las importaciones a las exportaciones y en consecuencia la balanza comercial se convirtió a saldos negativos.

Las implicaciones socioeconómicas son profundas. En primer lugar, el hecho de que el consumo sea superior a la producción nacional, el hecho de que consumo per cápita haya tenido un incremento del 5 %, pasando de un valor de 15.5 en el año de 1980 a 16.3 en el año 2000 (Ver Tabla 1), se interpreta como una oportunidad para los productores nacionales que no han sabido aprovechar.

En segundo lugar, y derivado de lo anterior expuesto, el hecho de que las importaciones estén cubriendo la brecha existente entre la producción y consumo nacional, se interpreta como empleo e ingreso que no se está generando en México y sí se está generando y beneficiando a otros países.

Lo anterior resulta como un hecho trascendente, dado que “El campo es un sector estratégico, a causa de su potencial para reducir la pobreza e incidir sobre el desarrollo regional⁴”, además “En 2012, de acuerdo con la medición más reciente de la pobreza, en el ámbito rural el 61.6% de la población vivía en condiciones de pobreza⁵”. Y si los indicadores económicos de la carne en canal de bovino no son los esperados, poco abonan a revertir la pobreza en el ámbito rural mexicano.

Causas estructurales y alternativas.

Los resultados que obtiene una economía no responden a condiciones coyunturales y de corto plazo, más bien obedecen a condiciones estructurales y de largo plazo. De esta manera, se deben considerar los siguientes elementos estructurales de la economía mexicana:

Economía de libre mercado. A partir del 1º de enero de 1994 entró en vigencia en México, Estados Unidos y Canadá, el Tratado de Libre Comercio de América del Norte (TLCAN), en inglés *North American Free Trade Agreement* (NAFTA) y en francés *Accord de libre-échange nord-américain* (ALÉNA). Uno de los objetivos del Tratado consistió en eliminar obstáculos al comercio y facilitar la circulación trilateral de bienes y servicios entre los territorios de los países.

Productividad de la economía. La productividad total de los factores en la economía ha decrecido en los últimos 30 años a una tasa promedio anual de 0.7%. El crecimiento negativo de la productividad es una de las principales limitantes para el desarrollo nacional.

De esta manera, y en un contexto de economía de libre mercado y en donde la productividad de los factores es uno de los principales elementos para el desarrollo, el Plan Nacional de Desarrollo 2013-2018, plantea como objetivo para el sector agropecuario y pesquero del país, que éste garantice la seguridad alimentaria del país a través de las siguientes estrategias:

Impulsando la productividad en el sector agroalimentario mediante la inversión en el desarrollo de capital físico, humano y tecnológico.

Impulsando modelos de asociación que generen economías de escala y mayor valor agregado de los productores del sector agroalimentario.

Promoviendo mayor certidumbre en la actividad agroalimentaria mediante mecanismos de administración de riesgos.

Impulsando el aprovechamiento sustentable de los recursos naturales del país.

Modernizando el marco normativo e institucional para impulsar un sector agroalimentario productivo y competitivo.

CONCLUSIONES.

En el periodo comprendido del año 1980 al año 2000:

4 Plan Nacional de Desarrollo 2013-2018. Gobierno de la República Mexicana. Página 82.

5 Programa Sectorial de Desarrollo Agropecuario, Pesquero y Alimentario 2013-2013. Publicado en el Diario Oficial de la Federación en fecha del viernes 13 de diciembre de 2013. Página 56 (Cuarta Sección).

Los indicadores económicos de producción y exportaciones de carne en canal de bovino han aumentado. No obstante, los indicadores de consumo e importaciones han aumentado en mayor proporción que los primeros mencionados.

Lo anterior ha provocado que la balanza comercial de la carne en canal de bovino haya pasado de superavitaria a deficitaria, desaprovechando los productores y trabajadores nacionales de esta actividad económica, la oportunidad de generar empleo e ingreso en el país y sí se está beneficiando a otros países.

La pérdida de oportunidad de generar empleo e ingreso en la actividad económica de la carne de bovino, resulta lamentable en un contexto en donde más del 60.0% de la población del ámbito rural vive en condiciones de pobreza.

El contexto económico que hoy vivimos está marcado por una economía de libre mercado, en donde, el crecimiento de la productividad es uno de los principales elementos para el desarrollo nacional.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

Chauvet, Michelle. “La inserción trunca. La ganadería mexicana enviada a sacrificio”. Tomado del libro: El campo mexicano: Ajuste neoliberal y alternativas. Editorial UNAM, IIE. Fecha de publicación: 1997. José Luis Calva (Coordinador).

Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos.

Ley de Desarrollo Rural Sustentable. Última reforma publicada en el Diario Oficial de la Federación el 26 de mayo de 2011.

Plan Nacional de Desarrollo 2013 – 2018. Gobierno de la República Mexicana.

Programa Sectorial de Desarrollo Agropecuario, Pesquero y Alimentario 2013-2018. Publicado en el Diario Oficial de la Federación el viernes 13 de diciembre de 2013.

Rubio Vega, Blanca Aurora. “La política agropecuaria neoliberal y la crisis alimentaria (1988 – 1996). Tomado del libro: El campo mexicano: Ajuste neoliberal y alternativas. Editorial UNAM, IIE. Fecha de publicación: 1997. José Luis Calva (Coordinador).

Sistema de Clasificación Industrial de América Del Norte, México, 2007. Tercera edición, 2007. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática.

EFFECTO DEL ACIDO ABCSCISICO SOBRE EL DESARROLLO DEL MUSGO TOLERANTE A DESECACIÓN *Bryum ballarderi*

Alejandra Chamorro Flores¹, Miguel Angel Villalobos López¹ y Analilia Arroyo Becerra¹

1 Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada. joalbema@hotmail.com; mvillalobosl@ipn.mx; alarroyo@ipn.mx

RESUMEN

El ácido abscísico (ABA) es una fitohormona que regula diversos procesos en plantas vasculares, incluyendo maduración de embriones, dormancia en semillas, senescencia y respuestas a estrés abiótico, además del cierre estomático. El ABA ha sido llamado la hormona del estrés, ya que incrementa la adaptación a varios tipos de estrés como, temperaturas bajas y salinidad, también participa en las respuestas de la planta ante el déficit hídrico. El modo de acción del ABA es complejo por ello es un tema dinámico de investigación. Si bien se ha hecho un progreso sustancial para entender los procesos de señalización en varios sistemas de plantas, muchas preguntas en relación con las respuestas a esta fitohormona permanecen para ser contestadas. Con el objetivo de conocer el efecto del ABA sobre el desarrollo de *B. billarderi*, esporas de este musgo se sembraron en medio PpNH4 adicionado con diferentes concentraciones de ABA (0.1-7.5µM), la cinética de germinación fue cuantificada por 8 días y los resultados mostraron un patrón de germinación muy semejante entre el control y las concentraciones de ABA evaluadas. Tales resultados muestran que las concentraciones evaluadas no tienen efecto sobre la germinación de las esporas, estos resultados contrastan con el efecto en las semillas de Arabidopsis, donde la germinación comienza a inhibirse a partir de ABA 3µM. En etapa de desarrollo protonemal tampoco se observaron diferencias entre los protonemas expuestos a las diferentes concentraciones de ABA. Lo que sugiere que el ABA no tiene efecto sobre este estado de desarrollo sugiriendo insensibilidad, o bien, sensibilidad reducida respecto a Arabidopsis. De acuerdo a estos los resultados, las respuestas al ABA y los niveles de sensibilidad, son diferentes entre la planta modelo Arabidopsis y *B. billarderi*, lo que convierte a esta planta en un modelo interesante para conocer los mecanismos de acción del ABA en briofitas.

1. INTRODUCCIÓN

Las briofitas son plantas no vasculares, es decir, plantas que no cuentan con un sistema especializado para el transporte de agua y nutrimentos (como el xilema y floema en las plantas vasculares). Su ciclo de vida incluye dos fases: el gametofito y el esporofito, cada una con atributos morfológicos y biológicos que señalan a las briofitas como un grupo excepcional e importante en la evolución del reino vegetal ya que los musgos y las plantas con flores divergen por más de 400 millones de años (Goffinet y Shaw, 2009). En las briofitas la fase dominante de su ciclo de vida es haploide, mientras que las plantas con flores (angiospermas) tienen un ciclo de vida diploide dominante (Nishiyama *et al.*, 2003).

El ABA ha sido llamado la hormona del estrés, ya que esta aumenta la adaptación a varios tipos de estrés, tales como temperaturas bajas, radiación por UV, patógenos, salinidad, también participa en las respuestas de la planta ante el déficit hídrico (Giraudat *et al.*, 1994; 1995; Leung y Giraudat, 1998; Finkelstein *et al.*, 2002). Las respuestas al ABA involucran su percepción por medio de receptores celulares y señales de transducción reguladas por proteínas cinasas y segundos mensajeros, dirigiendo la regulación de canales de iones y la activación de factores de transcripción que controlan a los genes inducibles por el ABA (Takezawa, 2011).

La mayoría de los estudios sobre el papel del ABA en briofitas se han concentrado en la adquisición de la tolerancia a estrés ambiental (Cove, *et al.*, 2006). Entre los musgos, el ABA ha sido detectado en protonemas de *Funaria hygrometrica*, donde después de un secado lento hay un aumento en el ABA endógeno y los protonemas sobreviven a la desecación (Werner *et al.*, 1991). Se han reportado claras evidencias de la presencia de una vía de señalización específica para esta hormona (Cove *et al.*, 2006), aunque su función en estas plantas no ha sido apropiadamente clarificada.

MATERIALES Y METODOS

Para conocer el efecto del ABA sobre el desarrollo de *B. billarderi*, se evaluaron dos etapas de su desarrollo: esporas y protonema. Para las pruebas de germinación se sembraron aproximadamente 100 esporas para cada tratamiento en medio PpNH₄ adicionado con diferentes concentraciones de ABA (0.1-10µM) y se registró la cinética de germinación por 8 días. Para el caso de Arabidopsis se utilizaron 25 semillas por cada tratamiento (0, 0.1, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 2.5, 5, 7.5, y 10 µM) y la cinética de germinación fue registrada por 5 días.

Para el caso de la etapa protonemal, el tejido protonemal con 10 días de edad fue transferido a medio PpNH₄ adicionado con diferentes concentraciones de ABA (0.1, 0.3 y 0.5 µM). El experimento fue monitoreado por 15 días por medio de un registro fotográfico y como parámetro fisiológico fue medida la Fv/Fm por medio de un Fluorómetro (FluorPen 100)

RESULTADOS

Los resultados obtenidos de las cinéticas de germinación, mostraron que el patrón de germinación es muy semejante entre el control y los tratamientos, lo que hace notar que las concentraciones de ABA utilizadas para este experimento no mostraron tener algún efecto sobre la germinación de las esporas (Figura 1 y 2). Esto es muy interesante debido a que en las semillas de Arabidopsis, una planta vascular, la germinación comienza a inhibirse a partir de ABA 3µM (Figura 3 y 4).

Cuando los protonemas de *B. billarderi* fueron transferidos a medios adicionados con diferentes concentraciones de ABA, durante 15 días no se observaron diferencias fenotípicas entre las concentraciones evaluadas (figura 5); sin embargo, 45 días después de estar en estas condiciones pudimos observar la formación de gametóforos únicamente en las condiciones que contenían ABA (figura 6). Estos resultados nos sugieren que a nivel de protonema el ABA promueve la formación de gametofitos, este dato es muy importante ya que hasta el momento no se ha reportado en la literatura este efecto por parte del ABA en musgos. Respecto a la eficiencia fotosintética esta fue alta y muy semejante entre los tratamientos lo que nos sugiere que en las concentraciones evaluadas el ABA no parece afectar la fotosíntesis de *B. billarderi* (figura 7) caso contrario a lo reportado en la planta modelo Arabidopsis.

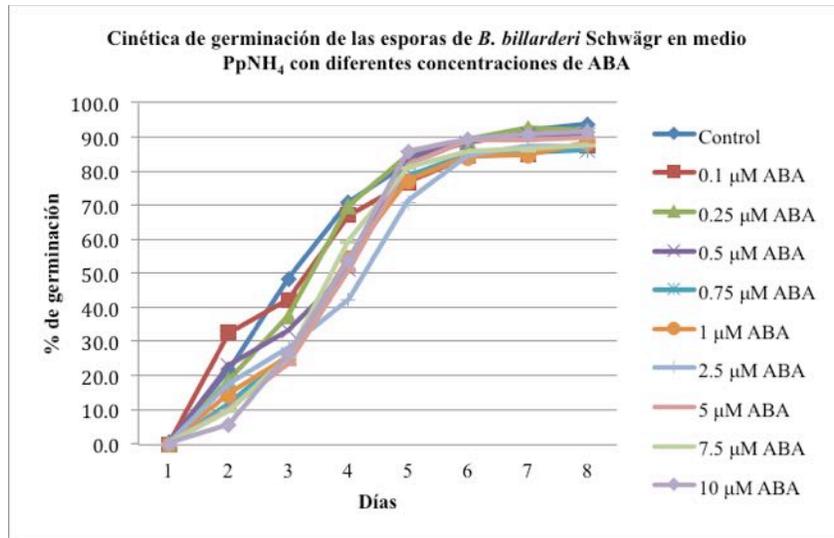


Figura 1. Representación gráfica de las cinéticas de germinación de las esporas de *B. billarderi* Schwägr, n=2 esporófitos.

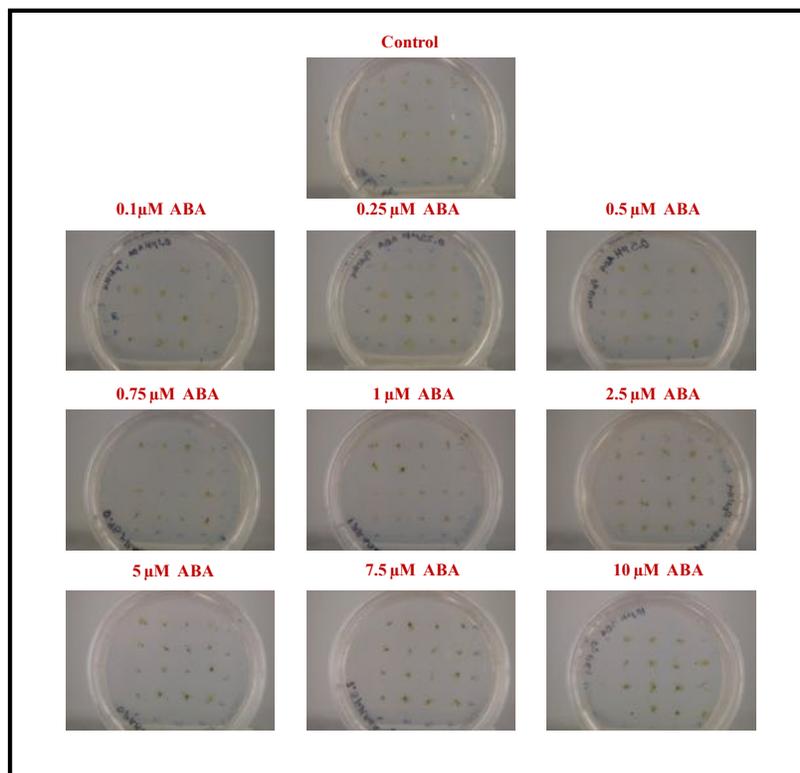


Figura 2. Fenotipos post-germinativos de las esporas de *B. billarderi* Schwägr sembradas en medios con diferentes concentraciones de ABA. Las fotografías fueron tomadas a los 22 días de haber sido sembradas en las condiciones evaluadas, en la parte superior se muestra el control n= 2 esporófitos.

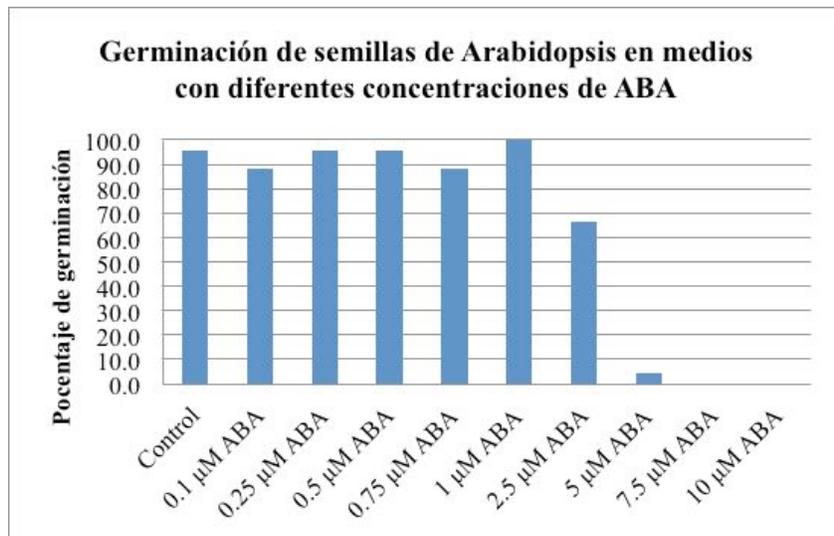


Figura 3. Representación gráfica del efecto dosis-respuesta en el porcentaje de germinación de las semillas de Arabidopsis a los 5 días, en diferentes concentraciones de ABA.

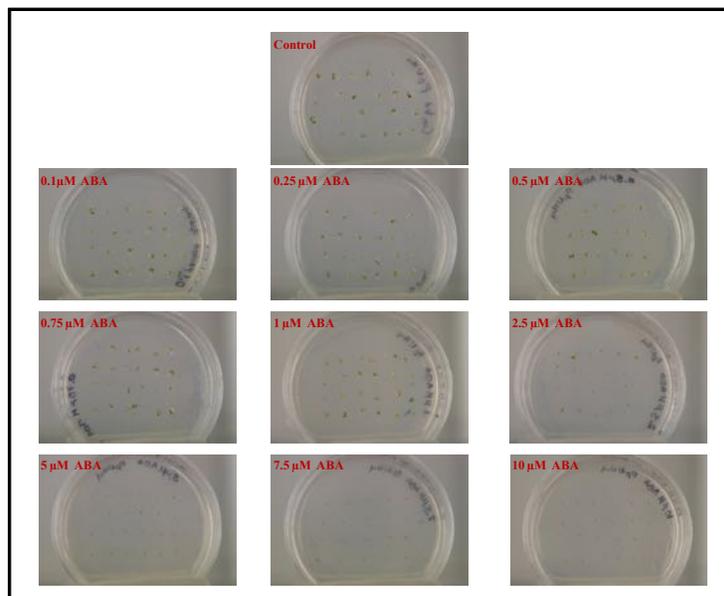


Figura 4. Apariencia fenotípica de plántulas de Arabidopsis con 5 días de edad sembradas en diferentes concentraciones de ABA.

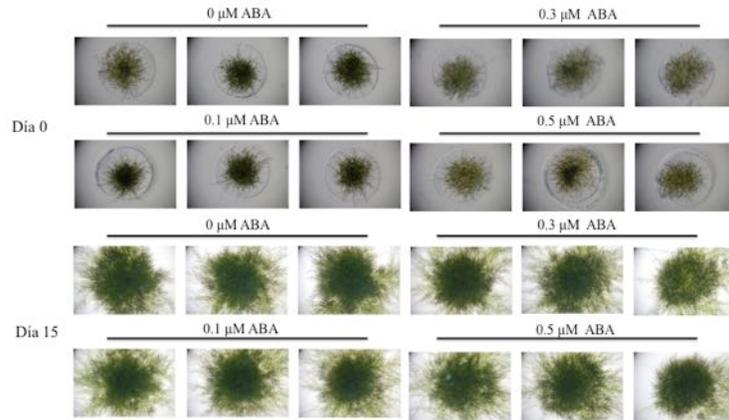


Figura 5. Imágenes representativas de los fenotipos de protonemas del musgo *B. billarderi* en respuesta a diferentes concentraciones de ABA.

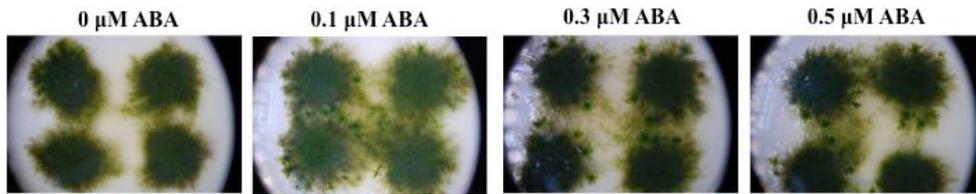


Figura 6. Fenotipos de protonemas después de estar 45 días expuestos a diferentes concentraciones de ABA

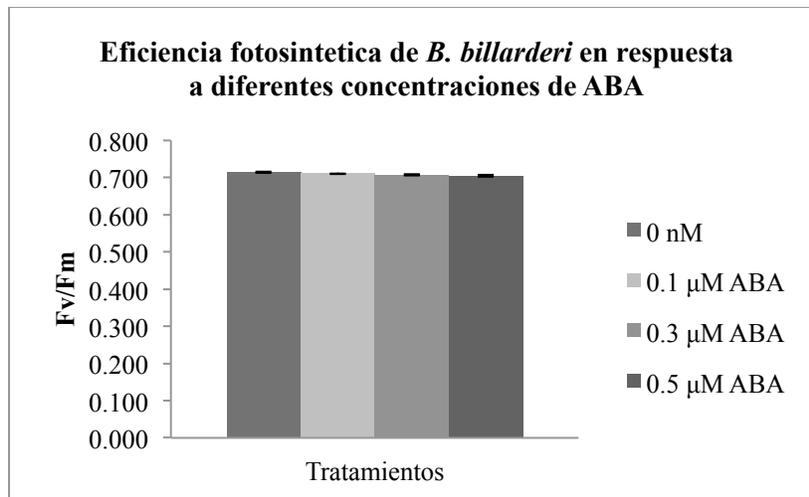


Figura 7. Representación gráfica de la eficiencia fotosintética en protonemas del musgo *B. billarderi* después de estar expuestos por 15 días a los diferentes tratamientos. Se representa la media \pm ES, n=3.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos, la fitohormona ABA no inhibe la germinación de las esporas de la briofita *B. billarderi* como ocurre en semillas de la planta vascular *Arabidopsis thaliana* sugiriendo insensibilidad, o bien, sensibilidad reducida respecto a *Arabidopsis*. En etapa protonemal el ABA (0.1, 0.3 y 0.5 μM) induce la formación de gametóforos y no afecta o inhibe el crecimiento ni la actividad fotosintética del musgo. De acuerdo a estos resultados, las respuestas al ABA y los niveles de sensibilidad, son diferentes entre la planta modelo *Arabidopsis* y *B. billarderi*, lo que convierte a esta planta en un modelo interesante para conocer los mecanismos de acción del ABA en briofitas.

Agradecemos a CONACYT, SIP2015, COFAA y al Instituto Politécnico Nacional por los apoyos otorgados, y becas CONACYT y PIFI doctorales (ACF).

BIBLIOGRAFÍA

1. Cove D., Bezanilla M., Harries P. y Quatrano R. 2006. Mosses as Model Systems for the Study of Metabolism and Development. *Annual Review of Plant Biology*. 57:497–520.
2. Finkelstein, R.R., Gampala, S.S.L., y Rock, C.D. 2002. Abscisic acid signaling in seeds and seedlings. *Plant Cell*. 14: S15-S45.
3. Giraudat, J., Parcy, F., Bertauche, N., Gosti, F., Leung, J., Morris, P.C., Bouvier-Durant, M., y Vartanian N. 1994. Current advances in abscisic acid action and signalling. *Plant Molecular Biology* 26: 1557- 1577.
4. Giraudat, J. 1995. Abscisic acid signalling. *Current Opinion in Cell Biology* 7: 232-238.
5. Goffinet B., Buck W. y Shaw J. 2009. Morphology, anatomy, and classification of the Bryophyta. In Goffinet B y Shaw A J, *Bryophyte Biology: second edition*, Cambridge University Press, pp: 55-138
6. Leung, J., y Giraudat, J. 1998. Abscisic acid signal transduction. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 49: 199-222
7. Nishiyama T., Fujita T., Shin-I T., Seki M., Nishide H., Uchiyama I., Kamiya A., Carninci P., Hayashizaki Y., Shinozaki K., Kohara Y. y M. Hasebe. 2003. Comparative genomics of *Physcomitrella patens* gametophytic transcriptome and *Arabidopsis thaliana*: Implication for land plant evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 13:8007–8012.
8. Takezawa D., Komatsu K. y Sakata Y. 2011. ABA in bryophytes: how a universal growth regulator in life became a plant hormone? *Journal of Plant Research*. DOI 10.1007/s10265-011-0410-5
9. Werner O., Espin R.M.R., Bopp M, y Atzorn R. 1991. Abscisic acid-induced drought tolerance in *Funaria hygrometrica* Hedw. *Planta* 186:99–103