

TRABAJOS  
CIENTÍFICOS  
EN MÉXICO

TOMO II  
BIOTECNOLOGÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS



## DECLARACIÓN LEGAL

### EDITORES:

María Eugenia Sánchez Morales  
Gloria Verónica Vázquez García  
Amalia Martínez García  
Cristina E. Solano Sosa  
Eva Liliana Ramos Guerrero

ISBN GENERAL 978-607-8821-02-0

Fecha de otorgamiento 14-12-2021

Tomo II: Biotecnología y Ciencias Agropecuarias ISBN 978-607-8821-10-5

Fecha de otorgamiento 07-01-2022

El contenido de los artículos es responsabilidad de los autores.

Temacilli EDITORIAL  
Lagos de Moreno, Jalisco  
<http://temacilli-editorial.com>

D. R. Centro de Investigaciones en Óptica, A. C.  
Loma del Bosque 115, Col. Lomas del Campestre  
C. P. 37150 León, Guanajuato  
México  
Hecho en México



# **Trabajos Científicos en México**

**Tomo II:**

**Biotecnología y  
Ciencias Agropecuarias**

## **PREFACIO**

El presente compendio reúne trabajos de investigación realizados en diversas áreas de la ciencia, cuyo objetivo principal es contribuir a la difusión del trabajo científico que se realiza en México. Con este compendio también se pretende promover el trabajo interdisciplinario entre miembros de diferentes disciplinas científicas.

Este trabajo está organizado en siete tomos los cuales corresponden a las siguientes áreas científicas: I) Biología y química, II) Biotecnología y ciencias agropecuarias, III) Ciencias sociales, IV) Físico matemáticas y ciencias de la tierra, V) Humanidades, ciencias de la conducta y divulgación científica, VI) Ingeniería, así como VII) Medicina y ciencias de la salud.

Octubre de 2021  
León, Gto., México

María Eugenia Sánchez Morales  
Gloria Verónica Vázquez García  
Amalia Martínez García  
Cristina E. Solano Sosa  
Eva Liliana Ramos Guerrero

## Tabla de contenido

EVALUACIÓN DE LA AGRICULTURA DE PRECISIÓN CON SCENARIO PLANNING .....	5
DETERMINACION DE COMPUESTOS FENOLICOS Y LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN FRACCIONES DE DISTINTA POLARIDAD DE LIPPIA GRAVEOLENS. ....	12
HONGOS FITOPATÓGENOS AISLADOS DE FRUTOS DE AGUCATE CON SÍNTOMAS DE ROÑA .....	19
ESTUDIO DEL EFECTO DE RIZOBACTERIAS NATIVAS SOBRE EL DESARROLLO Y CONTENIDO DE TERPENOS EN LIPPIA GRAVEOLENS. ....	27
VARIABILIDAD AMBIENTAL Y ABUNDANCIA DE LA ICTIOFAUNA DOMINANTE EN LA RESERVA DE LA BIOSFERA LOS PETENES, CAMPECHE.....	36
ESTUDIO BIBLIOMÉTRICO DE LA CALIDAD DEL TOMATE ORGÁNICO Y LA PERCEPCIÓN DEL CONSUMIDOR EN UNA REGIÓN LIDER DE PRODUCCIÓN DE TOMATE EN MEXICO .....	45
EL CAFÉ: EL CULTIVO DE CAFÉ EN LA COMUNIDAD DE EL ASERRADERO, ILIATENCO, GUERRERO, MÉXICO .....	59
FORMACIÓN DE CONSORCIOS MICROBIANOS PARA MEJORAR EL CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE LAS PLANTAS CON ROZOBACTERIAS Y HONGOS ENDOFITOS .....	70
ACTIVIDAD HEMOLÍTICA, BACTERICIDA Y CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA PARCIAL DEL EXTRACTO METANÓLICO DE <i>URTICA DIOICA</i> L. VAR. <i>ANGUSTIFOLIA</i> SCHLTDL.....	78
INFLUENCIA DE DIFERENTES LONGITUDES DE ONDA DE LUZ SOBRE PARÁMETROS MORFOLÓGICOS DE <i>LIPPIA GRAVEOLENS IN VITRO</i> .....	86
EFFECTO DE DIALIL TRISULFURO Y RADIACIÓN UVB SOBRE LA EXPRESIÓN GENÉTICA EN <i>DAPHNIA MAGNA</i> .....	93
CALIDAD POSCOSECHA DE TOMATE NATIVO DE MÉXICO PRODUCIDO EN AGRICULTURA PROTEGIDA.....	99
IDENTIFICACIÓN DE ACHNANTHES BREVIPES EN TAPETES MICROBIANOS DE AGUAS TERMALES SULFUROSAS.....	105
CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LA RIZOSFERA DE <i>CLOROPHYTUM COMOSUM</i> A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA (AGNP'S). ....	109
CONTROL DE CALIDAD EN COSMÉTICOS ELABORADOS CON EL INSECTO DACTYLOPIUS COCCUS COSTA Y SU SACRIFICIO .....	115
ACTITUDES DESEABLES EN ESTUDIANTES DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA: PERCEPCIÓN DEL DOLOR ANIMAL .....	120
CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DEL PROPÓLEO ELABORADO POR ABEJAS <i>APIS MELLIFERA</i> . DEL ÁRBOL <i>PINUS GREGGII</i> .....	127
EFFECTO DE ESTRÉS OSMÓTICO Y RADIACIÓN LUMÍNICA SOBRE LA PROPAGACIÓN <i>IN VITRO</i> DE <i>LIPPIA GRAVEOLENS</i> .....	132
EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE SUSTANCIAS CON ACTIVIDAD TENSOACTIVA DE CEPAS BACTERIANAS AISLADAS DE SITIOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS... ..	139
EVALUACIÓN DE LA FERTILIDAD DE SUELOS AGRÍCOLAS ALEDAÑOS AL RÍO EL TUNAL, DURANGO, MÉXICO.....	146
EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE CRECIMIENTO DE PLANTAS <i>DE LIPPIA GRAVEOLENS IN VITRO</i> SOMETIDA A ESTRÉS HÍDRICO.....	152

POTENCIAL DE ADSORCIÓN DE <i>BRASSICA OLERACEA</i> (BRÓCOLI) Y <i>LIPPIA GRAVEOLENS</i> (ORÉGANO) CONTRA CROMO HEXAVALENTE .....	158
VARIANZAS GENÉTICAS, FENOTÍPICAS Y RESIDUALES DEL PUNTAJE DE CÉLULAS SOMÁTICAS DENTRO DE RAZA Y A TRAVÉS DE RAZA DE CABRAS DE ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA .....	173
EFFECTOS NEGATIVOS DE LA VINAZA EN EL MEDIO AMBIENTE COMO CO-PRODUCTO DE LA PRODUCCIÓN DE ETANOL.....	185
ACTIVIDAD ANTIHIPERTENSIVA Y ANTIOXIDANTE <i>IN VITRO</i> DE JALEA REAL PRODUCIDA POR ABEJAS CON MORFOTIPO AFRICANIZADO.....	190
CÍTRICOS CON ACTIVIDAD FOTOPROTECTORA PARA EL DESARROLLO DE PROTECTORES SOLARES.....	195
LA FORMULACIÓN DE MERMELADA DE MANGO AFECTA LOS PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS Y SENSORIALES .....	200
EFACTORES INVOLUCRADOS EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE MUÉRDAGO <i>P. CALYCVLATUS</i> .....	205
PLANTAS ENDÉMICAS COMO BIOINDICADORAS DE PLOMO CON POSIBLE POTENCIAL PARA FITOESTABILIZACIÓN.....	217
EFFECTO DE LA INOCULACIÓN DE RIZOBACTERIAS EN NICOTIANA GLAUCA PARA LA FITOEXTRACCIÓN DE CADMIO EN SUELO .....	225
EFFECTO DE LA FERTILIZACIÓN CON DIGESTATO Y FRECUENCIAS DE CORTE EN EL RENDIMIENTO DE BALLICO PERENNE ( <i>LOLIUM PERENNE L.</i> ).....	231
LA PRUEBA ESTANDAR DE GERMINACIÓN DE SEMILLAS COMO HERRAMIENTA EN LA EVALUACIÓN DE ORGANISMOS PROMOTORES DE CRECIMIENTO VEGETAL.....	235
RESIDUOS DE INFLORESCENCIAS COMO ALTERNATIVA ANTIMICROBIANA .....	241
IDENTIFICACIÓN DE HONGOS OCRATOXIGÉNICOS Y LEVADURAS EN ALIMENTOS EXTRUIDOS PARA CANINOS DOMÉSTICOS ( <i>CANIS LUPUS FAMILIARIS</i> ).....	245
CARACTERIZACIÓN DE BARRA PREENTRENAMIENTO CON ALTO VALOR NUTRIMENTAL ELABORADA CON CAMOTE ( <i>IPOMOEA BATATAS L.</i> ).....	252
EVALUACIÓN DE PARÁMETROS FITOQUÍMICOS DE PLANTAS DE <i>LIPPIA GRAVEOLENS</i> SOMETIDAS A DIFERENTES RÉGIMENES DE RIEGO.....	261
CONTENIDO DE AZÚCARES REDUCTORES Y TOTALES EN SEMILLA DE CACHICHÍN ( <i>OECOPETALUM MEXICANUM GREENM. &amp; C.H.THOMPS.</i> ).....	272
CARACTERIZACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS, ACEITE ESENCIAL Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS DE HOJAS DE <i>ALOYSIA CITRIODORA</i> .....	276
EFFECTO ANTIMICROBIANO DE <i>MORINGA OLEIFERA</i> FRENTE A CEPAS DE <i>ESCHERICHIA COLI</i> MUITIRESISTENTES A ANTIBIÓTICOS AISLADAS DE PULPO MAYA. ....	282
ESTUDIO DEL EFFECTO DE UN CONSORCIO BACTERIANO EN PLANTAS.....	286
CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DEL PROPÓLEO ELABORADO POR ABEJAS <i>APIS MELLIFERA</i> . DEL ÁRBOL <i>PINUS GREGGII</i> .....	291
DESARROLLO DE UNA FÓRMULA DE JARABE A BASE DE MUCILAGO DE NOPAL.....	296
DETERMINACIÓN DE LOS FACTORES DE BIOCONCENTRACIÓN, TRASLOCACIÓN Y RIESGOS POTENCIALES A LA SALUD EN <i>CAPSICUM ANNUUM L.</i> .....	307
EFFECTO EN EL CONTENIDO DE ANTIOXIDANTES Y FLAVONOIDES EN LA LECHUGA ( <i>LACTUCA SATIVA L. VAR. LONGIFOLIA</i> ) POR LA FERTILIZACIÓN CON EXTRACTO DE ALGA. ....	318

SUSCEPTIBILIDAD DE <i>COLLETOTRICHUM SPP.</i> A QUITOSANO DE BAJO PESO MOLECULAR .....	323
MEDICIÓN DEL ÁREA FOLIAR DE LECHUGA ( <i>LACTUCA SATIVA L.</i> ) COMO INDICATIVO DE DESARROLLO EN TRATAMIENTOS ORGÁNICOS. ....	331
DISEÑO DE UN HUERTO TRASPATIO CON LA METODOLOGÍA DESIGN THINKING .....	335
CONTENIDO DE MACRONUTRIENTES (N, P Y K) EN SEMILLA DE CACHICHÍN ( <i>OECOPETALUM MEXICANUM GREENM. &amp; C.H.THOMPS.</i> ), CON UNA PERSPECTIVA NUTRICIONAL FUNCIONAL.....	340
ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS EXTRACTOS HIDROETANÓLICOS DE PLANTAS CARNÍVORAS DE LOS GÉNEROS <i>DROSERA</i> Y <i>DIONAEA</i> .....	344
PARÁMETROS DE CRECIMIENTO Y CALIDAD EN ALCATRAZ CULTIVAR GOLD FEVER EN RESPUESTA A LA APLICACIÓN DE FOSFITO.....	352
EL NEODIMIO AFECTA EL DIÁMETRO DE TALLO DE PLANTAS DE CAÑA DE AZÚCAR .....	356
LOS CONTENIDOS FOLIARES DE N, P Y K EN TOMATE CV. VENGADOR DISMINUYEN CON LA APLICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA.....	360
CERIO EN EL CONTENIDO DE AGUA Y CONCENTRACIÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO EN PLÁNTULAS DE ARROZ CV. MORELOS A-98.....	364
BENCILADENINA MODIFICA LA CONCENTRACIÓN DE ANTOCIANINAS EN FLORES DE <i>LAELIA ANCEPS</i> .....	368
CONTENIDO DE MACRONUTRIENTES (N, P Y K) EN SEMILLA DE CACHICHÍN ( <i>OECOPETALUM MEXICANUM GREENM. &amp; C.H.THOMPS.</i> ), CON UNA PERSPECTIVA NUTRICIONAL FUNCIONAL .....	372
CALIDAD OLEOSA EN ACEITE DE SEMILLA DE CACHICHÍN ( <i>OECOPETALUM MEXICANUM GREENM. &amp; C.H.THOMPS.</i> ) A PARTIR DE UN TOSTADO CONTROLADO.....	376
PRUEBAS DE ANTIBIOSIS DE RIZOBACTERIAS Y HONGOS FITOPATÓGENOS PARA CONTROLAR ENFERMEDADES DE LAS PLANTAS COMO UNA ECO-TECNIA.....	381
CADMIO EN LA PARTICIÓN DE BIOMASA EN PLÁNTULAS DE CHILE.....	388
VARIACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FISCOQUÍMICAS DEL FLUIDO OVIDUCTAL Y UTERINO DE LA OVEJA DOMÉSTICA SEGÚN LA ETAPA DEL CICLO ESTRAL.....	392
EVALUACIÓN DE LA BIODEGRADACIÓN DE POLIURETANO POR HONGOS MICROSCÓPICOS .....	401
NANOMEMBRANAS CON PIGMENTOS DE MELANINA DERIVADA DE RESIDUOS DE CÁSCARA DE NUEZ ( <i>CARYA ILLINIONENSIS</i> ) CON CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIMICROBIANA.....	411
TALIO EN CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE CHILE POBLANO .....	424
CONTENIDO Y DISTRIBUCIÓN DE CITOCININAS EN HOJAS Y PSEUDOBULBOS DE PLANTAS DE <i>LAELIA ANCEPS</i> INDUCIDAS A FLORACIÓN, POR ACCIÓN DE ÁCIDO GIBERÉLICO EXÓGENO .....	429
EFFECTO DEL NEODIMIO EN LA ALTURA DE PLANTAS DE CAÑA DE AZÚCAR.....	433
LANTANO EN LA CONCENTRACIÓN DE CLOROFILAS A, B Y TOTALES EN DOS VARIEDADES DE LISIANTHUS.....	438
INDUCCIÓN A LA OVULACION CON PROGESTAGENOS CADUCOS EN CAPRINOS.....	442
LANTANO Y MAGNESIO AFECTAN DIFERENCIALMENTE LAS CONCENTRACIONES DE N, P Y K EN TOMATE.....	447
LANTANO EN EL CRECIMIENTO DE DOS VARIEDADES DE LISIANTHUS.....	452

EXPLORANDO EL POTENCIAL DE LOS AROMAS PARA LA DETECCIÓN TEMPRANA DE ENFERMEDADES EN PLANTAS.....	457
MANEJO REPRODUCTIVO DEL PEZ ARCOÍRIS ENANO ( <i>MELANOTAENIA MACCULLOCHI</i> ) COMO MODELO PARA ESTUDIOS DE DESARROLLO EMBRIONARIO.....	463
LOS EFECTOS DEL LA EN LA PARTICIÓN DE BIOMASA SECA DE TOMATE SON DEPENDIENTES DEL ESTATUS DE MG.....	475
CRECIMIENTO Y CONCENTRACIÓN DE ÁCIDO INDOLACÉTICO SON AFECTADOS POR EL CERIO EN ARROZ.....	479
ESTABILIDAD DE UN EXTRACTO DE COL MORADA ( <i>BRASSICA OLERACEA</i> VAR. <i>CAPITATA F. RUBRA</i> ) ADICIONADA A UNA BASE DE YOGURT.....	485
ÍNDICE DE AUTORES.....	490



## EVALUACIÓN DE LA AGRICULTURA DE PRECISIÓN CON SCENARIO PLANNING

Aarón Montiel Rosales<sup>1-3</sup>, Rubén Purroy Vasquez<sup>2</sup>, Nayeli Montalvo Romero<sup>1</sup>,  
Gregorio Fernández Lambert<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Tecnológico Nacional de México / ITS de Purísima del Rincón, <sup>2</sup>Tecnológico Nacional de México / ITS de Zongolica, <sup>3</sup>Tecnológico Nacional de México / ITS de Misantla.  
ar.chimedes@hotmail.com

### RESUMEN

La creciente preocupación medioambiental y la necesidad de producir alimentos de calidad de una manera sostenible y respetuosa con el entorno, pone al sector agroalimentario en el punto de mira de la sociedad<sup>1</sup>. En este sentido, la agricultura mundial viene enfrentando, a lo largo del tiempo, el desafío constante de aumentar la producción agrícola en respuesta a la creciente demanda de la población<sup>2</sup>. Ahora bien, la alimentación es una cadena de hechos que comienzan con el cultivo, selección y preparación del alimento hasta las formas de presentación y el consumo de un grupo de ellos. Por lo que, la alimentación es saludable cuando favorece el buen estado de salud y disminuye el riesgo de enfermedades crónicas relacionadas con ella; e.g., la alimentación es sumamente importante en los primeros años de vida, junto al establecimiento de hábitos de vida saludables, tienen la posibilidad de prevenir el desarrollo de enfermedades a lo largo de la vida<sup>3</sup>. En México, según un estudio realizado por el INEGI, mueren cada año aproximadamente 8,500 personas a causa de desnutrición, de los cuales un promedio de 850 tenía menos de 5 años de edad. Es la Agricultura de Precisión, una práctica agrícola que permite proveer un producto de calidad, considerando el comportamiento de las variables medioambientales y nutritivas del cultivo. La agricultura de precisión está basada en el reconocimiento de la variabilidad espacial y temporal del clima, los suelos y los cultivos, y consecuentemente, de la importancia de proporcionar un manejo agronómico específico que tenga en cuenta esas diferencias<sup>4</sup>. A partir de lo anterior, el presente proyecto de investigación aborda el diseño de un sistema de monitoreo y control mediante la implementación de la Metodología de *Scenario Planning* que permite alcanzar un cultivo de calidad con un enfoque de Agricultura de Precisión, el sistema se aplicó sobre el cultivo de la zanahoria y el brócoli, obteniéndose resultados favorables. El cultivo de Precisión ayuda a dirigir de manera adecuada el cultivo y de esta manera, abona a incrementar la producción agrícola enfocada al autoconsumo de las familias y que en la actualidad han sido afectadas por la emergencia sanitaria debida al COVID-19.

### INTRODUCCIÓN

Actualmente, cerca de 690 millones de personas padecen hambre, mientras que 3,000 millones no pueden gozar de una dieta saludable; el hambre, ha aumentado en los últimos cinco años, mientras que la pandemia por el COVID-19 esta poniendo en riesgo la seguridad alimentaria y la nutrición de hasta 132 millones de personas más; aunado a esto, existe un deterioro de los ecosistemas y a las consecuencias debidas al cambio climático<sup>5</sup>.

El Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (UNEP, *United Nations Environment Programme*), en el 2021 considera que el desperdicio alimentario se produce en los puntos de venta, restaurantes y hogares; así mismo, en el 2019, 931 millones de toneladas de alimentos se desperdiciaron en los hogares, minoristas, restaurantes y otros servicios alimentarios; en el 2021, el 11% del desperdicio se estima proviene de los hogares; finalmente, a nivel mundial cada año se desperdician 121 kilogramos de alimentos a nivel del consumidor, mientras que 74 de estos kilogramos se desperdician en los hogares<sup>6</sup>.

El desperdicio de los alimentos en el hogar, es posible atribuirlo, a que en los vegetales existen partes que en ocasiones no forman parte de la preparación de alimentos —e.g., tallo, hojas, raíces, semillas, huesos—, así mismo, existe diferencia en los hábitos alimenticios de los hogares, por lo que se generan sobrantes, generando así por consiguiente una compra de producto excedente, que por sus características es perecedero.

Entonces, la pérdida de alimentos es aquella que se produce desde la explotación agrícola hasta la venta al por menor —sin considerar esta última—; ahora bien, el desperdicio de alimentos tiene cabida en la venta al por menor, los servicios alimentarios y en los hogares<sup>5</sup>. Por lo que, la creciente preocupación medioambiental y la necesidad de producir alimentos de calidad de una manera sostenible y respetuosa con el entorno, pone al sector agroalimentario en el punto de mira de la sociedad<sup>7</sup>.

Considerando el contexto previo, se desprende que es necesario adoptar enfoques que permitan reducir la pérdida y el desperdicio de alimentos. En tal sentido, la agricultura ha dado paso a la Inteligencia Artificial con el conjunto de herramientas tecnológicas que permiten, e.g., procesar gran cantidad de información, imprecisa, ambigua y subjetiva, monitorear, recabar y procesar información en tiempo real, y analizar grandes volúmenes de datos. Esta adopción se ha concebido como Agricultura de Precisión. La Agricultura de Precisión, es una concepción que persigue optimizar el proceso productivo a partir del manejo de la variabilidad del agroecosistema<sup>8</sup>. Es un enfoque, que nace de la conciencia del manejo tradicional de la agricultura que deriva en un pobre entendimiento del proceso de producción, resulta costoso y es causa de impactos ambientales negativos<sup>9</sup>.

En tal sentido, el presente proyecto de investigación aborda la determinación del cultivo de calidad mediante la planeación estratégica de la práctica de agricultura de precisión, a través de la herramienta de *Scenario Planning*, considerando como testigos a la zanahoria y al brócoli. Entonces, la determinación de los parámetros del cultivo de calidad, mediante la planeación de escenarios puede ser alcanzada debido a que la herramienta permite analizar la situación pasada, presente y la situación futura, por lo que, representa una herramienta que permite obtener resultados deseados en un futuro a partir de decisiones estratégicas presentes considerando causas y efectos de los parámetros bajo estudio.

## TEORÍA

Fueron Herman Khan y sus asociados en la empresa estadounidense *Rand Corporation*, en las décadas de 1950 y 1960, quienes comenzaron a construir escenarios; el objetivo era explorar cómo podría estallar una guerra nuclear entre los Estados Unidos y la Unión Soviética describiendo posibles caminos lógicos hacia diferentes resultados en el futuro; Khan fue pionero en la técnica del pensamiento del "future-now", con el objetivo de poder escribir un informe en el presente como si se estuviera escribiendo en alguna fecha del futuro mediante el uso de un análisis detallado más la imaginación; General Electric (el conglomerado estadounidense) fue una de las primeras empresas en utilizar la técnica en las décadas de 1960 y 1970, pero fueron Pierre Wack de Shell y Peter Schwartz de SRI International (*Stanford Research Institute* de la Universidad de Stanford) durante las décadas de 1970 y 1980 quien realmente introdujo *Scenario Planning* a la gestión como una herramienta de estrategia<sup>10</sup>.

El propósito del escenario es a un nivel meta, ya que el escenario generalmente no habla por sí mismo en términos de su propósito<sup>11</sup>. Ahora bien, mientras que la planificación estratégica tradicional generalmente se encarga de predecir el futuro en un solo punto en un horizonte de tiempo elegido y así, mapear los planes preferidos para abordar dicho futuro; *Scenario Planning* crea historias sobre múltiples futuros posibles en un horizonte de tiempo dado y, entonces mapea los planes preferidos para abordar los múltiples futuros potenciales descritos; entonces, cada escenario es intencionalmente diferente y específicamente no es un pronóstico de consenso para el peor de los casos, el promedio o el mejor de los casos; por lo que, ni *Scenario Planning* es un proceso de predicción probabilística<sup>12</sup>.

*Scenario Planning*, implica la participación colectiva de una variedad de personas —expertos, estrategas, gerentes— organizadas en redes para crear representaciones alternativas del futuro<sup>13</sup>; *Scenario Planning* se centra en el tratamiento de la incertidumbre relacionada con los estados futuros<sup>14</sup>; por lo que, *Scenario Planning* ha recibido una mayor atención como herramienta para considerar el futuro en medio de un entorno empresarial que cambia rápidamente<sup>15</sup>. Finalmente,

*Scenario Planning* enfatiza el desarrollo de un plan estratégico que sea sólido en diferentes escenarios<sup>16</sup>.

### PARTE EXPERIMENTAL

Para el caso bajo estudio, se considera que los productos agrícolas tienen la peculiaridad de que su crecimiento está condicionado por factores inciertos, e.g., la temporalidad, la disponibilidad de recursos y el compromiso de los actores en su cuidado; por lo que, *Scenario Planning* es considerada la herramienta adecuada para el estudio del presente caso. Ahora bien, el presente trabajo de investigación emplea la versión abreviada de Phadnis (2012)<sup>17</sup>. La Figura 1, muestra la metodología *Scenario Planning*, la cual, permite generar escenarios de forma intuitiva y lógica, considerando la opinión de agricultores expertos en el cultivo de la zanahoria y el brócoli, de San Francisco del Rincón, Guanajuato-México.



Figura 1. Metodología *Scenario Planning*, adaptada<sup>17</sup>.

La aplicación de las fases, es como sigue:

1. Definir el alcance del proyecto. El trabajo de investigación se desarrolla en los campos de una empresa exportadora, cuyos principales productos son la zanahoria y el brócoli, cuyo mercado final es E.U.A y Canadá. El estudio se enfoca en el análisis de producción con una proyección a un año. Para el alcance del objetivo se conforma a un grupo de expertos compuesto por dos Ingenieros Agrónomos, dos Ingenieros Industriales, dos Investigadores y dos expertos en prácticas agrícolas.
2. Identificar y listar los factores locales en el ambiente de la organización. Mediante la participación interactiva de cada miembro del equipo se identifican los factores locales inherentes en la producción de los productos agrícolas, además se determinan las características que requiere el cultivo para cumplir con las especificaciones, tanto de calidad como de inocuidad, esto con apoyo de herramientas de ingeniería.
3. Identificar las fuerzas conductoras que pueden afectar el ambiente de la organización. A partir de entrevistas directas con el personal de la exportadora, se identifican las fuerzas conductoras que están afectan directa o indirectamente.
4. Hacer un ranking y una ponderación de las fuerzas conductoras y de los factores locales. Se realiza la comparación de las fuerzas conductoras y los factores locales mediante el grupo de trabajo definido.
5. Seleccionar la lógica del escenario. A través de la interacción activa de los miembros del equipo de trabajo, se identifican los ejes de los escenarios por medio de la información obtenida de los puntos anteriores.
6. Definir los escenarios. En base al paso 5, se determinan los escenarios.

**RESULTADOS**

La implementación de la metodología mostrada en la Figura 1, paso a paso, en los productos agrícolas bajo estudio, es como sigue:

1. La definición de los productos agrícolas bajo estudio (brócoli y zanahoria), se determinó por medio del análisis de las ventas por temporada (ver Figura 2).



Figura 2. Ventas del brócoli y la zanahoria.

2. En la Figura 3, se presentan (como ejemplo) el diagrama de flujo desarrollado para representar el proceso completo de cultivo, desde la preparación de la tierra, los suministros, aplicación y control de riegos; así como, la descripción de las características entre la selección de la cosecha para empaque y a granel, hasta su distribución, para determinar así de forma precisas los factores locales.

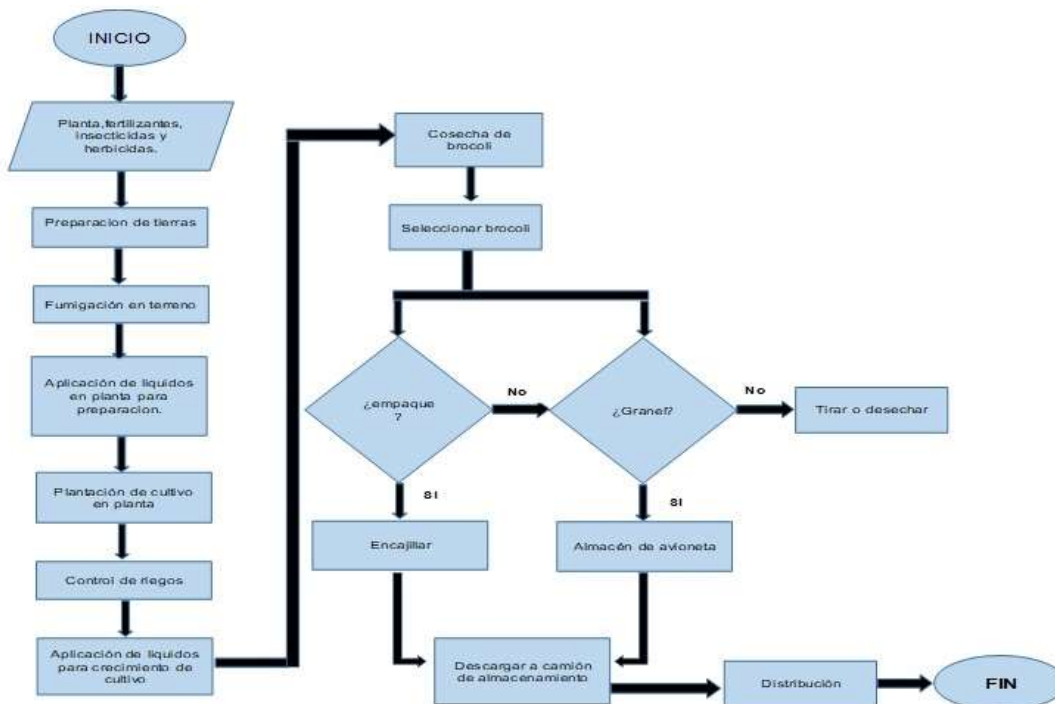


Figura 3. Diagrama de flujo de uno de los cultivos bajo estudio.

Entonces, los factores a considerar en la evaluación de escenarios son los mostrados en la Tabla 1.

- El análisis de las fuerzas conductoras se realizó en una discusión guiada, basada en las entrevistas directas encontrándose: la innovación, la inclusión de las herramientas tecnológicas, el conocimiento de expertos, la innovación en las prácticas agrícolas, incursión en mercados internacionales, *outsourcing* y la certificación GLOBAL G.A.P.

Tabla 1. Factores locales a considerar en los cultivos bajo estudio.

Tecnología	Ambiente	Mercado	Empresa
1. Base del conocimiento de las prácticas agrícolas. 2. Sistema de monitoreo de condiciones. 3. Analítica de la información.	1. Condiciones meteorológicas y del área del cultivo. 2. Nuevas disposiciones políticas y sociales. 3. Proceso de certificación bajo las normas de inocuidad.	1. Competidores con alta tecnología de producción. 2. Crecimiento de mercado y nacimientos de nichos. 3. Inicio de ecosistemas empresariales en la zona.	1. Crecimiento de la empresa. 2. Resiliencia en los métodos de producción. 3. Medidas sanitarias. 4. Gestionar consultorías en áreas productivas. 5. Capacitar.

- El análisis de correspondencia de los factores locales y las fuerzas conductoras se realizó mediante la evaluación de la urgencia y prioridad de cada correspondencia, en la cual, cada integrante generó una calificación encontrándose los principales factores locales de mayor impacto con las fuerzas conductoras, encontrándose con ello los ejes de los escenarios, aquellas que tienen mayor incertidumbre en su adaptación (véase Tabla 2).

Tabla 2. Análisis de correspondencia en los cultivos bajo estudio.

Tipo	Nombre	Ranking
FL	Sistema de monitoreo de condiciones	1
FL	Condiciones meteorológicas y del área del cultivo	2
FL	Crecimiento de la empresa	3
FL	Capacitar	4
FC	Inclusión de herramientas tecnológicas	1
FC	Innovación	2
FC	Conocimiento de expertos	3
FC	Outsourcing	4

- De la fase previa se desprenden los escenarios: tecnología, innovación, capacitar y *outsourcing*.
- Mediante la discusión guiada se definieron y validaron los escenarios creados considerando que la incursión de la tecnología apoya en la producción de ambos cultivos, por medio de la agricultura de precisión (ver Figura 4).

<p>Escenario 2 <i>Innovación</i></p> <p>Cambio en las prácticas agrícolas logrando del monitoreo de las condiciones meteorológicas, como apoyo a los sistemas de riego y fertilización.</p>	<p>Escenario 1 <i>Tecnología</i></p> <p>Uso de la tecnología en el monitoreo y control del cultivo desde que siembra hasta la cosecha, en el mejor de los casos, en la entrega al cliente.</p>
<p>Escenario 3 <i>Capacitar</i></p> <p>Incursión y llevar el conocimiento de las buenas prácticas agrícolas a todas las áreas de la empresa, con el objetivo de generar una conciencia con el producto de calidad y la generación de ideas.</p>	<p>Escenario 4 <i>Outsourcing</i></p> <p>Apoyo de empresas como medio de sustento en el crecimiento y gestión para las certificaciones.</p>

Figura 4. Escenarios creados para el cultivo de brócoli y zanahoria.

## CONCLUSIONES

Las exigencias de la producción agrícola actual, requiere la adopción de nuevas estrategias que permitan proveer un cultivo sano y de calidad. En tal sentido, en el presente proyecto de investigación se considera que la Agricultura de Precisión del brócoli y de la zanahoria, se logra mediante la evaluación del Escenario 1 —según los expertos—, debido a que el factor “Tecnología”, permite el monitoreo y control del cultivo en tiempo real, desde el análisis de las variables de la siembra hasta la determinación del tiempo de cosecha, que permite que el producto agrícola llegue al cliente sano y con la calidad deseada. El presente enfoque metodológico, permite establecer que la agricultura de precisión mediante la evaluación de escenarios es viable y factible mediante el análisis de escenarios que permiten identificar que la tecnología permite el monitoreo y control del cultivo, con lo que es posible abonar a reducir la pérdida y desperdicios de alimentos, y así abonar en garantizar la seguridad alimentaria de las clases más vulnerables.

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Tecnológico Nacional de México que por medio de la Convocatoria 2021: PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA; se financia el desarrollo del proyecto de investigación 2e0tht(10598).

## BIBLIOGRAFÍA

1. C. Lago, J. C. Sepúlveda, R. Barroso, F. Ó. Fernández, F. Maciá & J. Lorenzo, “Sistema para la generación automática de mapas de rendimiento”, *In Aplicación en la agricultura de precisión*, Idesia (Arica), 29(1), 59–69, 2011.
2. R. Bongiovanni, E. Mantovani, S. Best & Á. Roel, “Agricultura de precisión: integrando conocimientos para una agricultura moderna y sustentable”, 2006, *Procisur/IICA*.
3. J. M. Villares & M. G. Segovia, “Alimentación del niño preescolar, escolar y del adolescente”, *In Pediatría Integral: XIX*, (4), 268–276, 2015.
4. I. A. L. Salcedo & O. A. A. Carvajal, “Aplicaciones de la agricultura de precisión en palma de aceite “*Elaeis Guineensis*” e híbrido O x G”, *In Revista de Ingeniería*, 33, 124–130, 2011.
5. FAO, “La pérdida y el desperdicio de alimentos deben reducirse a fin de aumentar la seguridad alimentaria y la sostenibilidad del medio ambiente”, [31.07.2021], <http://www.fao.org/news/story/es/item/1310444/icode/>.
6. United Nations Environment Programme. “Food Waste Index Report 2021”, 2021, Nairobi.
7. E. Gil, “Situación actual y posibilidades de la Agricultura de Precisión”, Escuela Superior de Agricultura de Barcelona, *Universidad Politécnica de Catalunya*, 2010.
8. F. R. Leiva, “La agricultura de precisión: una producción más sostenible y competitiva con visión futurista”, *In Memorias VIII Congreso de la Sociedad Colombiana de Fitomejoramiento y Producción de Cultivos*, (93), 997–1006, July 2003.
9. B. S. Blackmore, P. N. Wheeler, J. Morris, R. M. Morris, R. J. A. Jones, “The role of precision farming in sustainable agriculture: A European perspective”, In Proceedings Precision agriculture Conference, Madison, WI, USA, 777–793, 1995.
10. J. Verity, “Scenario planning as a strategy”. *In European Business Journal*, 5(4), 185–195, 2003.
11. J. F. Coates, “Scenario Planning”, *In Technological Forecasting and Social Change*, 65(1), 2000, 115–123, [https://doi.org/10.1016/S0040-1625\(99\)00084-0](https://doi.org/10.1016/S0040-1625(99)00084-0).
12. D. R. Enzmann, N. J. Beauchamp & A. Norbash, “Scenario Planning”, *In Journal of the American College of Radiology*, 8(3), 2011, 175–179, <https://doi.org/10.1016/j.jacr.2010.08.022>.
13. F. Roubelat, “Scenario Planning as a Networking Process”, *In Technological Forecasting and Social Change*, 65(1), 2000, 99–112, [https://doi.org/10.1016/S0040-1625\(99\)00125-0](https://doi.org/10.1016/S0040-1625(99)00125-0).
14. I. Durbach & T. J. Stewart, “Integrating scenario planning and goal programming”. *In Journal Multi-criteria Decision Analysis*, 12, 261–271, 2003, <https://doi.org/10.1002/mcda.362>.
15. T. J. Chermack & S. A. Lynham, “Definiciones y variables de resultado de la planificación de escenarios”, *In Revisión del desarrollo de recursos humanos*, 1(3), 366–383, 2002, <https://doi.org/10.1177/1534484302013006>.

16. R. Othman, "Enhancing the effectiveness of the balanced scorecard with scenario planning", *In International Journal of Productivity and Performance Management*, 57(3), 259–266, 2008, <https://doi.org/10.1108/17410400810857266>.
17. C. Mejía, I. Agudelo & O. C. Soto, "Scenario planning: A case study in a Colombian logistics consulting firm", *In Estudios Gerenciales*, 32 (138), 96–107, 2016, <https://doi.org/10.1016/j.estger.2015.12.004>.

## DETERMINACION DE COMPUESTOS FENOLICOS Y LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN FRACCIONES DE DISTINTA POLARIDAD DE LIPPIA GRAVEOLENS.

Karina Lizett García Rodríguez <sup>1</sup>, Araceli Rodríguez Sahagún <sup>2</sup>, Osvaldo Adrián Castellanos Hernández <sup>2</sup>, Gustavo Javier Acevedo Hernandez<sup>2</sup> y Rayn Clarenc Aarland<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Estudiante Licenciatura en Química Farmacéutico Biólogo, <sup>2</sup>Centro de Investigación en Biología Molecular Vegetal, Centro Universitario de la Ciénega-Universidad de Guadalajara.

[lizett.garcia@alumnos.udg.mx](mailto:lizett.garcia@alumnos.udg.mx)

### RESUMEN

*Lippia graveolens*, conocido comúnmente como orégano mexicano, es una planta aromática utilizada principalmente como condimento y para la extracción del aceite esencial. Tiene un alto valor comercial debido a los compuestos químicos como los ácidos fenólicos, flavonoides, terpenos como carvacrol y timol etc. A estos compuestos se les atribuye propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias, espasmolíticas, antioxidantes, entre otras. En este proyecto se cuantificaron los compuestos fenólicos, así como la capacidad antioxidante en extractos obtenidos con distintos solventes. Se aplicaron tres tratamientos con solventes de distinta polaridad para ver cuál era el mejor para el mayor rendimiento de estos compuestos. En el caso del tratamiento uno se hizo una extracción con hexano seguido por acetato de etilo y al final metanol, en el tratamiento dos se usaron acetato de etilo y posteriormente metanol, y finalmente en el tratamiento tres únicamente se extrajo con metanol. Para la determinación de fenoles se empleó el método Folin-Ciocalteu y para la capacidad antioxidante se empleó el método que usa el radical libre sintético DPPH. El tratamiento uno y tres mostraron el mayor número de compuestos en comparación con el tratamiento dos. En cuanto a la capacidad antioxidante el mejor tratamiento fue el tres. En ambos ensayos, el tratamiento dos mostró los valores más bajos (fenoles y capacidad antioxidante). Con esta investigación se concluyó que la polaridad de los solventes usados para la obtención del extracto sí influye en la evaluación de parámetros fitoquímicos, ya que con unos nos pueden dar mayor rendimiento y con esto ahorrar tiempo y dinero sobre todo cuando se trate de un trabajo a nivel industrial.

### INTRODUCCION

En México existen alrededor de 40 especies de orégano pertenecientes a cuatro familias: *Lamiaceae*, *Verbenaceae*, *Asteraceae* y *Fabaceae*. De éstas, *Verbenaceae* es la de gran valor comercial debido a las características aromáticas y su distribución. (Muñoz *et al.*, 2019).

*Lippia graveolens* pertenece a la familia *Verbenaceae* y comúnmente se conoce como orégano mexicano. Es una planta herbácea utilizada como condimento y para la extracción de aceite esencial usado como materia prima en la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica. (Castellanos *et al.*, 2013). El orégano crece y se desarrolla en climas secos y semisecos, en forma de arbustos delgados de alrededor de 2 metros de alto, aromáticos. Tiene hojas con la lámina oblonga a elíptica u ovado oblonga, por lo general 2-4 centímetros de largo, el haz denso y el envés glandular. (Sánchez *et al.*, 2011).

Además del aceite, la planta contiene ácidos fenólicos, flavonoides, ácido ursólico, sustancias tánicas y elementos minerales. Todos estos compuestos químicos han demostrado su relevancia en el área farmacológica por sus propiedades antialérgicas, antivirales o vasodilatadores, antimicrobianas, antiinflamatorias, antitumorales, espasmolíticos, estrogénicas entre otras. (Bueno, A., 2014).

Debido al potencial que se ha reportado de la planta, en este proyecto se hizo la determinación de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante en fracciones de distinta polaridad.

### PARTE EXPERIMENTAL

#### *Preparación de extractos de orégano mexicano*

Se pesaron 0.5 g de hojas secas de *Lippia graveolens*, se colocaron en un frasco ámbar y se le agregaron 50 mL de hexano. Se llevó la muestra a agitación (120 rpm) durante 24 horas.



Transcurrido el tiempo, se filtró la muestra para separar el hexano del material vegetal. Posteriormente, a este material vegetal se agregaron 50 mL de acetato de etilo. Se llevó la muestra a agitación (120 rpm) durante 24 horas. Se filtró el orégano mexicano del acetato de etilo y se agregaron 50 mL de metanol al material vegetal. Se llevó la muestra nuevamente a agitación (120 rpm) durante 24 horas. Finalmente se filtró el orégano por última vez y el extracto metanólico obtenido, se mantuvo en refrigeración en el frasco ámbar para los ensayos posteriores. A esta muestra se le llamó M1.

Se pesaron 0.5 g de hojas secas de *Lippia graveolens*, se colocaron en un frasco ámbar y se agregaron 50 mL de acetato de etilo y se llevó la muestra a agitación (120 rpm) durante 24 horas. Transcurrido el tiempo, se filtró la muestra para separar el acetato de etilo del material vegetal. Se agregaron 50 mL de metanol a este material vegetal y se llevó la muestra a agitación (120 rpm) durante 24 horas. Finalmente se filtró por última vez el tejido vegetal y el extracto metanólico obtenido se mantuvo en refrigeración para los ensayos posteriores. A esta muestra se le llamó M2.

Se pesaron 0.5 g de hojas secas de *Lippia graveolens*, se colocaron en un frasco ámbar y se agregaron 50 mL de metanol y se llevó a agitación (120 rpm) durante 24 horas. Transcurrido el tiempo, se filtró la muestra para separar el metanol del tejido vegetal. Finalmente se mantuvo en refrigeración el extracto metanólico obtenido para los ensayos posteriores. A esta muestra se le llamó M3.

#### *Cromatografía en capa fina*

Con una micropipeta se colocaron unas pequeñas gotas de las muestras M1, M2, M3 y ácido gálico (usado como control) en la parte inferior de una placa de cromatografía en capa fina de sílice. En un vaso de precipitado se colocó la fase móvil (solución de acetato de etilo, metanol y agua destilada con la proporción 77:15:8). Se tapó el vaso, dejando que se saturara de los vapores de la fase y posteriormente se introdujo la placa al vaso, quedando solo la parte inferior de la placa sumergida en la fase móvil. Se esperó a que la fase móvil ascendiera por capilaridad a través de la fase estacionaria, produciéndose un reparto diferencial de los productos presentes. Una vez terminadas las corridas de las muestras, se dejó secar la placa por unos minutos, para finalmente visualizarla bajo luz UV.

Se identificaron las bandas que se arrojaron en la placa, fueron marcadas para posteriormente medir la distancia recorrida por la muestra a partir de su origen. Y de esta manera calcular el factor de referencia (Rf).

#### *Compuestos fenólicos totales*

Los fenoles totales se determinaron mediante el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu usando el ácido gálico como material de referencia.

Se procedió a preparar las soluciones que se usarían para la curva patrón y para la determinación de las muestras. El Folin-Ciocalteu se diluyó con agua destilada (1:10). Se preparó una solución de carbonato de sodio al 7.5% (v/v) y la solución stock se preparó con ácido gálico (1mg/mL).

Después de tener las soluciones se realizó la curva patrón usando las concentraciones que se muestra en la tabla siguiente:

Tabla 1 Preparación de diluciones para curva patrón del ácido gálico para la determinación de compuestos fenólicos totales.

STOCK $\mu\text{L}$	H <sub>2</sub> O $\mu\text{L}$	[ ] Final $\mu\text{g/mL}$
0	1000	0
25	975	25
50	950	50
75	925	75
100	900	100
150	850	150
200	800	200

Se tomó una alícuota 200  $\mu\text{L}$  de cada una de las diluciones y se le agregó 1 mL del reactivo Folin-Ciocalteu y se incubó durante un minuto. Se agregó 0.8 mL de carbonato de sodio, se agitó e incubó durante una hora a temperatura ambiente. Se midió la absorbancia a 765 nm (se realizó esto por triplicado para cada concentración). Para el blanco solo se agregó Folin-Ciocalteu y carbonato de sodio a 200  $\mu\text{L}$  de agua. Para las muestras se hicieron las diluciones adecuadas y se prepararon las mezclas de reacción de la misma manera que la curva patrón, sustituyendo el ácido gálico por las respectivas muestras.

#### *Capacidad antioxidante*

La capacidad antioxidante se determinó mediante el método espectrofotométrico del DPPH usando el trolox como sustancia de referencia.

Se procedió a preparar las soluciones que se usarían para la curva patrón y para la determinación de las muestras. La solución stock (DPPH) se preparó a una concentración de 0.1 mM y el trolox a 2.5 mM. A partir de la solución stock de DPPH se preparó una solución diaria, diluyendo 10 mL de solución concentrada en 40 mL de metanol. De esta solución diaria, se ajustó la absorbancia a 1.1.

Después de tener las soluciones se realizó la curva patrón de la siguiente manera:

Tabla 2. Preparación de diluciones para curva patrón de Trolox para la determinación de capacidad antioxidante.

Stock Trolox ( $\mu\text{L}$ )	H <sub>2</sub> O ( $\mu\text{L}$ )	Volumen final ( $\mu\text{L}$ )	[ ] Final $\mu\text{M}$
0	1000	1000	0
40	960	1000	100
80	920	1000	200
120	880	1000	300
160	840	1000	400
200	800	1000	500

Se tomó una alícuota de 50  $\mu\text{L}$  de cada una de las diluciones del trolox y se le agregaron 950  $\mu\text{L}$  de solución diaria. Se incubó por 15 minutos y se midió la absorbancia a 515 nm. (Se realizó esto por

triplicado). Como blanco se usó solamente metanol. Para las muestras se hicieron las diluciones adecuadas y se prepararon las mezclas de reacción de la misma manera que la curva patrón, sustituyendo el trolox por las respectivas muestras.

Se realizaron los cálculos y graficas correspondientes.

## RESULTADOS

### *Cromatografía en capa fina*

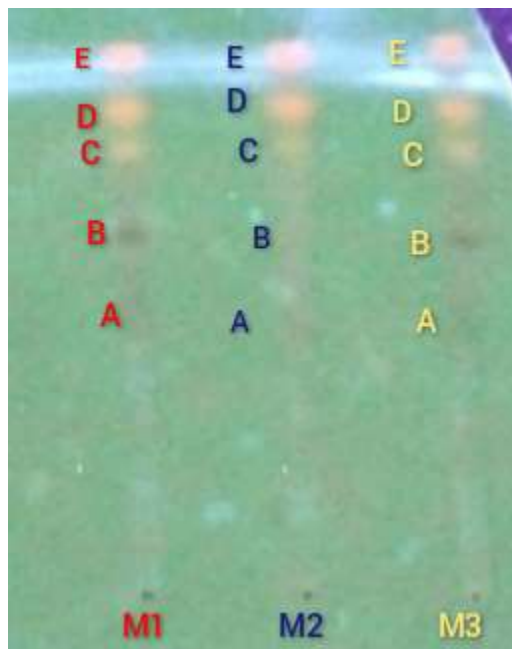


Imagen 1. Cromatografía en capa fina de las muestras M1, M2 y M3

### *Determinación del Rf*

En las tres muestras M1, M2 y M3 se visualizaron 5 marcas que se les identificó como A, B, C, D y E.

M1

Tabla 3 Rf de las diferentes bandas de la muestra M1

Marca	Rf
A	$1.2/8=0.15$
B	$1.6/8=0.2$
C	$3.9/8=0.4875$
D	$5.4/8=0.675$
E	$5.8/8=0.725$

Tabla 4 Rf de las diferentes bandas de la muestra M2

Marca	Rf
A	$1.8/8=0.225$
B	$2.5/8=0.3125$
C	$3.9/8=0.4875$
D	$5.3/8=0.6625$
E	$5.4/8=0.675$

Tabla 5 Rf de las diferentes bandas de la muestra M3

Rf	Resultado
A	$1.7/8=0.2125$
B	$3.5/8=0.4375$
C	$4/8=0.5$
D	$5.5/8=0.6875$
E	$6.1/8=0.7625$

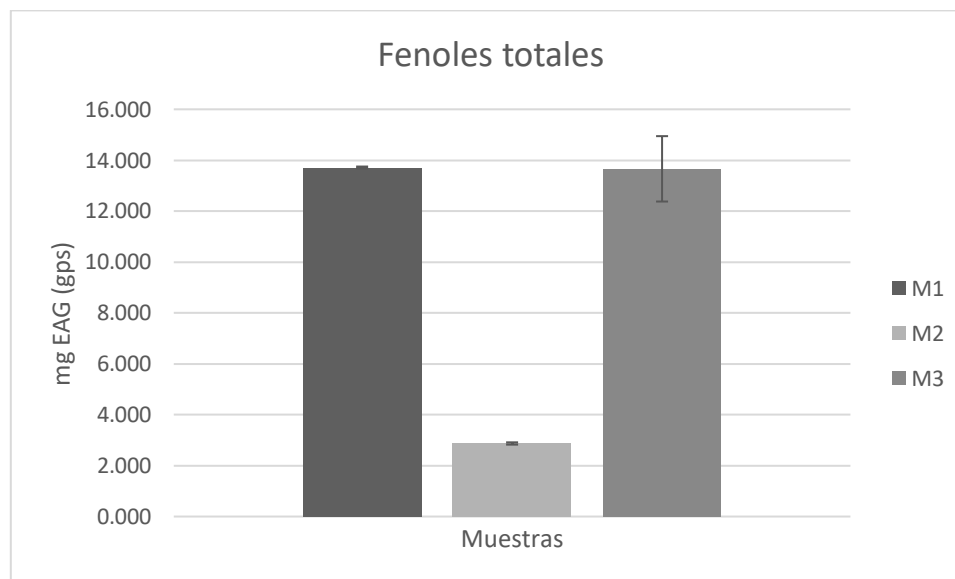


Imagen 2. Determinación de compuestos fenólicos totales de las muestras M1, M2 y M3. En donde la mayor cantidad se observó en la muestra M3 y la menor cantidad en la muestra M2.

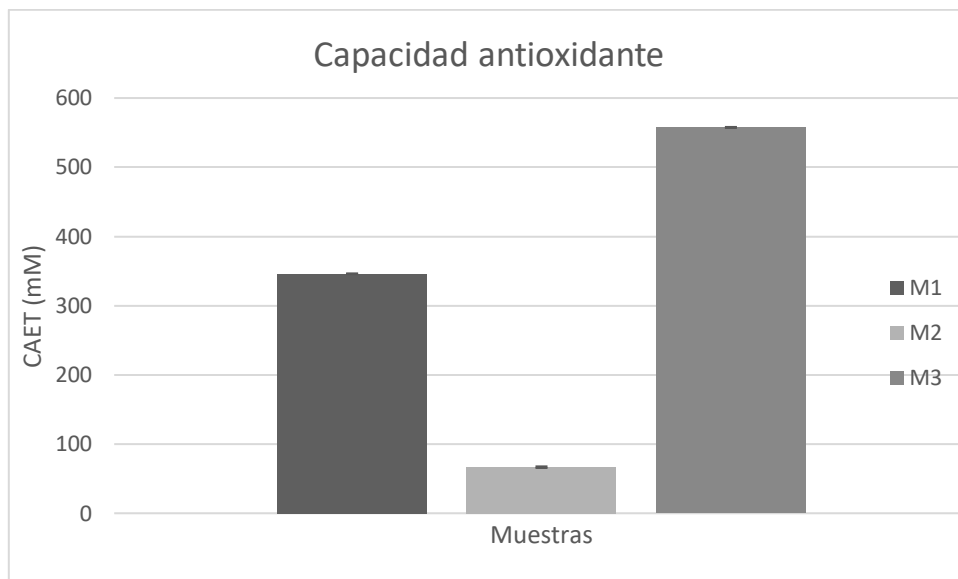


Imagen 3. Determinación de capacidad antioxidante de las muestras M1, M2 y M3. En donde la mayor capacidad se observó en la muestra M3 y la menor capacidad se observó en la muestra M2.

## DISCUSION

En la cromatografía se demostró cualitativamente que las muestras correspondían a los compuestos fenólicos con base en control usado. En el  $R_f$  de las muestras resultaron dentro de los valores entre 0 y 1 como se menciona en la bibliografía cuanto más cercano a 0 es el valor de  $R_f$  significa que el analito tiene afinidad por la fase estacionaria (muy retenido) mientras que cuanto más cercano a 1 sea el valor de  $R_f$  significa que el analito tiene más afinidad por la fase móvil, por lo tanto es poco retenido por la fase estacionaria.

En cuanto a la determinación de fenoles totales se observó la mayor cantidad en la muestra M3, sin embargo, no fue significativamente diferente a M1. En cambio, la muestra M2 la que tuvo la menor cantidad dio un valor por debajo de 4.00 mg EAG (gps). Se podría pensar que, por tratarse de compuestos mayoritariamente polares, se obtendría una mayor cantidad de fenoles en el extracto M3 y menor en M1. Sin embargo, Mesa-Venegas y colegas (2015) hicieron un estudio con solventes de diferente polaridad y tampoco se observó una mayor cantidad de fenoles en el solvente más polar. Lo mismo sucedió en un estudio similar, realizado por Van Gho y colegas (2017).

En la capacidad antioxidante se observa en la gráfica que la mayor capacidad se encontró en el procedimiento descrito para la muestra M3, la que solo se preparó con metanol, es decir, la más polar. Sin embargo, no es un patrón ya que la muestra M1 presentó una capacidad antioxidante mayor que M2, siendo que para M2 no se utilizó hexano (solvente menos polar). En el estudio realizado en 2017 por Van Gho y colaboradores se observó que la capacidad antioxidante fue mayor en el extracto más polar (metanol) y menor en el extracto menos polar (acetona).

## CONCLUSIONES

Con esta investigación se concluye que la polaridad de los solventes usados para la obtención de extractos sí influye en las determinaciones de compuestos fenólicos totales y en la capacidad antioxidante, sin embargo, los extractos obtenidos con solventes más polares no necesariamente se traduzcan en un mayor número de compuestos fenólicos.

## BIBLIOGRAFIA

1. Bohórquez, R. (2016). "Determinación de actividad antioxidante de extractos de hojas de *Diplostegium phylloides* (Kunth) wedd" (tesis de pregrado). Universidad de ciencias aplicadas y ambientales U.D.C.A. Bogotá.

2. Bueno, A. (2014). "Estimulación abiótica de la acumulación de compuestos bioreactivos en dos especies de *Lippia*" (tesis de posgrado). Centro de investigación y asistencia en tecnología y diseño del estado de Jalisco, A.C. Guadalajara, Jalisco.
3. González, M. Soto, M. Kite, G. Martínez, M. (2007). Actividad antioxidante de flavonoides de tallo de orégano. mexicano. *Fitotecnia mexicana.*, 30, 43-49.
4. Guija, E. Inocente, M. Ponce, J. Zarzosa, E. (2015). Evaluación de la técnica 2,2-difenil-1-picrihidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante. 10 de enero del 2021, de Scielo Sitio web: <http://www.scielo.org.pe/pdf/hm/v15n1/a08v15n1.pdf>
5. Gutiérrez, D. Ortiz, C. Mendoza, A. (2008). Medición de fenoles y actividad antioxidante en malezas usadas para alimentación animal. 10 de enero del 2021, de simposio de metrología 2008 Sitio web: [https://www.cenam.mx/simposio2008/sm\\_2008/memorias/M2/SM2008-M220-1108.pdf](https://www.cenam.mx/simposio2008/sm_2008/memorias/M2/SM2008-M220-1108.pdf)
6. Mesa-Vanegas, A. M., Zapata-Uribe, S., Arana, L. M., Zapata, I. C., Monsalve, Z., & Rojano, B. (2015). Actividad antioxidante de extractos de diferente polaridad de *Ageratum conyzoides* L. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 14(1), 1-10.
7. Ngo, T. V., Scarlett, C. J., Bowyer, M. C., Ngo, P. D., & Vuong, Q. V. (2017). Impact of different extraction solvents on bioactive compounds and antioxidant capacity from the root of *Salacia chinensis* L. *Journal of Food Quality*, 2017.
8. Sánchez, G. Quezada, F. Lara, M. Medina, T. Pérez, L. (2011). Parámetros ambientales y abundancia del orégano mexicano. . *CienciaUAT*, 6, 24-31.
9. Soto, A. García, R. Ramírez, Y. Morán, M. Serrano, L. (2012). El extracto acuoso de orégano (*lippia graveolens* HBK) del Norte de México tiene actividad antioxidante sin mostrar un efecto toxico in vitro e in vivo. *Scielo*,30, 937-944.

## HONGOS FITOPATÓGENOS AISLADOS DE FRUTOS DE AGUCATE CON SÍNTOMAS DE ROÑA

Carlos Vladimir Muro Medina<sup>1</sup>, Soledad García Morales<sup>2</sup>, Janet María León Morales<sup>2\*</sup>, José Luciano Morales García<sup>3</sup>, Claudia Isabel López Cornejo<sup>3</sup>, Anabel Ortiz Caltempa<sup>4</sup>, Ernesto Tapia Campos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco. <sup>2</sup>CONACYT-Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco. <sup>3</sup>Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez”-Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. <sup>4</sup>Centro de Investigación en Biotecnología-Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

\*jmlm21@outlook.es

### RESUMEN

La roña del aguacate (*Persea americana*) es una enfermedad presente de forma endémica en Michoacán, Jalisco y el Estado de México, los principales estados productores de aguacate. Esta enfermedad produce una lesión con apariencia de “corcho” en el pericarpio, lo que deprecia el valor del fruto y reduce sus posibilidades de exportación. A pesar de lo anterior, la enfermedad no afecta el mesocarpio (“pulpa”) del aguacate y el fruto con lesiones en más del 50% de su superficie puede destinarse a la producción de aceite de aguacate. La roña afecta a las variedades más cultivadas del país; Hass y Fuerte. *Elsinoe perseae* es considerado el agente causal de la roña en aguacate, sin embargo, existen otros hongos asociados a la lesión que pueden causar enfermedades como la antracnosis, la mancha angular, entre otras. El objetivo de este trabajo fue aislar e identificar los hongos fitopatógenos asociados a las lesiones de roña en aguacate cultivado en Jalisco. Para lo cual, se obtuvieron frutos con lesiones de roña de huertos de Ciudad Guzmán, Jalisco. Los frutos se esterilizaron mediante inmersión con soluciones de etanol 70% y Cloralex® 2%, y se enjuagaron con agua destilada estéril para eliminar el exceso de cloro. Posteriormente, se obtuvieron fragmentos de la lesión de roña con un bisturí y se colocaron 5 fragmentos en cada caja de Petri con medio agar dextrosa papa, adicionado con ácido tartárico. Se aislaron los hongos que crecieron de la lesión y se obtuvieron cultivos axénicos de siete cepas. Se aisló el ADN de estas cepas, se amplificó, purificó y secuenció la región de los espacios internos transcritos (ITS) del ARNr nuclear. De acuerdo con el análisis de búsqueda de alineamiento local “BLAST®” realizado con las secuencias de ITS, las cepas aisladas corresponden a cinco especies diferentes, de las cuales *Colletotrichum gloeosporioides*, *Pestalotiopsis* spp. y el hongo endófito *Epicoccum nigrum* registraron un 100% de identidad; mientras que el complejo de hongos *Diaporthe caatingaensis* y *Phomopsis* spp obtuvo una identidad mayor al 99%. Las características macroscópicas observadas en las cepas corresponden a las reportadas en la literatura para estas especies. *E. perseae* no fue aislado de la lesión de roña, lo cual puede deberse a su lento crecimiento. Por otro lado, la presencia de *C. gloeosporioides*, uno de los hongos fitopatógenos más importantes que afecta al cultivo de aguacate a nivel mundial, ha sido reportada en otros estados del país en diferentes tejidos y es el agente que causa antracnosis en brotes, hojas, flores y frutos de aguacate. Así mismo, el complejo *Phomopsis/Diaporthe* es conocido por causar cáncer de ramas en cv Hass en California. Sin embargo, estas especies no han sido asociadas al síntoma de roña. En conclusión, las lesiones de roña en el fruto de aguacate, en Jalisco, pueden hospedar otras especies de hongos que pueden provocar enfermedades más severas que afecten la calidad de la pulpa en pre y post cosecha.

### INTRODUCCIÓN

El fruto de aguacate (*P. americana* Mill) es una baya con una semilla o “hueso” cuyo mesocarpio (o “pulpa”) posee una alta palatabilidad y un importante valor nutricional cuando se consume fresco (Chanderbali *et al.*, 2013). México es el principal productor de aguacate en el mundo, con una producción de 2,393,848 ton en 2020. La variedad Hass es la más cultivada en el país, con más del 97% de la producción nacional. Michoacán, Jalisco y México son los estados que más contribuyen a la producción nacional con el 75, 10 y 5 %, respectivamente (SIAP, 2021). La comercialización y/o exportación del aguacate se ven afectadas negativamente por las enfermedades causadas por hongos, que dañan al fruto durante su desarrollo, cosecha y manejo postcosecha. Entre las

enfermedades que disminuyen la calidad del fruto se encuentran la antracnosis causada por *Colletotrichum* spp. y la roña provocada por *Elsinoe perseae*. Si la antracnosis no se controla oportunamente, puede llegar a pudrir la pulpa y generar pérdidas de hasta un 20% de la producción total. Por otro lado, la roña no daña la pulpa ya que afecta sólo al epicarpio (“cascara”), pero puede llegar a cubrirlo en su totalidad con lesiones de apariencia corchosa que afectan la calidad aparente y la exportación del fruto, además que pueden permitir la entrada de hongos más agresivos como *Colletotrichum* spp., *Phytophthora* spp. y *Alternaria* spp. (Rodríguez-López *et al.*, 2009; Valle-Aguirre *et al.*, 2016; Tapia-Rodríguez *et al.*, 2020). Para el control fitosanitario de estas enfermedades se emplea un control cultural que consiste en tener una huerta libre de malezas, ramas, hojas y frutos caídos, así como podas de aclareo para mantener la huerta aireada e iluminada. Adicionalmente, se emplea un control químico donde se aplican fungicidas a base de cobre y/o azufre, hidróxido de calcio micronizado, fosetil-al, ftalimidias y benzimidazoles (Pérez-Jiménez, 2008; APEAM: Asociación de Productores y Empacadores Exportadores de Aguacate de México, 2021).

El aumento en la demanda de aguacate para consumo fresco a nivel nacional e internacional ha ejercido presión para aumentar la producción, cosecha y empaquetamiento de frutos sanos libres de lesiones. Esto ha originado un uso indiscriminado de fungicidas sintéticos, lo que a su vez ha promovido la aparición de fenómenos de resistencia a fungicidas (FRAC: Fungicide Resistance Action Committee, 2017) sin mencionar el impacto al ecosistema por su residualidad y toxicidad sobre especies benéficas (Yoon *et al.*, 2013).

En este contexto, es necesario desarrollar nuevas alternativas para coadyuvar con las ya existentes para el control de las enfermedades en aguacate y otros cultivos, y amalgamar todas las alternativas bajo un modelo integrado de manejo de plagas. Con este enfoque, la identificación de las especies fúngicas presentes en las huertas y tejidos vegetales es solo una parte del monitoreo e identificación necesarios para desarrollar un adecuado sistema de control de enfermedades en función de las especies presentes, entre otros factores (IPM: Integrated Pest Management, FAO, 2021).

## TEORÍA

En 1934, Jenkins reportó a *Elsinoe perseae* (antes *Sphaceloma perseae*) como el agente causal de la roña en frutos y hojas de aguacate. Así mismo, las lesiones de roña en fruto de aguacate pueden ser ocasionadas por otros factores como la picadura de insectos, granizo, golpes, rozaduras, etc.

En este trabajo se tomaron lesiones de roña de frutos de aguacate cv. Hass de Cd. Guzmán, Jalisco con el propósito de aislar e identificar a los hongos asociados en la lesión y al agente causal de la roña (*E. perseae*).

## PARTE EXPERIMENTAL

Aislamiento de hongos asociados a la lesión de roña de frutos de aguacate

Se obtuvieron frutos cv. Hass de las huertas “Riverol” y “Maravillas” de Cd. Guzmán, Jalisco con síntomas de roña. Los frutos se sumergieron completamente en etanol al 70% durante 2 minutos y posteriormente se enjuagaron con agua destilada durante 1 minuto. Finalmente, se sumergieron en cloro al 2% durante 8 minutos y se realizaron tres lavados con agua destilada estéril. Los fragmentos de la lesión de roña se colocaron en cajas de Petri (90 x 15 mm) con medio PDA suplementado con ácido tartárico y se incubaron a 23 °C. De 0.5 a 1.5 gramos del tejido de las lesiones se congeló en nitrógeno líquido para la extracción de ADN (Figura 1).



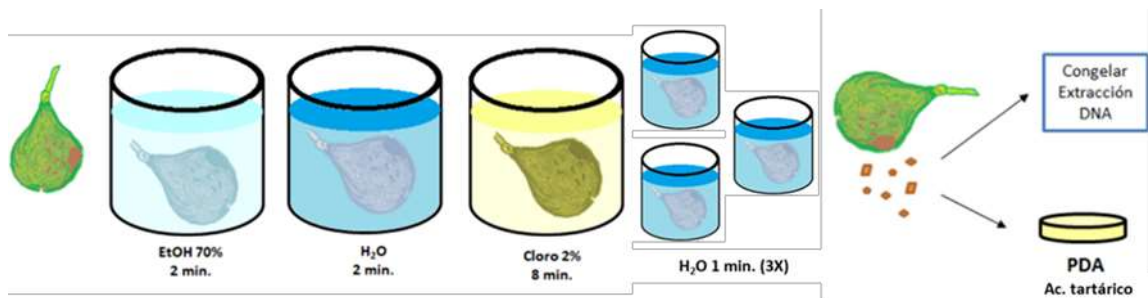


Figura 1. Procesamiento de frutos de aguacate con lesiones de roña para el aislamiento de los hongos asociados a la lesión.

#### Identificación morfológica de los hongos aislados

Se utilizaron las claves de Barnett & Hunter (1972) como apoyo para la caracterización morfológica microscópica de los hongos aislados. Así mismo, se utilizaron los artículos de Weir *et al.* (2012) y Fuentes-Aragón *et al.* (2020) para la caracterización de *Colletotrichum* spp.; Hosseini *et al.* (2020) para el complejo *Diaporthe / Phomopsis*; Maharachchikumbura *et al.* (2011) y Silva *et al.* (2020) para *Pestalotiopsis* sp.; y a Taguiam *et al.* (2021) para *Epicoccum* spp.

Se realizaron preparaciones de cada cepa para las observaciones en microscopio óptico; con una aguja entomológica se tomó una porción de la colonia, se colocó sobre un portaobjetos y se agregó glicerol para la observación de las estructuras fúngicas. Las observaciones se realizaron con un microscopio confocal Leyca® DM 5500Q.

#### Extracción de ADN

Se utilizó el método de extracción de CTAB (Doyle y Doyle, 1987) adaptado para hongos. Con una espátula se raspó el micelio de las cepas aisladas (~25 días en PDA /ácido tartárico) y se molió en mortero con nitrógeno líquido. Aproximadamente 100 mg del tejido molido se colocó en un tubo de 2 mL, se agregó 1 mL de CTAB al 2% y se incubó en baño maría a 65°C durante 90 min. Posteriormente, se agregaron 500 µL de cloroformo-alcohol isoamílico (24:1, v/v) y se mezcló por inversión. Para recuperar la fase acuosa, la mezcla se centrifugó a 3,500 rpm durante 10 min. Se agregaron 400 µL de isopropanol frío para precipitar el ADN y se incubó por 1 hora a -20°C. La pastilla de ADN se obtuvo después de centrifugar a 3,500 rpm durante 30 minutos y se lavó con 1 mL de etanol absoluto. Después de centrifugar a 3,500 rpm durante 8 minutos, se realizó un segundo lavado con etanol al 70%. Finalmente, la pastilla se obtuvo después de centrifugar a 3,500 rpm durante 8 minutos y se dejó secar a temperatura ambiente. Se agregaron de 50 a 300 µL de agua desionizada estéril para disolver el ADN y se determinó la calidad en geles de agarosa al 0.8% con GelRed® a 90V por 45 minutos con buffer TBE. Los geles se visualizaron en el sistema Molecular Imager® Gel Doc® XR System (BIO-RAD®). Para determinar la cantidad de ADN obtenida se midió la absorbancia UV 260/280 en un espectrofotómetro NanoDrop® ND-1000 (Thermo Scientific®).

#### Amplificación y secuenciación de la región ITS del ADN nuclear.

Se utilizaron los oligonucleótidos universales ITS1-ITS4 para la amplificación de los espaciadores internos transcritos (ITS) de los hongos aislados, correspondiente a las regiones ITS1-5.8S-ITS2 (White *et al.*, 1990). Se utilizó el kit GoTaq® G2 Green Master Mix (Promega®) con un volumen total de reacción de 25µL con las siguientes proporciones: 5 µL Buffer Green GoTaq 5X; 2 µL dNTP's 2.5 mM; 2 µL Primer Forward 10 mM; 2 µL Primer Reverse 10 mM; 0.4 µL DNA polimerasa 5U GoTaq G2; 5 µL DNA molde a 20 ng/µL; 8.6 µL H<sub>2</sub>O desionizada estéril. La reacción se realizó en un termociclador C1000 Touch® (BIO-RAD®) con el programa: un ciclo a 95°C durante 4 minutos; 35 ciclos con desnaturalización a 95°C durante 30 segundos, alineamiento a 55 °C durante 30 segundos, elongación a 72°C durante 45 segundos; con una elongación final de 72 °C durante 10 minutos. Los productos de PCR se purificaron con columnas Wizard® SV Gel y PCR Clean-Up System (Promega®). La calidad y concentración de los productos purificados se determinó por medio de una electroforesis en gel de agarosa al 1.5% y se midió la absorbancia UV 260/280 en un

espectrofotómetro NanoDrop® ND-1000 (Thermo Scientific®). Las muestras se secuenciaron en forward y reverse en la empresa Macrogen, Inc (Seúl, Corea). Las secuencias se editaron manualmente y se generó la secuencia consenso con el programa MEGA®X (Kumar *et al.*, 2018). Las secuencias fueron depositadas en el GenBank (NCBI: National Center for Biotechnology Information).

Análisis de alineamiento local BLAST®.

Con las secuencias de la región ITS del ADN ribosomal nuclear de los hongos aislados se realizó un análisis BLAST® con las secuencias depositadas en el GenBank (NCBI) para la identificación molecular de las cepas. Se consideraron los porcentajes de identidad más altos y el valor de E más bajo para determinar la secuencia de ITS homóloga.

## RESULTADOS

Se aislaron siete cepas fúngicas, tres cepas se obtuvieron de frutos de la huerta Riverol y cuatro cepas provenientes de frutos de la huerta Maravillas. Morfológicamente, las cepas aisladas presentan las características reportadas en la literatura especializada (Fig. 2).

La cepa Psp19\_01 (*Pestalotiopsis* sp.) forma una colonia blanca de alrededor de 41-51 mm de diámetro después de 10 días de crecimiento en PDA a 23 °C, con micelio aéreo algodonoso y bordes suaves e irregulares. La parte inferior presenta una coloración color durazno o salmón pálido (Figura 2A), similar a lo reportado por Silva *et al.*, 2020. El carácter más significativo para la identificación de *Pestalotiopsis* es la morfología y tamaño de sus conidios (Maharachchikumbura *et al.*, 2011). Sin embargo, en las preparaciones de este trabajo no se observaron estas estructuras.

La cepa Dc19\_01 (*Diaporthe caatingaensis*) presenta un micelio aéreo semi esponjoso y denso, de color blanco-grisáceo y crecimiento muy rápido, a los 10 días de crecimiento en PDA (23 °C) cubre por completo la caja de Petri (Figura 2B). Como lo ha reportado Hosseini *et al.* (2020), cuando la colonia envejece aparecen tonalidades verdosas amarillentas en la colonia, y se forma estroma de color negro visible en ambas caras de la caja. En adición aparecen picnidios de color negro. A los 10 días, la parte inferior de la colonia presenta tonalidades grisáceas (Figura 2B).

Por su parte, la cepa Phsp19\_01 (*Phomopsis* sp., anamorfo de *Diaporthe*) presenta un micelio aéreo blanquecino, compacto, con bordes regulares y un crecimiento más lento en comparación con *D. caatingaensis*, alcanzando los 51 mm de diámetro a los 11 días de crecimiento en medio PDA (Figura 2C). La parte inferior de la colonia presenta una coloración color salmón pálido con tejido gris oscuro en el centro de la colonia (Figura 2C). Al igual que en *Diaporthe*, la colonia forma estroma y picnidios de color negro conforme envejece.

Las colonias de los aislados En19\_01, En19\_02 y En19\_03 (*Epicoccum nigrum*) presentan un micelio aéreo compacto, con coloraciones que van del amarillo al naranja dependiendo la cepa (Figuras 2D, 2E y 2F). De acuerdo con Alcock *et al.* (2015), los compuestos flavipina y epirodina son los responsables de la coloración amarilla característica de *E. nigrum*. La colonia presenta bordes regulares o irregulares de color más claro que el centro (Figuras 2D, 2E y 2F). El crecimiento a los 11 días de crecimiento en PDA (23 °C) es variable; la cepa En19\_01 alcanza los 52 mm de diámetro (Figura 2D), la cepa En19\_02 de 52-58 mm de diámetro (Figura 2E) y la cepa En19\_03 de 31-38 mm (Figura 2F). Conforme la colonia envejece, el medio de cultivo se tiñe de naranja debido a la difusión de la flavipina y epirodina (Alcock *et al.* 2015).

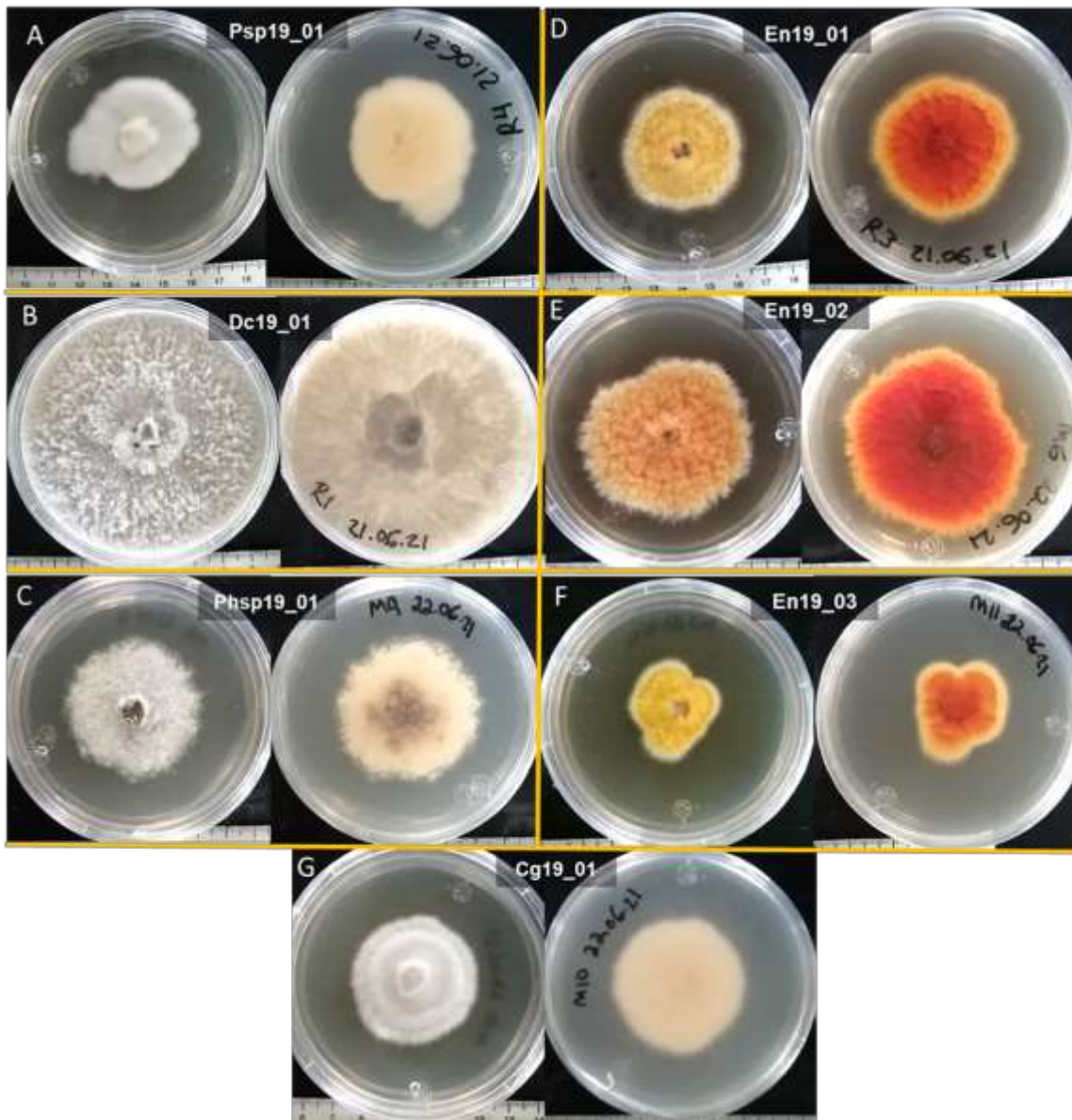


Figura 2. Morfología del crecimiento (vista superior e inferior) de los hongos aislados de lesiones de roña de frutos de aguacate en medio PDA (23°C). A: cepa Dc19\_01 (*Diaporthe caatingaensis*); B, D, F: cepas En19\_01, En19\_02 y En19\_03 de *Epicoccum nigrum*. C: cepa Psp19\_01 (*Pestalotiopsis* sp.); E: cepa Cg19\_01 (*Colletotrichum gloeosporioides*); G: cepa Phsp19\_01 (*Phomopsis* sp.). A, B, C: 10 días de crecimiento; D, E, F, G: 11 días de crecimiento.

La parte inferior de colonia presenta un color naranja o rojo (Figuras 2D, 2E y 2F). En este trabajo, los picnidios fueron encontrados en colonias de más de 30 días de crecimiento. Los conidios son multicelulares, de forma globosa o subglobosa, oscuros, pigmentados, con superficie rugosa (Figura 3), como se describe en Barnett & Hunter, 1972.

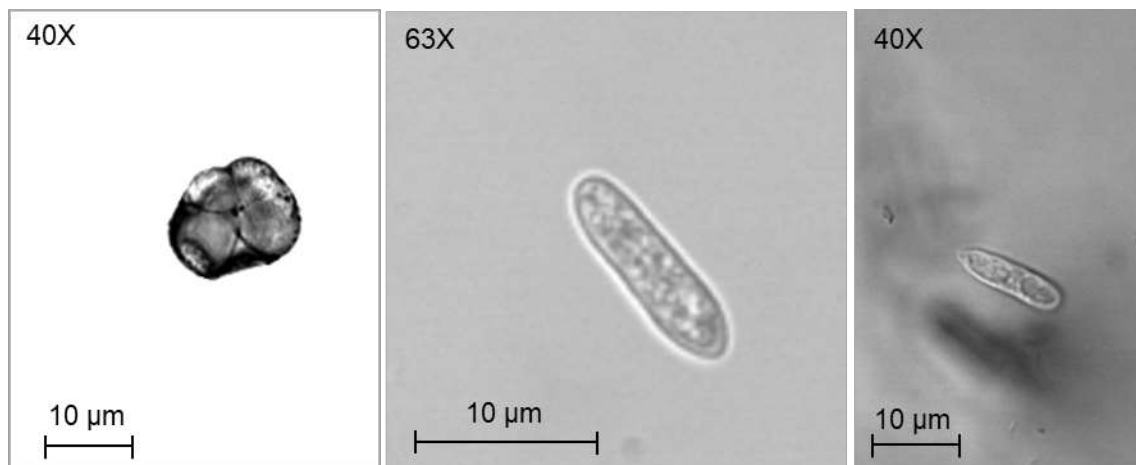


Figura 3. Micrografías de conidios de *Epicoccum nigrum* (Izquierda) y *Colletotrichum gloeosporioides* (centro y derecha).

Finalmente, la cepa Cg19\_01 (*Colletotrichum gloeosporioides*) se caracteriza por presentar un micelio aéreo de color blanco, con bordes regulares, micelio poco compacto, con textura algodonosa (Figura 2G). Su crecimiento en medio PDA es rápido, pero no alcanza los bordes de la caja, a los 11 días alcanza un diámetro de 46 mm (Figura 2G). Los conidios son unicelulares, hialinos, cilíndricos-rectos, en concordancia a lo citado en la literatura (Morales-García *et al.*, 2009; Weir *et al.*, 2012; Fuentes-Aragón *et al.* 2020); y miden más de 10 µm de longitud (Figura 3). De acuerdo con Weir *et al.* (2012), *C. gloeosporioides* presenta conidios con un tamaño consistente entre 12 y 19 µm de longitud. La parte inferior de la colonia presenta un color salmón pálido de manera uniforme en toda la colonia (Figura 2G).

En el análisis BLAST® (Basic Local Alignment Search Tool) se encontraron secuencias homólogas con porcentajes de identidad mayores al 99% (Tabla 1). Los hongos aislados en la huerta “Riverol” fueron identificados como *Diaporthe caatingaensis*, *Epicoccum nigrum* y *Pestalotiopsis* sp. Por otra parte, en la huerta “Maravillas” se identificaron dos cepas como *E. nigrum*, una cepa como *Phomopsis* sp. y una cepa de *Colletotrichum gloeosporioides*.

Tabla 1. Secuencias homologas de los hongos aislados y números de accesión de GenBank.

Nomenclatura de los aislados	Huerta	Secuencia homóloga / especie	Identidad (%)	E-value	No. asignado en el GenBank
Dc19_01	Riverol	KY085925.1 / <i>Diaporthe caatingaensis</i>	99.4	0.0	MZ313903
En19_01	Riverol	MG602567.1 / <i>Epicoccum nigrum</i>	100.0	0.0	MZ313904
Psp19_01	Riverol	DQ000999.1 / <i>Pestalotiopsis</i> sp.	100.0	0.0	MZ313905
En19_02	Maravillas	MG602567.1 / <i>Epicoccum nigrum</i>	99.8	0.0	MZ313906
Phsp19_01	Maravillas	JN153072.1 / <i>Phomopsis</i> sp.	99.0	0.0	MZ313946
Cg19_01	Maravillas	MK426765.1 / <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	100.0	0.0	MZ313948
En19_03	Maravillas	MT582797.1 / <i>Epicoccum nigrum</i>	100.0	0.0	MZ313950

De las especies identificadas, *Colletotrichum* es el género de patógenos más importante y cosmopolita en el cultivo de aguacate. Especies de este género provocan enfermedades como la antracnosis, el clavo y la viruela que pueden llegar a pudrir el fruto. *Colletotrichum gloeosporioides* está presente de forma endémica en prácticamente todas las huertas de aguacate del país y es una constante amenaza en el manejo post cosecha (Morales-García *et al.*, 2009; Rodríguez-Lopez *et al.*, 2009; Valle-Aguirre *et al.*, 2016; Tapia-Rodríguez *et al.*, 2020). *Diaporthe* (teleomorfo) y su anamorfo *Phomopsis* spp., forman un complejo de especies que pueden provocar enfermedades en el cultivo de aguacate además de otros cultivos (Hosseini *et al.*, 2020). Este complejo está presente en los síntomas de cáncer de rama y tronco en las áreas más productivas de aguacate cv. Hass en California, EE. UU (Eskalen *et al.*, 2010) y recientemente se ha asociado a *Diaporthe foeniculina* en cultivares Hass con cáncer de ramas en Grecia (Mathioudakis *et al.*, 2020). Morales-García *et al.* (2009) aislaron a *Phomopsis perseae*, *C. gloeosporioides* y *Pestalotiopsis versicolor* de lesiones de antracnosis, pero en los ensayos de patogenicidad solo *P. versicolor* generó lesiones similares a la antracnosis provocada por *C. gloeosporioides*. Finalmente, *E. nigrum* fue la especie más abundante encontrada en este trabajo, en frutos de ambas huertas (Tabla 1). Valle-Aguirre *et al.*, (2016) identificaron esporas de *Epicoccum* spp. en huertos de aguacate en Morelos, México; sin embargo, no hay reportes de especies de *Epicoccum* aisladas de lesiones de roña, siendo este el primero. *Epicoccum* spp. es un género inócuo de hongos endófitos (Taguam *et al.*, 2021) y no hay especies patógenas de aguacate reportadas hasta el momento. En este trabajo no fue aislado el agente causal del síntoma de roña en aguacate, *E. perseae*. Esto probablemente debido al crecimiento lento reportado para esta especie (Jenkins, 1934).

## CONCLUSIONES

Las lesiones de roña en los frutos de aguacate cv. Hass cultivados en Jalisco hospedan diversas especies de hongos que pueden afectar su calidad si no se aplica un adecuado tratamiento para su control, como es el caso de *C. gloeosporioides*, uno de los fitopatógenos más importantes que afectan el cultivo de aguacate. La secuenciación de la región ITS de los hongos y el alineamiento de secuencias mediante BLAST® son una herramienta confiable que junto con la caracterización morfológica permite la identificación de los hongos, al menos a nivel de género.

## BIBLIOGRAFÍA

1. A. Alcock, P. Elmer, R. Marsden, F. Parry, Inhibition of *Botrytis cinerea* by Epirodin: a secondary metabolite from New Zealand isolates of *Epicoccum nigrum*, *Journal of Phytopathology*, Vol. 163, 10, 2015, pp. 841-852.
2. A. C. Silva, E. Diogo, J. Henriques, A. P. Ramos, M. Sandoval-Denis, P. W. Crous, H. Bragança, *Pestalotiopsis pini* sp. nov., an Emerging Pathogen on Stone Pine (*Pinus pinea* L.). *Forests*, Vol. 11, 805, 2020.
3. A. Eskalen, V. McDonald, Geographical distribution of *Botryosphaeriaceae* and *Phomopsis/Diaporthe* canker pathogens of avocado in California, *California Avocado Society 2010 Yearbook*, Vol. 93, 2010, pp. 87-98.
4. A. E Jenkins, *Sphaceloma perseae* the cause of avocado scab, *Journal of agricultural research*, Vol. 49, 1934, pp. 859-869.
5. A.S. Chanderbali, D.E. Soltis, P.S. Soltis, B.N. Wolstenholme, 3: *Taxonomy and Botany, The Avocado: Botany, Production and Uses 2nd Edition*, 2013, pp. 31-50.
6. A. Tapia-Rodríguez, J. F. R. Dávila, M. L. S. Siclán, Á. C. Vildózola, F. I. M. Zamora, A. V. L. Díaz, Distribución espacial de antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz) en aguacate en el Estado de México, México. *Revista Argentina de Microbiología*, Vol. 52, 1, 2020 pp. 72-81.
7. B. S. Weir, P. R. Johnston, U. Damm. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. *Studies in mycology*, Vol. 73, 2012, pp. 115-180.
8. B. Hosseini, A. El-Hasan, T. Link, R. T. Voegelé, Analysis of the species spectrum of the *Diaporthe/Phomopsis* complex in European soybean seeds. *Mycological Progress*, Vol. 19, 5, 2020, pp. 455-469.

9. D. Fuentes-Aragón, H. V. Silva-Rojas, V. Guarnaccia, J. A. Mora-Aguilera, S. Aranda-Ocampo, N. Bautista-Martínez, D. Téliz-Ortiz, *Colletotrichum* species causing anthracnose on avocado fruit in Mexico: Current status. *Plant Pathology*, Vol. 69, 8, 2020, pp. 1513-1528.
10. E. S. Rodríguez-López, J. M. González-Prieto, N. Mayek-Pérez, La infección de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc. en aguacatero (*Persea americana* Mill.): Aspectos bioquímicos y genéticos, *Revista mexicana de fitopatología*, Vol. 27, 1, 2009, pp. 53-63.
11. G. Valle-Aguirre, M. G. Velázquez-del Valle, M. L. Corona-Rangel, E. Amora-Lazcano, A. N. Hernández-Lauzardo, First aeromycological study in an avocado agroecosystem in Mexico, *Aerobiologia*, Vol. 2, 2016, pp. 657-667.
12. H. L. Barnett, B. B. Hunter, *Illustrated genera of imperfect fungi*, Cuarta edición, 1972.
13. J. D. Taguam, E. Evallo, M. A. Balendres, *Epicoccum* species: ubiquitous plant pathogens and effective biological control agents, *European Journal of Plant Pathology*, Vol. 159, 4, 2021, pp. 713-725.
14. J. J. Doyle, J. L. Doyle, A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue, *Phytochemical Bulletin* Vol. 19, 1987, pp. 11-15.
15. J. L. Morales-García, H. S. A. Rivero, M. E. P Santos, Caracterización cultural, morfológica, patogénica e isoenzimática de aislamientos de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz., causante de la antracnosis del aguacate (*Persea americana* Mill.) en Michoacán, México. *Revista científica UDO agrícola*, Vol. 9, 4, 2009, pp. 848-856.
16. M. M. Mathioudakis, G. T. Tziros, N. Kavroulakis, First Report of *Diaporthe foeniculina* Associated with Branch Canker of Avocado in Greece, *Plant Disease*, Vol. 104, 11, 2020, p. 3057.
17. M. Y. Yoon, B. Cha, J. C. Kim, Recent trends in studies on botanical fungicides in agriculture, *The plant pathology journal*, Vol. 29,1, 2013, pp. 1-9.
18. S. Kumar, G. Stecher, M. Li, C. Knyaz, K. Tamura, MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, Vol. 35: 2018, pp. 1547-1549.
19. R. M. Pérez-Jiménez, Significant Avocado Diseases Caused by Fungi and Oomycetes. *The European Journal of Plant Science and Biotechnology*, Vol. 2, 1, 2008, pp. 1-24.
20. S. S. Maharachchikumbura, L. D. Guo, E. Chukeatirote, A. H. Bahkali, K. D. Hyde, *Pestalotiopsis*—morphology, phylogeny, biochemistry and diversity. *Fungal Diversity*, Vol. 50, 1, 2011, pp. 167-187.
21. T. J. White, T. Bruns, S. J. W. T. Lee, J. Taylor, Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics, *PCR protocols: a guide to methods and applications*, Vol. 18, 1, 1990, pp. 315-322.

## ESTUDIO DEL EFECTO DE RIZOBACTERIAS NATIVAS SOBRE EL DESARROLLO Y CONTENIDO DE TERPENOS EN LIPPIA GRAVEOLENS.

Ruben Antonio Olivares Terrones, Araceli Rodríguez Sahagún, Osvaldo Adrián Castellanos Hernández, Rayn Clarenc Aarland y Gustavo Javier Acevedo Hernández

Centro de Investigación en Biología Molecular Vegetal, Centro Universitario de la  
Ciénega–Universidad de Guadalajara  
ruben.olivares@alumnos.udg.mx

### RESUMEN

La rizósfera es la región donde ocurren múltiples interacciones entre las raíces y los microorganismos que se desarrollan en esta parte del suelo, estas interacciones pueden resultar patógenas, neutras o benéficas para el desarrollo de las plantas. Algunas bacterias son capaces de mejorar el crecimiento de las plantas mediante mecanismos como la fijación de nitrógeno, la solubilización de fosfatos y potasio o la producción de fitohormonas, entre otros. *Lippia graveolens* u orégano mexicano es una planta aromática que se usa como condimento y en la medicina tradicional, se explota como un recurso forestal no maderable a partir de poblaciones silvestres por lo que la tecnología y el conocimiento para su explotación son escasos y el uso de rizobacterias como biofertilizantes representan una oportunidad para aumentar los rendimientos en su explotación. Se usaron tres cepas de bacterias previamente aisladas de la rizósfera de plantas silvestres de *L. graveolens* (identificadas como L4, L5 y L23) para inocular plántulas de orégano en un diseño completo 2k (k=3) y 60 días después de la inoculación se evaluó el contenido de terpenos mediante extracción ácido-base con hexano y los parámetros de desarrollo: altura de la planta, número de hojas y largo y ancho de la hoja. Solo las inoculaciones simples con las cepas L23 y L5 tuvieron un efecto positivo en el contenido de terpenos y solo la inoculación con la cepa L23 tuvo un efecto de incremento en el número de hojas. Por su parte la co-inoculación entre las cepas L4 y L5 mostró una interacción antagonista ya que varios de los parámetros fisiológicos se vieron afectados en el tratamiento con estas dos cepas. Debido a que ningún tratamiento con inoculación combinada resultó en incremento alguno de los parámetros evaluados, no hay evidencias de que estas bacterias interactúen en forma de sinergia para mejorar el desarrollo de las plantas hospederas.

### INTRODUCCIÓN

Hay cada vez más información que apoya el paradigma que el desarrollo vegetal está íntimamente relacionado con el desarrollo y el estado de la microbiota asociada desde la germinación, durante el desarrollo y en los momentos de estrés. Estas relaciones han sido esenciales en la adaptación tanto de las bacterias como de las plantas, a nivel ecológico y evolutivo (Cordovez et al., 2019). Las bacterias capaces de promover el desarrollo vegetal se conocen como PGPR. La promoción del crecimiento se da por vías directas e indirectas. Las directas consisten en facilitarle los recursos de los que carece la planta, algunos de los ejemplos más importantes son la fijación de nitrógeno, de manera simbiótica en las leguminosas, o por bacterias de vida libre, o la solubilización de fosfatos mediante la exudación de ácidos orgánicos que disminuyen el pH del suelo, lo que aumenta la porción soluble del fósforo. Finalmente la producción de reguladores de crecimiento vegetal se considera una forma directa de promoción del crecimiento vegetal, y destaca la producción de ácido indolacético, que se estima que es producido por hasta el 80% de las bacterias aisladas del suelos y promueve mayor desarrollo tanto de la parte aérea como de la raíz de la planta. También la disminución de la concentración del etileno mediante la actividad de la enzima ACC desaminasa promueve un mejor desarrollo de las plantas ya que el etileno es una hormona que se produce en la planta normalmente en condiciones de estrés y su acumulación causa disminuciones en el crecimiento y desarrollo de los cultivos. Entre la gran variedad de mecanismos indirectos se encuentran la inducción de resistencia sistémica o el biocontrol de patógenos (Jeyanthi & Kanimozhi, 2018; Velasco-Jiménez et al., 2020).

El espacio donde ocurren estas interacciones se conoce como rizósfera, esta es una región rica en nutrientes en comparación con la parte de suelo que no está en contacto con las raíces, esto gracias

a los exudados de las raíces y de microorganismos, así como de los procesos de descomposición celular y los procesos de simbiosis (Broeckling et al., 2018). Esta región se ha dividido para su estudio en tres regiones: la ectorizosfera, el rizoplano y la endorizosfera en donde se encuentran una gran variedad de microorganismos como bacterias, hongos, oomicetos, algas, nematodos y virus (Müller et al., 2016).

Los exudados de las raíces constituyen la fuente de carbono más importante en ese ambiente y modifican las propiedades del suelo, incluyen una variedad de moléculas como ácidos orgánicos, flavonoides, ácidos grasos, y amino ácidos (Cesari et al., 2019). Estos exudados además de ser usados por el microbioma del suelo como fuente de carbono también constituyen una forma de respuesta de las plantas a las condiciones del medio como una expresión de su propia irritabilidad frente a los cambios del ambiente (de la Fuente Cantó et al., 2020; Vieira et al., 2020).

A su vez, la microbiota en la rizósfera también modifica la fisiología de sus plantas hospedadas, encontrando que propician el desarrollo vegetativo, incluyendo aumentos en la producción de metabolitos secundarios y en el rendimiento de aceite esencial de especies aromáticas, como el caso reportado por Cappellari et al. (2015, 2020) donde la inoculación con PGPR y su combinación con elicitores como el ácido salicílico y metil jasmonato mejoró el desarrollo y el rendimiento de aceites esenciales en *Mentha piperita*.

Las plantas medicinales son especies usadas tradicionalmente como tratamientos para distintas enfermedades y que aún son ampliamente utilizadas como medicinas alternativas a los tratamientos alopáticos tanto por la población en general como por los profesionales de la salud (Alonso-Castro et al., 2017). Si bien, se han identificado propiedades medicinales en prácticamente todos los grupos de metabolitos secundarios, los terpenos, y principalmente monoterpenos son el grupo más comúnmente identificado en las plantas medicinales de México (Sharma et al., 2017).

El orégano mexicano (*Lippia graveolens*) es una especie que se ha usado como especia y también como planta medicinal (Martínez-Natarén et al., 2014). Prácticamente todos los reportes que se pueden encontrar en la literatura coinciden en que los componentes principales de sus aceites esenciales son los monoterpenos timol y carvacrol, pero la relación entre estos y con otros compuestos varía ampliamente (Calvo-Irabién et al., 2014; Martínez-Natarén et al., 2014; Santamaría Acevedo et al., 2018). Estos compuestos son en gran medida los responsables de sus propiedades medicinales, esto se ha confirmado a través de varios estudios que han mostrado la capacidad de los aceites esenciales, de sus componentes timol y carvacrol aislados, u otros extractos del orégano contra algunas enfermedades como la diabetes (Pérez-Gutierrez, 2014) así como actividad antiinflamatoria (Amador et al., 2020), propiedades antimicrobianas (Hernández-Hernández et al., 2014, 2019), antifúngicas (Peschiutta et al., 2016), antivirales (Kubiça et al., 2015) y ansiolítica (González-Trujano et al., 2017).

Debido a estas propiedades, se han hecho varios esfuerzos con la intención de mejorar los rendimientos de aceites esenciales como la estimulación con diferentes longitudes de onda de luz (Bueno-Durán et al., 2014a), la aplicación de elicitores (Moreno-Rodríguez et al., 2019a) o la aplicación de agentes químicos mutagénicos (Muñoz-Miranda et al., 2019). Otras aproximaciones han buscado potenciar las características de interés de los aceites esenciales mediante el uso de la tecnología de la microencapsulación de sus componentes (Hernández-Hernández et al., 2014, 2017). En un trabajo previo de nuestro grupo se aislaron bacterias de la rizósfera de algunos ejemplares silvestres de *Lippia graveolens* y se identificaron aquellas que demuestran potencial para promover el crecimiento vegetal (Velasco Jiménez, 2019), para este trabajo se seleccionaron tres de las cepas que mostraron un mayor potencial para evaluar el efecto de la inoculación simple y combinada sobre el desarrollo y la fitoquímica de las plantas de orégano mexicano.



## PARTE EXPERIMENTAL

### Materiales biológicos

Las cepas de rizobacterias se seleccionaron del cepario del Centro de Investigación en Biología Molecular Vegetal del Centro Universitario de la Ciénega. se mantienen en cajas Petri con medio LB a 4°C con subcultivos cada 22-30 días. Se usaron semillas de *L. graveolens* de que se obtuvieron a partir de una colecta que se realizó en octubre de 2019 en la zona norte del estado de Jalisco.

### Germinación de las semillas

Se desinfectó un lote de semillas dándole un lavado con alcohol al 70% (v/v) durante un minuto seguido de un lavado con hipoclorito de sodio comercial al 50% (v/v) durante cinco minutos y finalmente tres enjuagues con agua destilada durante un minuto cada uno. Se colocaron cuatro semillas en cada maceta de unicef de 8 onzas de volumen con sustrato compuesto por 6 partes de turba sunshine, 3 partes de vermiculita y una parte de vermicomposta, el cual fue esterilizado en autoclave durante 25 minutos a 121°C y presión de 15psi. Se mantuvieron en una cámara de crecimiento con fotoperiodo de 16 horas luz y 8 de oscuridad y temperatura de 22±2°C aplicándoles riego con agua corriente estéril cada tercer día.

### Inoculación de las plantas

Una vez germinadas las plantas se inocularon siguiendo un diseño 2k con k=3 (tabla 1). Para preparar el inóculo se cultivaron las cepas en medio LB líquido durante 48h y se ajustaron a 0.75 OD600 con medio LB antes de hacer las combinaciones para generar los inóculos. Posteriormente se aplicó 1ml de la mezcla correspondiente al tratamiento alrededor de la base del tallo de la planta. Después de esto se mantuvieron las condiciones de cultivo de la misma manera.

Tabla 1: combinación de las cepas seleccionadas para formar los tratamientos que se usaron para inocular las plantas. - indica ausencia de la cepa en el tratamiento y + indica su presencia.

Tratamiento	L23	L5	L4
1	-	-	-
2	+	-	-
3	-	+	-
4	+	+	-
5	-	-	+
6	+	-	+
7	-	+	+
8	+	+	+

### Evaluación de los parámetros del desarrollo

60 días después de la inoculación se evaluaron el alto de la planta, el número de hojas por planta, el número de yemas activadas y el largo y ancho de hoja, así como el contenido de clorofila. Para medir el ancho y largo de la hoja se tomó en cuenta solamente la última hoja completamente desarrollada. Para determinar el contenido de clorofila se usó el medidor de clorofila SPAD 502plus (Konica Minolta) y para cada planta se consideró la media entre la absorbancia medida en las dos hojas del último nudo.

### Evaluación del contenido de terpenos

Se tomó una hoja del nudo más alto totalmente desarrollado de una planta de cada tratamiento y se realizó una extracción con hexano seguido de una extracción ácido-base con ácido clorhídrico e hidróxido de sodio 1N para recuperar en la fase acuosa alcalina los terpenos, luego se midió la absorbancia a 290nm con un espectrofotómetro de microvolumen Q500 (Quawell) para cuantificar el contenido de timol y carvacrol.

Todos los datos obtenidos se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de la diferencia mínima significativa (LSD) utilizando el software estadístico Statgraphics centurión.

## RESULTADOS

Después de 60 días de la inoculación se midieron todas las plantas y aunque había algunos individuos que sobresalían, la variación dentro de los tratamientos también fue bastante grande, por lo que solo se observó una diferencia significativa entre las cepas inoculadas con la cepa L23 (tratamiento 2) y el tratamiento coinoculado con las cepas L4 y L5 (tratamiento 7, figura 1a) pero ningún tratamiento tuvo un efecto significativo respecto al control (tratamiento 1).

Se midió el largo y ancho de una hoja del entrenudo totalmente desarrollado más alto de cada planta. En el ancho de la hoja no se observó ninguna diferencia significativa para ningún tratamiento y para el largo solo se observaron diferencias del tratamiento 7 que fue significativamente menor que los tratamientos 4 y 5 sin que ningún tratamiento mostrara diferencia significativa con el tratamiento control (información no mostrada). Por su parte, el número de hojas fue significativamente superior al resto de los tratamientos incluyendo el tratamiento control (figura 1b).

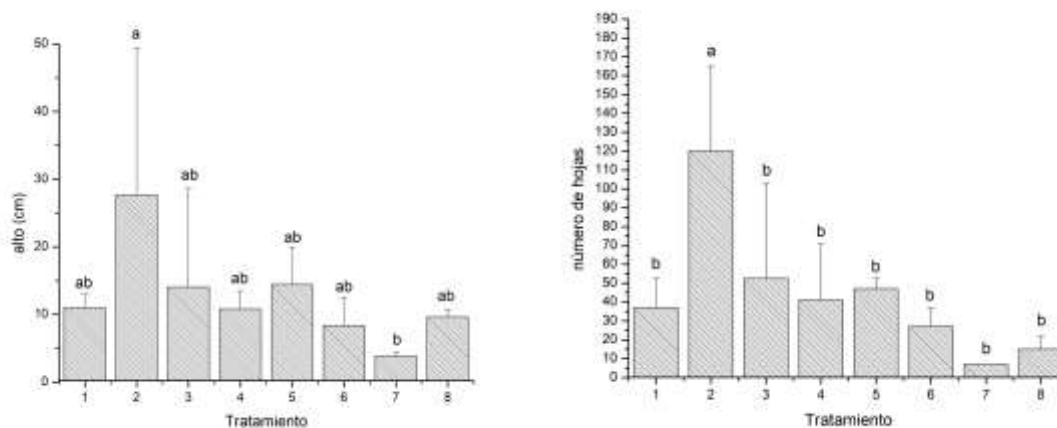


Figura 1: a) gráfica de medias para el alto de las plantas tratadas y b) gráfica de medias para el número de hojas. La presencia de la misma letra en un tratamiento significa que no hay diferencias estadísticamente significativas con  $p < 0.05$ .

Se ha reportado que el uso de algunas rizobacterias y otros biofertilizantes son capaces de mejorar el desarrollo de muchas especies vegetales en variables similares a las que se evaluaron en este trabajo, incluyendo algunas plantas aromáticas, como Cappellari et al. (2013) que encontraron que la inoculación con *Azospirillum brasilense* y *Pseudomonas fluorescens* aumentó el número de hojas y otros parámetros como el peso y longitud de las raíces. Incluso algunas especies de orégano mejoraron su desarrollo por la inoculación con microorganismos beneficios como el caso de *Origanum onites* que aumento varias veces su peso en seco por la inoculación con hongos micorrizicos arbusculares (Karagiannidis et al., 2011) y recientemente (Méndez-Mayboca et al., 2021) reportaron que la inoculación de semillas de *Lippia palmeri* con una cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* aumentó la tasa de germinación y la longitud de la radícula en condiciones de salinidad. En el caso de este trabajo, aunque solo se observó un aumento en el número de hojas hay que tener en cuenta que

estas son precisamente la parte de la planta que se aprovecha para su explotación (Huerta, 1997), por lo que esto se podría traducir en un aumento en los rendimientos de las explotaciones.

Para calcular el contenido de clorofila en  $\text{nmol}\cdot\text{cm}^{-2}$  nos basamos en el trabajo de (Markwell et al., 1995) quienes encontraron que el valor de la absorbancia que arroja el SPAD 502plus no se corresponde de manera lineal al contenido de clorofila de la hoja y desarrollaron una ecuación polinomial para calcular el valor del contenido de clorofila ( $r^2=0.96$ ). Con este valor no se observó una diferencia significativa de ninguno de los tratamientos inoculados con el control, de forma similar a lo que se encontró con la altura, las plantas del tratamiento 7 contuvieron menos clorofila con diferencias significativas con los tratamientos 2, inoculada únicamente con la cepa 23, y el tratamiento 8 inoculadas con las tres cepas (figura 2). Hay varios reportes del uso de microorganismos benéficos que incrementan el contenido de clorofila y otros pigmentos fotosintéticos en las hojas de distintas plantas (Anli et al., 2020; Sonbarse et al., 2020) aunque como reportaron Matse et al. (2020) a veces este efecto solo se puede apreciar en condiciones de estrés lo que podría explicar que en este caso no se hayan observado diferencias significativas con el control.

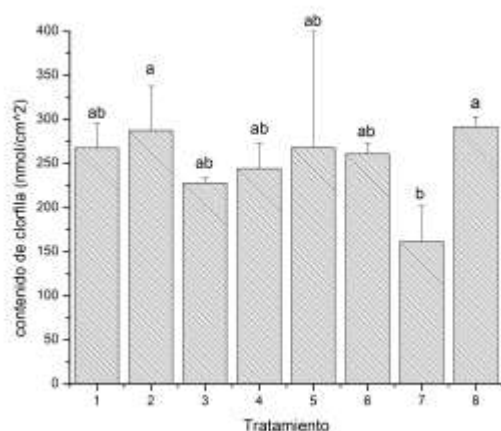


Figura 2: gráfica de medias del contenido de clorofila en la hojas de las plantas tratadas.

Se cuantificó el contenido de timol y carvacrol de los extractos de las hojas midiendo la absorbancia a 290 nm. Las hojas de los tratamientos 2 y 3, inoculadas de manera individual con las cepas L23 y L5, tuvieron varias veces más terpenos que el resto de los tratamientos (figura 3). Se sabe que la producción de los principales metabolitos en esta planta se ve afectado por el genotipo (Cazares Alonso et al., 2010; Martínez-Natarén et al., 2014b; Tezara et al., 2014), por condiciones del suelo y del ambiente (Calvo-Irabién et al., 2014; Martínez-Natarén et al., 2011, 2012; Tezara et al., 2014) e incluso se ve afectado por la longitud de onda de la luz (Bueno-Durán et al., 2014). Moreno-Rodríguez et al. (2019b) reportaron el incremento en el contenido de timol y carvacrol en el orégano mexicano con el uso de ácido jasmónico y ácido salicílico como elicitores. Hay reportes de que estos compuestos producidos de manera exógena por bacterias son capaces de estimular el contenido de terpenos en diferentes especies de plantas (Wang et al., 2015; Yang et al., 2019). Las bacterias usadas en este trabajo no han sido evaluadas para la producción de compuestos de este tipo, por lo que podríamos teorizar que estos mecanismos están relacionados con el aumento en el contenido de terpenos que se observó en este trabajo.

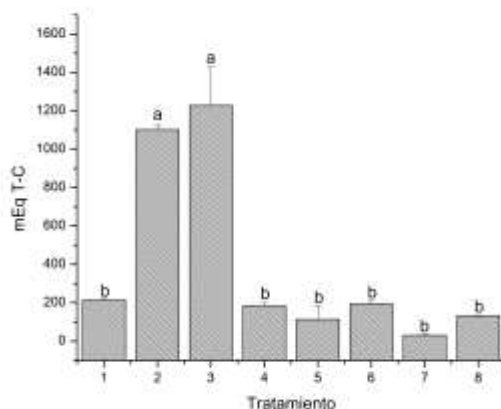


figura 3: gráfica de medias del contenido de terpenos en las plantas tratadas.

### CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos podemos afirmar que hay indicios de que la inoculación simple con cada una de las cepas evaluadas puede tener un efecto positivo sobre el desarrollo y producción de terpenos del orégano mexicano, pero es necesario obtener más datos para confirmarlo. Además, no hay evidencia de interacciones sinérgicas entre las bacterias estudiadas para mejorar el desarrollo de *L. graveolens*, más bien se observó un efecto negativo en varias de las variables para el tratamiento 7, lo que podría indicar una interacción antagonista entre las cepas L4 y L5. Por lo que de manera general podemos concluir que estas bacterias pueden tener un efecto positivo sobre el desarrollo y los rendimientos potenciales de producción de aceites esenciales del orégano mexicano pero es importante tener en cuenta las interacciones que pueden ocurrir para evitar efectos negativos al desarrollar biofertilizantes.

### BIBLIOGRAFÍA

- Alonso-Castro, A. J., Zapata-Morales, J. R., Ruiz-Padilla, A. J., Solorio-Alvarado, C. R., Rangel-Velázquez, J. E., Cruz-Jiménez, G., Orozco-Castellanos, L. M., Domínguez, F., Maldonado-Miranda, J. J., Carranza-Álvarez, C., Castillo-Pérez, L. J., Solano, E., Isiordia-Espinoza, M. A., del Carmen Juárez-Vázquez, M., Argueta-Fuertes, M. A., González-Sánchez, I., & Ortiz-Andrade, R. (2017). Use of medicinal plants by health professionals in Mexico. *Journal of Ethnopharmacology*, 198(October 2016), 81–86. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.12.038>
- Amador, S., Nieto-Camacho, A., Ramírez-Apan, M. T., Martínez, M., & Maldonado, E. (2020). Cytotoxic, anti-inflammatory, and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory effects of flavonoids from *Lippia graveolens* (Mexican oregano). *Medicinal Chemistry Research*, 29(8), 1497–1506. <https://doi.org/10.1007/s00044-020-02569-6>
- Anli, M., Baslam, M., Tahiri, A., Raklami, A., Symanczik, S., Boutasknit, A., Ait-El-Mokhtar, M., Ben-Laouane, R., Toubali, S., Ait Rahou, Y., Ait Chitt, M., Oufdou, K., Mitsui, T., Hafidi, M., & Meddich, A. (2020). Biofertilizers as Strategies to Improve Photosynthetic Apparatus, Growth, and Drought Stress Tolerance in the Date Palm. *Frontiers in Plant Science*, 11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.516818>
- Broeckling, C. D., Paschke, M. W., Vivanco, J. M., & Manter, D. (2018). Rhizosphere ecology. In *Encyclopedia of Ecology* (pp. 574–578). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.11132-7>
- Bueno-Durán, A. Y., Cervantes-Martínez, J., & Obledo-Vázquez, E. N. (2014). Composition of essential oil from *Lippia graveolens*. Relationship between spectral light quality and thymol and carvacrol content. *Journal of Essential Oil Research*, 26(3), 153–160. <https://doi.org/10.1080/10412905.2013.840808>

6. Calvo-Irabién, L. M., Parra-Tabla, V., Acosta-Arriola, V., Escalante-Erosa, F., Díaz-Vera, L., Dzib, G. R., & Peñ A-Rodríguez, L. M. (2014). Phytochemical Diversity of the Essential Oils of Mexican Oregano (*Lippia graveolens* Kunth) Populations along an Edapho-Climatic Gradient. *Chemistry & Biodiversity*, *11*, 1010–1021.
7. Cappellari, L. D. R., Santoro, M. V., Schmidt, A., Gershenzon, J., & Banchio, E. (2020). Improving phenolic total content and monoterpene in mentha x piperita by using salicylic acid or methyl jasmonate combined with rhizobacteria inoculation. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(1). <https://doi.org/10.3390/ijms21010050>
8. Cappellari, L. del R., Santoro, M. V., Nievas, F., Giordano, W., & Banchio, E. (2013). Increase of secondary metabolite content in marigold by inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria. *Applied Soil Ecology*, *70*, 16–22. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2013.04.001>
9. Cappellari, L. del R., Santoro, M. V., Reinoso, H., Travaglia, C., Giordano, W., & Banchio, E. (2015). Anatomical, Morphological, and Phytochemical Effects of Inoculation with Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Peppermint (*Mentha piperita*). *Journal of Chemical Ecology*, *41*(2), 149–158. <https://doi.org/10.1007/s10886-015-0549-y>
10. Cazares Alonso, P. N., Villavicencio Gutiérrez, E. E., Verde Star, J., Pecina Quintero, V., & Almeyda León, H. I. (2010). Caracterización molecular y producción de aceites esenciales de diferentes genotipos de orégano (*Lippia* sp.). Molecular description and essential oil production of *Lippia* sp. genotypes. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, *1*(1), 85–94.
11. Cesari, A., Paulucci, N., López-Gómez, M., Hidalgo-Castellanos, J., Plá, C. L., & Dardanelli, M. S. (2019). Restrictive water condition modifies the root exudates composition during peanut-PGPR interaction and conditions early events, reversing the negative effects on plant growth. *Plant Physiology and Biochemistry*, *142*, 519–527. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.08.015>
12. Cordovez, V., Dini-Andreote, F., Carrión, V. J., & Raaijmakers, J. M. (2019). *Ecology and Evolution of Plant Microbiomes*. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-090817>
13. de la Fuente Cantó, C., Simonin, M., King, E., Moulin, L., Bennett, M. J., Castrillo, G., & Laplace, L. (2020). An extended root phenotype: the rhizosphere, its formation and impacts on plant fitness. In *Plant Journal* (Vol. 103, Issue 3, pp. 951–964). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/tbj.14781>
14. González-Trujano, M. E., Hernández-Sánchez, L. Y., Ocotero, V. M., Dorazco-González, A., Fefer, P. G., & Aguirre-Hernández, E. (2017). Pharmacological evaluation of the anxiolytic-like effects of *Lippia graveolens* and bioactive compounds. *Pharmaceutical Biology*, *55*(1), 1569–1576. <https://doi.org/10.1080/13880209.2017.1310908>
15. Hernández-Hernández, E., Castillo-Hernández, G., González-Gutiérrez, C. J., Silva-Dávila, A. J., Gracida-Rodríguez, J. N., García-Almendárez, B. E., Di Pierro, P., Vázquez-Landaverde, P., & Regalado-González, C. (2019). Microbiological and physicochemical properties of meat coated with microencapsulated Mexican oregano (*Lippia graveolens* Kunth) and basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oils mixture. *Coatings*, *9*(7). <https://doi.org/10.3390/COATINGS9070414>
16. Hernández-Hernández, E., Lira-Moreno, C. Y., Guerrero-Legarreta, I., Wild-Padua, G., Di Pierro, P., García-Almendárez, B. E., & Regalado-González, C. (2017). Effect of Nanoemulsified and Microencapsulated Mexican Oregano (*Lippia graveolens* Kunth) Essential Oil Coatings on Quality of Fresh Pork Meat. *Journal of Food Science*, *82*(6), 1423–1432. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13728>
17. Hernández-Hernández, E., Regalado-González, C., Vázquez-Landaverde, P., Guerrero-Legarreta, I., & García-Almendárez, B. E. (2014). Microencapsulation, chemical characterization, and antimicrobial activity of Mexican (*Lippia graveolens* H.B.K.) and European (*Origanum vulgare* L.) oregano essential oils. *Scientific World Journal*, *2014*. <https://doi.org/10.1155/2014/641814>
18. Huerta, C. (1997). Orégano mexicano: Oro vegetal. *Biodiversitas*, *15*, 8–13.
19. Jeyanthi, V., & Kanimozhi, S. (2018). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR)-prospective and mechanisms: A review. In *Journal of Pure and Applied Microbiology* (Vol. 12, Issue 2, pp. 733–749). Journal of Pure and Applied Microbiology. <https://doi.org/10.22207/JPAM.12.2.34>

20. Karagiannidis, N., Thomidis, T., Lazari, D., Panou-Filothou, E., & Karagiannidou, C. (2011). Effect of three Greek arbuscular mycorrhizal fungi in improving the growth, nutrient concentration, and production of essential oils of oregano and mint plants. *Scientia Horticulturae*, 129(2), 329–334. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.03.043>
21. Kubiça, T. F., Alves, S. H., Weiblen, R., Henzel, A., Martins, M., & Lovato, L. T. (2015). Atividade in vitro de plantas condimentares (*Rosmarinus officinalis* L., *Lippia graveolens* HBK e *Thymus vulgaris* L.) contra o calicivirus felino. *Revista de Ciências Farmaceuticas Basica e Aplicada*, 36(1), 117–122.
22. Markwell, J., Osterman, J. C., & Mitchell, J. L. (1995). Calibration of the Minolta SPAD-502 leaf chlorophyll meter. *Photosynthesis Research*, 46(3), 467–472. <https://doi.org/10.1007/BF00032301>
23. Martínez-Natarén, D. A., Parra-Tabla, V., Dzib, G., Acosta-Arriola, V., Canul-Puc, K. A., & Calvo-Irabién, L. M. (2012). Essential oil yield variation within and among wild populations of mexican oregano (*lippia graveolens* h.b.k.-verbenaceae), and its relation to climatic and edaphic conditions. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 15(4), 589–601. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2012.10644093>
24. Martínez-Natarén, D. A., Parra-Tabla, V., Dzib, G., & Calvo-Irabién, L. M. (2011). Morphology and density of glandular trichomes in populations of Mexican oregano (*Lippia graveolens* H.B.K., Verbenaceae), and the relationship between trichome density and climate. *Journal of the Torrey Botanical Society*, 138(2), 134–144. <https://doi.org/10.3159/TORREY-D-10-00007.1>
25. Martínez-Natarén, D. A., Parra-Tabla, V., Ferrer-Ortega, M. M., & Calvo-Irabién, L. M. (2014). Genetic diversity and genetic structure in wild populations of Mexican oregano (*Lippia graveolens* H.B.K.) and its relationship with the chemical composition of the essential oil. *Plant Systematics and Evolution*, 300(3), 535–547. <https://doi.org/10.1007/s00606-013-0902-y>
26. Matse, D. T., Huang, C. H., Huang, Y. M., & Yen, M. Y. (2020). Effects of coinoculation of Rhizobium with plant growth promoting rhizobacteria on the nitrogen fixation and nutrient uptake of *Trifolium repens* in low phosphorus soil. *Journal of Plant Nutrition*, 43(5), 739–752. <https://doi.org/10.1080/01904167.2019.1702205>
27. Méndez-Mayboca, F. R., Plascencia-Jatomea, M., del Toro Sanchez, C. L., Wong-corrall, F. J., Borboa-Flores, J., Guerra, K., Murillo Amador, B., & Rueda-Puente, E. O. (2021). Halobacterias promotoras de crecimiento vegetal asociadas a *Lippia palmeri*(verbenaceae) en la zona árida del noroeste. *Acta Biológica Colombiana*, 26(6). <https://doi.org/10.15446/abc.v26n3.83820>
28. Moreno-Rodríguez, A., Santos-Castro, R., Vázquez-Medrano, J., Quintanar-Zúñiga, R. E., García-García, F. A., Hernández-Portilla, L. B., & Flores-Ortiz, C. M. (2019). Effect of jasmonic acid on major terpenes and density of glandular trichomes in *Lippia graveolens* kunth (Verbenaceae). *Natural Product Research*, 0(0), 1–5. <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1566721>
29. Müller, D. B., Vogel, C., Bai, Y., & Vorholt, J. A. (2016). The Plant Microbiota: Systems-Level Insights and Perspectives. In *Annual Review of Genetics* (Vol. 50, pp. 211–234). Annual Reviews Inc. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-120215-034952>
30. Muñoz-Miranda, L. A., Rodríguez-Sahagún, A., Acevedo Hernández, G. J., Cruz-Martínez, V. O., Torres-Morán, M. I., Lépez-Ildefonso, R., Aarland, R. C., & Castellanos-Hernández, O. A. (2019). Evaluation of Somaclonal and Ethyl Methane Sulfonate-Induced Genetic Variation of Mexican Oregano (*Lippia graveolens* H.B.K.). *Agronomy*, 9(4), 1–11. <https://doi.org/10.3390/agronomy9040166>
31. Pérez-Guterrez, R. (2014). Effect of Mexican Oregano ( *Lippia graveolens* Kunth ) on Streptozotocin Induced Diabetic Mice and its Role in Regulating Carbohydrate Metabolic Enzymes and Their inhibitory Effect on the Formation of Advanced Glycation end Products. *Annual Research & Review in Biology*, 4(23), 3470–3491.
32. Peschiutta, M. L., Arena, J. S., Ramirez Sanchez, A., Gomez Torres, E., Pizzolitto, R. P., Merlo, C., Zunino, M. P., Merlo, C., Zunino, M. P., Omarini, A. B., Dambolena, J. S., & Zygadlo, J. (2016). Effectiveness of Mexican oregano essential oil from the Dominican

- Republic (*Lippia graveolens*) against maize pests (*Sitophilus zeamais* and *Fusarium verticillioides*). *AgriScientia*, 33(2), 89–97. <https://doi.org/10.31047/1668.298x.v33.n2.16576>
33. Santamaría Acevedo, L., Prada Medina, C. A., Rondón Gonzales, F., Stashenko, E., Martínez Perez, F. J., Levy, M., Levy, M. M., & Fuentes, J. L. (2018). *Interspecific variation and genetic relationship among Colombian Lippia sp. based on small ribosomal subunit gene sequence analysis*. 24(1), 99–108. <https://doi.org/https://doi.org/10.1080/10496475.2017.1410509>
  34. Sharma, A., Flores-Vallejo, R. del C., Cardoso-Taketa, A., & Villarreal, M. L. (2017). Antibacterial activities of medicinal plants used in Mexican traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 208, 264–329. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.04.045>
  35. Sonbarse, P. P., Kiran, K., Sharma, P., & Parvatam, G. (2020). Biochemical and molecular insights of PGPR application for the augmentation of carotenoids, tocopherols, and folate in the foliage of *Moringa oleifera*. *Phytochemistry*, 179. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2020.112506>
  36. Tezara, W., Coronel, I., Herrera, A., Dzib, G., Canul-Puc, K., Calvo-Irabién, L. M., & González-Meler, M. (2014). Photosynthetic capacity and terpene production in populations of *Lippia graveolens* (Mexican oregano) growing wild and in a common garden in the Yucatán peninsula. *Industrial Crops and Products*, 57, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.03.012>
  37. Velasco Jiménez, A. (2019). *Aislamiento y caracterización de rizobacterias con potencial biotecnológico asociadas a plantas silvestres de orégano mexicano (lippia graveolens Kunth)*. Tesis de maestría. Universidad de Guadalajara.
  38. Velasco-Jiménez, A., Castellanos-Hernández, O., Acevedo-Hernández, G., Aarland, R. C., & Rodríguez-Sahagún, A. (2020). Rhizospheric bacteria with potential benefits in agriculture. *Terra Latinoamericana*, 38(2), 343–355. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i2.470>
  39. Vieira, S., Sikorski, J., Dietz, S., Herz, K., Schruppf, M., Bruelheide, H., Scheel, D., Friedrich, M. W., & Overmann, J. (2020). Drivers of the composition of active rhizosphere bacterial communities in temperate grasslands. *ISME Journal*, 14(2), 463–475. <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0543-4>
  40. Wang, X. M., Yang, B., Ren, C. G., Wang, H. W., Wang, J. Y., & Dai, C. C. (2015). Involvement of abscisic acid and salicylic acid in signal cascade regulating bacterial endophyte-induced volatile oil biosynthesis in plantlets of *Atractylodes lancea*. *Physiologia Plantarum*, 153(1), 30–42. <https://doi.org/10.1111/ppl.12236>
  41. Yang, H. R., Yuan, J., Liu, L. H., Zhang, W., Chen, F., & Dai, C. C. (2019). Endophytic *Pseudomonas fluorescens* induced sesquiterpenoid accumulation mediated by gibberellic acid and jasmonic acid in *Atractylodes macrocephala* Koidz plantlets. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 138(3), 445–457. <https://doi.org/10.1007/s11240-019-01640-4>

## VARIABILIDAD AMBIENTAL Y ABUNDANCIA DE LA ICTIOFAUNA DOMINANTE EN LA RESERVA DE LA BIOSFERA LOS PETENES, CAMPECHE

Iliana Lizeth Castillo Adame, Luis Amado Ayala Pérez, Brenda Iliana Vega Rodríguez

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. Departamento El Hombre y su Ambiente. Laboratorio de Ecología Aplicada. Calz. Del Hueso 1100, Col. Villaquietud, Coyoacan, CDMX.  
[ili.castle.15@gmail.com](mailto:ili.castle.15@gmail.com); [luayala@correo.xoc.uam.mx](mailto:luayala@correo.xoc.uam.mx); [bvega@correo.xoc.uam.mx](mailto:bvega@correo.xoc.uam.mx).

### RESUMEN

Las especies dominantes dentro de una comunidad son un componente esencial de los ecosistemas, ya que son las responsables de regular, transformar, intercambiar y almacenar la energía a través de complejas interacciones biológicas. Los peces constituyen la macrofauna acuática más abundante en la Reserva de la Biósfera Los Petenes en Campeche, por lo que resulta necesario generar información sobre su dinámica ecológica, logrando establecer las bases para desarrollar estrategias de conservación. El presente trabajo tuvo como objetivo analizar el contexto ambiental y la dinámica espacio-temporal de la abundancia de la ictiofauna dominante en la RBLP. Para el desarrollo de este proyecto se utilizó una base de datos generada en el marco del proyecto de investigación "Modelos de ecología y dinámica poblacional de peces en sistemas costeros tropicales" de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco. El trabajo de campo se realizó en 12 sitios de muestreo durante los meses de septiembre 2015, febrero, mayo y octubre 2016. Se realizaron registros de variables ambientales y recolecta de peces. Para identificar a las especies dominantes se utilizó el índice de importancia relativa. Se elaboraron mapas de interpolación con el método de Kriging para caracterizar tanto la variabilidad de los parámetros fisicoquímicos (temperatura, salinidad, oxígeno disuelto y pH), como la abundancia de la ictiofauna dominante con base en la biomasa ( $g/m^2$ ), densidad ( $ind/m^2$ ) y peso promedio ( $g/ind$ ). En septiembre se registraron los valores más altos de temperatura con  $32.9^{\circ}C$  y en febrero los más bajos con  $19.7^{\circ}C$ . La salinidad fue mayor en febrero 48.5, en contraste, septiembre obtuvo menor concentración con 26.8. El oxígeno disuelto osciló entre 7.1 (octubre) y 1.1 mg/l (febrero). Los valores de pH fueron de 9.9 a 7.6 en los meses de febrero y mayo, respectivamente. Se identificaron un total de 13 especies dominantes, agrupadas en 13 géneros, pertenecientes a 10 familias. En febrero se registró el valor más alto de biomasa ( $2.533 g/m^2$ ) y el más bajo en mayo con ( $0.012 g/m^2$ ). Respecto a la densidad, el intervalo osciló entre 0.172 y  $0.001 ind/m^2$  siendo el valor máximo correspondiente a febrero y el mínimo a septiembre, febrero y mayo respectivamente. Finalmente, el valor máximo de peso promedio se presentó en octubre con  $413.61 g/ind$  y el mínimo en febrero con  $11.44 g/ind$ . Existe una estrecha relación entre la variabilidad ambiental y la temporalidad climática de la región, así como las condiciones de hábitat por la presencia de manglar de borde y de las praderas de vegetación sumergida. Así mismo, la correlación entre las variables ambientales y los cambios espaciales y temporales de la abundancia de las especies de peces dominantes, lo cual constituye un soporte para la toma de decisiones en aspectos de conservación.

### INTRODUCCIÓN

La Reserva de la Biosfera Los Petenes (RBLP), ubicada en el estado de Campeche, se decretó en 1999, y se establecen importantes ecosistemas como son los petenes, hábitats complejos de islas de vegetación variada que se encuentran en la Península de Yucatán, en Cuba y en la Península de Florida. Por ello, la región es considerada como un área biogeográfica única en nuestro país con altos índices de conservación (CONANP, 2006).

Algunas de las especies de peces que podemos encontrar en la RBLP tienen gran valor económico, además, ofrecen diversos servicios al ecosistema, como: regular la dinámica de redes tróficas, reciclar nutrientes, redistribuir sedimentos, regular flujos de carbono entre el agua y atmósfera, enlazar diferentes ecosistemas acuáticos, vincular ecosistemas acuáticos y terrestres, transportar nutrientes (carbono y minerales), así como transformar energía y actuar como memoria ecológica. Por otro lado, la macrofauna acuática más abundante y diversa en la zona costero-marina de la RBLP la constituyen los peces que contribuyen en gran medida a mantener el flujo de energía del



ecosistema. La distribución de estas especies en la RBLP se encuentra condicionada por la variabilidad ambiental que se presenta en espacio y tiempo, dado a esto también se pueden explicar los cambios en la estructura de la comunidad debido a procesos migratorios, con fines reproductivos o de reclutamiento (Rosas-Valdez *et al.*, 2017; Muñoz-Rojas *et al.*, 2013).

Los estudios sobre la variabilidad ambiental y abundancia de la ictiofauna en la zona son escasos. Algunos de los trabajos que abordan esta temática en la RBLP, son Ayala-Pérez *et al.*, (2014), Muñoz-Rojas *et al.*, (2013), Rosas-Valdez *et al.*, (2019), Ayala-Pérez *et al.*, (2019). Con la finalidad de establecer las bases para futuras acciones de conservación, este trabajo tiene como objetivo analizar el contexto ambiental y la dinámica espacio-temporal de la abundancia de la ictiofauna dominante en la RBLP.

### MATERIALES Y MÉTODOS

La Reserva de la Biosfera Los Petenes se localiza en la franja costera del noroeste del estado de Campeche, en el suroeste del Golfo de México (20° y 21° N y 90° 20' y 90° 30' W; altitud 0-0.4 m). Es una de las 44 Reservas de la Biósfera con las que cuenta México y una de las 25 Áreas Naturales Protegidas que se han establecido dentro de la Península de Yucatán. Tiene una superficie de 282 857 ha y se distribuye entre los municipios de Calkini, Hecelchakan, Tenabo (Terán-González, 2013).

Para el desarrollo de este proyecto se utilizó una base de datos generada en el marco del proyecto de investigación "Modelos de ecología y dinámica poblacional de peces en sistemas costeros tropicales" aprobado por el Consejo Divisional de Ciencias Biológicas y de la Salud. Los registros de los parámetros fisicoquímicos y las recolectas de ictiofauna se realizaron en septiembre del 2015; así como en febrero, mayo y octubre del 2016 en 12 sitios de muestreo (Figura 1) (Rosas-Valdez, 2017).

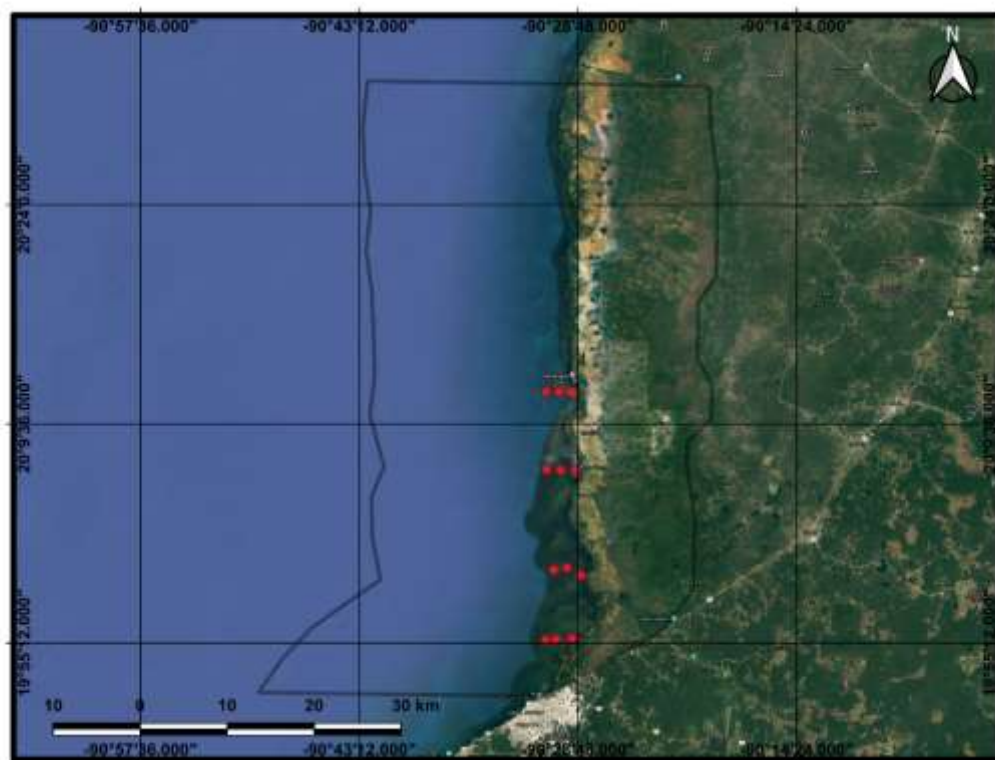


Figura 1. Mapa de distribución de los sitios de muestreo en la Reserva de la Biosfera Los Petenes.

Para analizar el comportamiento espacio-temporal de la temperatura, la salinidad, el oxígeno disuelto y el pH, se realizaron mapas de interpolación, por cada mes de estudio en el programa Surfer 11.

Se determinaron las especies dominantes por mes de estudio, para ello se utilizó el índice de importancia relativa, modificado por (Koranteng, 2001), quien considera la abundancia numérica y en peso, además de la frecuencia de aparición.

$$IIR = (\% W) (\% N) (\% F)$$

Donde: % W = porcentaje de la contribución en peso de la especie a la captura total; % N = porcentaje de la contribución en número de la especie a la captura total; % F = porcentaje del número de estaciones en las que se presenta la especie en relación con el número total de estaciones muestreadas. Las especies con valores  $IIR \geq 20$  se consideran, especies dominantes; valores entre 20 y 1 se consideran de importancia media y valores menores de 1 se consideran de baja importancia.

Una vez obtenidas las especies dominantes, se realizaron mapas de interpolación con el fin de representar la abundancia de estas en términos de biomasa ( $g/m^2$ ), densidad ( $ind/m^2$ ) y peso promedio ( $g/ind$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En septiembre se presentaron los valores más altos de temperatura con  $32.9^{\circ}C$  y los más bajos en febrero 2016 con  $19.7^{\circ}C$  (Figura 2). La concentración de salinidad más alta se presentó en mayo con 48.5, mientras que en el septiembre se presentó la mínima de 26.8 (Figura 3). El oxígeno disuelto osciló entre 7.1 y 1.1 mg/l, el valor máximo se registró en octubre y en febrero el valor mínimo (Figura 4). En cuanto al pH se registró un valor de 9.9 como máximo en septiembre, y como mínimo de 7.61 en mayo (Figura 5). La variabilidad ambiental de la RBLP está condicionada principalmente por la temporalidad climática, el sistema de corrientes, la precipitación, los aportes fluviales, etc.

En cuanto a la temperatura, en febrero podemos notar un descenso considerable respecto a datos obtenidos por otros autores, como; Ayala-Pérez *et al.*, (2014) quienes reportan una temperatura mínima de  $25.5^{\circ}C$ . Por otro lado, Toro-Ramírez *et al* (2017) reportan una temperatura similar con  $25.9^{\circ}C$ , esta disminución tan marcada se atribuye al frente frío estacionario registrado en febrero 2016.

Los valores de salinidad son un reflejo de las variaciones temporales en la RBLP. En los meses de septiembre y octubre se puede notar esta variación dado por el aporte de agua continental. En contraste con el mes de febrero y mayo donde los valores registrados son un reflejo del dominio de las condiciones marinas.

En febrero se presentan los valores más altos de oxígeno disuelto, la concentración de este tiende a aumentar al presentarse fuertes vientos y movimientos de agua. También pueden presentarse cambios de solubilidad debido a la influencia de la temperatura y la salinidad, así como por procesos biológicos como la productividad primaria y la oxidación de la materia orgánica, y procesos químicos como el intercambio gaseoso con la atmósfera (Muñoz-Rojas *et al.*, 2013).

La disminución en el pH se relaciona con los cambios en la temperatura, cuando esta disminuye el pH tiene también a disminuir. En nuestros datos resulta extraño que posterior al frente frío la concentración sea aún menor. Este comportamiento se asocia a la acidificación del océano, es decir, esta disminución corresponde con la absorción de las emisiones de  $CO_2$  (Rosas-Valdez *et al.*, 2017).

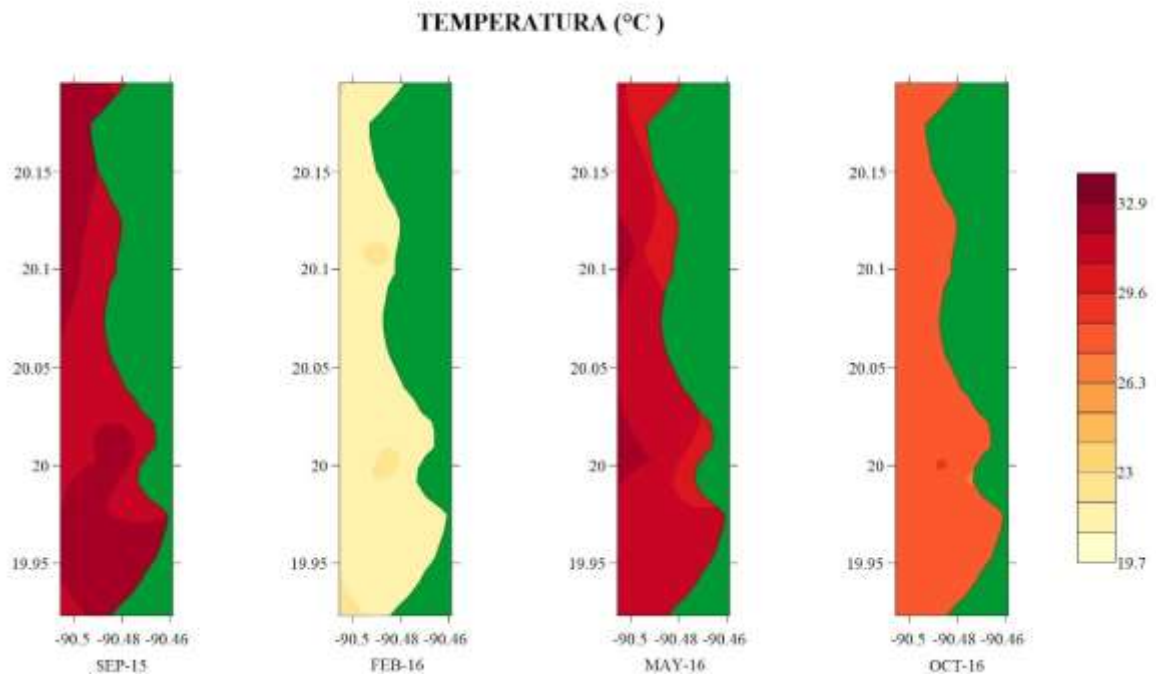


Figura 2. Variación espacio-temporal de la temperatura en la Reserva de la Biosfera Los Petenes.

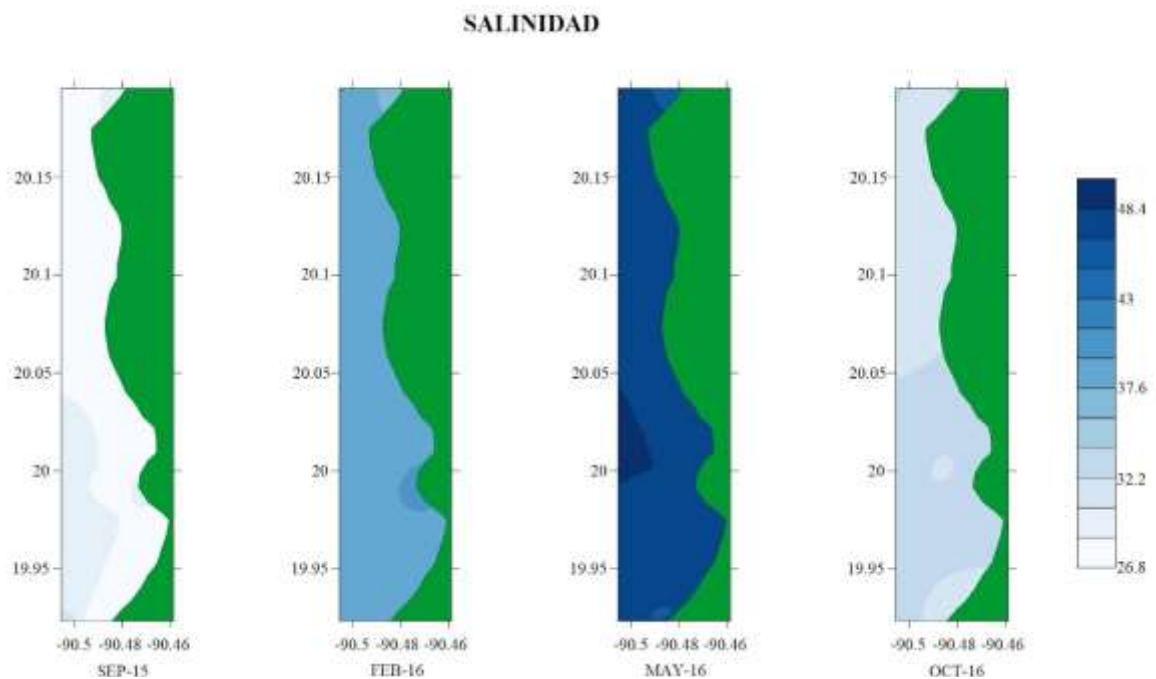


Figura 3. Variación espacio-temporal de salinidad en la Reserva de la Biosfera Los Petenes.

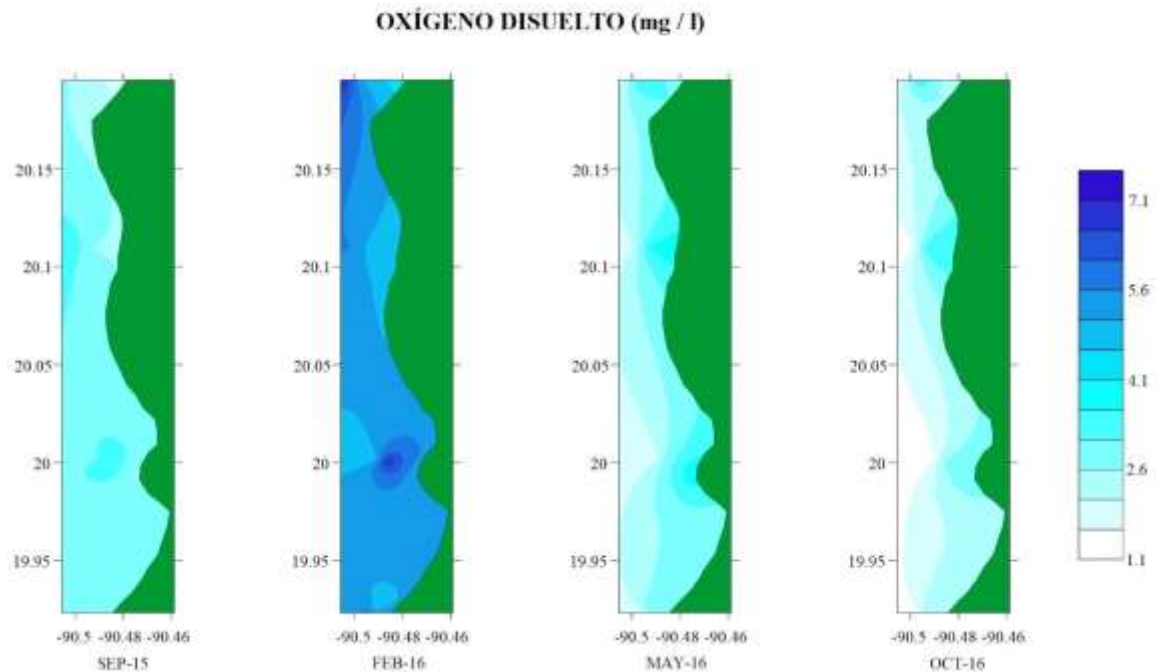


Figura 4. Variación espacio-temporal de oxígeno disuelto en la Reserva de la Biosfera Los Petenes.

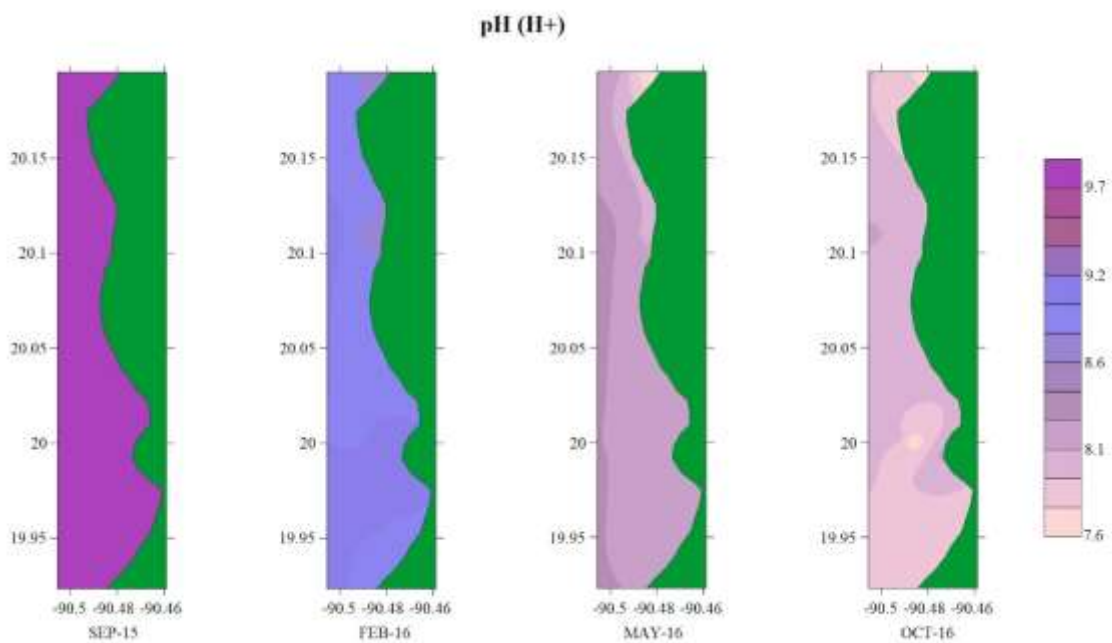


Figura 5. Variación espacio-temporal de pH en la Reserva de la Biosfera Los Petenes.

De acuerdo con el índice de importancia relativa (IIR), se identifican un total de 13 especies dominantes, agrupadas en 13 géneros, pertenecientes a 10 familias. Estas especies representan el 94.25 % del número total de individuos y 93.37% del peso de la captura total.

Especies	Código alfa	%N	%Peso	%Frecuencia	IIR
<i>Lagodon rhomboides</i>	LARH	27.53	24.40	78.26	52577.14
<i>Haemulon plumierii</i>	HAPL	22.86	24.60	82.61	46446.81
<i>Eucinostomus gula</i>	EUGU	14.52	5.09	76.09	5620.63
<i>Archosargus rhomboidalis</i>	ARRH	9.87	9.38	56.52	5232.03
<i>Orthopristis chrysoptera</i>	ORCH	6.55	6.74	52.17	2304.10
<i>Lutjanus synagris</i>	LUSY	3.69	3.64	65.22	876.72
<i>Nicholsina usta</i>	NIUS	2.77	4.13	50.00	572.44
<i>Acanthostracion quadricornis</i>	ACQU	1.13	3.80	47.83	204.38
<i>Opsanus beta</i>	OPBE	1.07	3.37	34.78	125.31
<i>Calamus penna</i>	CAPE	1.21	1.13	43.48	59.32
<i>Stephanolepis hispidus</i>	STHI	1.10	1.18	39.13	50.55
<i>Synodus foetens</i>	SYFO	0.63	2.49	30.43	48.13
<i>Sphoeroides nephelus</i>	SPNE	0.69	0.94	34.78	22.54

Tabla 1. Especies de peces dominantes en la RBLP de acuerdo con el índice de importancia relativa (IIR).

En la figura 6, 7 y 8 se observan los patrones de variación mensual de la biomasa ( $\text{g/m}^2$ ), densidad ( $\text{ind/m}^2$ ) y peso promedio ( $\text{g/ind}$ ), respectivamente. La biomasa registró su valor más alto  $2.533 \text{ g/m}^2$  en febrero y el más bajo  $0.012 \text{ g/m}^2$  en mayo (Figura 6). Respecto a la densidad, el intervalo osciló entre  $0.172$  en febrero y  $0.001 \text{ ind/m}^2$  en septiembre, febrero y mayo respectivamente (Figura 7). Finalmente, el valor máximo de peso promedio se presentó en octubre con  $413.61 \text{ g/ind}$  y el mínimo en septiembre con  $11.44 \text{ g/ind}$  (Figura 8).

La abundancia de la ictiofauna en la RBLP se ve influenciada principalmente por las condiciones ambientales de la región, los giros de mesoescala, así como la presencia de estructuras artificiales dedicadas a la extracción del petróleo que se han establecido. Es importante mencionar que la abundancia espacial se asocia directamente a la distribución de los parches de vegetación sumergida (especies de pastos marinos *Thalassia testudinum* y otras macroalgas), estos tipos de hábitats son funcionales para múltiples especies de peces ya que además de abrigo ofrecen alimento (Muñoz-Rojas *et al.*, 2013).

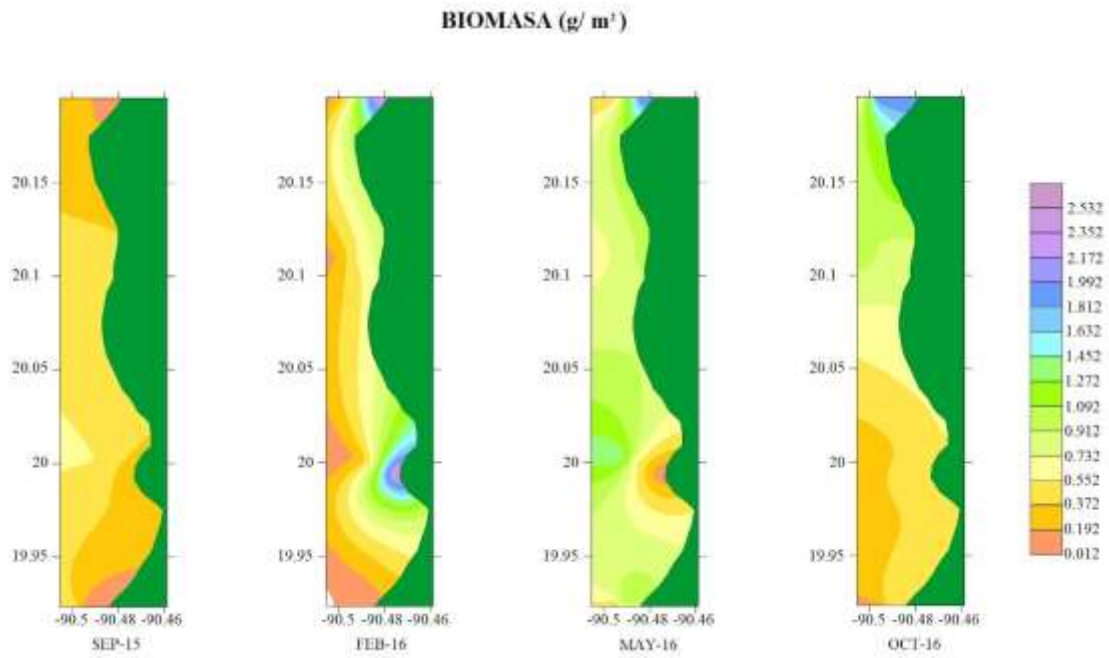


Figura 6. Abundancia de las especies dominantes en términos de biomasa en la Reserva de la Biosfera Los Petenes.

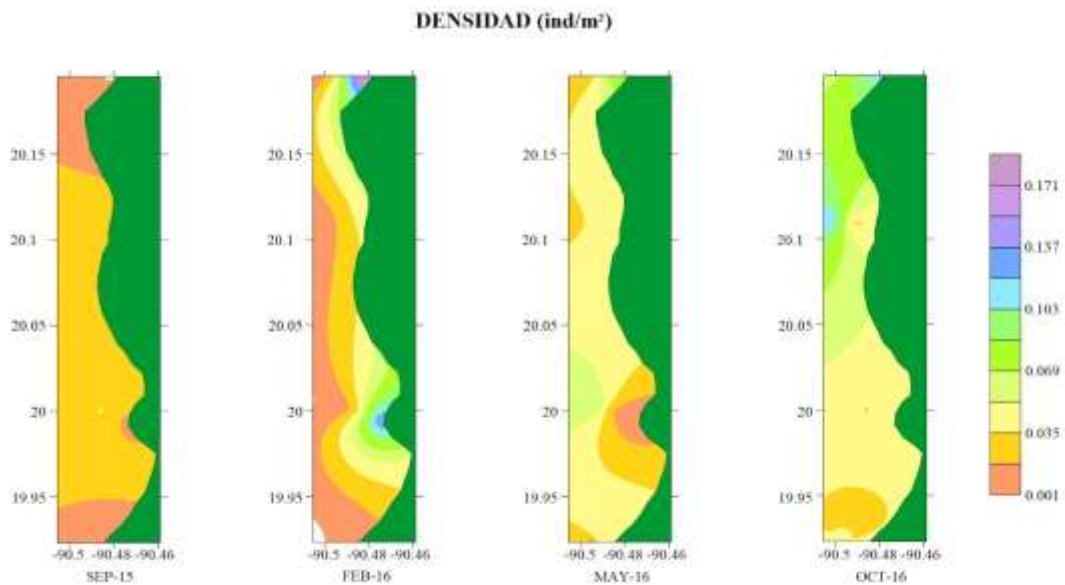


Figura 7. Abundancia de las especies dominantes en términos de densidad en la Reserva de la Biosfera Los Petenes.

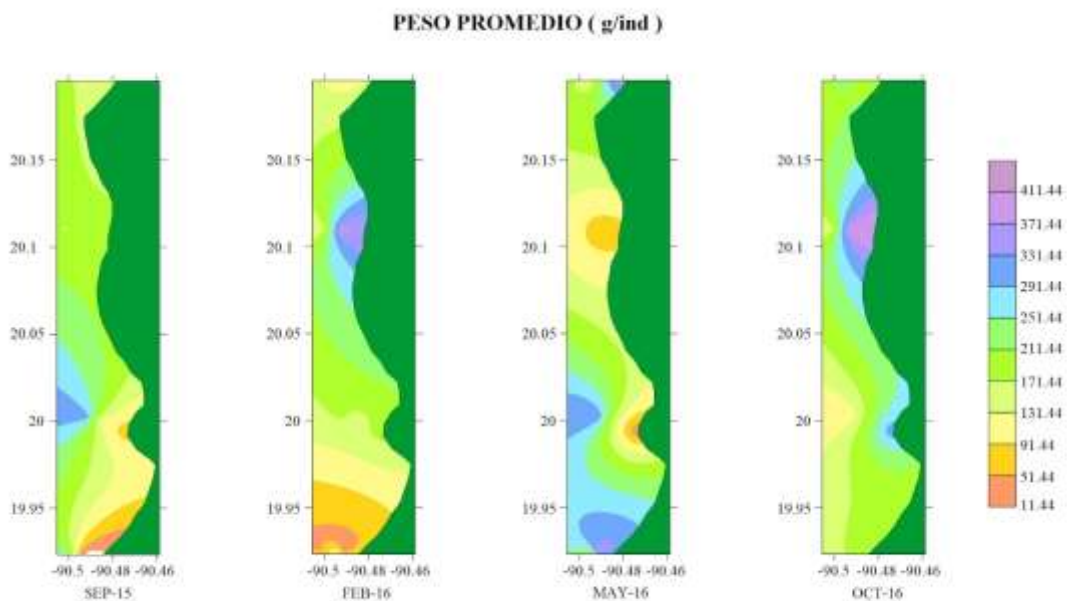


Figura 8. Abundancia de las especies dominantes en términos de peso promedio en la Reserva de la Biosfera Los Petenes.

## CONCLUSIONES

La RBLP es un área protegida muy bien conservada que incluye componentes estructurales estrechamente vinculados como lo son los pastos marinos, el manglar de borde y la diversa comunidad de peces. La variabilidad ambiental en la RBLP está condicionada por la temporalidad climática en una región tropical, el régimen de marea con una muy extensa plataforma continental, la aportación de agua continental a través de ríos subterráneos que forman ojos de agua en la porción costero litoral. Para la región se han descrito dos temporadas climáticas (Secas y Lluvias), sin embargo, los efectos ambientales de los frentes fríos en la época de secas son evidentes, tal y como se registró en los resultados de este trabajo.

La comunidad de peces en la RBLP es diversa y abundante que hace uso de los múltiples hábitats para el desarrollo de todo o parte de sus ciclos de vida. Se reconocen especies residentes, así como visitantes cíclicos y ocasionales con movimientos migratorios tanto de pequeña escala como de gran escala. También se identifican recursos pesqueros de importancia actual y potencial. Igual que en otros estudios, se destaca un acoplamiento temporal y espacial entre la abundancia de la comunidad de peces y la variabilidad ambiental, sin embargo, es evidente la necesidad de incrementar los esfuerzos de monitoreo para contar con resultados concluyentes.

## BIBLIOGRAFÍA

1. L.A. Ayala, LA, B. I Vega y E.Y. Rodríguez, "Asociaciones específicas de la comunidad de peces en ciclos nictemerales en El Cuyo, Reserva de la Biosfera Los Petenes, Campeche", Tópicos de agenda para la sostenibilidad de costas y mares mexicanos. Universidad Autónoma de Campeche. Red RICOMAR, 2019, pp. 143-160.
2. L.A Ayala, V. Vasco y Sosa L. "Evaluación de las asociaciones de peces dominantes influenciados por el ciclo nictemeral y la variación temporal en la Reserva de la Biosfera de los Petenes, Campeche, México", CienciaUAT., Vol. 9,1, 2014, pp. 3343.

3. CONANP, "Programa de conservación y manejo Reserva de la Biósfera Los Petenes", Dirección General de Manejo para la Conservación, Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas, 2006, pp.203.
4. K.A. Koranteng, "Structure and dynamics of demersal assemblage on the continental shelf and upper slope off Ghana, West Africa", *Marine Environmental Research.*, Vol. 220, 2001, pp. 1-12.
5. S. Muñoz, L.A. Ayala, A. Sosa y G.J. Villalobos. "Distribución y abundancia de la comunidad de peces en la porción litoral de la Reserva de la Biósfera Los Petenes, Campeche, México", *Revista de Biología Tropical.*, Vol. 61, 1, 2013, pp. 213-227.
6. A.M. Rosas, L.A. Ayala, M. G. Figueroa e I.E. Roldán, "Pastos Marinos y Recursos Pesqueros en la Reserva de la Biósfera los Petenes, Campeche", *Tópicos de agenda para la sostenibilidad de costas y mares mexicanos. Universidad Autónoma de Campeche, Red RICOMAR*, 2019, pp.101-1116.
7. G. J. Terán, L.A. Ayala, E. Reyes y B.I. Vega, "Recursos pesqueros de la Reserva de la Biosfera Los Petenes Campeche: Un modelo de simulación", *Revista E-BIOS.*, Vol. 6,4, 2016, pp. 74-94.
8. Toro, A. Sosa, L.A. Ayala, D. Pech, D. Hinojosa, R. Del Río. "Abundancia y diversidad de la ictiofauna en la Reserva de la Biosfera Los Petenes, Campeche México: Asociaciones con los ciclos nictemerales y épocas climáticas", *Latin American Journal of Aquatic Research.*, Vol. 45, 2, 2017, pp. 311-321.



## ESTUDIO BIBLIOMÉTRICO DE LA CALIDAD DEL TOMATE ORGÁNICO Y LA PERCEPCIÓN DEL CONSUMIDOR EN UNA REGIÓN LIDER DE PRODUCCIÓN DE TOMATE EN MEXICO

Laura Gabriela Espinosa Alonso<sup>1\*</sup>, Dévora Mariel Miranda Valenzuela<sup>2</sup>, Sergio Medina Godoy<sup>1</sup>, Maribel Valdez Morales<sup>3</sup>, María Myrna Soliz Oba<sup>4</sup>, Rigoberto Castro Herrera<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Instituto Politécnico Nacional, CIIDIR Sinaloa, <sup>2</sup> Universidad Autónoma de Occidente, Lic. en Nutrición Unidad Guamúchil, <sup>3</sup>Conacyt Instituto Politécnico Nacional, CIIDIR Unidad Sinaloa,

<sup>4</sup>Instituto Politécnico Nacional, CIBA Tlaxcala.

[\\*lespinosaa@ipn.mx](mailto:lespinosaa@ipn.mx)

### RESUMEN

El tomate o jitomate (*Solanum Lycopersicum*), es la principal hortaliza producida mundialmente, segunda en México y cuarto producto de exportación (25.4% del total de las exportaciones), con valor comercial de 1,980 mdd. El Noroeste de Sinaloa es líder nacional produciendo 24.9% a través de una agricultura intensiva. El consumo *per cápita* del tomate alcanza 13.8 kg, aportando a la dieta un alto valor nutrimental y nutracéutico. Existe una tendencia global por adquirir alimentos saludables, producidos en un esquema de agricultura sustentable que promueva alternativas de producción que mejoren el equilibrio ecológico, siendo amigables con el medio ambiente. El objetivo de este estudio exploratorio es, por una parte, conocer cuánta información científica del tema de calidad del tomate orgánico se ha generado y publicado desde 2000 a la fecha, a partir de un informe bibliométrico realizado a través de las plataformas Web of Science y Scopus. Y por otra parte, conocer cuál es la percepción que tiene el consumidor por el tomate orgánico, a través de una encuesta (Google Forms), difundida por redes sociales (WhatsApp, Facebook e Instagram), acotada a la región Noroeste de Sinaloa. Los resultados bibliométricos arrojaron hasta 137 publicaciones primarias con los términos (TITLE (organic AND tomato)) AND quality AND fruit, correspondientes a las áreas de horticultura y agricultura-alimentos (56%), tecnología y ciencias de los alimentos (19%), ciencias de las plantas y biotecnología (12%), ciencias ambientales (7%), entre otras (7%). Las publicaciones se incrementaron 2.8 veces del 2011 a la fecha comparado con el periodo 2000 a 2010; México ocupa el cuarto lugar en publicaciones (10.23%) < Turquía (12.50%) < Brasil (12.50%) < Estados Unidos (19.3%). Respecto a la percepción sobre el tomate orgánico (156 encuestas válidas, proveniente de 8 municipios de Sinaloa, 76.3% mujeres entre 20 y 29 años). Los atributos sensoriales más importantes que definen su calidad son el color y la firmeza, 88.5% conoce su relación positiva con la salud y 66% su naturaleza antioxidante. Por otra parte, 67% prefiere elegir un producto libre de agroquímicos y aunque 77% conoce la existencia de tomate orgánico, 38% desconoce los beneficios del tomate orgánico, alrededor del 50% no lo ha consumido pero considera que vale la pena gastar en ellos, aunque desconoce si son más caros o dónde conseguirlos, así como si las propiedades de textura y sabor son mejores que el tomate convencional; sin embargo, 65% considera que son más saludables y 75% asocian que su producción es amigable con el medio ambiente, por lo que el 50% cambiaría su consumo por un tomate orgánico, ya que alrededor del 90% le importa la reducción de la combinación ambiental y los efectos nocivos a la salud, además consideran importante mejorar la calidad nutritiva del fruto sin utilizar productos químicos o sintéticos. El estudio bibliométrico muestra un vacío de estudios que demuestren distintos aspectos de la calidad del tomate orgánico, pero más aún, su divulgación para que permee a la sociedad y pueda estar más informada y tomar mejores decisiones respecto a sus preferencias de consumo.

### INTRODUCCIÓN

El tomate es la segunda hortaliza producida y consumida en México, por lo que su selección y compra se vuelven una actividad cotidiana en la que las propiedades organolépticas juegan un papel importante en su selección; sin embargo, es posible que no toda la población que lo consume conozca sus componentes bioactivos y los beneficios en la salud debido a su consumo. Por otra parte, la práctica de la agricultura orgánica, es una actividad que ha ido incrementándose durante los últimos años a nivel mundial y en nuestro país, y que lo posiciona como uno de los productores de alimentos orgánicos más importantes a nivel mundial; sin embargo, el 85% de su producción se exporta, limitando su disponibilidad en el mercado nacional, además de otros factores, entre ellos el

precio, que lo hace poco accesible para la gran mayoría de la población, y que probablemente, nunca lo hayan consumido, lo que da como resultado poco conocimiento sobre las propiedades sensoriales y organolépticas del tomate orgánico. La investigación en México sobre la producción orgánica de tomate ha avanzado debido al creciente interés económico y de sostenibilidad que se tiene sobre el tomate orgánico, por lo que fue del interés de este trabajo hacer una búsqueda bibliográfica sobre publicaciones indexadas en dos plataformas de gestión de bibliografía internacionales, con el fin de conocer cuánta información científica se está generando y de alguna manera permeando a la sociedad mexicana por lo que además se realizó una encuesta sobre la percepción del tomate orgánico, con la intención de evaluar el conocimiento que se tiene sobre este tema, en una región líder de producción de tomate, debido a las implicaciones económicas, sociales, de salud y medioambientales que tiene el cultivo de tomate orgánico.

## TEORÍA

Producción, consumo e importancia del tomate. El tomate o jitomate (*Solanum Lycopersicum*) es la principal hortaliza producida a nivel mundial y segunda en México. En el mundo se produjeron 180,766,329 ton de las cuales México aportó 3,441,639 toneladas, convirtiéndose en el 9no productor mundial, que exporta a distintos países como EU, Canadá, Japón, Costa Rica, Cuba, Emiratos Árabes Unidos y Francia; dicho cultivo tiene una participación nacional del 21.9% en la producción de hortalizas (FAOSTAT, 2019; SIAP 2020). El tomate se consume fresco y procesado, principalmente como pasta de tomate, que constituye la base de salsas, cátsup y jugo, cuyo consumo *per cápita* nacional alcanza los 13.8 kg. Es un importante ingrediente en la gastronomía mexicana que además de su valor nutricional brinda un potencial nutracéutico debido a sus constituyentes, tales como minerales, ácidos orgánicos y antioxidantes, entre ellos vitamina C y D, además de licopeno, beta-caroteno y compuestos fenólicos, entre ellos ácido cumárico y naringenina, que son los más abundantes, unidos a la cutícula (Bernard, et al., 2015). Destacando además por su actividad antioxidante, antimutagénica y citotóxica (Ferrres et al., 2010; Valdez-Morales, et al., 2014).

Agricultura orgánica. La agricultura orgánica es un sistema integral de gestión de la producción que además mejora la biodiversidad, los ciclos biológicos y la actividad biológica que mantiene y mejora la salud de los suelos, los ecosistemas y las personas (Codex Alimentarius, 2007). Se basa fundamentalmente en los procesos ecológicos, la biodiversidad y los ciclos adaptados a las condiciones locales, sin usar insumos que tengan efectos adversos; combina además tradición, innovación y ciencia para favorecer el medio ambiente y la sostenibilidad y promueve relaciones justas y una buena calidad de vida para todos los que participan en ella. Puede ser además, una ruta para dar frente a otros retos como la malnutrición, el hambre, la pobreza, el cambio climático, el uso del agua, así como la producción y consumo insostenibles (IFOAM, 2008).

La manera intensiva en la que actualmente son producidos los alimentos ha causado efectos negativos, por ejemplo, se ha reducido a 23% la productividad de la superficie global cultivable por efecto de la degradación del suelo. Así como la pérdida de la diversidad, resultado del 80% de la deforestación a nivel mundial, limitando además las especies cultivadas para la alimentación, donde el 66% de la producción de cultivos se concentra en tan sólo nueve especies. El sistema alimentario genera por arriba del 29% de emisiones invernadero, incidiendo en el cambio climático, además de la contaminación de suelo, y en la inseguridad alimentaria. Sin embargo, la práctica de la agricultura orgánica puede brindar algunas soluciones, por ejemplo, el 30% de la producción global de alimentos es provista por pequeños productores con menos de 2 hectáreas y que en conjunto suman alrededor del 25% de la tierra destinada para la agricultura, empleando prácticas tradicionales que usualmente mantienen la agrobiodiversidad; además de que es una práctica accesible y efectiva con uso de biodiversidad y recursos locales, que puede reducir los costos, pudiendo además afrontar las necesidades de resiliencia climática y alimentación sostenible que además promueve el comercio justo entre productores, intermediarios y consumidores (IFOAM, 2021).

Algunas de las limitaciones que experimenta la agricultura orgánica son los insumos externos y por lo tanto requiere adaptaciones a las condiciones locales, tales como rotación, diversificación e integración de cultivos, ganado, árboles y peces que permitan optimizar el uso y ciclo de los nutrientes; promuevan la fijación simbiótica de nitrógeno y el reciclaje de la biomasa, se basa en el empleo de razas y variedades locales con mayor resiliencia al estrés; uso de control biológico de plagas para mejorar los depredadores naturales que en conjunto favorezcan el aprovechamiento de

los ecosistemas para aumentar la eficiencia en la producción. Por su parte, la producción orgánica tiene impactos positivos tanto en el uso de la tierra como del agua; incrementa la fertilidad del suelo brindando mayor productividad; mejora su estructura y por tanto, más estabilidad al estrés ambiental, retención de la humedad y drenaje que puede reducir del 20 al 60% el riego y por tanto, menor lixiviación de nitratos y contaminación del agua subterránea, así como la reducción de la erosión por el agua y el viento y una mayor tasa de secuestro de carbono. Otra contribución de la agricultura orgánica es a la salud, por una parte a la reducción de agroquímicos que resultan nocivos, pero además a que los cultivos orgánicos tienen mayor contenido de vitaminas y metabolitos secundarios, así como de materia seca y minerales (El-Hage Scialabba, 2013).

Por otra parte, existe debate en la distinción de la calidad y seguridad para la salud de la producción orgánica y la convencional, Yu, et al. (2018), combinaron extensiva literatura y sus datos de investigación para brindar información sobre la calidad sensorial, nutricional y de seguridad entre ambos tipos de productos, resultando que los productos orgánicos saben mejor y más tiernos, contienen menor contenido de grasa; además hay enriquecimiento de vitamina C, carotenoides, compuestos fenólicos como antocianinas e isoflavonas; el contenido de materia seca fue del 7 al 20% mayor que en los productos convencionales y mayor cantidad de macro y micro elementos como P, Fe, Mg, Zn, Cu y Cr.

En México, la demanda de productos orgánicos inicia por parte de empresas extranjeras alrededor de los años sesenta, en regiones indígenas de Chiapas y Oaxaca que eran trabajadas de manera tradicional sin uso de agroquímicos. El interés por la producción de orgánicos en México ha aumentado en la última década. Hasta el 2017 se registró una superficie de 1,124,884 hectáreas de las que se obtienen productos orgánicos, de las cuales 142,931 ha eran de superficie certificada, 29,998 ha se encontraban en conversión y 951,955 ha fueron de recolección silvestre. De acuerdo a la Ley de Productos Orgánicos, se han certificado con 27,649 productores, siendo Baja California, Chiapas y Oaxaca los principales estados con mayor producción orgánica, destacando el aguacate, café, cártamo, chíca, chile pimiento, garbanzo, maíz, mango, naranja, plátano, tomate y zarzamora (SIAP, 2017).

Tomate orgánico. En México la producción de tomate orgánico en invernadero tiene poco tiempo y ha sido atractivo para los productores de la zona norte del país que lo producen para la exportación, principalmente para el mercado estadounidense, cuyo precio y alto rendimiento son atractivos para desarrollar este sistema de producción, por ejemplo, en 2018 registró 327 toneladas por hectárea, en comparación con 43.4 t/ha a cielo abierto; registrando un aumento en su producción del 24% en cuatro años, es decir de 36,000 toneladas en 2015 a 44,780 en 2018. El tomate es el producto orgánico fresco que más se comercializa con Estados Unidos, que lo convierte en un nicho de mercado importante debido a la cercanía de mercado y a que se paga el sobreprecio del tomate orgánico que va de un 20 a 40% más que el tomate convencional, ya que el consumidor final siempre está dispuesto a pagar más por un producto orgánico certificado (INFOAGRO, 2018).

Existe debate sobre la calidad del tomate orgánico en comparación con el convencional; Madrid, et al., (2009) demostraron que los atributos de color son más intensos, así como las propiedades fisicoquímicas incrementaron con el grado de irrigación alcanzando los niveles más altos con la fertilización orgánica en comparación con la fertilización convencional. Otros autores han documentado el incremento en los componentes de interés nutraceutico tales como ácidos orgánicos, compuestos fenólicos y vit C (Halmman, et al., 2012); licopeno, fenoles totales, flavonoides, vit C y actividad antioxidante (Vinha, et al., 2014; Fortis-Hernández, et al., 2018) y el efecto de diferentes fertilizantes orgánicos sobre los compuestos bioactivos en cultivares de tomate Cherry (Abulhadi Qahram, et al., 2020). Sin embargo, otros estudios no han mostrado cambios significativos en los parámetros de calidad del tomate orgánico en comparación con el control fertilizado con minerales inorgánicos, tales como la acidez total, vitamina C, carbohidratos y licopeno (Kapoulas, et al., 2011).

A pesar de que hace falta tecnología e investigación para generar líneas y desarrollar procesos más productivos, el cultivo de tomate orgánico será rentable y seguirá aumentando y representa una oportunidad para pequeños y medianos productores del centro del país ya que puede alcanzar un precio de 5.8 veces más que el tomate convencional (SIACON, 2020). En cuanto al costo del tomate orgánico, se realizó un estudio en Enero del 2018 en diferentes establecimientos de la Cd. De México y zona Metropolitana, comparando el costo del tomate saladette convencional con el orgánico,

encontrando que existe una diferencia del 207%, es decir, la presentación de 450 gramos de tomate orgánico costaba \$31.10 mn, mientras que su equivalente convencional a granel \$10.15 mn. (PROFECO, 2018).

Tendencias de consumo de productos orgánicos. En las últimas décadas se han experimentado cambios en la forma de consumir y por tanto, de producir alimentos. El consumidor demanda alimentos de calidad, inocuos y saludables, que además sean producidos considerando la protección al medio ambiente, a la diversidad y al uso racional de los recursos naturales (IFOAM, 2021). El comercio de productos orgánicos en el mercado ha registrado un crecimiento mundial en los últimos años. Estados Unidos lidereó la demanda de productos, ya que 83% de las familias estadounidenses compra productos orgánicos; seguido de la Unión Europea y China; por su parte, en Brasil el mercado de productos orgánicos está creciendo fuertemente, donde el 55% de la población brasileña reconoce el sello nacional de productos orgánicos, y el 64 por ciento de los consumidores compran alimentos orgánicos ya que los consideran más saludables, convirtiéndose en uno de los principales mercados de Latinoamérica (Food News Latam.com, 2018a)

En México el mercado de los productos orgánicos está en pleno crecimiento, es el cuarto productor latinoamericano de alimentos orgánicos, destacando Chihuahua, Nuevo León y Michoacán, además de Chiapas y Oaxaca, entre otros; siendo estos tres últimos los estados que producen más del 50% de los productos orgánicos en México, destinando hasta el 85% de la producción al comercio internacional y sólo 15% se destina al comercio interno (SIAP, 2017).

Algunos de los factores que han impulsado estas tendencias mundiales, son principalmente la salud, es decir consideran los alimentos orgánicos más saludables ya que existe preocupación acerca de los pesticidas, organismos genéticamente modificados y hormonas de crecimiento. Se ha estimado que la generación de los Millennials es un segmento importante de la población que representan la mitad de las compras de alimentos orgánicos en algunos países, no sólo el segmento de frutas, verduras y legumbres, sino también de productos procesados y fuentes de proteína vegetal, como sustitutos de la proteína animal, que van encaminados además a fomentar nuevos hábitos de alimentación más saludable, y también más éticos, considerando los aspectos de sustentabilidad y reducción de emisión de CO<sub>2</sub> (Food News Latam, 2018b).

Sin embargo, el consumo de productos orgánicos es limitado, a pesar de encontrar múltiples beneficios para su consumo, existen algunos factores que pueden limitar su adquisición y consumo. Un aspecto sumamente importante es la falta de información y por ende de educación y concientización por parte del consumidor, por lo que debe ponerse mayor atención en las estrategias de promoción y difusión de los beneficios integrales de su consumo. Otro aspecto importante es el precio, ya que debido a que su producción es más lenta y en menor cantidad, resultado de su riguroso control de certificación, lo que eleva su costo, considerando además el bajo poder adquisitivo de la mayoría de la población mexicana. Respecto a la venta de orgánicos, estos se encuentran en tiendas naturistas y establecimientos especializados, así como supermercados donde se comercializan, particularmente han aumentado en 20% su venta en tiendas de autoservicio, y 10% en las tiendas especializadas como resultado del aumento del 10% anual en el mercado nacional de productos orgánicos certificados (PROFECO, 2018). Otro aspecto que requiere mayor atención es el fomento a las políticas públicas orientadas a promover la práctica de la agricultura orgánica.

Percepción del consumidor hacia productos orgánicos. La percepción del consumidor y sus actitudes hacia los productos orgánicos permiten desarrollar estrategias de mercado, así como políticas que permitan atraer a los consumidores convencionales hacia el consumo de productos orgánicos. Entre las preferencias del consumidor por los productos orgánicos destacan sus beneficios por la seguridad alimentaria, la salud humana y al ambiente, además de los atributos directos como su valor nutritivo, el sabor y la frescura; adicionalmente, los consumidores asocian el alimento orgánico con procesos naturales, cuidado del medio ambiente y bienestar animal, además del no uso de fertilizantes y pesticidas químicos (Shafie and Rennie, 2009).

Algunos trabajos basados en encuestas se han realizado con el objetivo de determinar las características del mercado en relación a los productos orgánicos, con la finalidad de identificar actitudes, prácticas y características de diferentes consumidores de productos orgánicos y qué factores influyen en la compra de estos. Algunos de los resultados muestran que por ejemplo, en Toluca durante el 2011, las características de la población que consume productos orgánicos es principalmente del género femenino, con un nivel de estudios superior, que son empleados y con un

nivel socioeconómico C+; el 44% manifiesta el interés por consumirlos; se prefieren los productos frescos, principalmente frutas y hortalizas; mientras que los factores que influyen en el consumo son los beneficios a la salud, sin embargo, se tiene desconocimiento de los beneficios y dónde encontrarlos; por lo que el empaque y etiqueta de certificación son importantes además el precio es muy importante para decidir la compra, por lo que se requieren precios competitivos (Días-Viquez, et al., 2015).

Con el objetivo de estimar la disposición a pagar por los productos orgánicos en Texcoco, Estado de México, y bajo la hipótesis de que existe una disposición positiva a pagar por ellos, Trujillo-Murillo, et al., (2019), exploraron mediante encuestas, que el 77% de los encuestados están dispuestos a pagar un extra precio por los productos básicos tales como jitomate (\$11.00 mn/Kg), lechuga (\$7.50 mn/pieza) y arroz (\$32.50 mn.), que representa un 41%, 53% y 22.8% adicional, respectivamente.

En Galicia, se realizó un estudio para conocer el comportamiento sobre las percepciones y actitudes sobre el consumo de productos orgánicos; un tercio de los encuestados cumplió con el perfil típico descrito para consumidores de orgánicos que refiere a en personas de edad media, clase socioeconómica media-alta, mujeres con educación universitaria, que radican en poblaciones grandes, compran en supermercados, preferentemente vegetales, frutas y huevos. Además la mayoría de los encuestados, consumidores convencionales y de orgánicos, tienen una buena opinión sobre éstos, considerándolos más saludables, con mayor calidad y sin pesticidas; sin embargo, el precio sigue siendo una barrera para expandir el consumo de orgánicos, la mayoría indica que si el sobre precio fuera de 10-30% los consumiría denota actitudes positiva hacia la agricultura orgánica y productores locales, que a su vez pueden fomentar la educación y el ecoturismo, lo que le brindaría valor agregado a las granjas orgánicas (Rodríguez-Bermudez, et al., 2020).

Los resultados de un estudio realizado en Serbia (496 consumidores), clasificaron en tres distintos grupos su población de estudio: el grupo 1 con menor grado de educación y familia más pequeña, no prestan atención en el aspecto saludable, origen o presentación de los productos, sino en su precio. En el grupo 2 presentan mayor grado de educación que el grupo 1, y tienen más cuidado sobre lo que consumen y están más informados sobre estilos de vida más saludables, les importa el origen, la calidad, recomendación, marca y estética del producto. Mientras que el grupo 3 con el mismo grado de educación que el 2, asigna más importancia a los alimentos saludables, a la calidad, al origen de producción proveniente de un sistema orgánico y la fecha de expiración. Concluyendo que la decisión de comprar o no productos orgánicos está determinado por el precio y la calidad del producto, que a su vez está relacionada a las características socio-económicas del consumidor, por lo que el eco-marketing debería estar más dirigido a aquellas personas que son más conscientes de los aspectos ambientales y de salud (Radojević, et al., 2021).

## PARTE EXPERIMENTAL

Para el estudio bibliométrico se realizó una búsqueda bibliográfica desde el año 1990 a la fecha, en la plataforma Scopus (Elsevier) y en Web of Science (Clarivate), empleando las siguientes palabras clave en inglés, así como el uso de operadores de búsqueda, organic AND tomato, y posteriormente para definir mejor la búsqueda se incorporó AND quality AND fruit. A partir del informe de la búsqueda ((organic AND tomato) AND (quality)) AND fruit, se colectó la información referente a la categoría del área de conocimiento, el periodo de las publicaciones, los principales países que publican este tema, y las afiliaciones de las mismas.

Por otra parte, se realizó una encuesta electrónica mediante un formulario de google, dirigida al público en general, compartida mediante redes sociales: Facebook, Instagram y WhatsApp con la finalidad de incrementar el número de encuestados, la encuesta fue realizada en Guasave, Sinaloa, México. El cuestionario se dividió en tres secciones, la primera referente a los datos y características de los encuestados, como edad, género y lugar de residencia. La segunda sección correspondió a las costumbres y frecuencia de compra, así como a los aspectos de calidad que busca cuando compra tomate. La tercera sección se identificó el conocimiento que se tiene sobre los beneficios del consumo de tomate. La cuarta sección se destinó para conocer la percepción general sobre distintos aspectos del tomate orgánico, tales como propiedades organolépticas y beneficios de su consumo, así como los beneficios de su cultivo, costo y disposición a cambiar su consumo convencional por tomate orgánico. La mayoría de las preguntas del cuestionario fueron tipo Likert de cinco intervalos,

así como de opción múltiple. Los datos fueron recolectados durante el mes de Mayo del 2021 en el estado de Sinaloa, México. Se obtuvieron los resultados de dicha encuesta y se filtraron para eliminar las respuestas que no correspondían al Estado de Sinaloa.

**RESULTADOS**

Estudio bibliométrico de calidad del fruto de tomate orgánico. Los resultados bibliométricos en la plataforma Scopus arrojaron 671 documentos primarios al emplear las palabras clave organic and tomato, que se redujeron a 460 al incluir quality y a 394 al incluir fruit, los cuales fueron revisados independientemente para generar una lista filtrada de 137 que tuvieran una relación directa sobre la calidad del fruto, de las cuales el 91% están escritas en idioma inglés. Por su parte, en Web of Science se registraron 88 publicaciones con los términos “organic” and “tomato” and “quality” en el título. De las 137 publicaciones primarias del Scopus se categorizaron de acuerdo al área del conocimiento de las revistas correspondientes a las publicaciones, de los cuales 56% corresponden a horticultura y agricultura, 19% a ciencias de los alimentos; 12% a las ciencias de las plantas y biotecnología; 7% a ciencias ambientales y 7% a otras variadas. Mientras que en Web of Science 62% corresponden al área de agricultura, 15 % a ciencia de las plantas, 12% a ecología y ciencias ambientales y 11% a ciencia y tecnología de los alimentos, entre otras disciplinas (Figura 1).

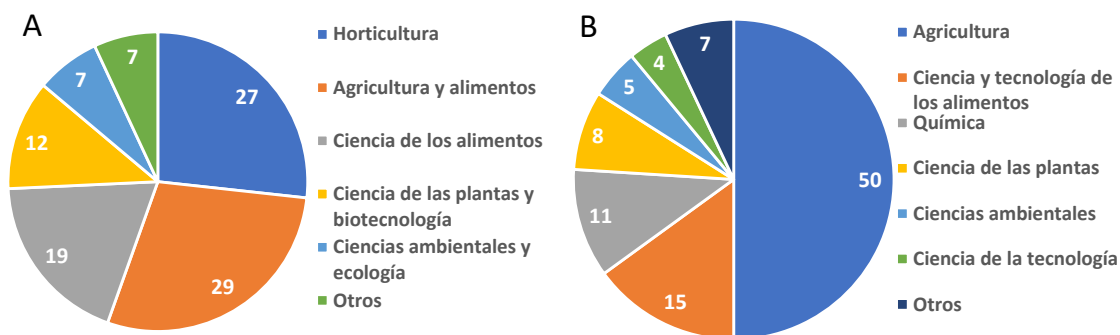


Figura 1. Área de conocimiento de las publicaciones registradas en A) Scopus y B) Web of Science.

De las 137 publicaciones de Scopus generadas durante el periodo 2000 al 2021, 26.3% fueron publicadas en el periodo 2000 a 2010; mientras que el 73.7% del 2011 al 2021, es decir, se incrementó en 2.8 veces más la publicaciones sobre el tema de interés en la última década. Por su parte, de las 88 publicaciones de Web of Science, 30% se publicaron de 1990 al 2010 y 70% del 2011 a la fecha, cuyo incremento representa 3.5 veces más en la última década.

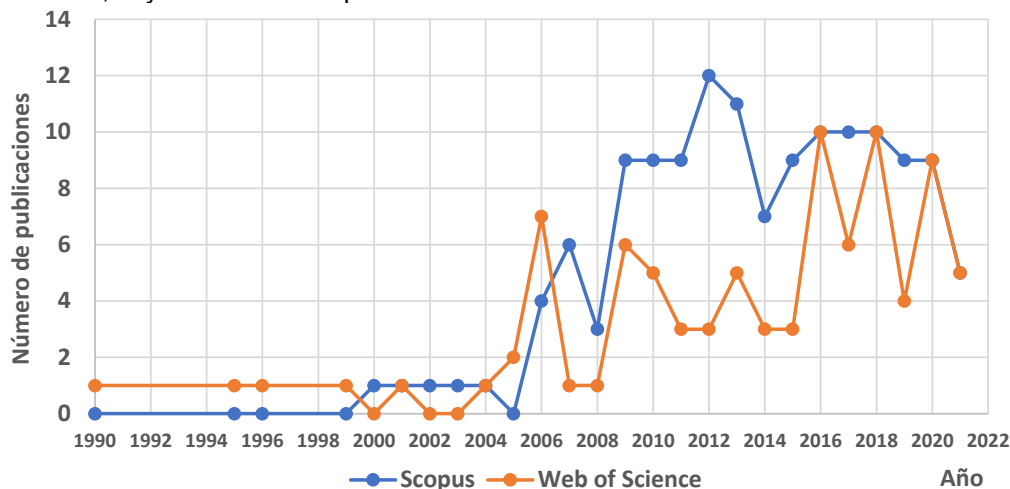


Figura 2. Número de publicaciones registradas desde 1990 a 2021 en Scopus y Web of Science.

Según los datos de Scopus y Web of Science, México ocupa el séptimo lugar en generar publicaciones referentes al tema buscado: Brasil (13.9 y 12.5%), Estados Unidos (12.4 y 19.3%), España (11.7 y 4.5%), Italia (8.8 y 4.5%), Turquía (8.0 y 12.5%), China (7.3 y 9.1%), México (6.6 y 10.2%), India (5.1 y 3.4%), Polonia (3.6 y 1.1%), Grecia (2.9 y 2.3%), Bangladesh (2.2 y 2.3%), Dinamarca (2.2 y 2.3%), Francia (2.2 y 1.1%), Japón (2.2 y 3.4%), Bosnia y Herzegovina (2.2 y 2.3%), entre otros (8.8 y 9.1%).

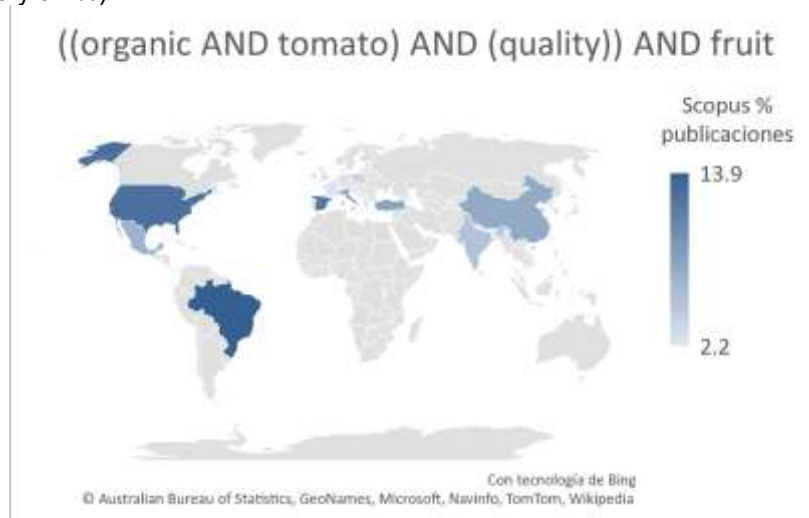


Figura 3. Mapa cloroplético que muestra los países con mayor número de publicaciones registradas en Scopus.

En relación a la afiliación de las 137 publicaciones seleccionadas por Scopus, 14 de ellas han sido originadas en México, y corresponden a la Universidad Juárez del Estado de Durango (5), Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (4), Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (3) y al Instituto Tecnológico de Torreón (2).

Consumo y percepción de la calidad del tomate y tomate orgánico. Con el objetivo de identificar la cantidad y preferencias de calidad del consumidor para elegir el tomate que consume, además de conocer si identifica sus propiedades benéficas a la salud y finalmente, cuál es su percepción sobre el tomate orgánico, comparándolo con el tomate convencional. La encuesta fue respondida por 156 personas que viven en 8 municipios del estado de Sinaloa: Ahome (7), Angostura (8), Culiacán (6), Guasave (33), Mazatlán (1), Mocorito (10), Salvador Alvarado (54) y Sinaloa de Leyva (4). La figura 4 muestra que 76.3% (119) de los encuestados son mujeres y 23.7% (37) hombres, de los cuales 70% presentan un rango de edad 20 a 29 años, seguido de 30 a 39 años (19%), > 50 (6%) y 40 a 49 (5%).

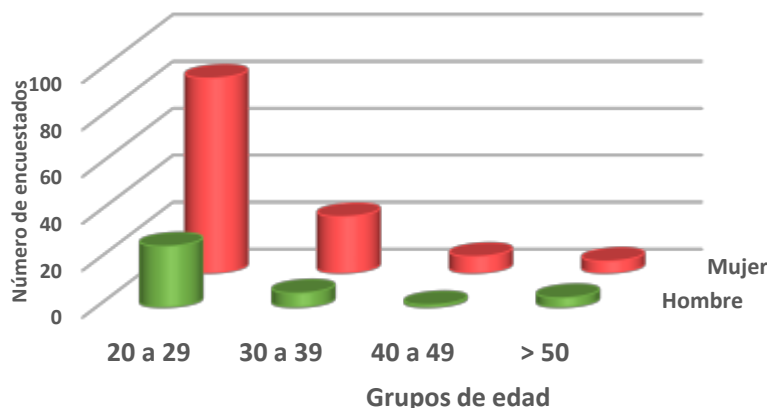


Figura 4. Número de encuestados en proporción de género y por grupo de edad.

Con respecto a la frecuencia de compra y cantidad de tomate, el 71% (111) de los encuestados manifestó realizar las compras semanalmente, 18% (28) quincenalmente y 11% (17) diariamente. Mientras que 53% (83) compra de 1-2 Kg, 34% (53) menos de un kilogramo, 10% (16) de 2 a 3 Kg y sólo 3% (4) más de 3 Kg (Figura 5).

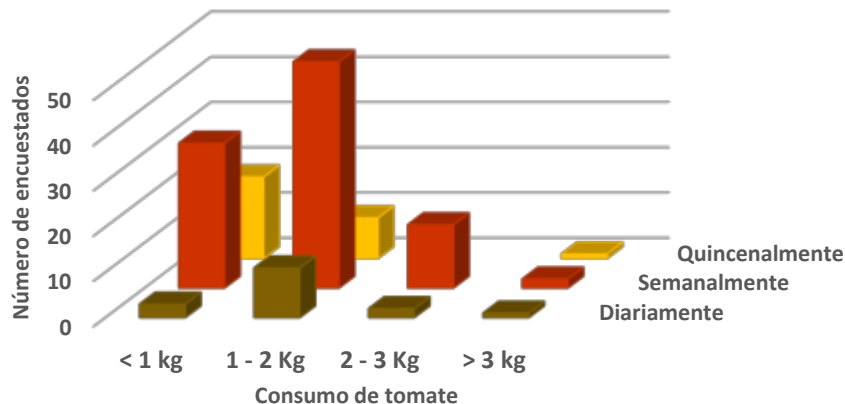


Figura 5. Cantidad y frecuencia de compra de tomate.

Al evaluar los distintos atributos que se prefieren para la selección del tomate, arriba del 90% de los encuestados le dan mayor importancia a la firmeza, color, textura, y una apariencia sin manchas; hasta un 70% de los encuestados le dan importancia al precio, aroma y que sea libre de agroquímicos; mientras que el tamaño y la forma son aspectos que para el 45 y 35% son importantes, respectivamente, cuya respuesta coincide y se complementa con el otro 50% que los considera poco importantes (Figura 6A). Como se pudo comprobar, el color es un atributo de calidad ampliamente asociado al grado de maduración del tomate, por lo que el 74% prefiere el color rojo-pálido, que corresponde a un grado de maduración intermedio, mientras que el 12% lo prefiere rosado, es decir, aún más inmaduro, y sólo 3% lo prefiere pinto (rosa-verde), es decir inmaduro, mientras que el 12% lo prefiere adquirir en su coloración roja intensa, que corresponde al grado maduro (Figura 6B).

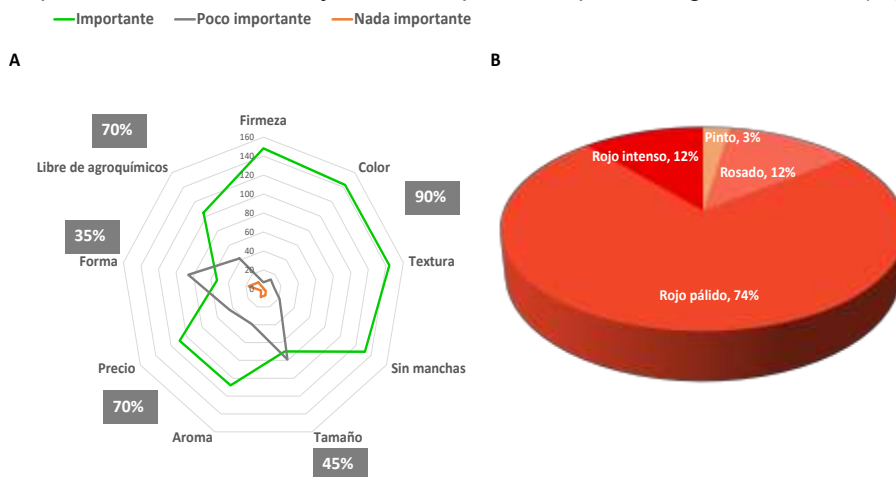


Figura 6. A) importancia de los atributos de calidad en la selección de tomate y B) Porcentaje de elección respecto al grado de maduración durante la compra de tomate.

Aspectos benéficos para la salud a partir del consumo de tomate. Por otra parte, se evaluó el conocimiento que tiene la población acerca de la relación entre el consumo de tomate y el beneficio a la salud, resultando que el 88.5% de los encuestados conocen esta relación, mientras que 10.3% no lo sabe y sólo 1.3% aseguró que no existe relación con la salud. Posteriormente se presentaron



12 propiedades benéficas para la salud, asociadas con los compuestos bioactivos del tomate, solicitando señalar, cuáles de ellas conocía que fueran atribuidas al consumo de tomate; los resultados indicaron que el 20, 17 y 20% de los encuestados señalaron 1, 2 y 3 propiedades, respectivamente; mientras que el porcentaje fue disminuyendo a mayor cantidad de propiedades, por ejemplo, 12, 8, 8% respondieron a 4, 5 y 6 propiedades; mientras que 4, 4, y 1%, correspondieron a 7, 8 y hasta 11 propiedades, sorpresivamente el 3%, es decir 4 personas conocían las 12 propiedades. En la figura 7, se presentan las doce propiedades enlistadas y el porcentaje de elección, el 67.3% de los encuestados eligió antioxidante como la propiedad del tomate más conocida, seguido de la prevención de las enfermedades cardiovasculares y la función inmunoestimulante, ambas con 41.7%; posteriormente como antiinflamatorio con 38.5%; la propiedad anticancerígena y favorecimiento del tránsito intestinal reflejó el 32.1%, cada una; protección de la vista (26.9%), la reducción de los niveles de colesterol malo LDL en sangre (24.4%). Por su parte, aunque menos conocidas, las propiedades de reducción de glucosa en sangre, prevención de enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson y efecto diurético compartieron la misma proporción de conocimiento (19.9%); finalmente, la prevención de desmineralización ósea fue la de menor conocimiento para los encuestados (9.6%).

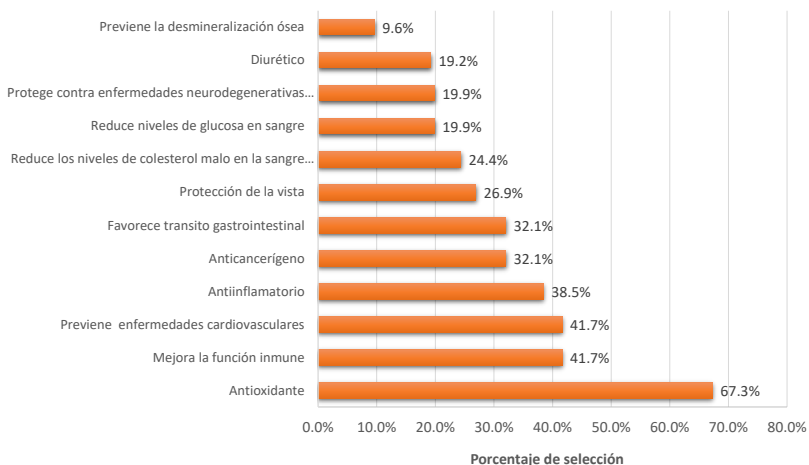


Figura 7. Conocimiento sobre las propiedades benéficas para la salud, asociadas al consumo de tomate

Consumo y percepción de la calidad del tomate orgánico. En este apartado se realizaron preguntas para conocer que tanto conocimiento existe sobre el tomate orgánico. La pregunta inicial fue si ha escuchado algo sobre tomate orgánico, y posteriormente si conoce los beneficios del consumo de tomate orgánico; el 77.6% de los encuestados respondieron haber escuchado sobre el tomate orgánico, de los cuales el 41.3% conoce los beneficios de consumir tomate orgánico, mientras que el 33.9% los conoce un poco y 24.8% no los conoce (Figura 8). Por otra parte, el 22.4% de los encuestados no ha escuchado sobre el tomate orgánico; sin embargo se esperaba que tampoco conocieran los beneficios de su consumo, pero no todos lo confirmaron, sólo el 85.7%, lo que sugiere que no todos los encuestados comprendieron estas preguntas.

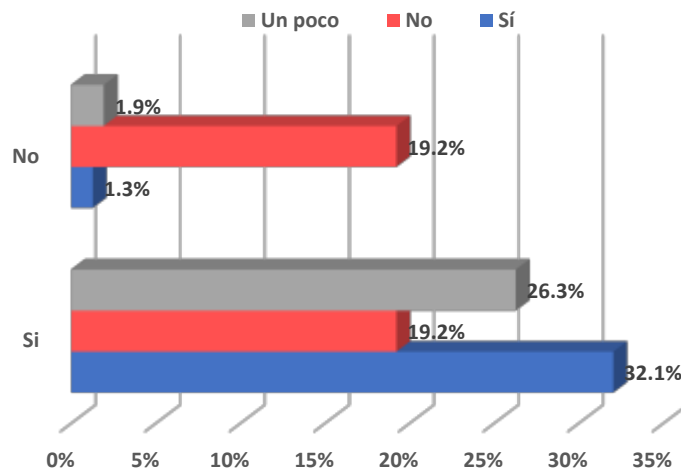


Figura 8. Porcentaje de encuestados con conocimiento del tomate orgánico y los beneficios de su consumo.

Referente al cultivo de tomate orgánico se exploró que información general conocen y la importancia que le dan a los beneficios que promueve su cultivo, tales como a) la reducción de la contaminación del medio ambiente, b) reducción de los efectos nocivos a la salud por uso de plaguicidas sintéticos, c) mejora la calidad de la tierra de cultivo y d) mejora la calidad nutritiva del tomate. Los resultados se muestran en la Figura 9, podemos ver que todos los aspectos fueron importantes por arriba del 88 y hasta 94% de los encuestados, destacando nuevamente el aspecto ecológico involucrado con la reducción de la contaminación del medio ambiente. Ahora bien, entre el 4 y 10% de la población encuestada mencionó ser poco importante dichos aspectos y sólo de 2 a 3% le parece nada importante.

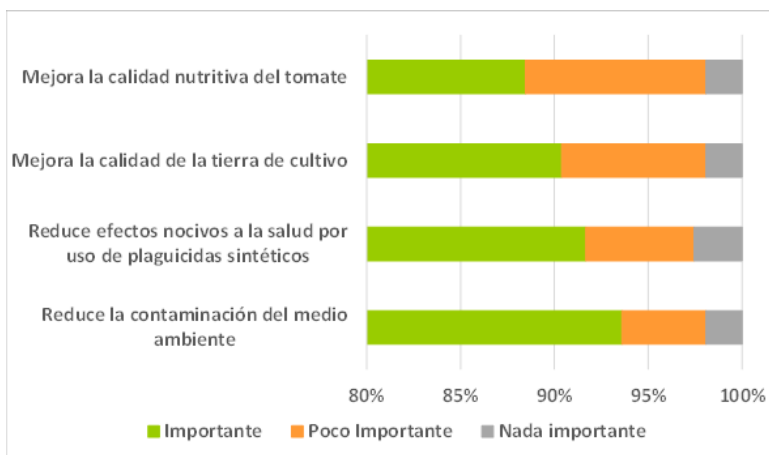


Figura 9. Importancia hacia los aspectos benéficos sobre el cultivo de tomate orgánico

Adicionalmente se indagó sobre la percepción general que se tienen acerca del tomate orgánico, a partir de la selección de hasta nueve ideas presentadas (Figura 10). El 76% de los encuestados identificaron muy bien es aspecto ecológico como el principal, al afirmar que el cultivo de tomate orgánico es amigable con el medio ambiente, además, 65% afirma que el tomate orgánico es más saludable y 49% más nutritivo en comparación al tomate convencional; por su parte, 48% afirma que no los puede conseguir fácilmente. Así mismo, el 56% de los encuestados no apoya la moción de que el tomate orgánico tenga apariencia desagradable y así como tampoco que no vale la pena gastar en ellos. Sin embargo, en los aspectos sensoriales como el sabor (47%) y la textura (56%) la mayoría de los encuestados lo desconoce, así como si su precio es más elevado (46%). En general,

en las repuestas se percibe un amplio rango de desconocimiento sobre distintos aspectos del tomate orgánico, ya que de las nueve ideas brindadas, en promedio el 39% de los encuestados respondieron afirmativamente a las ideas plasmadas, mientras que el otro 39% tiene desconocimiento y el 22% respondió negativamente.



Figura 10. Percepción y conocimiento general sobre tomate orgánico.

Además indagamos si las personas saben dónde comprar el tomate orgánico y cuántas de ellas lo consumen. La figura 11 muestra que hasta un 52% de los encuestados no lo consume, 37% muy poco, 10% a menudo y 1% siempre. Esto tiene relación con el hecho de que hasta 64% de los encuestados no sabe dónde conseguirlo, tan sólo 26% si lo sabe y 10% lo cultiva en casa (Figura 10). Con relación a su cultivo en casa, se preguntó cuántos de ellos usan agroquímicos, cuántos no los usan y nuevamente confirmar que porcentaje no cultiva tomate. La encuesta muestra que 68% de los participantes no cultiva tomate y 31% lo cultiva sin agroquímicos y 1% utiliza agroquímicos.

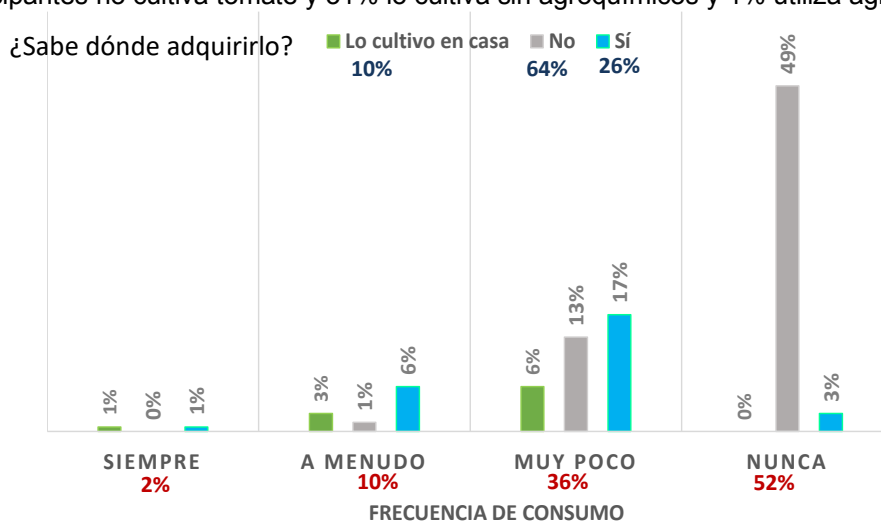


Figura 11. Consumo y frecuencia de consumo de tomate orgánico y disponibilidad de compra.

Entre los aspectos de calidad del tomate orgánico, se cuestionó cual es la percepción del sabor, en la que se pidió elegir una categoría. En la figura 12 se muestran los porcentajes de elección de seis características referentes al sabor, además de la opción de no haberlo probado. Los resultados muestran que el 44% no los ha probado, 20% encuentran un sabor similar al tomate convencional, 14% con mayor sabor, 13% ligeramente mejor al convencional, 6% exquisito, 2% insípido y 1% desagradable.

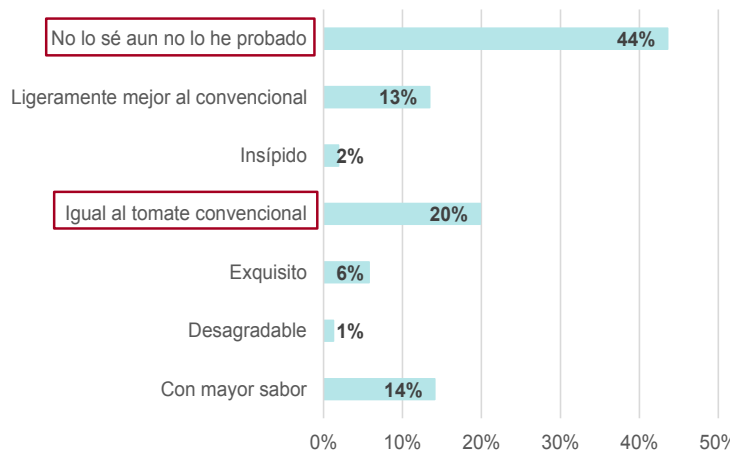


Figura 12. Porcentaje de la percepción del sabor del tomate orgánico.

Finalmente, se preguntó sobre la percepción del precio del tomate orgánico, a pesar de que los datos previos muestran que la mitad de la población encuestada no lo consume, los resultados mostraron que hay cierta coincidencia con que 46% dice no saber el costo, 35% considera que su precio es de 10 a 40% más caro que el tomate convencional; mientras casi el mismo porcentaje de encuestados piensa que es más del doble del precio (6%) y otros que es de 50 a 100% más caro (7%) y que es más barato (7%) que el tomate convencional. Y haciendo esa reflexión propia del costo del tomate y con los antecedentes de las preguntas previas, no sólo de los beneficios del cultivo, sino del propio fruto, la encuesta cerró preguntando si estaban dispuestos a cambiar el consumo por el tomate orgánico, a pesar de que pudiera tener un costo más elevado, el 49% afirmó que lo cambiaría, 42% mencionó no saberlo y un bajo porcentaje (8%) dijo que no (Figura 13).

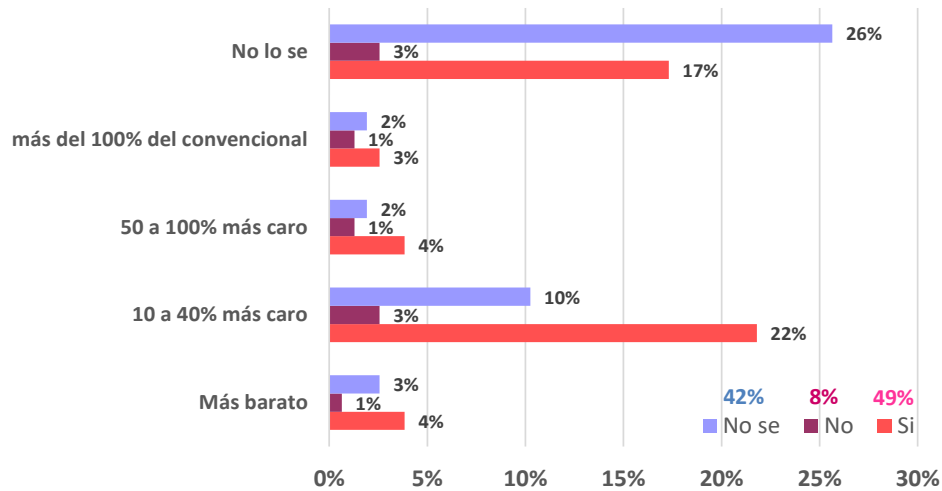


Figura 13. Porcentaje de percepción del costo del tomate orgánico y porcentaje de elección de cambio del consumo de tomate convencional por tomate orgánico.

### CONCLUSIONES

La población de estudio correspondió principalmente a mujeres jóvenes que tienen una relación directa con la compra de tomate, siendo entre uno y dos kilos la cantidad más comprada semanalmente.

La encuesta nos permitió conocer la percepción general que se tiene sobre el tomate y sus beneficios a la salud, además cuáles son los atributos a los que se les da mayor atención para realizar su compra, destacando la firmeza, color, textura y un aspecto libre de manchas; seguido del precio, el aroma y que sea un producto libre de agroquímicos; mientras que el tamaño y la forma fueron los menos importantes. Además, se conoce la relación entre el consumo de tomate y su beneficio en la salud, identificando hasta tres propiedades bioactivas, siendo el aspecto antioxidante el más conocido.

De acuerdo a la percepción del cultivo de tomate orgánico, los diferentes aspectos presentados tales como la reducción de la contaminación del medio ambiente, los efectos nocivos a la salud por uso de plaguicidas sintéticos, la mejora de la calidad de la tierra de cultivo y la calidad nutritiva del tomate, fueron aspectos muy importantes para todos; sin embargo, los aspectos sensoriales del tomate son desconocidos para la mayoría, en gran medida porque más de la mitad no lo ha consumido y no sabe dónde conseguirlo, además de que desconoce su costo; a pesar de ello, la mitad de la población afirmó cambiar sus preferencias de consumo convencional por tomate orgánico a pesar de tener un costo más elevado.

Finalmente, se requiere realizar más trabajos de investigación que permitan identificar los beneficios directos a la salud del consumidor, así como los indirectos, relacionados a la sostenibilidad y trabajar en programas de divulgación científica que permeen a toda la población mexicana, y que le permita conocer y hacer conciencia de los beneficios de estos productos, lo que pueda generar mayor demanda de consumo y balancear más el costo; además de cambiar la percepción del costo elevado que se tiene sobre el producto orgánico, ya que si se puede pagar el sobre precio que genera su producción, se contribuirá al cuidado de nuestra salud, del medio ambiente, así como a mejorar la economía de los productores orgánicos mexicanos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Abulhadi Qahram, R.I., Gülsen, O., Günes, A. 2020. Effects of different organic fertilizers on some bioactive compounds and yield of cherry tomato cultivars. *Gesunde Pflanzen* 72:257-264.
2. Bernard C., Bernillon S., Biasis B., Osorio S., Maucourt M., Ballias P., Deborde C. 2015. Metabolomic profiling in tomato reveals diel compositional changes in fruit affected by source-sink relationship. *Journal of Experimental Botany*. 66 (11):3391-3404.
3. Codex Alimentarius 2007. In *Organically produced foods* (3rd. Edition. Editors World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations). Section 2, pp 4-6. <https://www.fao.org/3/a1385e/a1385e00.htm> Consultado 20 julio 2021
4. Díaz-Viquez, A., Pérez-Hernández, A., Hernández-Ávila, J. (2015) Caracterización del consumidor de productos orgánicos en la ciudad de Toluca, México. *Revista Mexicana de Agronegocios*, 36:1178-1187
5. El-Hage Scialabba, N. 2013. Organic agriculture's contribution to sustainability. Online. *Crop Management* doi:10.1094/CM-2013-0429-09-PS.
6. FAO, 2020 Alimetos orgánicos. Consultado el 18 de julio del 2021. <http://www.fao.org/organicag/oa-faq/oa-faq1/es/>
7. FAOSTAT, 2019 Crops production in quantity Consultado 15 Junio 2021. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
8. Ferreres F, Taveira M, Pereira DM, Valentão P, Andrade P. 2010 Tomato (*Lycopersicon esculentum*) seeds: new flavonols and cytotoxic effect. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58: 2854-2861.
9. Food News Latam.com. Continúa la expansión del mercado mundial de alimentos orgánicos. 2018b. <https://www.foodnewslatam.com/paises/4964-europa/8683-contin%C3%BAa-la-expansi%C3%B3n-del-mercado-mundial-de-alimentos-org%C3%A1nicos.html>
10. Food News Latam.com. Crece la demanda de productos orgánicos. 2018<sup>a</sup> <https://www.foodnewslatam.com/paises/75-brasil/8329-la-demanda-de-productos-org%C3%A1nicos-crece-en-fisa-2018.html>

11. Fortis-Hernández, M. Preciado-Rangel, P. Segura-Castuita MA. Mendoza-Tacuba, L. Gallegos-Robles, MA. Garcia-Hernández, JL. Vásquez-Vásquez, C. 2018. Hort Bras 36(2):189-194.
12. Hallmann E (2012) The influence of organic and conventional cultivation systems on the nutritional value and content of bioactive compounds in selected tomato types. *J Sci Food Agric* 92:2840–2848
13. INFOAGRO, 2018. El mercado de los productos orgánicos. Consultado 22 julio 2021. <https://mexico.infoagro.com/el-mercado-de-los-productos-organicos/>
14. International Federation of organic agriculture movements (IFOAM) Organics International, 2008. Definition of Organic Agriculture. Consultado el 18 Julio 2021. <https://www.ifoam.bio/why-organic/organic-landmarks/definition-organic>
15. International Federation of organic agriculture movements (IFOAM) Organics International, 2021. Why organic? Consultado el 20 Julio, 2021. <https://www.ifoam.bio/why-organic>
16. Kapoulas N, Ilić ZS, Đurovka M, Trajković R, Milenković L (2011) Effect of organic and conventional production practices on nutritional value and antioxidant activity of tomatoes. *Afr J Biotechnol* 10:15938–15945
17. Madrid, R. Barba, EM., Sánchez, A. and Lino García, A. 2009. Effects of organic fertilisers and irrigation level on physical and chemical quality of industrial tomato fruit (cv Nautilus) *J Sci Food Agric* 89:2608-2615.
18. Panorama Agroalimentario 2020. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). Consultado 19 julio 2021. [https://nube.siap.gob.mx/gobmx\\_publicaciones\\_siap/pag/2020/Atlas-Agroalimentario-2020](https://nube.siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2020/Atlas-Agroalimentario-2020)
19. PROFECO, Alimentos orgánicos, 2018 Consultado el 20 julio del 2021. <https://www.gob.mx/profeco/documentos/alimentos-organicos?state=published>
20. Radojević, V.; Tomaš Simin, M.; Glavaš Trbić, D.; Milić, D.A Profile of Organic Food Consumers—Serbia Case-Study. *Sustainability* 2021, 13, 131. <https://dx.doi.org/10.3390/su13010131>
21. Rodríguez-Bermúdez, R., Miranda, M., Orjales, I., Ginzo-Villamayor, M.J., Al-Soufi, W., López-Alonso, M. (2020) Consumers' perception of and attitudes towards organic food in Galicia (Northern Spain) *Int J Consum Stud.* 44:206–219. DOI: 10.1111/ijcs.12557
22. Shafiea, F.A., Renni, D. (2012) Consumer Perceptions towards Organic Food. *Procedia - Social and Behavioral Sciences*, 49:360 – 367
23. SIACON, Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta 2020. <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-progras/produccion-agricola-33119?idiom=es>
24. SIAP, 2017. Atlas Agroalimentario. Consultado 19 julio 2021. [https://nube.siap-gob.mx/gobmx\\_publicaciones\\_siap/pag/2017/Atlas-Agroalimentario-2017](https://nube.siap-gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2017/Atlas-Agroalimentario-2017)
25. Trujillo Murillo, J., Hernández Ortiz, J., Martínez Damián, M.A. (2019) Disposición a pagar por productos orgánicos en Texcoco, Estado de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 10(7):1685-1691.
26. Valdez Morales M., Espinosa Alonso L.G., Espinoza Torres L.C, Delgado Vargas F., Medina Godoy S. 2014. Phenolic content and antioxidant and antimutagenic activities in tomato peel, seeds, and byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 62 (23):5281-5289.
27. Vinha AF, Barreira SVP, Costa AS, Alves RC, Oliveira MBPP (2014) Organic versus conventional tomatoes: influence on physicochemical parameters, bioactive compounds and sensorial attributes. *Food Chem Toxicol* 67:139–144
28. Yu, X., Guoa, L., Jianga, G., Sonj, Y., Muminov, M.A.(2018) Advances of organic products over conventional productions with respect to nutritional quality and food security *Acta Ecologica Sinica* 38:53–60.

## EL CAFÉ: EL CULTIVO DE CAFÉ EN LA COMUNIDAD DE EL ASERRADERO, ILIATENCO, GUERRERO, MÉXICO

Marisa Silva Aparicio, Eugenia Pacheco Cantú, Cutberto Pacheco Flores

Universidad Intercultural del Estado de Guerrero.

[marucha21048@ecosur.gmail.com](mailto:marucha21048@ecosur.gmail.com), [eupacheco\\_24@hotmail.com](mailto:eupacheco_24@hotmail.com), [cpacheco35@hotmail.com](mailto:cpacheco35@hotmail.com).

### RESUMEN

El cultivo de café lo realizan pequeños productores localizados en diversas regiones del mundo. En México las comunidades indígenas aportan gran parte de la producción y es de las actividades económicas más relevantes para dichas poblaciones. El objetivo de este trabajo fue describir el sistema de cultivo en una comunidad me'phaa de la región Montaña de Guerrero. Se realizó un taller donde se emplearon distintas herramientas participativas (línea de tiempo, mapeo de finca, cuadro de entrada y salida, matriz de análisis económico, entre otras). Además se aplicaron 72 cuestionarios de manera aleatoria a los cafecultores de El Aserradero para obtener datos cuantitativos sobre diversos rasgos del cultivo, el instrumento incluyó ocho apartados que integraron preguntas sobre la historia del cultivo en la localidad, formas de manejo, además de aspectos económicos. Los cafetales se establecieron en la localidad en 1949, con plantas de la variedad Typica (llamadas criollas) traídas del municipio de Atoyac de Álvarez. El cultivo de café en El Aserradero es bajo sombra y se asocia con especies nativas e introducidas de múltiple uso, como el cuajinicuil (*Inga* spp.), plátano (*Musa paradisiaca*), algunos cítricos (naranja, limón, toronja), mango (*Manguifera indica*), guanábana (*Annona muricata*) y aguacate (*Persea americana*), entre otras de menor uso como la ilama (*Annona diversifolia*) y la parota (*Enterolobium cyclocarpum*). Las prácticas de manejo incluyen diversas tareas, aunque, la deshierba y el corte de café son las que implica mayor inversión de recursos por el pago de jornales. Asimismo, el 30% de los entrevistados indicaron que todas las labores se llevan a cabo con el apoyo de la familia, por lo que no es necesario pagar para mantener sus cafetales y obtener beneficios. El otro 70% menciona que combina el trabajo familiar con el pago de los jornales, este último con un coste promedio de \$ 9 585 pesos al año, por parcela. En El Aserradero, el cultivo de café es una actividad de gran relevancia que genera ingresos económicos importantes, muchos de ellos debido a la labor familiar no remunerada.

### INTRODUCCIÓN

El café reviste importancia por su productividad, y el comercio de estos bienes constituyen el pilar de las economías de la mayoría de los países subdesarrollados, principalmente en términos del empleo y de ingresos por exportación (Figuroa-Hernández et al., 2019). En México éste cultivo es una actividad de gran relevancia, debido a que permite la integración de cadenas productivas, la generación de divisas y empleos, el modo de subsistencia de muchos pequeños productores y alrededor de 30 grupos indígenas (CEDRESSA, 2019). El estado de Guerrero ocupa el quinto lugar en la producción de café, siendo las principales zonas productoras Atoyac de Álvarez, San Luis Acatlán y Malinaltepec (Ortiz-Romero, 2014, González y Hernández, 2016) en esta última se integran los municipios de Acatepec, Metlatonoc, Tlacoapa, Malinaltepec e Iliatenco con una población mayoritariamente indígena. En ellos, la presencia de los cafetales son prioritarios, ya que es una de las actividades que genera utilidades anuales importantes para las familias asentadas en estas áreas (Tomás-Torres, et al. 2018; Silva-Aparicio et al., 2021). Asimismo más del 90% de la superficie cultivada con café se encuentra bajo sombra diversificada, lo que contribuye considerablemente a conservar la biodiversidad, además de proveer servicios ambientales a la sociedad, ahora bien, este agroecosistema ha sufrido efectos negativos por diversos fenómenos, entre los que se incluyen los meteorológicos como los ocasionados por Ingrid y Manuel en el 2013 (Toscana, 2018), que afectan su rendimiento.

El Aserradero se localiza en el municipio de Iliatenco; en ésta al igual que otras poblaciones de la región Montaña, el café produce ganancias económicas para los productores dedicados a esta actividad. Sin embargo, los cafetales presenta diversos problemas como la presencia de plagas y enfermedades, lo que afecta la calidad y el rendimiento de las plantaciones. El objetivo de este trabajo fue describir cómo se lleva a cabo el cultivo en la comunidad me'phaa El Aserradero, con la

finalidad de tener un panorama más claro de su manejo y con ello contribuir con información que apoye en la planificación de áreas de mejora.

### TEORÍA

La planta de café es originaria de África Oriental, llegó a México en el año de 1796 la zona de Córdoba, Veracruz. Posteriormente, se introdujeron otras plantas a Michoacán en 1823 y a la región de Tuxtla Chico, Chiapas en 1847 (Figuroa-Hernández et al., 2019). En la segunda etapa de expansión el cultivo se extendió a nuevas regiones del país, en las que se incluye al estado de Guerrero, durante las dos últimas décadas del siglo XIX se inició en el área de La Costa Grande, en 1882 en el municipio de Atoyac de Álvarez; pero fue en 1890 cuando se da inicio a la explotación comercial (Fierro, 2019).

En México, los cafetales bajo sombra constituyen un paisaje de gran relevancia, ya que representa un refugio para la biodiversidad; sin embargo, el manejo varía en cada comunidad (Espinoza-Guzmán, 2020). Moguel y Toledo (1999) señalan que estos sistemas agrícolas y en especial los situados en áreas indígenas no cultivan solo al café, ya que lo asocian con especies útiles para la subsistencia o comercializadas; dichos autores realizan una clasificación relacionada con la diversidad en ellos (Figura 1).

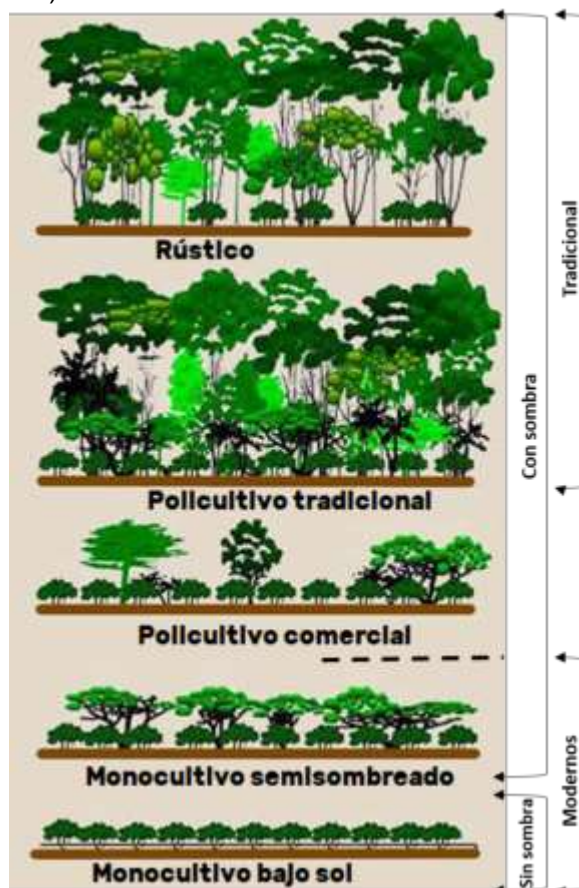


Figura 1. Los cinco sistemas de producción de café en México. Fuente: Moguel y Toledo (1996, 1999 y 2004).

Las áreas cafetaleras en México coinciden con las regiones más ricas y diversas en flora y fauna; así la mayoría de las zonas con cultivo de café se ubican en suelos de origen volcánico. El 40% de la producción en el país se realiza en sitios con selvas altas y medianas, el 23.0% en bosques de pino y encino, el 21.0% en selvas bajas caducifolias y el 15.0% en bosques mesófilos de montaña (Figuroa-Hernández et al., 2019) (Figura 2).





Figura 2. Entidades productoras de café. Fuente: elaboración propia con información de SAGARPA (2020).

Los cafetales poseen una gran variedad de especies como sombra, estudios reportan entre 11 y 60 tipos de árboles asociados (Cuadro 1), sin embargo, esta riqueza depende del manejo y de las características ambientales donde se ubican (Moguel y Toledo, 2004).

Cuadro 1. Número de especies en cafetales registrados en diversos estudios.

Grupos	Número de especies	de Región	Referencia
<b>Plantas</b>	50-150/ha	Sierra Norte de Puebla	Toledo y Moguel, 2004
	143-196/ha	Veracruz, Puebla y Guerrero	Becaugue et al., 2004
	40-190/ha	Oaxaca	Bandera et al., 2004
	85-132/ha	Chiapas	Soto et al., 2000
	90-120/ha	Guerrero y Veracruz	Rendón y Turrubiarte, 1995; Molino, 1986
<b>Árboles</b>	261 spp.	El Salvador	Moron y Gaul, 2001
	31-35/ha	Chiapas	Soto et al., 2000
	20-60/ha	Sierra Norte de Puebla	Toledo y Moguel, 2004
	13-60/ha	Guerrero y Veracruz	Rendón y Turrubiarte, 1995

Fuente: Moguel y Toledo (2004).

## METODOLOGÍA

Área de estudio. La comunidad de El Aserradero se localiza al Sur de la cabecera municipal de Iliatenco, y está constituida por 561 habitantes, el 98.93% pertenece al grupo originario me'phaa (Tlapaneco). Se ubica entre las coordenadas 1880376.48 m N y 535404.13 m E, con un promedio de altura sobre el nivel del mar de 900 metros (INEGI, 2010) (Figura 3).



Figura 3. Ubicación de El Aserradero, Iliatenco, Guerrero.

Para la caracterización del sistema se llevó a cabo un taller donde asistieron 34 productores (14 mujeres y 20 hombres), un 27% del total de El Aserradero, los cuales fueron invitados mediante una convocatoria abierta y difundida por la autoridad local, esta actividad permitió tener un acercamiento con la comunidad. A través de la construcción de una línea de tiempo se identificaron eventos relevantes para el cultivo de café, asimismo el mapeo de finca se utilizó para reconocer la composición de especies en las parcelas. Para determinar las actividades e insumos que se requieren para este sistema se empleó el cuadro de entrada y salida y e) el análisis FODA (para identificar los factores negativos y positivos que han desarrollado para su producción).

Para recabar información relacionada con los temas tratados en el taller de manera cuantitativa se aplicaron 72 cuestionarios de forma aleatoria, a los productores de El Aserradero dividido incluyendo mujeres y hombres de 22 a 89 de edad (convencionales y orgánicos) dicho instrumento incluye ocho apartados; los cuales incluían preguntas sobre la introducción del cultivo a la localidad, el manejo, la fertilización, entre otros, además de aspectos económicos. Los datos recabados se concentraron en una base Excel para facilitar su análisis utilizando estadística descriptiva.

## RESULTADOS

Antecedentes del café en la comunidad de El Aserradero. La introducción del café fue realizada por pobladores de la misma comunidad en el año 1949, trasladando plantas del municipio de Atoyac de Álvarez donde trabajaba como jornaleros. Para 1970, el número de cafetos traídos del área antes mencionada aumento, ya que se adaptó de manera exitosa a las condiciones físicos-ambientales de la zona. Así, este cultivo ganó poco a poco espacio y se convirtió en una de las principales actividades que actualmente genera gran parte de los ingresos económicos de los habitantes de El Aserradero y otras ubicadas en la región de la Montaña.

Las primeras plantas cultivadas pertenecían a la variedad Typica (reconocida como criolla); en 1975 introdujeron Caturra y Mundo Novo. Las cosechas iniciales fueron adquiridas por los intermediarios, sin embargo, el precio que pagaban por kilogramo eran muy bajo, por lo que en 1985 se creó la organización Unión de Ejidos y Comunidades Luz de la Montaña, quienes comenzaron a absorber la producción de café a precios más justos. Cabe señalar que en este periodo los pobladores de El Aserradero se percatan de la presencia de enfermedades reconocidas con los nombres de mancha de hierro y roya, las cuales no se consideraron importantes, ya que no afectaban el rendimiento del cultivo. En la última década surgió otra sociedad conocida como CAFECO Agroindustrial el Pacífico,

S.A de C.V (CAFECO), también acopiadora del grano, está ya clasifica el producto en orgánico y convencional, no obstante, el valor según los productores no presenta grandes diferencias (solo de uno a dos pesos), por lo que no es relevante realizar las labores sin agroquímicos.

Actualmente en El Aserradero está registrados 129 productores en los padrones de CAFECO y la Luz de la Montaña, los cuales son considerados para la gestión de apoyos. Asimismo 87.5% de los cafecultores están afiliados a algún programa desarrollado por distintas instituciones civiles o de gobierno (CAFECO, Comisión Nacional para el Desarrollo de los Pueblos Indígenas (CDI, ahora INPI [Instituto Nacional de los Pueblos Indígenas] o SAGARPA), de los que reciben beneficios una o dos veces por año, que incluyen la dotación agroquímicos (fungicidas y fertilizantes), además de capacitación para el control y manejo de organismos dañinos (Figura 4).

Los cafetales de El Aserradero y gran parte del municipio de Iliatenco cultivan en promedio una hectárea (con un rango de 0.25 ha mínimo - 4.0 ha máximo), las cuales se ubican principalmente en cañadas de difícil acceso, lo que ocasiona que el traslado del fruto se realice con el apoyo de jornaleros o animales de carga. El rendimiento medio reportado por los productores es de 456 kg/ha de capulín.

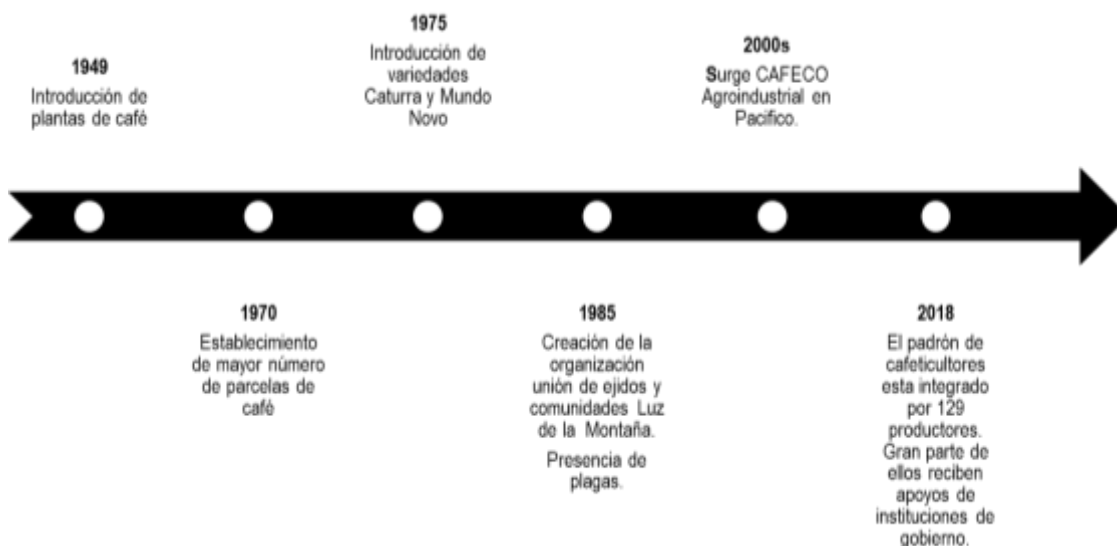


Figura 4. Línea de tiempo sobre los acontecimientos relacionados con el proceso de establecimiento de cafetales en El Aserradero, Iliatenco.

Caracterización espacial de los cafetales. Los productores de café de El Aserradero en su mayoría lo cultiva bajo sombra, utilizando para este fin árboles de cuajinicuil (*Inga spp.*), plátano (*Musa paradisiaca*), algunos cítricos (naranja, limón, toronja), mango (*Manguifera indica*), guanábana (*Annona muricata*) y aguacate (*Persea americana*), además otros de menor uso, como la ilama (*A. diversifolia*) y la parota (*Enterolobium cyclocarpum*). Gran parte de las especies registradas en las parcelas son de rápido crecimiento y contribuyen con la generación de abono orgánico para el mismo cultivo; asimismo, los frutos producidos son para el autoconsumo o para intercambio con productos de la canasta básica, el café no es el único producto del cual se obtienen beneficios. El distanciamiento entre planta y planta depende de las especies asociadas (Figura 5).



Figura 5. Representación de la distribución espacial de los cafetales de El Aserradero.

El 93.3% de los encuestados que en sus parcelas el cuajinicuil es la principal especie para sombra y la combinan con otros frutales (plátano, mango, nanche, cítricos) y maderables (parota, encino). Asimismo, el 29.17% de los productores utiliza al cuajinicuil debido a considera que el sombreado es mejor, el 37.5% porque proporciona abono orgánico, el resto señala que con la experiencia de varios años han observado que es la la ideal para este fin (Cuadro 2).

Cuadro 2. Árboles utilizados como sombra y las causas de uso.

Árboles	%
<b>Aguacate y frutales</b>	1.39
<b>Cuajinicuil y encino</b>	1.39
<b>Cuajinicuil y parota</b>	1.39
<b>Cuajinicuil y platanares</b>	2.78
<b>Cuajinicuil</b>	93.06
Causas de su uso	
<b>Proporciona mayor sombra</b>	29.17
<b>Proporciona sombra y abono orgánico</b>	16.67
<b>Por propia experiencia sé que es bueno</b>	4.17
<b>Proporciona abono orgánico</b>	37.50
<b>Por qué toda la gente la ocupa</b>	12.50

Prácticas de manejo, costos y beneficios. El manejo de cafetales incluye podas, fertilización, control de malezas, plagas y enfermedades. El 100% de los encuestados indicaron que hacen las prácticas sugeridas por los técnicos de las diferentes instituciones y organizaciones que les brinda asesorías; no obstante, solo el 63% mencionaron algunas como la Secretaria de Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), CAFECO, CDI) y El Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero (CSAEGRO), adaptándolas a las características de sus parcelas (ubicación, pendiente, tipo de suelo, distancia al área urbana, entre otras). Las actividades de cuidado llevadas a cabo por los productores y fueron mencionadas en el taller son las mismas que se plasmaron en las encuestas aplicadas (Cuadro 3). El 30% de los entrevistados señalan que realizan el mantenimiento con la ayuda de la familia, por lo que no les genera ningún costo. El otro 70% menciona que combina el trabajo familiar con el pago a jornaleros, este último con un gasto promedio de \$9 585 pesos al año, por parcela. Asimismo las labores que requieren mayor número de jornales (y por lo tanto de

inversión económica) son el deshierbe, el corte de café y la fertilización. El coste por realizar las tareas difiere, hay unas más costosa (fertilizar \$ 200 y podar \$ 225) que otras (resiembra \$ 100).

Cuadro 3. Actividades de mantenimiento de los cafetales, porcentaje de productores que lo practican, jornales promedio por actividad y costo unitario e inversión total promedio.

Actividad	No. de productores	%	Jornales	Costo unitario promedio	Trabajo Familiar	Inversión total/parcela/año
Deshierba	27	21.3	26	150	1	3 905
Corte de café	24	18.9	20	150	4	1 850
Podar	9	7.1	7	225	2	1 300
Fertilización	11	8.7	9	200	2	1 030
Control de plagas y enfermedades	6	4.7	5	150	1	600
Siembra	5	3.9	4	150	1	500
Cepas	3	2.4	2	150	1	300
Resiembra	1	0.8	1	100	0	100
Otras actividades	3	2.4	0	150	3	0
Trabajo familiar de todo el proceso	38	29.9	0	150	38	0
	127	100	74	\$157.5	53	\$9 585

El control de las plagas y enfermedades de los cafetales en El Aserradero es constante, sobre todo para la roya y la broca, principales causantes del bajo rendimiento en la última década, por lo que es de las actividades en que los cafecultores ponen más atención. El 95.8% de los productores aplican plaguicidas químicos, que obtiene a través de organizaciones como El Consejo Estatal de Café (CECAFE).

Así el 70% de los productores usa fungicida (Alto 100: Cyproconazole: (2RS, 3RS; 2RS, 3SR)-2-(4-chlorophenyl)-3-cyclopropyl-1-(1H-1,2,4-triazol-1-yl) butan-2-ol; 100 g/litro de formulación a 20 °C) para el control de la roya; el resto aplica Impact (Flutriafol. (RS)-2,4'-difluoro- $\alpha$ -(1H-1,2,4-triazol-1-yl) benzhidril alcohol. Triazoles. C<sub>16</sub>H<sub>13</sub>F<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O) y Caldo CU. Para el caso de la broca el 31.9% de los encuestados utilizan trampas (de alcohol etílico). Los diferentes programas de apoyo a los agricultores, también proporciona la capacitación para el manejo de estos productos. El 72% de los cafecultores señalan que poseen conocimientos para controlar las plagas y enfermedades. Asimismo, el 60% de ellos indica que la dosis no es adecuada, ya que no causa efecto los organismos dañinos, por es necesario aumentar la cantidad de producto (al doble) para mejorar su eficacia (Cuadro 4). La aplicación de los insumos para esta actividad se realiza dos veces al año, en enero-febrero (después de la cosecha) y en mayo-junio, no obstante, algunos campesinos realizan más, dependiendo de la severidad del ataque.

Por otro lado el 100% de los entrevistados señalan que para obtener un buen rendimiento es necesario utilizar algún tipo de fertilizante y aunque estos tienen altos costos (\$500.00 a \$1 000.00 por bulto de 50 kg), el 43% usa al menos uno de ellos (Yaramila [Nitrógeno 12% + Fósforo 11 % + Potasio 18% Crs], Granulado [N 17+ P 17%+ K 17%], Sulfato de Amonio [N 21%+ S 24%], Sulfamin 45 [N 20.5 %+ S 23.5%), 13% usan abonos orgánicos y el 38% no aplican ningún producto, el resto (6%) no respondió a la pregunta.

Cuadro 4. Forma de controlar las plagas y enfermedades, capacitación e instituciones que se las brindan.

Controla las plagas con	No. de productores	%
<b>Químicos</b>	69	95.8
<b>Trampas</b>	1	1.4
<b>Otras</b>	2	2.8
Capacitaciones		
<b>Una</b>	27	37.5
<b>Dos</b>	25	34.7
<b>Ninguna</b>	3	4.2
<b>No contesto</b>	17	23.6
Instituciones que brindan la capacitación		
<b>CAFECO</b>	10	13.9
<b>CDI (INPI)</b>	3	4.2
<b>CECAFE</b>	8	11.1
<b>CESAEGRO</b>	2	2.8
<b>LUZ DE LA MONTAÑA</b>	15	20.8
<b>NESTLÉ</b>	5	6.9
<b>PROCAFE</b>	3	4.2
Conoce las plagas que atacan a su café		
<b>Si</b>	70	97.2
<b>No</b>	2	2.8
Plagas y enfermedades que atacan el café		
<b>Broca y Roya</b>	40	55.6
<b>Ojo de gallo</b>	11	14.9
<b>Otra</b>	21	28.4
<b>Daño</b>		
<b>Alto</b>	36	50
<b>Bajo</b>	33	45.8
<b>No contesto</b>	3	4.2

Según el 70% de los productores entrevistados, la inversión inicial se recupera después de tres años a partir de la siembra con dos a tres costallillas (sacos de 50 kg) por hectárea en café seco. De los 74 cafecultores encuestados 67 (90%) vende su producto en capulín, el resto en cereza, oro y molido (8.7%), el 1.3% señala que obtiene el pergamino pero es para autoconsumo. La ganancia promedio es de \$ 7 960 peso por la venta en capulín cuadro 5.

Cuadro 5. Ganancias promedio por el producto obtenido del café.

Tipo de producto	No. de productores	%	Ganancia en peso (\$) promedio/parcela/año
<b>Café molido</b>	2	2.7	4 680.0
<b>Café oro</b>	2	2.7	12 400.0
<b>Capulín</b>	67	90.5	7 961.0
<b>Cereza</b>	2	2.7	3 400.0
<b>Pergamino</b>	1	1.35	0.0
<b>Total</b>	74	100	4 740.0
Promedio			\$8 090.9

Cabe señalar que los encuestados no mencionaron el número de parcelas que cultivan, aun así, el promedio de inversión es de \$ 9 585 y la ganancia por productor es de \$8 090. Asimismo la correlación realizada no es significativa, ya que el resultado de  $r = 0.22$  y  $r^2 = 0.21$ , muestra que las

ganancias no dependen de la aplicación de recursos, esto debido a que parte de las familias de El Aserradero no integran en los costes, la mano de obra familiar. Sin embargo, la prueba de *t* indica diferencias significativas entre dichas variables como  $t_{gl,69} = 8.28, P=0.00$ ; lo cual se observa en la figura 6.

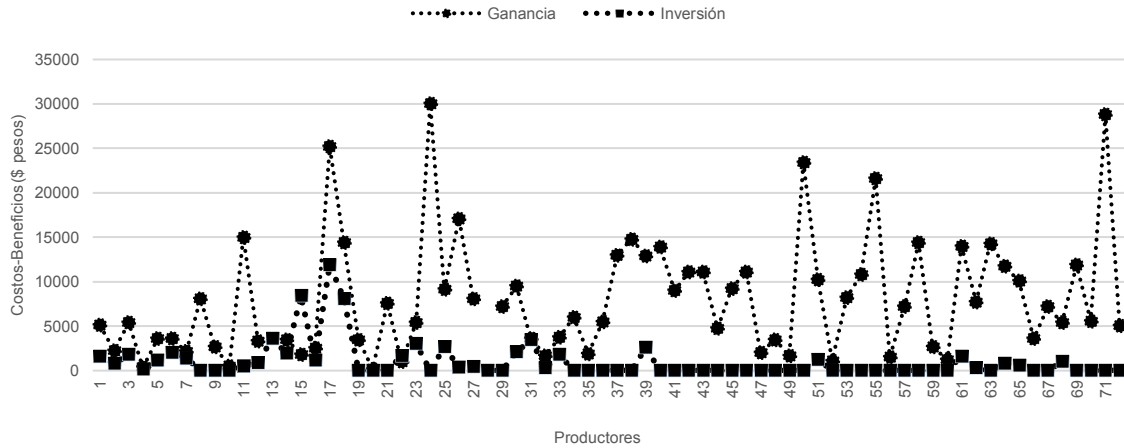


Figura 6. Representación de los costos-beneficios por productor de El Aserradero, Iliatenco.

Otro de los beneficios del cultivo de café es la obtención de frutos como el plátano, guanábana, cítricos (limón dulce, naranja, lima, mandarina y toronja), entre otros, además de diversas variedades de chiles y quelites.

Análisis FODA. Los productores de El Aserradero señalan como parte de sus fortalezas contar con comercializadora de café; no obstante, una de las debilidades es su baja eficiencia (Figura 7), ya que funcionan a manera de intermediarios, fijando el precio, considerando la oferta y la demanda. Una oportunidad señalada por los cafeticultores es la presencia en la región de la empresa Nestlé, que los apoyará para exportar producción.

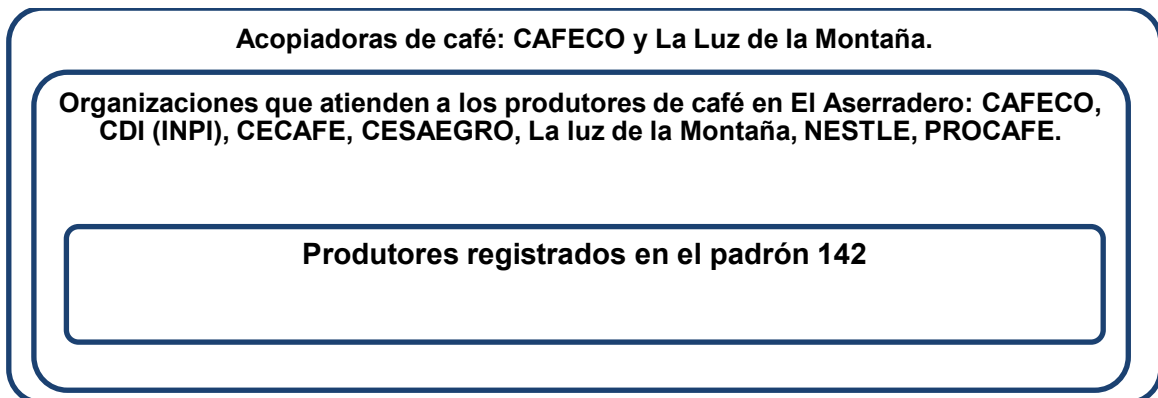


Figura 7. Organizaciones que acopian el café producido en El Aserradero, Iliatenco.

En cuanto a las amenazas y debilidades se inscribe el aumento de plagas y enfermedades, las cuales han intentado controlar con productos químicos, sin lograr grandes resultados. Por último el grano de café por sí solo, no es el único producto que se puede aprovechar del cafeto, ya que también pueden utilizarse de los tallos para combustible, además de obtener semilla para establecer viveros y conseguir nuevas plantas.

**CONCLUSIONES**

La introducción del cultivo de café a la comunidad fue debido a que parte de los pobladores de ésta trabajaron en la región cafetalera de Atoyac de Álvarez, con el apoyo de técnicos de distintas

instituciones han ido mejorando las prácticas, además los productores han ido adaptando cada una de ellas a las condiciones de sus parcelas.

La configuración de cafetales depende de cada uno de los productores, que crecen bajo sombra combinados con especies multiusos, lo que permite obtener una amplia diversidad de productos alimenticios, maderables y medicinales, que cubren algunas de las necesidades diarias de las familias de la comunidad de El Aserradero.

Los cafecultores de la comunidad de estudio llevan a cabo las prácticas de manejo que todo cultivo requiere y fueron aprendidas en los cafetales de Atoyac de Álvarez y han sido adaptadas las características ambientales de las parcelas. La deshierba y corta de café son las actividades que requieren mayor inversión de trabajo y recursos económicos. Asimismo se obtienen ganancias, ya que, gran parte de las labores lo realizan los integrantes de cada familia sin ninguna remuneración alguna, por lo que la correlación entre costos y beneficios no es fuerte.

Los cafecultores señalan como fortaleza la existencia en la zona, de sociedades que faciliten la comercialización del café; sin embargo, también forman parte de las debilidades porque aún son intermediarios. Consideran una oportunidad, exportar su producto, ya que en la región está presente la empresa Nestlé. Asimismo la presencia y el aumento de plagas y enfermedades son una amenaza muy fuerte.

En el sistema de producción de café de la comunidad de El Aserradero se observa que los costos y beneficios están siendo afectados por las plagas y enfermedades, ya que hasta el momento los métodos de control (incluidos los químicos) no han sido del todo eficientes, por lo que afecta la calidad y el rendimiento del producto, a pesar del apoyo recibido de diferentes organizaciones y dependencias gubernamentales, por lo que resulta necesario buscar alternativas que ayuden a mejorar el cultivo y así mantener las ganancias para los cafecultores.

## BIBLIOGRAFÍA

1. A. Tomás-Torres, B. Delgado-Alvarado, E. Herrera-Cabrera, S. Vargas-López, "Sistema de producción de café (*Coffea arabica* L.) en la comunidad del Cerro Cuate, Iliatenco, Guerrero", *Agroproductividad*, Vol. 11, 2018, pp. 157-163.
2. A. Toscana, F. A. Villaseñor, "Las tormentas Ingrid y Manuel en la Montaña de Guerrero. La atención de la emergencia". *Sociedad y Ambiente*, Vol. 16, 2018, pp. 59-89.
3. CEDRSSA, Investigación Interna. "Comercio internacional de café, el caso de México". Palacio Legislativo de San Lázaro. (Cámara de diputados, México, 2019). 13p.
4. E. Figueroa-Hernández, F. Pérez-Soto, L. Godínez-Montoya, "Los precios de café en la producción y las exportaciones a nivel mundial". *Revista Mexicana de Economía y Finanzas Nueva Época* Vol. 14, 1, 2019, pp. 41-56.
5. H. González, J. Hernández, "Zonificación agroecológica del *Coffea arabica* en el municipio Atoyac de Álvarez, Guerrero, México". *Boletín de Investigaciones Geográficas*, Vol. 90, 2016, pp. 106-118.
6. INEGI, "Marco geoestadístico Municipal", (Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática, 2010), <https://www.inegi.org.mx/temas/mg/>.
7. M. A. Espinoza-Guzmán, L. R. V. Sánchez, M. R. L. Pineda, F. J. S. Shagún, D. B. Aragonés, Z. F. G. Reyes, "Dinámica de cambios en el agroecosistema de cafetal bajo sombra en la cuenca alta de La Antigua, Veracruz", *Madera y Bosques*, Vol. 26 (2), 2020, pp. 1-13.
8. M. L. Fierro, "La economía social y solidaria en la producción de café en Guerrero, México". In: *Abordajes teóricos, impactos externos, políticas públicas y dinámica económica en el desarrollo regional*. Universidad Nacional Autónoma de México y Asociación Mexicana de Ciencias para el Desarrollo Regional A.C, Coeditores, Ciudad de México. 2019.
9. M. Silva, C. Pacheco, E. Pacheco, B. López, F. Ramírez, "Caracterización ecológica de los cafetales de la comunidad Me'phaa El Aserradero, Iliatenco, Guerrero", *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, Vol. 8 (1), 2021, pp. 1-10.
10. N. Ortiz-Romero, S. Ayvar-Serna, A. Mena-Bahena, J. A. Alcántara- Jiménez, "Etiología, incidencia y severidad de enfermedades fungosas foliares del cultivo de cafeto". *Foro de Estudios sobre Guerrero*. Vol. 1, 1, 2014, pp. 59-65.



11. P. Moguel, V. M. Toledo, "Biodiversity conservation in traditional coffee systems of México". *Conservation Biology*, Vol. 13, 1999, pp. 11-2.
12. P. Moguel, V. M. Toledo, "El café en México, ecología, cultura indígena y sustentabilidad", *Ciencias*, Vol. 43, 1996, pp. 40-51.
13. P. Moguel, V. M. Toledo, "Conservar produciendo". *Biodiversitas*, 55, 2004, pp. 1-16.
14. SAGARPA "Planeación agrícola nacional", México, SAGARPA, 20p.

## FORMACIÓN DE CONSORCIOS MICROBIANOS PARA MEJORAR EL CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE LAS PLANTAS CON RIZOBACTERIAS Y HONGOS ENDOFITOS

Teresita de Jesus Quiroz Segoviano, Blanca Estela Gómez Luna, Adán Topiltzin Morales Vargas, César Díaz Pérez, Rafael Alejandro Veloz García

Universidad de Guanajuato  
[be.gomez@ugto.mx](mailto:be.gomez@ugto.mx)

### RESUMEN

A partir de la revolución verde se tuvo gran impacto en el incremento de la productividad agrícola debido al uso de diversos agroquímicos entre fertilizantes y pesticidas, tras ello, se manifestaron problemas de sostenibilidad económica, social y ambiental. A consecuencia, se planteó el cómo continuar, en términos de mantener la productividad y rentabilidad de los sistemas de producción agrícola, sin tener en cuenta el cuidado del medio ambiente o de los recursos naturales. En la actualidad se sabe que los consorcios microbianos pueden ser una alternativa para disminuir el uso de agroquímicos. Los principales grupos de interés son los hongos endófitos y las bacterias promotoras del crecimiento vegetal o rizobacterias. Su uso individual incrementa el crecimiento de plantas y ayuda en la defensa hacia ciertos depredadores naturales. Es de gran interés encontrar si existen consorcios mutualistas entre bacterias y hongos endófitos, para así potenciar los beneficios que estos ofrecen.

Los hongos endófitos pueden proteger a la planta contra factores bióticos y abióticos, además de producir metabolitos alelopáticos, esto quiere decir que impide el crecimiento de otros microorganismos alrededor de este. Los mecanismos de protección se dividen en tres, directos, indirectos y ecológicos. El mecanismo directo de protección se caracteriza por la producción de enzimas o metabolitos secundarios, por otro lado, el mecanismo indirecto tiene la capacidad de producir la inducción de mecanismos de defensa químicos y fisiológicos de la planta.

Los efectos de las rizobacterias pueden ser directos o indirectos, los efectos directos son la fijación de nitrógeno atmosférico, producción y síntesis de sideróforos, solubilización de minerales y la síntesis de fitohormonas. Los efectos indirectos son el biocontrol de fitopatógenos, producción de antibióticos y reducción de hierro. La aplicación de estas bacterias puede ser por medio de inoculación de semillas, sustratos, plántulas, follaje y frutos.

En la actualidad ha aumentado el interés por las interacciones que existen entre diversos microorganismos que promueven el crecimiento y protección de las plantas, debido a que se sabe que estos grupos tienen un amplio campo de aplicación, además, el mercado y las condiciones ambientales exigen el uso de estas nuevas alternativas.

Se probaron las interacciones entre 24 cepas de hongos endófitos y 34 rizobacterias lo que dio 420 combinaciones para identificar las interacciones positivas hongo-rizobacteria, consorcios que tengan potencial de uso en plantas. Las interacciones se probaron en cajas Petri con medio de cultivo PDA, se colocó una muestra de micelio del hongo en el centro y 4 aislados de rizobacterias en las orillas, se incubaron a 28°C por 7 días con revisión cada día. Se identificaron 50 interacciones positivas, esto se desarrollaron in vitro de forma adecuada y no presentaron competencia, característica deseable para formar los consorcios y aplicar juntos como biofertilizantes.

En conclusión, los aislados de rizobacterias y hongos endófitos tienen la capacidad de mejorar el crecimiento de plantas y el generar consorcios (combinación de los aislados) tienen el potencial de combinar los beneficios de ambos grupos microbianos así el mejoramiento del crecimiento, desarrollo y protección de las plantas.

### INTRODUCCIÓN

Desde el comienzo de la agricultura intensiva se han utilizado sustancias químicas para erradicar y controlar microorganismos u organismos indeseables, así como, agroquímicos que aumentan la productividad de los cultivos. Se tiene registro del siglo XIX cuando se comenzó a utilizar azufre para eliminar hongos, así como el uso de arsénico para eliminar roedores. En la era de los fumigantes y derivados del petróleo, se descubrió la acción plaguicida con base a algunos compuestos, tales como el azufre, cobre, arsénico, piretrinas (sustancias obtenidas de los pétalos del crisantemo) y el fósforo.

También compuestos como ácido carbónico y fénico, el sulfato de cobre con cal (caldo de Burdeos), acetoarsénico de cobre (verde de París) y diversos fumigantes como el disulfuro de carbono y el bromuro de metilo (Del Puerto et al., 2014).

A partir de la revolución verde se tuvo gran impacto en el incremento de la productividad agrícola, tras ello, se manifestaron problemas de sostenibilidad económica, social y ambiental. Posteriormente, se planteó el cómo continuar, en términos de mantener la productividad y rentabilidad de los sistemas de producción agrícola, sin tener en cuenta el cuidado del medio ambiente o de los recursos naturales. Luego de décadas del uso desmedido de agroquímicos, actualmente hay estudios que demuestran que el uso de fertilizantes químicos no es del todo eficaz ni económico, debido a que se considera que aproximadamente el 50% no es aprovechado por la planta, sino que se pierde en procesos de lixiviación o debido al contacto con ciertos cationes presentes en el suelo, la presencia de estos cationes provoca reacciones químicas, haciendo insolubles los fertilizantes, por lo tanto, la absorción por la planta se ve afectada. Autores como Espinoza (2020) mencionan que entre el 60 y 90 % del fertilizante total aplicado se pierde, y sólo entre el 40 y 10 % restante es aprovechado por las plantas. El contenido del suelo está regulado por varios aspectos, como el contenido de carbono orgánico, humedad, nitrógeno, fósforo y potasio, así como otros factores bióticos y abióticos. Sin embargo, el uso indiscriminado de agroquímicos, en especial aquellos que proporcionan nitrógeno y fósforo, ha provocado una contaminación sustancial del suelo al reducir el pH y las bases intercambiables; por lo tanto, hacer que estos nutrientes no estén disponibles para los cultivos conduce a una pérdida de productividad (Gouda et al., 2018).

Tras conocer las pérdidas económicas y de observar el deterioro que hay en nuestros ecosistemas, se han buscado prácticas adecuadas y el empleo de nuevas alternativas que disminuyan el daño ambiental, buscando beneficios para el productor, el mercado y nuestro planeta (Pedraza et al., 2010).

En la actualidad se sabe que los consorcios microbianos pueden ser una alternativa para disminuir el uso de agroquímicos. Los principales grupos de interés son los hongos endófitos y las bacterias promotoras del crecimiento vegetal, este último grupo conocido como PGPR (por su acrónimo en inglés "Plant Growth Promoting Rhizobacteria"). Por ello, es de gran importancia el estudio de las interacciones que existen entre ellos y así lograr potenciar sus funciones benéficas (consorcio-planta) y tener un lugar en el mercado (Santoyo et al., 2010).

## TEORÍA

En la rizósfera existen diversos microorganismos que se alimentan de los exudados de la planta y a su vez, fortalecen el equilibrio biológico y ambiental del suelo. La rizósfera suele dividirse en endorizósfera que es el espacio intercelular entre los tejidos radicales colonizados por microorganismos, la ectorizósfera que es el compartimiento de suelo asociado a la raíz hasta un distanciamiento de 5 mm y finalmente, el rizoplano que es la interfaz entre el suelo y la raíz (Espinoza et al., 2020).

La concentración de bacterias en la rizósfera es aproximadamente de 10 a 1000 veces mayor que en el suelo a granel, pero menor que en un medio de laboratorio. Para mantener sus efectos beneficiosos en el entorno de la raíz, las bacterias deben competir bien con otros microbios de la rizósfera por los nutrientes secretados por la raíz (Gouda et al., 2018).

Existen grupos de bacterias capaces de transformar el nitrógeno atmosférico, reduciéndolo en compuestos disponibles para otros microorganismos y plantas. Este tipo de bacterias suelen usarse como parámetros en la calidad del suelo. La calidad del suelo en los ecosistemas ya sean naturales o modificados se evalúa por la capacidad para mantener o mejorar la productividad vegetal y animal, la calidad del agua-aire y habitabilidad, así como la salud humana (Benjumeda, 2017). Para que los cultivos y el suelo tengan una buena respuesta a los inoculantes, es necesario conocer la interrelación entre el inoculante y la microbiota nativa, pues de no existir buena interrelación, es posible que existan inconvenientes en el ciclado de nutrientes y compuestos orgánicos (Del Puerto et al., 2014). La participación de las bacterias en la transformación depende del estado fisiológico y actividad enzimática de éstas, además de la biodisponibilidad de los elementos a transformar y la competencia entre los microorganismos presentes en el suelo (Pedraza et al., 2010). Por lo general, las etapas del ciclado de nutrientes están regidas por bacterias, debido a que éstas se alimentan de compuestos como celulosa, hemicelulosa y lignina. Sin embargo, otros microorganismos presentes

en el suelo, también se alimentan de dichos polímeros, pues tienen la capacidad de degradarlos y a su vez, convertirlos en compuestos más sencillos para que puedan ser aprovechados por otros grupos de microorganismos presentes en el suelo (Pedraza et al., 2010).

Los hongos endófitos pueden proteger a la planta contra factores bióticos y abióticos, además de producir metabolitos alelopáticos, esto quiere decir que impide el crecimiento de otros microorganismos alrededor de este. Los mecanismos de protección se dividen en tres, directos, indirectos y ecológicos (Sanchez et al., 2013). El mecanismo directo de protección se caracteriza por la producción de enzimas o metabolitos secundarios, por otro lado, el mecanismo indirecto tiene la capacidad de producir la inducción de mecanismos de defensa químicos y fisiológicos de la planta (Simuco et al., 2017; Sanchez et al., 2013). El mecanismo de protección ecológico es por medio de predación o hiperparasitismo (Sanchez et al., 2013).

Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR), pueden ser aerobias anaerobias o anaerobias facultativas (Loredo et al., 2004). Se encuentran en la rizósfera y son microorganismos que tienen la capacidad de estimular el crecimiento de ciertas especies vegetales, se caracterizan por su eficiencia fijando nitrógeno, solubilizando fosfatos (orgánico e inorgánico), produciendo compuestos indólicos, así como en la descomposición de residuos de cultivos, mineralización de materia orgánica e inmovilización de nutrientes minerales (Espinosa et al., 2020). Las PGPR modifican la fisiología de las plantas y las propiedades nutricionales del suelo. Además, se ha demostrado que incrementan la absorción de compuestos como calcio, potasio, hierro, cobre y zinc, mediante la producción de ácidos orgánicos por la planta y la disminución del pH por las PGPR. (Loredo et al., 2004; Espinosa et al., 2020).

Los mecanismos de las PGPR pueden ser directos o indirectos, los efectos directos son la fijación de nitrógeno atmosférico, producción y síntesis de sideróforos, solubilización de minerales, la síntesis de fitohormonas, así como la producción de ACC desaminasa, antibióticos, enzimas, competencia, cianuro de hidrógeno, RSI y la extinción del quórum (Oluwaseyi et al., 2017). Los mecanismos indirectos de las PGPR son por medio de la inhibición del crecimiento de otros microorganismos, generalmente patógenos. Es decir, el bio-control de fitopatógenos principalmente por la producción de antibióticos y reducción de hierro. En la actualidad la aplicación de estas bacterias puede ser por medio de inoculación de semillas, sustratos, plántulas, follaje y frutos (Virgen, 2011; Pedraza, et al., 2010).

## PARTE EXPERIMENTAL

De colecciones ya existentes de hongos endófitos y de bacterias promotoras del crecimiento vegetal, se generó un duplicado de las 24 cepas de hongos y de 52 cepas bacterianas. La obtención de los duplicados de hongos se hizo mediante el uso de papeles que contenían el inóculo, posteriormente en condiciones estériles los inóculos se colocaron en una caja Petri con medio PDA. Las condiciones de crecimiento para los hongos fueron: temperatura de 28°C durante un periodo de 7 días en una incubadora, evitando el cambio de temperatura y controlando la luz de los alrededores. Finalmente, se almacenaron en un refrigerador a una temperatura de 18°C.

Las bacterias se obtuvieron de una colección ya existente, el inóculo se encontraba contenido en cajas Petri con medio PDA. Para generar las copias de las PGPR se tomó el inóculo y se sembró en un medio dextrosa papa, contenido en cajas Petri estériles. Las condiciones de crecimiento y almacenaje fueron similares a la de los hongos, con la diferencia de que el periodo de crecimiento fue de 1 a 3 días, con una temperatura aproximada de 28°C.

Se hicieron alrededor de 950 interacciones in vitro, con un duplicado de cada una. Para esto, se preparó medio dextrosa papa (PDA) y posteriormente se vació en cajas Petri estériles. Las cajas con medio PDA se utilizaron para colocar inóculos de hongos y bacterias. Finalmente, se colocó 1 hongo en el centro de la caja y 4 bacterias alrededor de él, como se muestra en la figura 1.

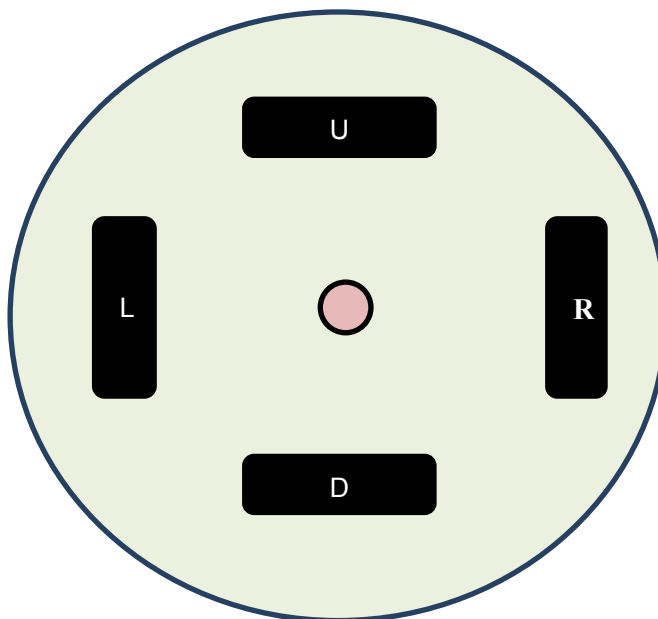


Figura 1. Ejemplo de la interacción entre 1 hongo- 4 bacterias

La sigla U indica que se encuentra en la parte superior; D indica que se encuentra en la parte inferior; L indica que se encuentra en la parte izquierda de la caja; R indica la cepa presente en la parte derecha de la caja.

Una vez realizada la siembra de las bacterias y hongos en las cajas preparadas con PDA, fueron selladas con un film plástico y se rotularon, posteriormente se almacenaron en una habitación con poca luz, a una temperatura aproximada de 24 °C en un periodo de tiempo de aproximadamente 8 a 10 días.

Una vez pasado el tiempo de incubación de las interacciones, se realizó el análisis de éstas. Una vez observadas las interacciones obtenidas, se procedió a tomar fotos de las cajas que contenían las interacciones, para esto, se utilizaron dos fondos, un fondo negro y otro blanco. Para tomar las fotos, se utilizó la cámara del celular LG G4 Beat de 14 mega pixeles y la cámara Sony de 32 mega pixeles. Es importante tomar en cuenta el fondo en que las interacciones se colocaran para la toma de imagen, debido a que las diferentes cepas de hongos y bacterias tienen coloraciones diversas, por ello, para facilitar la visualización de las interacciones y proporcionar un análisis certero, se seleccionaron dos fondos (blanco y negro). En el presente trabajo se usaron géneros de hongos *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* y otros hongos que aún no son caracterizados, estos géneros pueden pigmentar el medio con colores rojo, morado, verde y negro.

## RESULTADOS

Como se mencionó anteriormente en el capítulo dos, las interacciones se dan por medio de señalizaciones producidas al estar en contacto con ciertos compuestos volátiles o que difunden en el medio. Si bien, se consideró como interacción positiva a la invasión del hongo por medio de esporas o micelios hacia la cepa bacteriana presente en el medio. Es decir, si se permitía el desarrollo del hongo desde el centro de la caja Petri hacia las paredes. En varios casos el hongo logró colonizar diversas partes de la caja Petri, hasta llegar a la bacteria, cubriéndola completa o parcialmente. Por otra parte, en algunos casos la bacteria generó colonias de mayor tamaño evitando la invasión del hongo, lo que se consideró una interacción negativa, debido a que se observó la inhibición de ambos microorganismos. En algunos casos la interacción del hongo se percibe arriba y debajo de la bacteria, con la generación de micelios y/o esporas. Cabe resaltar, que generalmente

el micelio se observó con mayor claridad en el fondo negro, mientras que en el fondo blanco fue posible visualizar la esporulación presente en el medio. En las figuras se observan letras U, D, L y R, las cuales indican a que cepa se están refiriendo, es decir, la sigla U indica la cepa en la posición superior, D indica la cepa en la parte inferior, L indica la cepa en la parte izquierda y finalmente, R indica la cepa en la parte derecha de la caja.

La figura 2, el cual cuenta con una coloración verdosa y pertenece al género *Aspergillus*. Las interacciones con la bacteria 266,111,317 y 265 son consideradas negativas pues no se logra visualizar la invasión por parte del hongo hacia la bacteria. Lo cual indica que existe una relación antagonista entre los microorganismos presentes en la caja Petri.

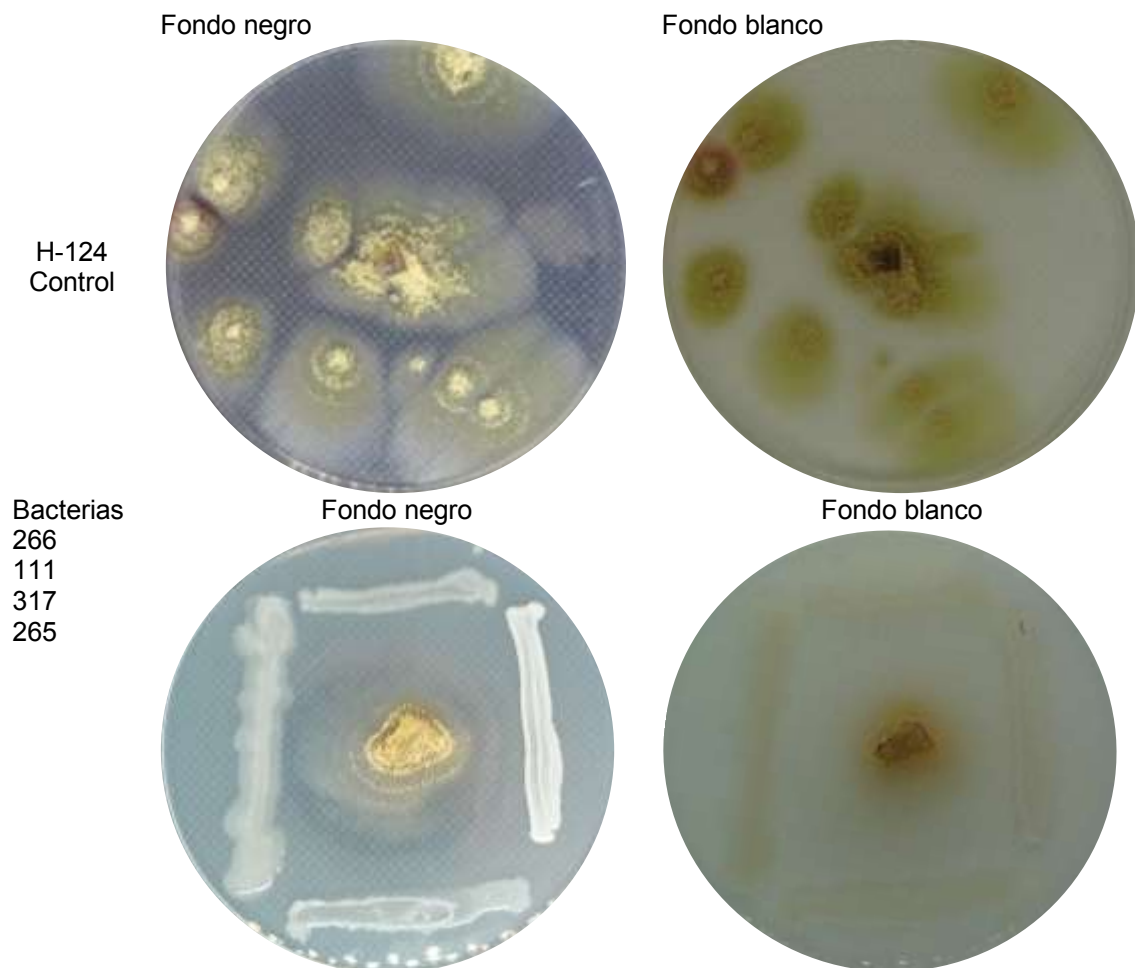


Figura 2. Interacciones con el hongo *Aspergillus*.

La cepa *Fusarium* H-3, tienen una coloración blanca y en el centro tiende a ser de color violeta (figura 3).

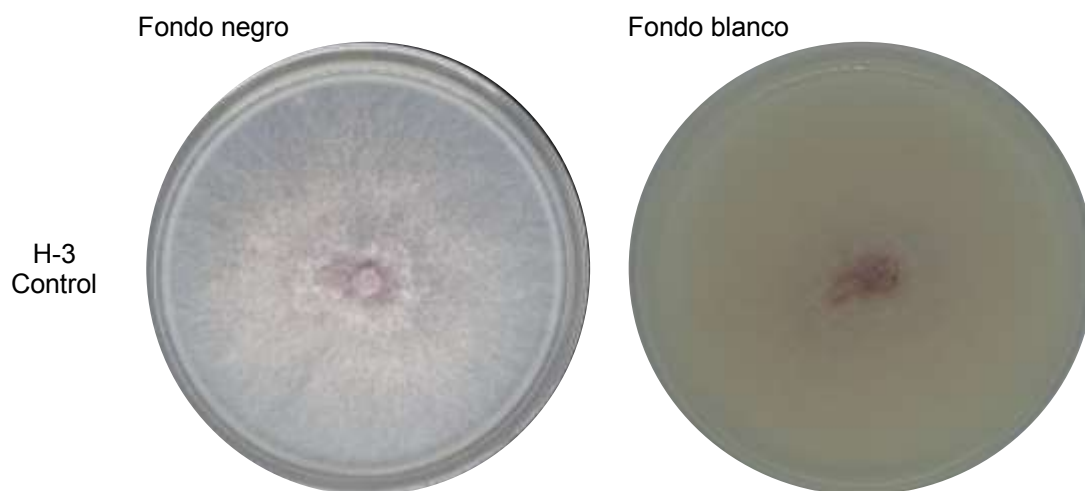


Figura 3. Control del hongo *Fusarium* H-3.

Las cepas 275 y 305 tuvieron interacción negativa con el hongo. Principalmente en el fondo negro es posible observar la inhibición del hongo (figura 4). Mientras que, en el fondo blanco, se observa la coloración violeta que inclusive logra decolorar la cepa 275, presente en la parte superior de la caja.

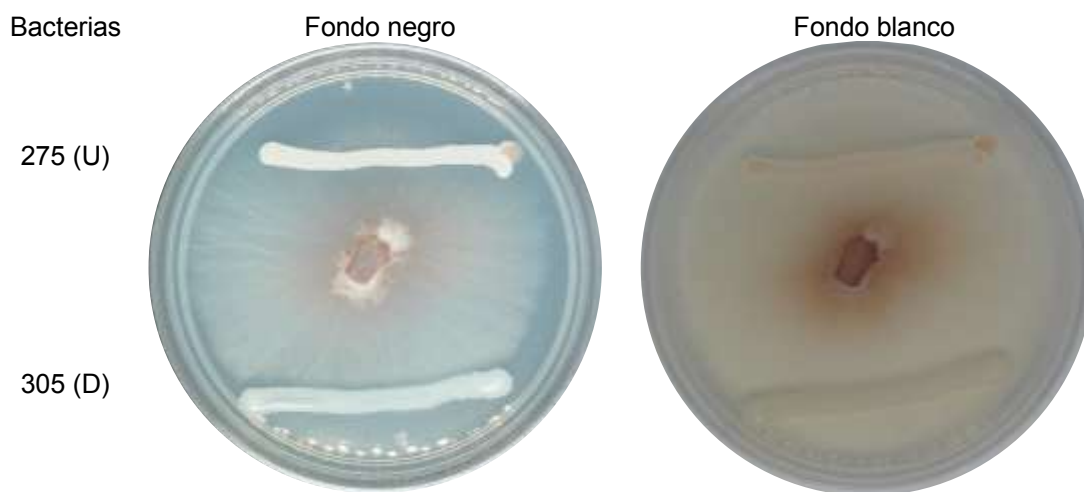


Figura 0 Interacción de cepas 275 (-) y 305 (-) con el hongo *Fusarium* H-3.

Las cepas utilizadas en las interacciones in vitro han sido estudiadas y se ha comprobado la efectividad que tienen en cuanto a los beneficios en el crecimiento de material vegetal. En este estudio, se observó el comportamiento de las cepas como una comunidad mutualista y hasta el momento no se aplicaron en modelos vegetales, por lo cual, la efectividad de cada una de las interacciones obtenidas no ha sido evaluada. Sin embargo, tras tener información del comportamiento mutualista de estos microorganismos en forma individual, es decir, en una interacción hongo-planta, o bien, bacteria planta, se espera que al estar en una interacción tripartita (hongo-bacteria-planta) el desarrollo y los beneficios sean tangibles.

En este trabajo únicamente se clasificaron las interacciones en positivas y negativas (inhibición o antagonismo), mientras que en el trabajo de Aguilar (2018) menciona que la clasificación de las

interacciones que utilizaron fue: sumamente positiva, positiva, antagonista e inhibidora. Obteniendo interacciones sumamente positivas con las cepas bacterianas *Nocardia cerradoensis* y *Bacillus sp.* con el hongo micorrícico *Thanatephorus sp* (RG26). Además, Autores mencionan que las interacciones antagonistas ocurren por la competencia por los nutrientes o por el espacio que existe entre los diversos microorganismos presentes en el medio (Aguilar et al., 2018). Algunas bacterias inoculadas in vitro suelen producir COVs en el medio, a simple vista se distinguen por presentar inhibición. Además, se menciona que esta inhibición se debe a la alta concentración de metabolitos secretados por la bacteria hacia el medio de cultivo, y al recibir señales de la presencia de los metabolitos, el hongo se ve limitado en su desarrollo, provocando el crecimiento hacia direcciones en donde la concentración de estos metabolitos es menor (Macedo et al., 2011).

## CONCLUSIONES

Las interacciones obtenidas pueden tener un lugar importante en el mercado o bien, en la investigación, ya que, no solo pueden funcionar como una alternativa frente a los agroquímicos, sino que, tienen funciones diversas tales como la biorremediación y el aumento en la calidad del suelo y consigo trae beneficio, tras beneficio. Aún queda un camino largo en cuanto a la aplicación de material vegetal, entre otros estudios. Para la aplicación de los consorcios es necesario que se tome en cuenta que todas las comunidades de microorganismos tienen un microhábitat peculiar que depende de la especie hospedera, tipo de raíz y la composición de los exudados radiculares. Estos factores influyen en la producción de diversos compuestos volátiles, lo que involucra el crecimiento de las plantas.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Aguilar Díaz, T., Bertolini, V., Carrillo castañeda, G., Guillén Navarro, G. K., García Farjado, L. V., & Castro Chan, R. A. (2018). Rizobacterias promotoras from *Guarjanthe skinneri* (Orchidaceae). *Revista de Biología tropical*, 953-968.
2. Benjumeda Muñoz, D. (04 de 07 de 2017). Bacterias promotoras del crecimiento vegetal: Mecanismos y aplicaciones. Sevilla, España. Obtenido de <https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/65140/BENJUMEA%20MU%20D1OZ,%20DANIEL.pdf;jsessionid=3A8B1EE837ECB07058037B42EC3CE0E3?sequence=1&isAllowed=y>
3. Del Puerto Rodríguez, A., Suárez Tamayo, S., & Palacio Estrada, D. (2014). Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. *Revista cubana de higiene y epidemiología*, 372-387.
4. Espinosa Palomeque, B., Cano Ríos, P., Preciado Rangel, P., Rodríguez Ortiz, J., Moreno Reséndez, A., & Reyes Carrillo, J. (2020). Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal en la agricultura sustentable. Chapingo: Reporte de investigación Num. 97.
5. Gouda, S., Rout George, K., Gitshee, D., Spiros, P., Han-Seung, S., & Jayanta Kumar, P. (2018). Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agricultura. *Microbiological Research*, 131-140.
6. Loredo Osti, C., Reyes Lopez, L., & Espinosa Victoria, D. (2004). Bacterias promotoras del crecimiento vegetal asociadas con gramíneas: una revisión. *Tierra Lationoamericana*, 225-239.
7. Macedo Castillo, A., Lara Reyna, J., & Martínez Hernández, A. (2011). Rizobacterias Aisladas del Trópico Húmedo con Actividad Antagónica sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, Evaluación Cuantitativa e Identificación Molecular. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 11-30.
8. Pedraza, R., S. Texeira, K., Fernández Scavio, A., García de Salamone, I., E. Baca, Oluwaseyi, S., R. Glick, B., & Oluranti Babalola, O. (2017). Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. *World J Microbiol Biotechnol*, 33:197.
9. Sanchez Fernandez, R. E., Sanchez Ortiz, B. L., Sandoval Espinosa, Y., Ulloa Benitez, A., Armendariz Guillen, B., Garcia Mendez, M., & Macias Rubalvaca, M. (2013). Hongos endófitos: fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos con utilidad en agricultura y medicina. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*.



10. Simuco, D., C. Pérez, A., & Moreno, N. (2017). Evaluación de la actividad fungicida e identificación de compuestos orgánicos volátiles liberados por *Trichoderma viride*. Revista Colombiana de Biotecnología, 63-70.

## ACTIVIDAD HEMOLÍTICA, BACTERICIDA Y CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA PARCIAL DEL EXTRACTO METANÓLICO DE *URTICA DIOICA* L. VAR. *ANGUSTIFOLIA* SCHLTDL.

David Barrón Busch, Catalina Leos Rivas, Catalina Rivas Morales, David Gilberto García Hernández

Univeridad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas  
david.garciahrz@uanl.edu.mx

### RESUMEN

*Urtica dioica* es una planta utilizada en la medicina tradicional y sus extractos se han probado para observar su eficiencia antibacteriana donde ha mostrado mayor efecto en bacterias Gram negativas respecto a las Gram positivas. El objetivo de este trabajo fue determinar la actividad antimicrobiana del extracto metanólico de *U. dioica* L. y su capacidad hemolítica sobre eritrocitos humanos. El material vegetal fue adquirido comercialmente por medio de la empresa Pacalli® y se obtuvo el extracto por medio de maceración, para luego eliminar el solvente mediante evaporación a presión reducida, después se colocó el extracto en una estufa de secado a una temperatura no mayor de 40°C para eliminar restos del solvente y así obtener el porcentaje de rendimiento. Para evaluar la toxicidad en eritrocitos humanos se realizaron pruebas hemolíticas donde se utilizó sangre humana grupo O+, PBS y el extracto para obtener el porcentaje de hemólisis, resultando un 2.41% de hemólisis a una concentración de 200 ppm. Para la determinación de la actividad antimicrobiana y su CMI se utilizó la técnica de microdilución con las cepas *Staphylococcus aureus* ATCC BAA-44 (Gram positiva) y *Acinetobacter baumannii* ATCC 15308 (Gram negativa), el extracto presentó actividad antibacteriana a una concentración de 200 ppm ante ambas cepas. Estos resultados nos indican una posible eficacia contra otras bacterias de importancia clínica lo que podría presentar una alternativa para inhibir el crecimiento microbiano y además un bajo porcentaje de hemólisis a esta concentración.

### INTRODUCCIÓN

La introducción de los antibióticos a la medicina fue una de las invenciones más importantes para el control de enfermedades, pero debido al abuso y la utilización inadecuada de estos las bacterias han desarrollado cierta resistencia a fármacos comerciales, ocasionando una búsqueda de métodos alternativos para su control, uno de los métodos fue el uso de metabolitos secundarios de las plantas. Estos son compuestos derivados del metabolismo primario de las plantas que funcionan como mecanismo de defensa, entre otras. Se ha comprobado que estos componentes activos pueden inhibir el crecimiento microbiano (Hernández, 2018).

Los microorganismos durante siglos se han enfrentado con compuestos diversos, de los que hoy derivamos nuestros actuales antibióticos, y por consecuencia pueden actualmente tener resistencia de entrada (Wellington EMH, 2013). Hoy la gran mayoría de los procesos infecciosos se resuelven con tratamiento, pero es cada vez más frecuente encontrar en nuestra práctica y en los reportes científicos ejemplos de una amplia resistencia a los antibióticos (Hidron A, 2008 y Liu Y-M, 2012). En este sentido, la búsqueda de compuestos activos comenzó a dar un giro importante, teniendo como objetivo utilizar los metabolitos de las plantas con actividad biológica contra hongos, virus o cepas bacterianas, y en los últimos años aquellas que son resistentes a antibióticos. Por lo tanto, la estrategia de búsqueda de metabolitos novedosos se cambió lentamente en muchos laboratorios (Yung, 1997).

### TEORÍA

En México existen alrededor de 23,000 plantas, las cuales 11,600 se consideran endémicas. Muchas de estas especies se han utilizado para tratar malestares como son parásitos, inflamación, infecciones, gripe, entre otros síntomas. Las plantas medicinales son una fuente rica de compuestos bioactivos a los cuales se les atribuye sus propiedades benéficas las cuales pueden ser obtenidas tanto de sus tallos, hojas, corteza, raíces, etc. Ente las especies más utilizadas en el país se encuentra el peyote (*Lophophora williamsii*), valeriana (*Valeriana edulis* subsp. *procera*),

cuachalalate (*Amphipterygium adstringens*), tepezcohuite (*Mimosa tenuiflora* Benth) y orégano (*Lippia graveolens*), entre otras. (Gutierrez & Heredia, 2019)

*Urtica dioica* L. de acuerdo al Handbook of medicinal Herbs es una planta originaria de Europa y Asia, sin embargo, se encuentra distribuida en el mundo en zonas templadas y crece en zonas ruderales (Duke, 2002), en México también es conocida como “Dominguilla”, “Solimán”, “Chichicastle” y “Ortiga” (CONABIO, 2009). Esta es utilizada en la medicina tradicional para tratar dolores genitourinarios, trastornos renales, alergias, diabetes, anemia, afecciones del tracto gastrointestinal (diarrea y disentería), osteoartritis y alopecia (Rodríguez, 2008)

Los extractos de ortiga se han usado para evaluar su actividad antileishmanial presentando gran eficiencia al eliminar al parásito sin mostrar toxicidad a los macrófagos del anfitrión (Bardizadeh, 2020), se han realizado estudios de su actividad antibacteriana con extractos hexánicos los cuales mostraron mayor actividad antimicrobiana contra cepas Gram negativas comparado contra las Gram positivas (Singh, 2012). Se analizaron extractos con hexano, cloroformo, etanoato etílico y metanol para evaluar su toxicidad con *Artemia salina*, la fracción hexánica mostro un margen de sobrevivencia de *A. salina* (Dar, 2013).

## PARTE EXPERIMENTAL

### Material biológico

Las cepas que se utilizaron fueron proporcionadas por el Laboratorio de Química Analítica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, estas se encontraban conservadas en arena de mar y glicerol a 4 °C.

### Cepas

*Acinetobacter baumannii* ATCC 15308

*Staphylococcus aureus* ATCC BAA-44

### Material Vegetal

El material vegetal de *U. dioica* fue adquirido de la casa comercial Pacalli®

### Obtención del extracto

Se pesaron 50 g de planta seca y triturada en un matraz Erlenmeyer y se agregaron 500 mL de metanol. Durante un periodo de 5 d se le proporcionó agitación ocasional y se mantuvo a temperatura ambiente. El extracto obtenido se filtró mediante un embudo de filtración rápida con la ayuda de papel filtro poro cerrado. Se procedió a evaporar el solvente a presión reducida por medio de un rotavapor a 40°C. El extracto se depositó en un frasco previamente tarado y se colocó en una estufa de secado para evaporar el solvente restante por 4 d a 40°C. Finalmente se obtuvo el porcentaje de rendimiento por cálculos gravimétricos.

$$\text{Rendimiento (\%)} = \text{PE/PI} \times 100$$

Dónde: PE es el peso obtenido después de la extracción

PI es el peso inicial del material vegetal a extraer

### Citotoxicidad del extracto mediante hemólisis en eritrocitos humanos

Se obtuvo muestra de sangre según la NORMA Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012

Se requirió de sangre humana de grupo O+, la sangre se mezcló con EDTA y se centrifugó a 3000 rpm por 5 min a temperatura ambiente. El paquete globular obtenido se lavó de 3 a 4 veces con buffer de fosfato salino isotónico (PBS) eliminando el sobrenadante por succión con una pipeta Pasteur. Los glóbulos rojos obtenidos se trataron con el extracto metanólico de *U. dioica*.

### Tratamiento: se realizó por triplicado

Tomando 250 µL del paquete globular (P.G.) se suministraron en 6 tubos cónicos de 1.5 mL, de menor a mayor, concentración se suministraron de 975 hasta 997.5 µL de PBS, posteriormente se añadieron de mayor a menor 25 hasta 2.5 µL el extracto *U. dioica*.

Tabla 1.- Concentraciones del Tratamiento

Tubo No	Extracto (μL)	PBS (μL)	P. G. (μL)
1	25	975	250
2	20	980	250
3	15	985	250
4	10	990	250
5	5	995	250
6	2.5	997.5	250

Una vez aplicado el tratamiento se incubó durante 30 min a 37°C protegidos de la luz, para proseguir a centrifugar a 13 000 rpm durante 5 min a 4°C, una vez pasado el tiempo de centrifugación se tomó 100 μL de cada tubo y se colocaron en una microplaca de 96 pocillos, para determinar el porcentaje de hemólisis mediante lecturas espectrofotométricas a 540 nm.

#### Blanco

Se tomaron 250 μL de PBS se suministraron en 6 tubos cónicos de 1.5 mL, de menor a mayor se suministró de 1225 hasta 1247.5 μL de PBS.

Tabla 2.- Concentraciones del Blanco

Tubo No	Extracto (μL)	PBS (μL)
1	25	1225
2	20	1230
3	15	1235
4	10	1240
5	5	1245
6	2.5	1247.5

Una vez aplicado el PBS se incubó durante 30 min a 37°C protegidos de la luz, para proseguir a centrifugar a 13 000 rpm durante 5 min a 4°C, una vez pasado el tiempo de centrifugación se tomaron 100 μL de cada tubo y se colocaron en una microplaca de 96 pocillos, para determinar la absorbancia del extracto blanco mediante lecturas espectrofotométricas a 540 nm.

#### Control positivo

Tomaron 250 μL de paquete globular y se suministraron en 6 tubos cónicos de 1.5 mL y se le suministró 1000 μL de agua destilada.

Tabla 3.- Concentraciones del control positivo

Tubo No	A. D (μL)	PBS (μL)
1	1000	250
2	1000	250
3	1000	250
4	1000	250
5	1000	250
6	1000	250

Una vez aplicado el tratamiento se incubó durante 30 min a 37 °C protegidos de la luz, para proseguir a centrifugar a 13 000 rpm durante 5 minutos a 4°C, una vez pasado el tiempo de centrifugación se tomó 100 μL de cada tubo y se colocaron en una microplaca de 96 pocillos, para determinar el porcentaje de hemólisis mediante lecturas espectrofotométricas a 540 nm.

Una vez finalizado se determinó el grado de hemólisis mediante la fórmula

$$\% \text{ de hemólisis} = ((\text{Abs muestra} - \text{Abs blanco}) / ((\text{Abs control (+)} - \text{Abs blanco})))$$

Dónde: Abs muestra= Absorbancia de la muestra  
Abs blanco= Absorbancia del blanco  
Abs control (+)= Absorbancia del control positivo.

Concentración mínima inhibitoria (CMI).

Activación de las cepas

Se tomó una asada de las cepas en conservación y se inoculó en tubos de ensayo con caldo Müeller-Hinton estériles previamente preparados y se incubaron por 24 h.

Pruebas microbiológicas

Para las pruebas de actividad antimicrobiana en microplaca de 96 pozos, se colocaron 200 µL del tratamiento (1000 ppm) en el primer pocillo para realizar diluciones en los siguientes 6 pocillos los cuales se mezclaron con el medio de cultivo, posteriormente se inoculó el microorganismo de prueba, se dejó incubar a 37°C/24 h y posteriormente se determinó por turbidez o por cambio de color en el medio la actividad microbiológica comparándola con el control de crecimiento.

Caracterización Fitoquímica

Alcaloides

Prueba de Dragendorff.

Modificación de Munier y Machelobuf. Se prepararon 2 soluciones. Para preparar la solución A se disolvieron 0.85 g de nitrato de bismuto, en una mezcla de 10 ml de ácido acético glacial y 40 ml de agua. Para la solución B se disolvieron 8 g de yoduro de potasio en 20 ml de agua. El reactivo se preparó mezclando 5 ml de la solución A y 4 ml de la solución B y 100 ml de agua. El reactivo es estable por 1 año y la prueba fue positiva para alcaloides al dar el tubo una coloración roja o naranja, persistente por 24 horas.

Flavonoides

Prueba del H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Una pequeña cantidad de la muestra se disolvió en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se observó una coloración amarilla para flavonoles, naranja-guinda para flavonas, rojo-azuloso para chalconas y rojo-púrpura para quinonas.

Prueba de Shinoda.

La muestra se disolvió en etanol, se puso en contacto con limaduras de Mg, se aplicó calor a la flama y después se le agregaron unas gotas de HCl. Se consideró la prueba positiva si se presentaron colores naranja, rojo, rosa, azul y violeta.

Sesquiterpenlactonas.

Prueba de Baljet.

A 2-3 mg. de la muestra se agregaron 3-4 gotas de la solución mezcla, siendo positiva si se tornó de color naranja a roja oscura. La solución mezcla 1:1 consistió de una solución A que contuvo ácido pícrico al 1% en etanol y una solución B de NaOH al 10%.

Carbohidratos.

Prueba de Molish.

A 1-2 mg del extracto se agregó gota a gota el reactivo de Molish (alfa-naftol al 1% en etanol), posteriormente se agregó 1 mL de ácido sulfúrico por las paredes. La prueba fue positiva cuando se formó un anillo púrpura en la interfase.

Cumarinas

Prueba del NaOH.

Se disolvieron 1-2 mg del extracto en NaOH al 10%, si apareció una cloración amarilla que desapareció al acidular la prueba fue positiva.

## Esteroles y triterpenos.

## Prueba de Liebermann-Buchard

Se mezcló gota a gota 1 mL de anhídrido acético y 1 mL de cloroformo y posteriormente se enfrió a 0°C y se añadió una gota de ácido sulfúrico. Se añadió gota a gota este reactivo a la muestra o su solución clorofórmica. Si se obtuvo formación de colores azul, verde, rojo, anaranjado, entre otros, los que cambian con el tiempo, la prueba fue positiva.

## Oxhidrilos fenólicos (taninos vegetales)

Prueba del FeCl<sub>3</sub>.

Se disolvieron 1-2 mg del extracto en 1 mL de agua o etanol y se añadieron unas gotas de cloruro de hierro al 12.5 % en agua. La aparición de un precipitado rojo, azul-violeta o verde indicó que la prueba es positiva.

**RESULTADOS**

## Porcentaje de Rendimiento del extracto

Tabla 4.- Porcentaje de rendimiento del extracto metanólico de *U. dioica*

Extracto de:	Porcentaje de Rendimiento
<i>Urtica dioica</i>	6.96

## Citotoxicidad del extracto mediante hemólisis en eritrocitos humanos

Tabla 5.- Porcentaje de hemólisis del tratamiento con el extracto metanólico de *U. dioica*

Concentración (ppm)	Porcentaje de hemólisis
1000	100
800	79.55
600	56.15
400	22.70
200	2.41
100	0.83

## Concentracion Minima Inhibitoria

Tabla 6.- Concentracion mínima Inhibitoria (CMI) del extracto metanólico de *U. dioica* sobre bacterias de importancia clínica

Microorganismo	<i>U. dioica</i> (ppm)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC BAA-44	200
<i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 15308	200

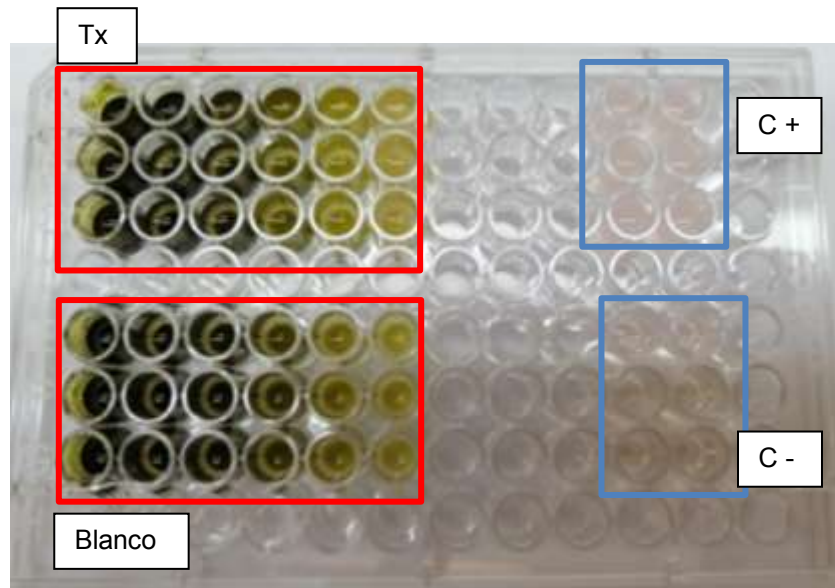


Figura 1.- *Staphylococcus aureus* BAA- 44

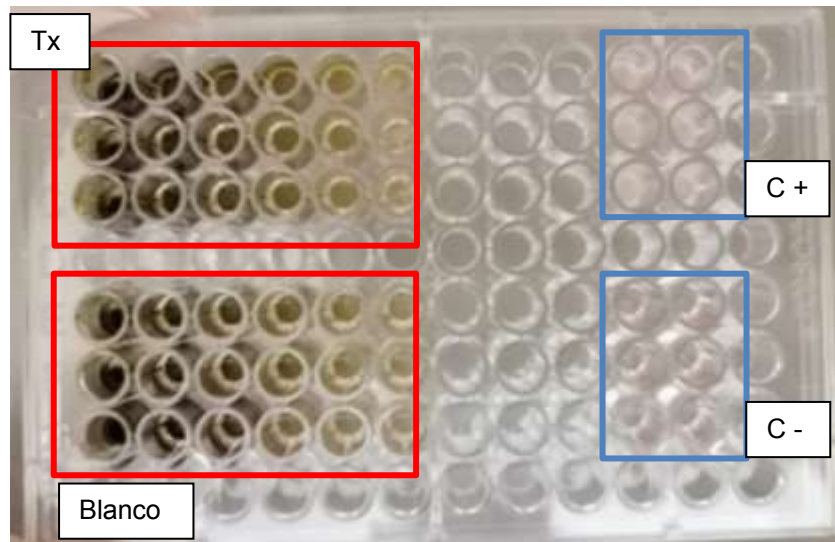


Figura 2.- *Acinetobacter baumannii* ATCC 15308

Los resultados de la CMI presentaron que ambas bacterias fueron susceptibles a una concentración de 200 ppm (fila 5).

## Caracterización Fitoquímica

Tabla 10.- Resultados de las pruebas coloridas del extracto activo de *U. dioica*

Pruebas coloridas para:	Resultado
Alcaloides: Prueba de Dragendorff	-
Flavonoides: Prueba del H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	-
Flavonoides: Prueba de Shinoda	-
Sesquiterpenlactonas: Prueba de Baljet	-
Carbohidratos: Prueba de Molish	+
Cumarinas: Prueba del NaOH	+
Esteroles y Triterpenos: Prueba de Lieberman-Buchard	+
Oxhidrilos Fenólicos (Taninos Vegetales): Prueba del FeCl <sub>3</sub>	-

**CONCLUSIONES**

Se obtuvo un rendimiento de 6.96 % del extracto metanólico de *U. dioica* por medio de maceración. Su actividad hemolítica se incrementó considerablemente a partir de 400 ppm con un 22.7% y del 100% a 1000 ppm, el extracto presentó actividad bactericida contra ambas cepas evaluadas multifármacorresistentes. La CMI fue de 200 ppm para ambas bacterias con una hemólisis de 2.6%. El perfil fitoquímico del extracto metanólico dio positivo para: carbohidratos, cumarinas, esteroles y triterpenos. Con los resultados obtenidos en la presente investigación nos indica una posible actividad sobre otras bacterias de importancia clínica.

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Badirzadeh, A., Heidari-Kharaji, M., Fallah-Omrani, V., Dabiri, H., Araghi, A. & Salimi, A. (2020) Antileishmanial activity of *Urtica dioica* extract against zoonotic cutaneous leishmaniasis. *PLoS Negl Trop Dis* 14(1)
2. CONABIO. (2009). *Urtica dioica* L. var. *angustifolia* Schtdl. 2020, octubre 5 de CONABIO La Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Recuperado de: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/urticaceae/urtica-dioica/fichas/ficha.htm>
3. Dar, S., Ganai, F., Yousuf, A., Balkhi, M., Bhat, T., & Sharma, P. (2013). Pharmacological and toxicological evaluation of *Urtica dioica*. *Pharmaceutical biology*, 51(2), 170–180.
4. Duke, A. (2002). *Handbook of Medicinal Herbs*. Washington, D.C.: CRC Press LLC.
5. Gutiérrez, E., & Heredia, B. (2019). Plantas medicinales mexicanas: de la tradición a la ciencia. 2020, octubre 5, de Centro de Investigación en Alimentación. Recuperado de: <https://www.ciad.mx/notas/item/2151-plantas-medicinales-mexicanas-de-la-tradicion-a-la-ciencia#:~:text=PLANTAS%20MEDICINALES%20MEXICANAS%3A%20DE%20LA%20TRADICIÓN%20A%20LA%20CIENCIA,Escrito%20por%20Oficina&text=Muchas%20especies%20de%20plantas%20se,cáncer>
6. Hernández, J., Zaragoza, A., López, G., Peláez, A., Olmedo, A., & Rivero, N. (2018). Actividad antibacteriana y sobre nematodos gastrointestinales de metabolitos secundarios vegetales: enfoque en Medicina Veterinaria. *Abanico veterinario*, 8(1), 14-27.
7. Hidron AI, Edwards JR, Patel J, et al. NHSN annual update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2008;29(11):996-1011.
8. Liu Y-M, Chen Y-S, Toh H-S, et al. In vitro susceptibilities of non-Enterobacteriaceae isolates from patients with intra-abdominal infections in the Asia-Pacific region from 2003 to 2010: results from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART). *Int J Antimicrob Agents*. 2012;40 Suppl:S11-7.
9. Rodríguez, L., Reyes, J., Burchiel, W., Herrera, D., & Torres, E. (2008). Risks and benefits of commonly used herbal medicines in Mexico. *Toxicology and applied pharmacology*, 227(1), 125–135.



10. Singh, R., Dar. S., & Sharma, P., (2012). Antibacterial Activity and Toxicological Evaluation of Semi Purified Hexane Extract of *Urtica dioica* Leaves. *Research Journal of Medicinal Plants*, 6: 123-135.
11. Wellington EMH, Boxall AB, Cross P, et al. The role of the natural environment in the emergence of antibiotic resistance in gram-negative bacteria. *Lancet Infect Dis.* 2013;13(2):155-65.
12. Yung P (1997) The microbial world: Foundation of the world. *ASM News.* 63: 417-421.

## INFLUENCIA DE DIFERENTES LONGITUDES DE ONDA DE LUZ SOBRE PARÁMETROS MORFOLÓGICOS DE *LIPPIA GRAVEOLENS* IN VITRO

Laura B. Sandoval-Jiménez, Araceli Rodríguez-Sahagún, Rayn C. Aarland, Gustavo J. Acevedo-Hernández y Osvaldo A. Castellanos-Hernández

Centro de Investigación en Biología Molecular Vegetal, Centro Universitario de la Ciénega–  
Universidad de Guadalajara.

[laura.sandoval@alumnos.udg.mx](mailto:laura.sandoval@alumnos.udg.mx)

### RESUMEN

El orégano mexicano (*Lippia graveolens*) es una importante hierba aromática, crece como especie silvestre que se distribuye ampliamente en los climas semiáridos de México y de América Central. Su aprovechamiento hasta la fecha se ha basado en la colecta de variedades o quimiotipos silvestres, ocasionando que disminuya considerablemente la abundancia y distribución natural en las zonas donde antes crecía, ya que las empresas se dedican a la comercialización de la hoja seca de orégano como condimento y extracción de aceite esencial para la elaboración de productos con propiedades farmacéuticas, antibióticas, por mencionar algunas. Se ha visto que la fuente de luz en el cultivo de tejidos es uno de los factores puntuales para la producción vegetal, puesto que controla el crecimiento de las plantas, su desarrollo, la morfogénesis, el metabolismo y el contenido de compuestos bioactivos en los cultivos de células vegetales, tejidos y órganos (1). Y no habiendo muchos estudios en los que nos muestren cuales son los efectos de diferentes radiaciones de luz que alteren o modifiquen las reacciones involucradas en el desarrollo morfológico de *Lippia graveolens*, se realizó el presente experimento para obtener plantas elite y mitigar el déficit haciendo más rentable el cultivo de orégano en zonas rurales de México. Se sometieron un total de 400 semillas en medio MS (Murashige y Skoog) con 50% de la concentración de sales MS original, 3.5 g de phytigel y pH de  $5.8 \pm 0.2$  a diferentes tratamientos de luces, distribuidos en un total de 10 frascos con 10 semillas para cada uno de los tratamientos, es decir 100 semillas por tratamiento. Los tratamientos corresponden a cuatro tipos de luces: blanca-LED (LED), roja (R) azul (A) y ultravioleta (UV). Cada uno de los tratamientos fueron incubados a  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , con fotoperiodo 16/8 horas (luz/oscuridad) para los diferentes tipos de luz (LED, R y A), excepto 2/14/8 luz UV/luz control/oscuridad, todos por un periodo de 30 días. En la evaluación de los parámetros de crecimiento de *Lippia graveolens* se obtuvo que el favorecimiento de longitud del tallo principal se expresó en plántulas cultivadas bajo la influencia de luz blanca-LED a comparación de la luz roja y luz UV. Las plántulas cultivadas bajo luz roja produjeron un número de raíz significativamente menor que otros tratamientos de luz, principalmente la luz blanca que mostró tanto el mayor número de raíces y a su vez las de mayor longitud. La producción de hojas y nodos bajo la influencia de luz azul y roja fueron significativamente menor que aquellos bajo la luz blanca. La luz UV, la luz azul y la luz roja demostraron que no existe una diferencia significativa sobre la activación de yemas secundarias. Con este estudio demostramos que las diferentes luces causaron un desarrollo significativo, proporcionando algunas ideas en el manejo del cultivo de *Lippia graveoles* manipulando diferentes longitudes de onda de la luz.

### INTRODUCCIÓN

El orégano es el nombre más común de un condimento aplicado a más de 60 especies y subespecie pertenecientes a las familias Lamiaceae y Verbenaceae, siendo las más importantes las del orégano europeo (*Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Origanum vulgare* subsp. *gracite*) y del orégano mexicano (*Lippia graveolens* y *Lippia palmeri*) (2).

*Lippia graveolens*, conocido comúnmente como orégano mexicano, es una importante hierba aromática, crece como una especie silvestre que se distribuye en México, principalmente en las zonas áridas y semiáridas. Según Yáñez-Chávez (3), ha adquirido gran importancia económica debido a que el 90% de la producción de materia seca útil (hojas) es exportada al extranjero, siendo México el país donde más se comercializa y aprovecha.

Es una planta poco vulnerable, ya que se encuentra en diversos ecosistemas, contiene un elevado número de individuos gracias a que sus semillas parecen germinar rápidamente o presentar latencia,

sin embargo, el periodo de cosecha coincide con el tiempo de floración, alterando tanto el desarrollo del fruto, como el de la semilla y su porcentaje de germinación, ya que sólo el 11 % de las flores producen frutos, y cada fruto contiene generalmente una sola semilla. Además de las prácticas poco eficientes en el manejo de cultivos, ha llevado a importantes reducciones tanto en el tamaño y la densidad de su población (4,5).

El uso de la biotecnología, en especial el uso de técnicas de cultivo de tejidos, permite la propagación a gran escala de plantas y/o biomasa de alta calidad genética y fitosanitaria, asegurando la rápida multiplicación del material y en un corto periodo de tiempo y área física (1). Sin embargo, para poder tener éxito, esta técnica se ve influenciada por algunos factores relacionados con las condiciones de cultivo como la temperatura, la composición del medio nutriente, cantidad y calidad de la luz, por mencionar algunos.

Según Marques-Pinheiro (1), la fuente de luz en el cultivo de tejidos es uno de los factores puntuales para la adecuación de la producción vegetal, puesto que controla el crecimiento de las plantas, su desarrollo, la morfogénesis, el metabolismo y el contenido de clorofila en los cultivos de células vegetales, tejidos y órganos.

La calidad de la luz afecta el crecimiento y desarrollo de las plantas mediante la activación selectiva de diferentes fotorreceptores: fitocromos, criptocromos y fototropinas, los cuales se activan bajo longitudes de onda específicas (6). Haciendo a los sistemas de iluminación en ambientes controlados, indispensables para la producción de plantas.

Se ha reportado que la luz roja a través de la acción de los fitocromos, tiende a elongar el tallo, disminuir el número de hojas y aumentar la biomasa de la parte aérea, mientras que la luz azul se le ha asociado con la formación más compacta de menor altura en las plantas, tiene la capacidad de aumentar o disminuir el área foliar y peso seco de la parte aérea, dependiendo de la especie pueden inducir respuestas antagónicas entre estos en ciertos parámetros de crecimiento (7).

Actualmente no existen muchas investigaciones de esta especie bajo estas condiciones de crecimiento, y por ello surgió la necesidad de realizar esta investigación con el objetivo de evaluar el efecto de cuatro diferentes tipos de luz: luz blanca-LED (LED), roja (R) azul (A) y ultravioleta (UV) sobre parámetros como la generación de los brotes, producción de hojas, segmentos nodales, y raíces, así como en la altura de plantas de *Lippia graveolens in vitro*.

## PARTE EXPERIMENTAL

### *Material vegetal*

Se utilizaron semillas de *Lippia graveolens* colectadas del municipio de Colotlán ubicado en la región norte del estado de Jalisco, México, el día 02 de Julio del 2017.

Se sembraron un total de 400 semillas, en medio MS (Murashige y Skoog) con 50 % de la concentración de sales, 3.5 g de phytigel (por litro) y pH  $5.8 \pm 0.2$ , antes de la esterilización en autoclave a  $121^\circ\text{C}$  durante 15 min, fueron distribuidas en un total de 10 frascos con 10 semillas para cada uno de los tratamientos es decir 100 semillas por cada tipo de luz: LED (L), rojo (R) azul (A) y ultravioleta (UV), a una temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  y un fotoperiodo 16/8 horas (luz/oscuridad) para los diferentes tipos de luz, excepto 2/14/8 luz UV/luz/oscuridad, todos por un periodo de 30 días. Las semillas se desinfectaron utilizando etanol al 70 % durante un minuto, seguido de tres lavados con agua destilada por un minuto (uno por lavado) y blanqueador comercial al 1.65 % (300  $\mu\text{L}$  de blanqueador comercial y 700  $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{O}$  estéril) durante tres minutos en agitación constante, seguido de tres lavados con agua destilada estéril (un minuto por lavado).

### *Evaluación de parámetros de crecimiento*

Pasados los 30 días, se tomaron 20 plántulas por cada tratamiento para su análisis. De cada una de las plántulas se determinó la altura de las plántulas desde la parte inferior hasta la parte superior del tallo principal, se contabilizó la totalidad de las hojas de cada plántula, a su vez se registró el número total de raíces y de éstas se seleccionó la de longitud más grande para su medición. Por último, se registró el número de segmentos nodales y de yemas secundarias activas.

### *Análisis estadístico*

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) del diseño unifactorial, utilizando el paquete de software Statgraphics XVI (Statistical Graphics Co.) Las medias se compararon mediante la prueba de rango múltiples con una tasa de error de 0.05.

## RESULTADOS

### *Evaluación de parámetros de crecimiento*

Se observó que el favorecimiento de la longitud del tallo principal se expresó en plántulas cultivadas bajo la influencia de luz blanca-LED en un promedio mayor a 8 cm de largo, en comparación de aquellas cultivadas bajo luz azul, que fueron menor, pero sin diferencia estadística significativa. En cuanto a la luz roja y luz UV presentaron menor proporción con un promedio entre 5 y 6 cm de largo (Figura 1). Siendo los tratamientos con luz blanca-LED y luz azul las mejores alternativas para el favorecimiento del crecimiento del tallo principal. Bueno-Duran y col. (8), encontraron que en la elongación de la distancia de entrenudos el tratamiento con luz azul indujo un aumento del 50% y luz roja incrementó en un 78% esto respecto al tratamiento con luz LED.

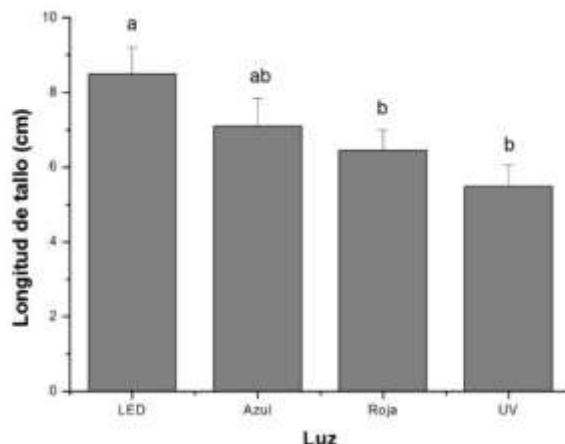


Figura 1. Longitud del tallo principal (cm) de *Lippia graveolens in vitro* sometida a diferentes longitudes de onda de luz.

En cuanto a los resultados obtenidos respecto al número de hojas, se determinó que la producción de hojas se ve beneficiado en aquellas plántulas expuestas bajo la influencia de luz blanca-LED con un promedio por encima de 50 hojas por plántula, en comparación de la luz UV que fue menor, pero sin diferencia estadística significativa. En menor producción de hojas aquellas bajo la influencia de luz roja y luz azul con un número menor a 30 hojas (Figura 2). Siendo la mejor alternativa el uso de luz blanca-LED, seguido de la luz UV para lo producción de hojas. Resultados similares descritos por Sánchez-Velázquez (9) en el que determinaron que el uso de luz blanca-LED a diferencia de luz

roja, luz azul y luz de amplio espectro, promueven una mayor respuesta en cuanto al número de hojas en plantas de *Lippia graveolens in vitro*.

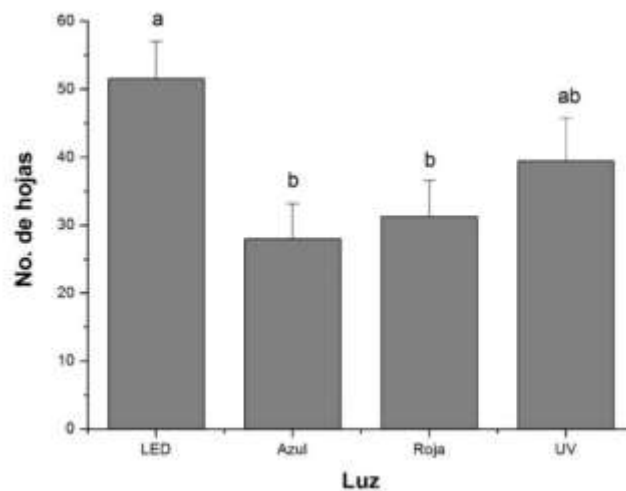


Figura 2. Número de hojas en plantas de *Lippia graveolens in vitro* sometidas a diferentes longitudes de onda de luz.

Para el número de raíces se determinó que hubo diferencias estadísticas significativas entre los tipos de luces, siendo las plántulas cultivadas bajo la luz blanca-LED control la que mostro el mayor número de raíces en un promedio de mayor a 15 raíces por plantula, seguido de la luz UV, luz azul y significativamente menor aquellas que estuvieron cultivadas bajo la luz roja con un promedio por debajo de 5 raíces (Figura 3a). En cuanto a la longitud de la raíz, se vio favorecida bajo la influencia de luz blanca-LED con una longitud mayor a 4.5 cm, siguiéndole la luz azul y luz UV que no mostraron diferencia estadística significativa entre ellas, sin embargo, podrían considerarse como una segunda alternativa si se busca el favorecimiento de raíces (Figura 3b). Siendo el mejor tratamiento para el desarrollo de raíces el uso de luz blanca- LED y el peor bajo la influencia de luz roja. Sánchez-Velázquez (9) determinaron que el número de raíces de *Lippia graveolens in vitro* se ve disminuido bajo la influencia de luz azul. Investigaciones en albahaca dulce donde Lim y Eon (10), obtuvieron que la luz azul indujo una formación de raíces más rápida, mientras que la luz UV fue la más lenta.

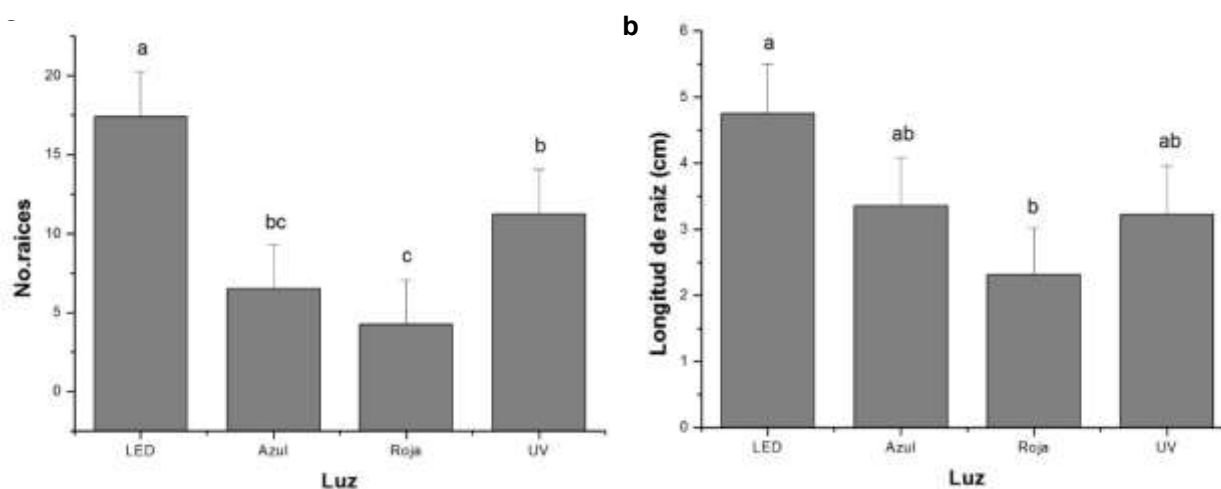


Figura 3. Parámetros medidos en raíces de *Lippia graveolens in vitro* sometidas a diferentes longitudes de onda de luz. **a:** número de raíces promedio por plántula, **b:** Longitud de raíz más larga (cm).

En cuanto al número de segmentos nodales, hubo diferencia estadística significativa entre la longitud de onda de luz, en la que, aquellas plántulas que estuvieron expuestas a luz blanca-LED fueron las que mostraron un mayor número de segmentos nodales con un promedio de 17 segmentos nodales por plántula, en comparación con la luz UV que fue menor, pero sin diferencia estadística significativa, y en menor cantidad con una producción menor a 10 segmentos nodales por plántula, la luz azul y luz roja (Figura 4).

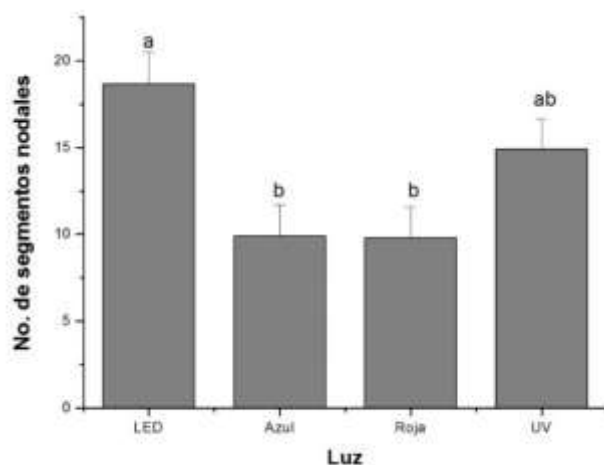


Figura 4. Número de segmentos nodales en plantas de *Lippia graveolens in vitro* sometidas a diferentes longitudes de onda de luz.

Respecto al número de yemas secundarias activas se obtuvo que el uso de luz blanca-LED promueve en mayor cantidad la producción de yemas secundarias activas con un promedio mayor 6 yemas por plántula, seguida la luz roja que podría ser una segunda alternativa para la producción de yemas secundarias. Entre la luz azul y la luz UV no hubo diferencia estadística significativa, siendo un 50% menor en producción de yemas secundarias activas respecto a las expuestas bajo luz blanca-LED (Figura 5).

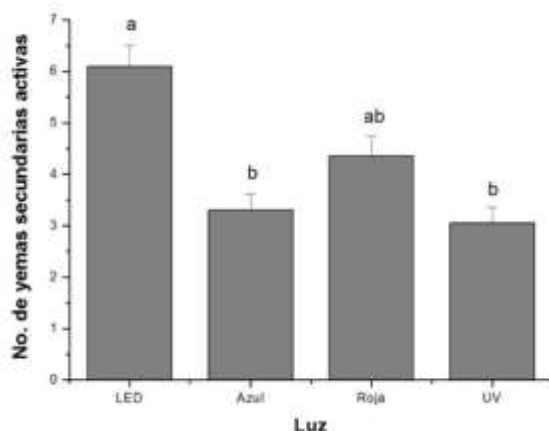


Figura 5. Número de yemas secundarias activas en plantas de *Lippia graveolens in vitro* sometidas a diferentes longitudes de onda de luz.

### CONCLUSIONES

Con esta investigación se demuestra que, si existen cambios en la morfología de *Lippia graveolens in vitro* expuesta bajo diferentes longitudes de onda de luz, de las cuales la luz blanca-LED fue la que obtuvo la mejor respuesta. Proporcionando así, algunas ideas sobre el manejo de su cultivo manipulando diferentes tipos de luz para posteriores estudios que ayuden determinar el perfil fitoquímico y contribuyan para poder mitigar el déficit en el suministro de plantas completas por medio de plantas élite para hacer más rentable el cultivo de orégano en zonas rurales de México.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Marques-Pinheiro, M. V., Schmidt, D., Diel, M.I., dos Santos, J., Thiesen, L.A., Vitalli-Azevedo, G.C. y Holz, E. (2019). Propagación *In vitro* de cultivares de alpinia en diferentes fuentes de luz. *Revista Ornamental Horticulture*.
2. Ocampo-Velázquez, R. V., Malda-Barrera, G. X., & Suárez-Ramos, G. (2009). Biología reproductiva del orégano mexicano (*Lippia graveolens Kunth*) en tres condiciones de aprovechamiento. *Revista Agrociencia*, 43(5), 475-482.
3. Yáñez-Chávez, L.G., Escobar-Pedraza, J.J., Campos-Villarreal A. G. y A. Flores-Hernández. (2013). Aprovechamiento del orégano (*Lippia graveolens*): producción de biomasa y rendimiento de aceite esencial extraído por el método de arrastre con vapor de agua en Mapimí, Dgo. I Congreso Internacional, IX Congreso Nacional sobre Recursos Bióticos de Zonas Áridas y VI Reunión Nacional de Orégano y Otras Aromáticas.
4. Castellanos-Hernández, O. A., Acevedo-Hernández, G. J., Torres-Morán, M. I., Zurita, F., Gutiérrez-Lomelí, M., Del Toro-Sánchez, C. L., & Rodríguez-Sahagún, A. (2013). In vitro clonal propagation and regeneration of the commercially important plant Mexican oregano (*Lippia graveolens*). *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 49(5), 620-625.
5. Muñoz-Miranda, L. A., Rodríguez-Sahagún, A., Acevedo-Hernández, G. J., Cruz-Martínez, V. O., Torres-Morán, M. I., Lépiz-Ildefonso, Aarland-C Rayn & CastellanosHernández, O. A. (2019). Evaluation of Somaclonal and Ethyl Methane SulfonateInduced Genetic Variation of Mexican Oregano (*Lippia graveolens* H.B.K.) *Revista Agronomy*, 9 (4), 166; <https://doi.org/10.3390/agronomy9040166>
6. Hinojosa-Dávalos, J., Cardona-López, M. A., Gutiérrez-Lomelí, M, Barrera-Rodríguez, A. y Robles-García, M. A. (2019). Identificación del perfil fitoquímico y efecto del 26 estrés lumínico sobre la capacidad antioxidante del germinado de brócoli en un dispositivo germinador rotatorio tipo tambor. *Biotecnia*, 21 (3), 67-75, <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v21i3.1013>.

7. Mendoza-Paredes, J. E., Castillo-González, A. M., Valdéz-Aguilar, L. A., Avitia-García, E y García-Mateos, M. R. (2021). Respuesta de cilantro (*Coriandrum sativum* L.) a la luz LED azul y roja. *Biotecnia*, 23(2).
8. Bueno-Durán, A. Y., Cervantes-Martínez, J., & Obledo-Vázquez, E. N. (2014). Composition of essential oil from *Lippia graveolens*. Relationship between spectral light quality and thymol and carvacrol content. *Journal of Essential Oil Research*, 26(3), 153-160.
9. Sánchez-Velázquez, E., Rodríguez-Sahagún, A., Acevedo-Hernández, G. J., Aarland, R. C., & Castellanos-Hernández, O. A. (2021). Efecto de la fuente de luz sobre la micropropagación de plantas de orégano mexicano (*Lippia graveolens*). *e-CUCBA*, (15), 44-52.
10. Lim Y. J. y Eom S. H. (2013). Effects of different light types on root formation of *Ocimum basilicum* L. cuttings. *Scientia Horticulturae*, 164: 552-5  
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.09.057>.



## EFFECTO DE DIALIL TRISULFURO Y RADIACIÓN UVB SOBRE LA EXPRESIÓN GENÉTICA EN *DAPHNIA MAGNA*

Sofía Angélica García Vargas<sup>1</sup>, Vladimir Serkin<sup>2</sup>, Ricardo Dario Peña Moreno<sup>2</sup>, Yessica Alejandra Linares González<sup>1</sup>, Rebeca Debora Martínez Contreras<sup>3</sup> y Laura Morales Lara<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Posgrado en Ciencias Ambientales, <sup>2</sup>Centro de Química-ICUAP-BUAP, <sup>5</sup>CICM-ICUAP-BUAP, <sup>6</sup>Facultad de Ciencias Químicas-BUAP.

[sagv201527@gmail.com](mailto:sagv201527@gmail.com)

### RESUMEN

La radiación ultra-violeta UVB (315-280 nm) que incide en nuestro ecosistema presenta mayor intensidad en los últimos años debido a la reducción del ozono estratosférico, afectando tanto a organismos terrestres como acuáticos. Su efecto documentado en organismos terrestres le atribuye un papel importante en la carcinogénesis, desarrollo de procesos inflamatorios, apoptosis celular, oxidación de proteínas, peroxidación de lípidos y daño al DNA, procesos relacionados con el desequilibrio del estado redox comúnmente conocido como estrés oxidativo [1]. En aguas dulces, este desequilibrio del estado redox causado por la radiación UVB altera la reproducción, desarrollo, tasa de fertilidad y supervivencia a diversas especies acuáticas como el fitoplancton, zooplancton, macroalgas y vertebrados. Se han reportado agentes fitoquímicos organosulfurados en el que se destaca el dialiltrisulfuro (DATS), componente oleoso producido por el ajo, que ha mostrado gran capacidad para modificar directamente el estado redox de biomoléculas, generando múltiples efectos benéficos anticancerígenos, anti-proliferativos, anti-microbianos, anti-oxidantes, anti-inflamatorios y quimopreventivos mediante diversos mecanismos [3] como la activación de la respuesta antioxidante celular, modificando la expresión genética de enzimas clave antioxidantes como superóxido dismutasa (*sod*) y la proteína de choque térmico (*hsp70*) [2].

En el presente trabajo se evaluaron los efectos de la exposición a UVB y post-tratamiento con el fitoquímico DATS en *D. magna*, a las concentraciones 10  $\mu\text{M}$ , 15  $\mu\text{M}$  y 20  $\mu\text{M}$  en la expresión de *HSP70* y *SOD* mediante q-RT-PCR, los efectos agudos del tratamiento de la población en presencia del fitoquímico fueron explorados a las 12 h de exposición. La evaluación aguda de la expresión de *HSP70* y *SOD* mostró valores elevados a la concentración de 10  $\mu\text{M}$  (6, 8 y 2 veces, respectivamente) y 15  $\mu\text{M}$  (11, 18 y 4 veces, respectivamente) de DATS, aún más que en individuos únicamente expuestos a radiación UVB o UVB / post tratamiento DATS a 20  $\mu\text{M}$ . De acuerdo con los resultados, el tratamiento con dosis subletales de DATS en dáfidos irradiados con UVB conducen a la población a una respuesta aguda relacionada con la detoxificación celular, y efectos crónicos sobre el desarrollo poblacional que la condicionan a responder a los factores fisicoquímicos estresantes expuestos, promoviendo una disminución de la supervivencia.

### INTRODUCCIÓN

La radiación UVB que incide en nuestro ecosistema se ha incrementado en los últimos años, debido a la reducción del ozono estratosférico [16], afectando tanto a organismos terrestres como acuáticos. En aguas dulces, la radiación UVB es un estresor importante que afecta negativamente a diversas especies acuáticas como fitoplancton, zooplancton, macroalgas y vertebrados, alterando su reproducción, desarrollo poblacional, tasa de natalidad, fertilidad y esperanza de vida [9]. El efecto de UVB en organismos terrestres ha sido ampliamente documentado, destaca su papel en la carcinogénesis, así como en el desarrollo de procesos inflamatorios, apoptosis celular, oxidación de proteínas, peroxidación de lípidos y daño al DNA, procesos relacionados con el desequilibrio del estado redox comúnmente conocido como estrés oxidativo [5]. El compuesto organosulfurado dialil trisulfuro (DATS), es un componente oleoso producido por el ajo, que ha mostrado gran capacidad para modificar directamente el estado redox de biomoléculas, generando múltiples efectos benéficos anticancerígenos, anti-proliferativos, anti-microbianos, anti-oxidantes, anti-inflamatorios y quimopreventivos mediante diversos mecanismos [19, 15], tales como la activación de la respuesta antioxidante celular, a través de cambios en la expresión de enzimas antioxidantes clave como superóxido dismutasa (*sod*) y la proteína de choque térmico (*hsp70*) [7]. Estos hallazgos han sido

investigados en líneas celulares y vertebrados terrestres por ejemplo el modelo murino, en los que se inducen procesos cancerosos por radiación UVB demostrando que DATS disminuye efectos dañinos inducidos por este agente físico dañino. Sin embargo, se desconoce su efecto en invertebrados acuáticos como *Daphnia magna*, organismo empleado en estudios ecotoxicológicos de impacto ambiental, debido a que es un eslabón importante en agua dulce en la cadena alimenticia con alta sensibilidad a agentes estresores químicos y/o físicos del medio ambiente, y características particulares de su estilo de vida, como su corto periodo de vida, fácil cultivo en laboratorio, cuerpo transparente y su reproducción partenogenética característica [2], lo que permite evaluar cambios en su ciclo de vida y desarrollo poblacional, como mortalidad, supervivencia, tasas reproductivas, etcétera.

Debido a que no hay evidencia documentada acerca de los beneficios del fitoquímico DATS en *D. magna*, es importante identificar los efectos en la expresión de genes relacionados con el daño generado por la radiación UVB en el modelo de estudio *D. magna*, invertebrado acuático sensible a este estresor.

### TEORÍA

La radiación UVB representa solo un pequeño porcentaje de la radiación solar total, su alto contenido energético puede alterar directamente a diferentes biomoléculas e inducir la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) dentro de la célula. Para contrarrestar los efectos dañinos de las ROS, *D. magna* expresa varias enzimas eliminadoras de radicales libres de bajo peso molecular como: la superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión-S-transferasa (GST) y glutatión peroxidasa (Gpx). Estas enzimas funcionan en la defensa celular contra el estrés oxidativo inducido por UVB y son usadas como biomarcadores de este mismo y la modulación de su expresión varía de acuerdo con diversos factores que influyen en el efecto de la UVB incidida, entre ellos están la intensidad de la irradiación, tiempo de exposición, así como especie, edad, sexo del cladóceros, incluso composición del agua donde se encuentren, oxigenación y temperatura, por mencionar algunos factores [18].

La variación de diversos factores, por ejemplo, el aumento de la temperatura y la presencia de contaminantes puede modificar ampliamente las condiciones estresoras inducidas por UVB en *D. magna*, promoviendo la formación de ROS, así como la expresión de proteínas de choque térmico (heat shock protein, *HSP*), estas familias de proteínas están involucradas en el plegamiento/replegamiento de proteínas, y se ha reconocido su papel como sensores del estrés celular en diferentes organismos. Sin embargo, se conoce poco acerca de los mecanismos, niveles de umbral y tiempos de expresión de los genes *HSP* a consecuencia de la exposición a UVB en especies acuáticas [6].

### PARTE EXPERIMENTAL

Grupos evaluados para de la expresión genética

La expresión genética se determinó mediante la técnica de PCR en tiempo real de los genes *SOD*, y *HSP70*. Los grupos consistieron en un control en ausencia de irradiación y fitoquímico, un grupo expuesto a UVB y otro al vehículo DMSO y radiación UVB; así como a tres concentraciones de DATS 10  $\mu$ M, 15  $\mu$ M y 20  $\mu$ M, en presencia del vehículo DMSO, estos grupos expuestos al fitoquímico fueron previamente irradiados con UVB. La evaluación del ARNm de los genes de interés se realizó en 20 individuos de 10 días de edad.

Extracción de RNA

La extracción de RNA total del organismo se realizó mediante el protocolo de TRI Reagent® de Sigma-Aldrich a 4 °C. El RNA se reconstituyó en agua inyectable estéril, se determinó su concentración a la absorbancia de 260 nm, y su pureza con la relación 260/280 en un nanofotómetro Implen NanoPhotometer UV-Vis Spectrophotometers, su integridad se evaluó en electroforesis en gel de agarosa al 2%.

#### Obtención de cDNA

Una vez removido en su totalidad el DNA genómico mediante el kit DNasa I, libre de ARNasa (suministrada con  $MnCl_2$ ) (1 U /  $\mu L$ ) de ThermoFisher se procedió a la síntesis del cDNA empleando el kit RevertAid First Strand cDNA Synthesis.

#### PCR tiempo real

La expresión de los genes *D. magna* en respuesta a UVB y DATS se realizó con un equipo Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System, utilizado como sonda EXPRESS SYBR® GreenER™ qPCR SuperMix Universal de la marca Invitrogen. El volumen final de la reacción fue de 10  $\mu L$  utilizando ROX como control interno.

Los niveles relativos de expresión de *HSP70* y *SOD* se normalizaron con el gen constitutivo *ACTINAB*. Se utilizó el método comparativo CT ( $2^{-\Delta\Delta CT}$ ). Los experimentos se validaron siguiendo las instrucciones del fabricante (Applied Biosystems). La especificidad de la reacción se determinó para cada reacción con una curva de disociación del producto de PCR. Esta curva de disociación se obtuvo siguiendo el nivel de fluorescencia de SYBR Green de los productos de PCR de 60 a 95 °C. Los datos obtenidos de qPCR se analizaron por ANOVA utilizaron los valores  $\Delta\Delta CT$  para cada gen en todos los tratamientos.

### RESULTADOS

La expresión de los genes *SOD* y *HSP70* se evaluó mediante qPCR ante una exposición aguda inducida en una población de *D. magna* irradiada con UVB sometida a post-tratamiento con DATS. Los resultados mostraron que la expresión de *HSP70* se incrementó 3 veces en la población irradiada con UVB con respecto al grupo control (Fig. 1 A), resultado esperado, debido a que los efectos conocidos de este factor físico estresante están relacionados con la producción de una serie de modificaciones a biomacromoléculas importantes, destacando la oxidación de DNA, proteínas y lípidos, que genera estrés oxidativo promoviendo que la célula responda mediante la activación de una respuesta anti-oxidante compleja, en la que destaca la expresión de proteínas como *HSP70*, implicada en evitar plegamiento y/o acumulación no deseada de proteínas [12].

El patrón de expresión que mostró que el grupo irradiado con UVB en presencia del vehículo DMSO fue similar al grupo que solamente fue irradiado, en cambio, la expresión tanto de *HSP70* como de *SOD* fue severamente modificada en los grupos tratados con DATS (10, 15 y 20  $\mu M$ ) (Fig. 1 A y B). Fue de gran interés identificar que la exposición a 10 y 15  $\mu M$  de DATS de poblaciones previamente irradiadas con UVB, sobre expresaron de manera importante el gen *HSP70* (6 y 11 veces, respectivamente) y de *SOD* (8 y 18 veces, respectivamente) respecto al control, estos resultados no han sido descritos hasta la fecha en la bibliografía consultada, su importancia radica en que se muestra que en este modelo ecotoxicológico de estudio, la presencia de DATS estaría relacionada con la expresión de enzimas que se inducen como respuesta al estado pro-oxidante importante que estimula intensamente a la célula a desplegar una respuesta anti-oxidante, mediante la expresión de *HSP70* y *SOD* (Fig. 1). Esta respuesta puede ser requerida para contrarrestar el daño causado por UVB y el estímulo del fitoquímico, conocido por inducir un estado pre-acondicionante y pro-oxidante [7, 4], a consecuencia de modificar el estado redox celular mediante la producción de ROS generadas por su ruptura homolítica y su capacidad para tiolar proteínas que presentan cisteínas reactivas, así como modificar el estado redox de glutatión [7, 17]. En el grupo de dáfidos sometidos a postratamiento con DATS a concentración 15  $\mu M$  la expresión de *HSP70* y *SOD* se incrementó 11 y 18 veces, respectivamente, respecto al grupo control, lo cual podría ser importante para desarrollar una respuesta que permitió la recuperación de la población.

Destacó que la expresión de *SOD* en el grupo de dáfidos sometidos a postratamiento con DATS a concentración 15  $\mu M$  fue 1.4 veces mayor que la expresión de *HSP70*, lo que podría atribuirse a que *SOD* es conocido por su papel en la degradación del superóxido a oxígeno y peróxido de hidrógeno [11], también se ha señalado su posible papel en la protección de los ovocitos y células embrionarias ante las moléculas reactivas de oxígeno que resultan del metabolismo de vitelogenina, particularmente, Kato *et al.*, en el 2004 identificaron mediante secuenciación de la proteína, que vitelogenina se encuentra fusionada a un dominio superóxido dismutasa en específico de la familia

Cu/Zn, el gen correspondiente a esta SOD fue blanco para el diseño de los iniciadores que se emplearon en el este trabajo.

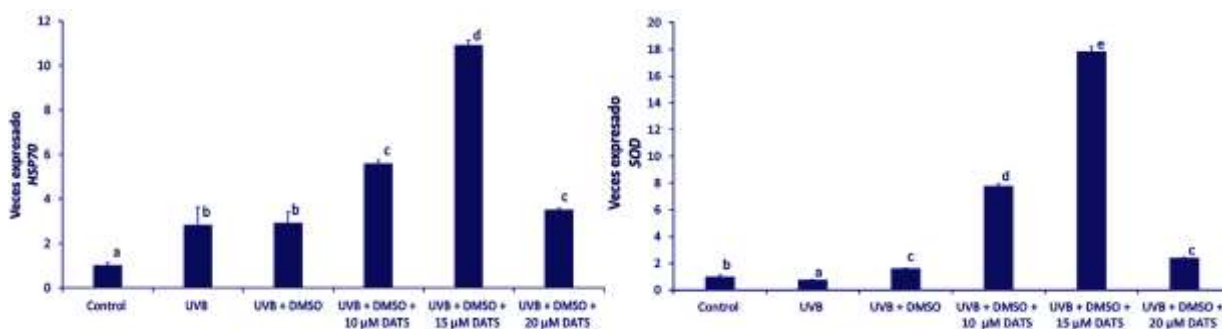


Fig. 1. Efecto de DATS en *D. magna* incida con UVB sobre la expresión aguda de *HSP70* y *SOD*. A. Expresión genética relativa de *HSP70* evaluada 24 h postratamiento con DATS. B. Expresión genética relativa de *SOD* evaluada 24 h postratamiento con DATS. Los genes fueron normalizados con el gen constitutivo *ACTINAB*. Las letras indican diferencias significativas  $P < 0.005$

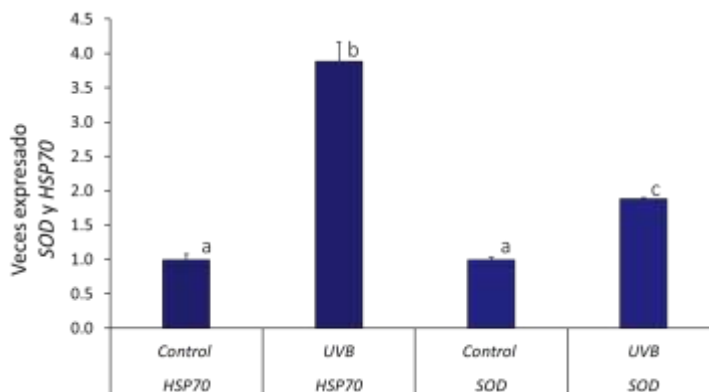


Fig. 2. Expresión relativa de *HSP70* y *SOD* en una población de *D. magna* irradiada con UVB, previo al tratamiento con DATS. Después de exponer a la población a irradiación UVB, la expresión relativa se evaluó a las 24 h. Los genes fueron normalizados con *ACTINAB*. Las letras indican diferencias significativas  $P < 0.005$ .

Además de identificar la evaluación de la expresión relativa de *HSP70* y *SOD* inducida ante el tratamiento de DATS en una población irradiada por UVB (Fig. 2), se identificó la expresión relativa de la población, previa al tratamiento con el fitoquímico, identificándose que previo al tratamiento de DATS, y de manera aguda (24 h post irradiación), la expresión de ambos genes se induce (*HSP70*: 4 veces, *SOD*: 2 veces), este resultado sugiere la activación de la respuesta anti-oxidante celular ante el efecto de la radiación UVB (Fig. 2), de acuerdo a diversos reportes en donde se les ha identificado, principalmente a *SOD* como biomarcador del estrés oxidativo [10].

## CONCLUSIONES

La población irradiada con UVB y tratada posteriormente con el fitoquímico indujo la expresión aguda de los genes *HSP70* y *SOD*, lo cual destaca la importancia de identificar la concentración a la cual el fitoquímico, el cual debe continuar estudiándose e identificar su aplicación en ecosistemas de agua dulce como un excelente promotor de la expresión de genes relacionados con una respuesta celular efectiva ante una condición estresante como la radiación UVB y posterior tratamiento con DATS (15 μM) lo que podría tener especial repercusión en el desarrollo de mejores capacidades de recuperación de la población.

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Al-Aidaros, A. M., El-Sherbiny, M. M., Satheesh, S., Mantha, G., Agustí, S., Carreja, B., y Duarte, C. M. (2015). Strong sensitivity of Red Sea zooplankton to UV-B radiation. *Estuaries and coasts*, 38(3), 846-853.
2. Altshuler, I., Demiri, B., Xu, S., Constantin, A., Yan, N. D., y Cristescu, M. E. (2011). An integrated multi-disciplinary approach for studying multiple stressors in freshwater ecosystems: *Daphnia* as a model organism.
3. Asaeda, T., y Acharya, K. (2000). Application of individual growth and population models of *Daphnia pulex* to *Daphnia magna*, *Daphnia galeata* and *Bosmina longirostris*. *Hydrobiologia*, 421(1), 141-155.
4. Ariga, T., y Seki, T. (2006). Antithrombotic and anticancer effects of garlic-derived sulfur compounds: A review. *Biofactors*, 26(2), 93-103.
5. Bender-Bojalil, D., y Bárcenas-Pozos, M. E. (2013). El ajo y sus aplicaciones en la conservación de los alimentos. *Revista Temas Selectos Ingeniera en Alimentos*, 7(1), 25-36.
6. Dahms, HU, y Lee, JS (2010). Radiación UV en ectotermos marinos: efectos moleculares y respuestas. *Toxicología acuática*, 97 (1), 3-14.
7. Filomeni, G., Rotilio, G., y Ciriolo, M. R. (2008). Molecular transduction mechanisms of the redox network underlying the antiproliferative effects of allyl compounds from garlic. *The Journal of nutrition*, 138(11), 2053-2057.
8. Kato, Y., Tokishita, S. I., Ohta, T., y Yamagata, H. (2004). A vitellogenin chain containing a superoxide dismutase-like domain is the major component of yolk proteins in cladoceran crustacean *Daphnia magna*. *Gene*, 334, 157-165.
9. Kim, J., Park, Y., y Choi, K. (2009). Phototoxicity and oxidative stress responses in *Daphnia magna* under exposure to sulfathiazole and environmental level ultraviolet B irradiation. *Aquatic toxicology*, 91(1), 87-94.
10. Liu, Y., Zhu, P., Wang, Y., Wei, Z., Tao, L., Zhu, Z., ... y Cao, Y. (2015). Antimetastatic therapies of the polysulfide diallyl trisulfide against triple-negative breast cancer (TNBC) via suppressing MMP2/9 by blocking NF- $\kappa$ B and ERK/MAPK signaling pathways. *PloS one*, 10(4), e0123781.
11. Lyu, K., Zhu, X., Wang, Q., Chen, Y., y Yang, Z. (2013). Copper/zinc superoxide dismutase from the cladoceran *Daphnia magna*: Molecular cloning and expression in response to different acute environmental stressors. *Environmental science y technology*, 47(15), 8887-8893.
12. Matsuda, M., Hoshino, T., Yamashita, Y., Tanaka, K. I., Maji, D., Sato, K., ... y Mizushima, T. (2010). Prevention of UVB radiation-induced epidermal damage by expression of heat shock protein 70. *Journal of Biological Chemistry*, 285(8), 5848-5858.
13. Mikulski, A., Bernatowicz, P., Grzesiuk, M., Kloc, M., y Pijanowska, J. (2011). Differential levels of stress proteins (HSPs) in male and female *Daphnia magna* in response to thermal stress: a consequence of sex-related behavioral differences?. *Journal of chemical ecology*, 37(7), 670-676.
14. Puccinelli, M. T., y Stan, S. D. (2017). Dietary bioactive diallyl trisulfide in cancer prevention and treatment. *International journal of molecular sciences*, 18(8), 1645.
15. Ramírez-Concepción, H. R., Castro-Velasco, L. N., y Martínez-Santiago, E. (2016). Efectos Terapéuticos del Ajo (*Allium Sativum*). *Revista Salud y Administración*, 3(8), 39-47.
16. Sander, C. S., Chang, H., Hamm, F., Elsner, P., y Thiele, J. J. (2004). Role of oxidative stress and the antioxidant network in cutaneous carcinogenesis. *International journal of dermatology*, 43(5), 326-335.
17. Seki, T., Hosono, T., Hosono-Fukao, T., Inada, K., Tanaka, R., Ogihara, J., y Ariga, T. (2008). Anticancer effects of diallyl trisulfide derived from garlic. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 17.
18. Williamson, CE, Neale, PJ, Hylander, S., Rose, KC, Figueroa, FL, Robinson, SA, y Worrest, RC (2019). Los efectos interactivos del agotamiento del ozono estratosférico, la radiación UV y el cambio climático en los ecosistemas acuáticos. *Ciencias fotoquímicas y fotobiológicas*, 18 (3), 717-746.

19. Zhao, CM, y Wang, WX (2012). Importancia de los recubrimientos superficiales y la plata soluble en nanopartículas de plata. Toxicidad para *Daphnia magna*. *Nanotoxicología* 6 (4), 361-370

**CALIDAD POSCOSECHA DE TOMATE NATIVO DE MÉXICO PRODUCIDO EN AGRICULTURA PROTEGIDA**

Cesar San Martín-Hernández<sup>1</sup>, Giovanna Rivera-Vargas<sup>1</sup>, Victor M. Ordaz-Chaparro<sup>1</sup>, María Guadalupe Peralta-Sánchez<sup>1</sup>, Flor María Montero-Solis<sup>2</sup>, Agustín Gervacio-Canales<sup>1</sup>, Eber A. Quintana-Obregón<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco km. 36.5. 56230, Texcoco, Edo. Méx., México. <sup>2</sup>Universidad Veracruzana, Facultad de Ciencias Biológicas. Carretera Tuxpan Tampico km. 7.5, Universitaria 92870, Tuxpan de Rodríguez Cano, Ver. <sup>3</sup>Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., (CONACYT-CIAD), Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal. Carretera Gustavo Enrique Astiazarán Rosas 46, 83304, Hermosillo, Son., México.

E-mails: sancesar79@gmail.com; giosmios6@gmail.com; ordaz@colpos.mx; mgperalta@colpos.mx; monterosolisf@gmail.com; agrogervacio@hotmail.com; eber.quintana@ciad.mx

**RESUMEN**

El centro y sur del país cuenta con una gran riqueza genética de tomate nativo. El centro y sur del país cuenta con una gran riqueza genética de tomate nativo. Actualmente se realizan esfuerzos mediante mejoramiento genético para aprovechar esta diversidad vegetal y presentar alternativas al consumidor. Sin embargo, resulta necesario conocer las características de calidad que indiquen la oportunidad de emplear materiales nativos en esquemas de mejoramiento genético. El objetivo de este estudio fue analizar la calidad fisicoquímica del fruto de tomate en fenotipos nativos de México, producidos en agricultura protegida. En un diseño completamente al azar, dieciséis fenotipos de tomate nativo de Puebla (PUE01 a PUE16), uno de Campeche (CAM1), uno de Oaxaca (OAX1), uno del Estado de México (EMX1) más un cultivar comercial (CID01), se cultivaron en hidroponía para estudiar el color (luminosidad y hue), la firmeza, la concentración de sólidos solubles totales (SST), acidez titulable (AT), licopeno y la relación SST/AT del fruto completamente rojo. La unidad experimental (UE) fue una planta de la cual se muestrearon 3 frutos, considerando tres repeticiones por tratamiento. El fenotipo afectó significativamente ( $p \leq 0.05$ ) los parámetros de calidad fisicoquímica del fruto de tomate producido en hidroponía. La mayor luminosidad se observó en CAM1 y PUE12, pero sin diferencias estadísticas con EMX1, OAX1, PUE01, PUE04, PUE05, PUE07, PUE10, PUE11, PUE13, PUE15, PUE16 y CID01. CID01 mostró el mayor ángulo de tono, siendo estadísticamente igual a PUE14, PUE15 y PUE16, en tanto que OAX1 y de PUE01 a PUE10 obtuvieron el menor hue. En firmeza los fenotipos CAM1, EMX1, OAX1, PUE06, PUE07 y PUE14 fueron significativamente inferiores a los demás fenotipos evaluados. En CAM1, PUE08, PUE10, PUE11, PUE13, PUE14 y PUE16 se observaron los mayores valores de SST entre los fenotipos evaluados y fue PUE02 quien mostró el valor más bajo en esta variable. PUE15 mostró estadísticamente la menor acidez, mientras que el mayor registro de esta variable se obtuvo en CID01, el cual fue equiparable a CAM1, EMX1, OAX1, PUE01, PUE04, PUE07, PUE08, PUE10, PUE13 y PUE16. La mayor relación SST/AT se registró en PUE15, observándose respuestas similares en PUE05, PUE06, PUE11, PUE13, PUE14 y PUE16, no obstante, el valor más bajo de esta variable se registró en CID01. Entre los fenotipos evaluados, PUE01 mostró la mayor concentración de licopeno, pero sin diferencias con, PUE02, PUE03, PUE04, PUE05, PUE06, PUE08 y PUE09, mientras que CID01, EMX1, PUE13, PUE14, PUE15 y PUE16 tuvieron la menor concentración de este pigmento. Entre los fenotipos, PUE16 sobresale en los atributos de calidad evaluados, excepto en licopeno; mientras que CID01 destaca sólo en firmeza, acidez, luminosidad y hue; PUE13 tiene calidad aceptable en firmeza, SST, AT, relación SST/AT y luminosidad; pero si se requiere tomate de alta calidad nutracéutica, se puede considerar a PUE01, PUE02, PUE03, PUE04, PUE05, PUE06, PUE08 ó PUE09. La calidad fisicoquímica del fruto de tomate es afectada por el fenotipo nativo de México.

## INTRODUCCIÓN

En 2019, en el mundo se reportó una producción de tomate de alrededor de 180 millones de toneladas de tomate (FAO, 2021). En México se producen aproximadamente 3.4 millones de toneladas al año según datos del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP, 2020). En México comercialmente se produce tomate tipo bola, saladette, cereza y en forma escasa los arriñonados. El centro y sur del país cuenta con una gran riqueza genética de tomate nativo. Actualmente se realizan esfuerzos mediante mejoramiento genético para aprovechar esta diversidad vegetal y presentar alternativas al consumidor. Sin embargo, resulta necesario conocer las características de calidad que indiquen la oportunidad de emplear materiales nativos en esquemas de mejoramiento genético. La calidad poscosecha del fruto puede evaluarse considerando distintos parámetros, entre los que se encuentran los sólidos solubles totales, acidez titulable, firmeza, contenido de sustancias nutraceuticas, el color en sus atributos, luminosidad, croma y hue, la relación de sólidos solubles totales sobre la acidez titulable, entre otros (Mayani *et al.*, 2016). Las propiedades físicas y químicas del fruto de tomate varían según el genotipo (Prudent *et al.*, 2009; Sulieman *et al.*, 2011), el ambiente (temperatura, luz, humedad) (Cebolla-Cornejo *et al.*, 2011) y el manejo nutrimental. Aunado a lo indicado anteriormente, el factor genético ha mostrado influencia de manera importante en diversos parámetros como el contenido de sólidos solubles totales, con valores desde 4 a 6%, mientras que la acidez puede oscilar desde 0.2 a 0.4% (Ilahy *et al.*, 2011); en firmeza se reportan valores de 15 a 34 N (Kabir *et al.*, 2020); en color del fruto en cuanto a luminosidad se tienen valores de 39 a 41, en hue de 35 a 40° (Cantwell *et al.*, 2007); y en licopeno de 3 a 27 mg 100 g<sup>-1</sup> de fruto fresco (FF) (Duma *et al.*, 2018). De acuerdo a la literatura, los componentes de calidad del fruto presentan una gran variación según el material genético evaluado. Los esquemas de mejoramiento genético, se basan en el empleo de materiales con características sobresalientes procedentes de la diversidad genética. De tal forma que resulta necesario evaluar el efecto del factor genético (fenotipo) en la calidad del fruto de tomate nativo de México potencialmente útil para los programas de mejoramiento genético de esta especie. Por tanto, el objetivo de este estudio fue analizar la calidad fisicoquímica del fruto de tomate en fenotipos nativos de México, producidos en agricultura protegida.

## PARTE EXPERIMENTAL

Esta investigación se realizó de octubre de 2016 a marzo de 2017 en el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C., Culiacán, Sinaloa.

Bajo un diseño experimental completamente al azar se cultivaron 16 fenotipos procedentes del estado de Puebla (PUE01, PUE02, PUE03, PUE04, PUE05, PUE06, PUE07, PUE08, PUE09, PUE10, PUE11, PUE12, PUE13, PUE14, PUE15, PUE16), un fenotipo del estado de Campeche (CAM1), un fenotipo del estado de México (EMX1), un fenotipo de Oaxaca (OAX1) y un cultivar comercial (CID01). La unidad experimental fue una planta establecida en una maceta con 13 L de tezontle y 3 repeticiones. El cultivo se condujo en invernadero e hidroponía. Desde el trasplante hasta los 40 d, el riego diario fue de 800 mL de solución nutritiva Steiner (1984) y posteriormente se suministraron 1.5 L de solución nutritiva.

A los 98 días después del trasplante, se cosecharon tres frutos en madurez de consumo por repetición. Los frutos se lavaron con jabón y agua de la llave para hacer las determinaciones de calidad poscosecha.

### *Variables evaluadas*

El color se obtuvo con un colorímetro Minolta CR-3000 que registró los valores en términos de L, a, b, los cuales se transformaron con el software de la computadora para obtener hue (°) y la luminosidad que se obtuvo directamente del colorímetro. Las lecturas se tomaron en dos puntos opuestos de la zona ecuatorial de cada fruto.

La firmeza (Newtons) se determinó en dos puntos opuestos de la zona ecuatorial del fruto, empleando un penetrómetro (Ametek Chatillon modelo CS225 Series) equipado con un puntal cilíndrico plano de 8 mm de diámetro (Ø).

La concentración de sólidos solubles totales (SST), acidez titulable (AT) y pH, se evaluaron por los métodos reportados de la AOAC (1998). La determinación de SST en porcentaje se hizo a partir de 10 g de muestra mediante un refractómetro (Mettler Toledo®, RE40D); el pH y AT se analizó en la misma muestra procesada, mediante un titulador Mettler Toledo® (DL-21) usando NaOH (0.1N).



La relación sólidos solubles totales sobre acidez titulable (SST/AT) se obtuvo dividiendo el valor de SST entre el valor de acidez titulable de acuerdo con San Martín-Hernández *et al.* (2012).

La concentración de licopeno se determinó con la ecuación "Licopeno (mg 100 g<sup>-1</sup> fruto fresco "FF")= 11.848 x (a/b)+1.5471" propuesta por Arias *et al.* (2000), en el cual se utilizaron valores de a y b obtenidos con el colorímetro.

Con los datos se hizo análisis de varianza y prueba de comparación de promedios de Tukey en ( $p \leq 0.05$ ) SAS 9.0.

## RESULTADOS

El color fue afectado por el fenotipo de tomate nativo. En luminosidad el cultivar CID01 tuvo el mayor valor registrado con 32.6, pero fue estadísticamente similar a 13 fenotipos (CAM1, EMX1, OAX1, PUE01, PUE04, PUE05, PUE07, PUE10, PUE11, PUE12, PUE13, PUE15 y PUE16); mientras que la menor luminosidad (28.4) se obtuvo en PUE02 y PUE06. Resultados similares se obtuvieron en hue, en el cual el cultivar comercial CID01 tuvo el máximo valor con 36.8°, similar a EMX1, PUE14, PUE15 y PUE16; en tanto que los menores registros de esta variable (24 a 27°) se tuvieron en PUE01, PUE02, PUE03, PUE04, PUE05, PUE06, PUE08, PUE09 y PUE10) (Figura 1). En tomate se reporta una luminosidad alrededor de 32, pero de 39 a 41 como referencia para diferentes cultivares; por otra parte se han señalado valores de hue de 35 a 40° para un buen color rojo para la comercialización (Cantwell *et al.*, 2007; San Martín-Hernández *et al.*, 2012).

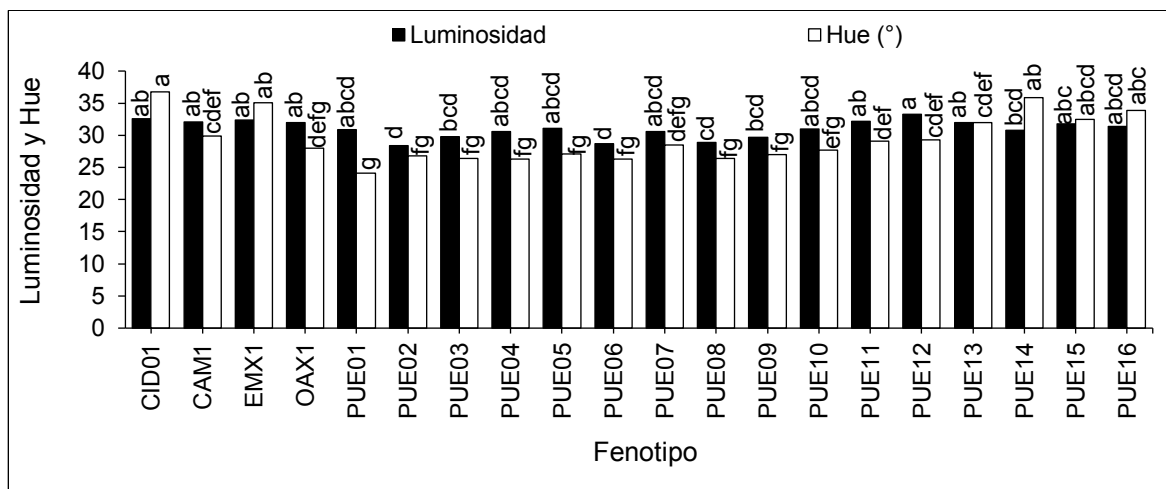


Figura 1. Color (luminosidad y hue) en 19 fenotipos de tomate, más un cultivar comercial (CID01) producidos en agricultura protegida. Barras con letra distinta, indican diferencias estadísticas (Tukey,  $p \leq 0.05$ ).

El fenotipo afectó el contenido de licopeno del fruto. PUE01 tuvo la mayor concentración de licopeno con 28 mg 100 g<sup>-1</sup> FF, siendo equiparable a los fenotipos PUE02, PUE03, PUE04, PUE05, PUE06, PUE07, PUE08, PUE09 y PUE10, mientras que el cultivar comercial CID01 mostró la menor concentración de este pigmento (17.43 mg 100 g<sup>-1</sup> FF) (Figura 2). Este pigmento es el responsable del color rojo del fruto y su concentración varía entre cultivares, no obstante por sus propiedades nutraceuticas, es deseable que se tengan altos valores en el fruto (Cruz-Bojórquez *et al.*, 2013; Waliszewski y Blasco, 2010). En diferentes cultivares de tomate, la concentración de licopeno varía en términos equivalentes de 3 a 25.3 mg 100 g<sup>-1</sup> FF (Ilahy *et al.*, 2017).

La calidad poscosecha del fruto fue afectado por el fenotipo. El fenotipo PUE14 presentó la máxima concentración de sólidos solubles totales con 7.05% y fue estadísticamente superior al testigo CID01 (SST 5.81%), mientras que PUE02 mostró el menor porcentaje de SST (4.34%). En tanto que en acidez el cultivar comercial CID01 tuvo el mayor porcentaje de ácido cítrico con 0.71%, pero fue estadísticamente equiparable a CAM1, EMX1, OAX1, PUE01, PUE04, PUE07, PUE08, PUE10, PUE13 y PUE16, no obstante que PUE15 tuvo el valor más bajo de acidez (0.33% ácido cítrico)

(Figura 3). En diferentes cultivares de tomate bola o saladette, se reportan concentraciones de SST de 3.8 a 6.2% y de 0.24 a 0.44% en acidez titulable (Cantwell *et al.*, 2007; Ilahy *et al.*, 2011).

g

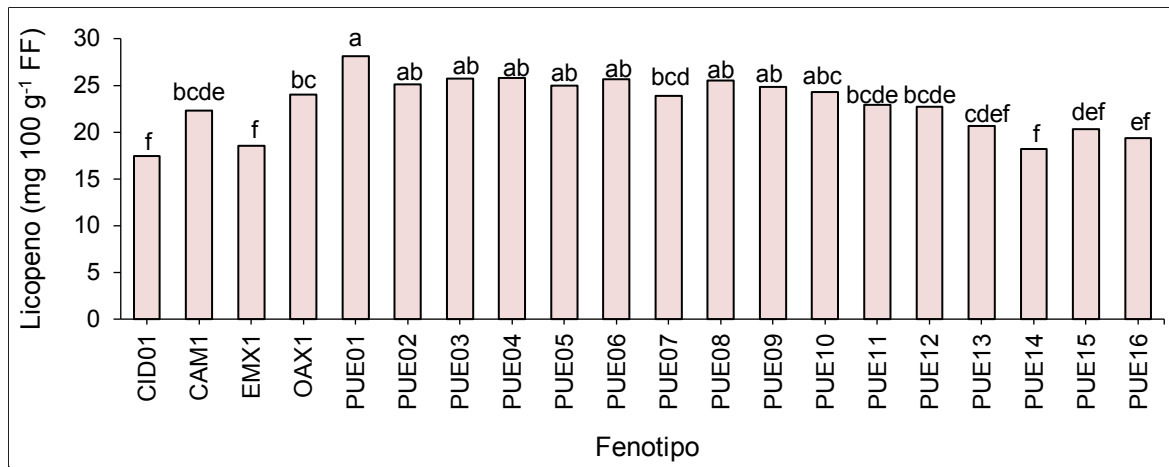


Figura 2. Concentración de licopeno en 19 fenotipos de tomate, más un cultivar comercial (CID01) producidos en agricultura protegida. Barras con letra distinta, indican diferencias estadísticas (Tukey,  $p \leq 0.05$ ).

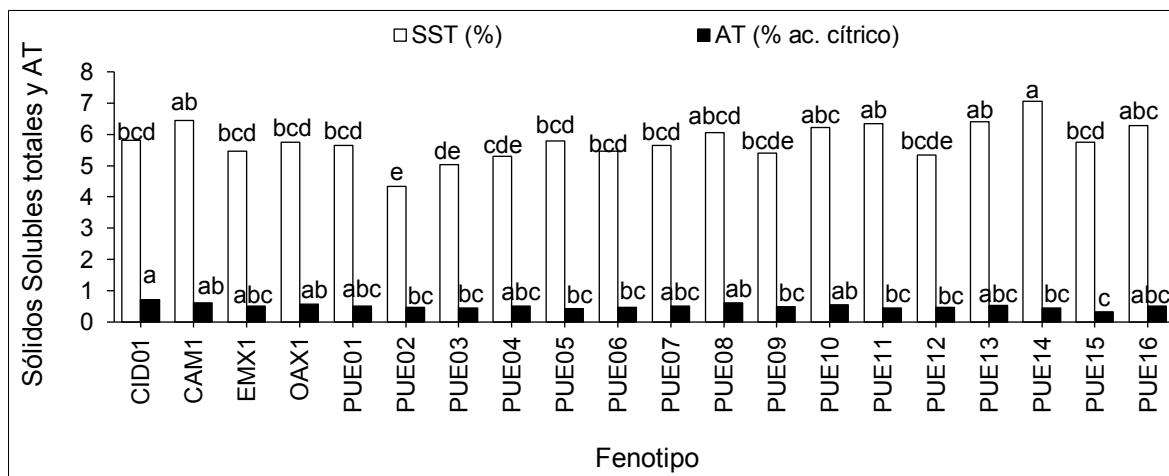


Figura 3. Sólidos solubles totales (SST) y acidez titulable (AT) en 19 fenotipos de tomate, más un cultivar comercial (CID01) producidos en agricultura protegida. Barras con letra distinta, indican diferencias estadísticas (Tukey,  $p \leq 0.05$ ).

La firmeza y la relación sólidos solubles totales/acidez titulable (SST/A) del fruto fue afectada por el fenotipo de tomate. El cultivar comercial tuvo la máxima firmeza con 21.73 N, pero sin diferencias estadísticas con PUE11, PUE12 y otros con firmeza similar (PUE01, PUE02, PUE03, PUE04, PUE05, PUE08, PUE09, PUE10, PUE13, PUE15 y PUE16); y la menor firmeza se registró en CAM1 y EMX1 (7.2 N). Por otra parte, PUE15 tuvo la mayor relación SST/AT con 17.4, siendo estadísticamente similar a los fenotipos PUE05, PUE06, PUE11, PUE13, PUE14 y PUE16; mientras que el cultivar comercial presentó el menor valor con 8.2 en la relación SST/AT (Figura 4). Para comercializar un fruto de tomate se considera que se debe tener una firmeza arriba de 11 N, dado que este parámetro se relaciona con mayor vida de anaquel (Siller-Cepeda y Báez-Sañudo, 2009). Por otra parte, es deseable una relación SST/AT de 12.5 para producir un buen sabor del fruto (Beckles, 2012).

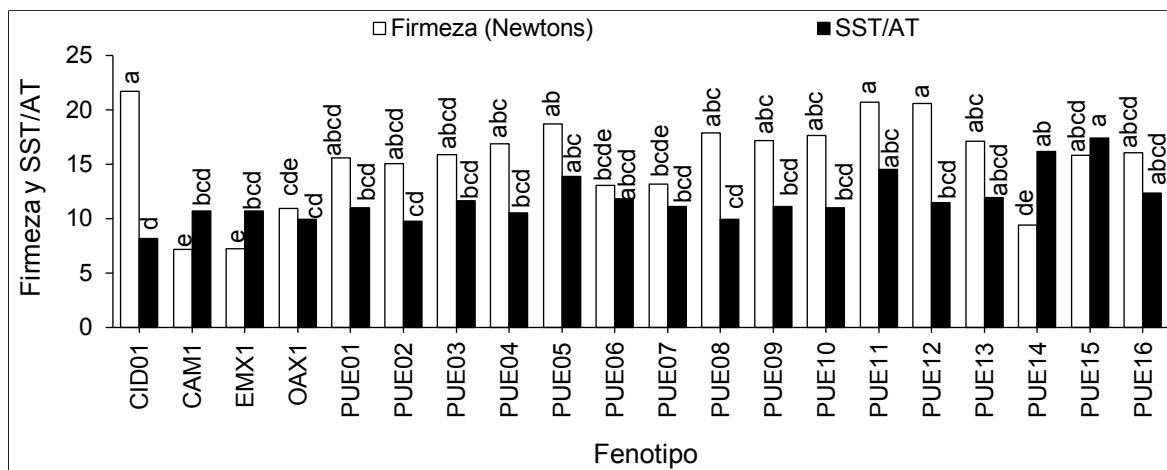


Figura 4. Sólidos solubles totales (SST) y relación sólidos solubles totales/acidez titulable (SST/AT) en 19 fenotipos de tomate, más un cultivar comercial (CID01) producidos en agricultura protegida. Barras con letra distinta, indican diferencias estadísticas (Tukey,  $p \leq 0.05$ ).

## CONCLUSIONES

La calidad fisicoquímica del fruto de tomate es afectada por el fenotipo. Entre los fenotipos, PUE16 sobresale en los atributos de calidad evaluados, excepto en licopeno; mientras que CID001 destaca sólo en firmeza, acidez y hue; PUE13 tiene calidad aceptable en firmeza, SST y AT; pero si se requiere tomate alta calidad nutracéutica, se puede considerar a PUE01, PUE02, PUE03, PUE04, PUE05, PUE06, PUE08 ó PUE09.

## BIBLIOGRAFÍA

1. A. Steiner, "The universal nutrient solution". In: Proceedings Sixth International Congress on Soilless Culture, ISOSC, Lunteren (Netherlands), 29 Apr-5 May, 1984, pp: 633-650.
2. A. M. E. Sulieman, K. M. Awn, and M. T. "Yousif", "Suitability of some tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) genotypes for paste production". JST, Vol. 12, 02, 2011, pp. 45-51.
3. AOAC. Official methods of analysis. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists (AOAC), Washington, D.C., USA., 1998.
4. C. San Martín-Hernández, V. M. Ordaz-Chaparro, P. Sánchez-García, M.T.B. Colinas-León, y L. Borges-Gómez. "Calidad de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) producido en hidroponía con diferentes granulometrías de tezontle". Agrocienza, Vol. 46, 3, 2012, pp. 243-254.
5. D. M. Beckles. "Factors affecting the postharvest soluble solids and sugar content of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit". Postharvest Biol. Technol., Vol. 63, 1, 2012, pp. 129-140.
6. FAO. "FAOSTAT: tomato production". Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/en/#compare> Consultado: 02/ago./2021.
7. J. H. Siller-Cepeda, y M. A. Báez-Sañudo. "Recolección, empaque y manejo poscosecha. Manual de producción de tomate en invernadero". Intagri, Celaya, 2011, pp. 409-426.
8. J. Cebolla-Cornejo, S. Roselló, M. Valcárcel, E. Serrano, J. Beltrán, and F. Nuez. "Evaluation of genotype and environment effects on taste and aroma flavor components of Spanish fresh tomato varieties". J. Agric. Food Chem., Vol. 59, 6, 2011, pp. 2440-2450
9. K. N. Waliszewski y G. Blasco. "Propiedades nutracéuticas del licopeno". Salud Publica Mex., Vol. 52, 3, 2010, pp. 254-265.
10. M. Cantwell, S. Stoddard, M. LeStrange, and B. Aegerter. "Report to the California tomato commission, tomato variety trials: postharvest evaluations for 2006". UCCE Fresh Market Tomato Variety Trial 2006 Postharvest Evaluation, Calif., 2007, pp. 16.

11. M. Duma, I. Alsina, L. Dubova and L. Erdberga. "Bioactive compounds in tomatoes at different stages of maturity". *Proceed. Latvian Acad. Sci.*, Vol. 72, 2, 2018, pp. 85.
12. S. N. Kabir, M. Ali, W-H. Lee, S.-I Cho, and S.-O. Chung, "Physicochemical quality changes in tomatoes during delayed cooling and storage in a controlled chamber". *Agriculture*, Vol. 10, 196, 2020.
13. M. J. Mayani, Ch. S. Desai, P. S. Vagadia. "Post-harvest management of horticultural crops", Jaya Publishing House, India, 2016, 258 p.
14. M. Prudent, M. Causse, M. Génard, P. Tripodi, S. Granadillo, and N. Bertin. "Genetic and physiological analysis of tomato fruit weight and composition: influence of carbon availability on QTL detection", Vol. 60, 3, *J. Exp. Bot.*, 2009, pp. 923-937.
15. R. Arias, T. C. Lee, L. Logendra, and H. Janes. "Correlation of lycopene measured by HPLC with the L\*, a\*, b\* color readings of a hydroponic tomato and the relationship of maturity with color and lycopene content". *J Agric. Food Chem.* Vol. 48, 5, 2000, pp. 1697-1702.
16. R. Ilahy, M. W. Siddiqui, G. Piro, M. S. Lenucci, "A focus on high-lycopene tomato cultivars: horticultural performance and functional quality". En XIV International Symposium on Processing Tomato 1159. 2016. pp. 57-64.
17. R. Ilahy, M. W. Siddiqui, G. Piro, M. S. Lenucci, C. Hdider, L. Helyes, "A focus on high-lycopene tomato cultivars: horticultural performance and functional quality". *Acta Hort.*, 1159, 2017, pp. 57-64.
18. R. Ilahy, C. Hdider, M. S. Lenucci, I. Tlili, and G. Dalessandro. "Antioxidant activity and bioactive compound changes during fruit ripening of high-lycopene tomato cultivars". *J. Food Composit. Anal.*, Vol. 24, 4-5, 2011, pp. 588-595.
19. R. M. Cruz- Bojórquez, J. González-Gallego, P. Sánchez -Collado. "Propiedades funcionales y beneficios para la salud del licopeno". *Nutr. Hosp.*, Vol. 28, 1, 2013, pp. 6-15.
20. SIAP. "Tomate". Disponible en: <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>. Consulta 2 agosto de 2021.

## IDENTIFICACIÓN DE *ACHNANTHES BREVIPES* EN TAPETES MICROBIANOS DE AGUAS TERMALES SULFUROSAS

Berenice Noriega Luna, Axel Javier García Herrera, Alma Hortensia Serafín Muñoz, María Jesús Puy Y Alquiza

Universidad de Guanajuato  
berenice.noriega@ugto.mx

### RESUMEN

Durante la revisión taxonómica de diatomeas de una zona geotérmica sulfurosa de Comanjilla, Guanajuato, México, se encontró un taxón perteneciente al género *Achnanthes*. Las características morfológicas observadas en microscopía electrónica de barrido indican la presencia de diatomeas de la clase *Bacillariophyceae*, representadas por el orden *Achnanthes*, y su especie *Achnanthes brevipes* y su variedad *Achnanthes brevipes* var. *intermedia* (Kützing) Cleve. Estas diatomeas coexisten con el género *Bacillus* representado por las especies *Brevibacillus agri* y *Paenibacillus* sp., a temperaturas entre 70°C y 92°C. En este trabajo se describió la especie *Achnanthes brevipes* var. *intermedia* (Kützing) Cleve presente en aguas termales sulfurosas, como un nuevo taxón para este ambiente termal. Esta especie de diatomea presente en tapetes microbianos en la zona geotérmica sulfurosa de Comanjilla representa a) el primer reporte de dichos microorganismos en el área de estudio y en México; b) un ecosistema de gran interés desde el punto de vista biotecnológico e industrial; c) un taxón importante en términos de diversidad y tecnología.

### INTRODUCCIÓN

*Achnanthes brevipes* var. *intermedia* (Kützing) Cleve, pertenece al género *Achnanthes*, descritas como diatomeas monoráficadas y heterovalvas (Toyoda and Williams, 2004; Mayama and Kobayasi, 1989; Boyle et al. 1984; Mann, 1982; Simonsen, 1979; Hustedt, 1931; Bory, 1822). *Achnanthes brevipes* var. *intermedia* fue descrita por primera vez por Kützing (1833 a,b), posteriormente Cleve (1894) cambió su rango taxonómico a una variedad dentro de la especie *Achnanthes brevipes*. La mayoría de las especies de *Achnanthes sensu stricto* se encuentran principalmente en aguas marinas, salobres y dulces (Werum and Lange-Bertalot, 2004). Las diatomeas suelen vivir en ecosistemas marinos, de agua dulce y terrestres, pero son pocos los estudios que las describen en un ecosistema de aguas termales (Ghozzi et al. 2013; Ramachandra et al. 2009). Pocas especies de diatomeas heterótrofas sobreviven en condiciones de oscuridad, algunas viven como endosimbiontes en algunos organismos o de forma no invasiva en la superficie del cuerpo de los organismos, por ejemplo, los foraminíferos los que albergan algas endosimbióticas como diatomeas y clorófitos. Por lo tanto, cada especie de diatomeas presenta una tolerancia ambiental específica, conformando conjuntos de especies correspondientes a la condición del hábitat (Kale and Karthick, 2015). Las diatomeas son organismos unicelulares, eucariotas y fotosintéticos; son algas microscópicas únicas que contienen sílice y tienen diferentes formas geométricas. Se sabe que forman biopelículas y se producen en lugares húmedos donde es posible se lleve a cabo el proceso de fotosíntesis. Las diatomeas de los tapetes microbianos termófilos son organismos interesantes de estudiar tanto para aplicaciones básicas como para la biotecnología. En los últimos años, las diatomeas se han estudiado no sólo desde el punto de vista académico, sino también dentro de las aplicaciones industriales y biotecnológicas. Las aplicaciones de las diatomeas documentadas en la literatura dentro de los sectores industrial y comercial son la neutralización del carbono, la síntesis de combustibles, los productos farmacéuticos, los alimentos saludables, las biomoléculas, los materiales relevantes para la nanotecnología y la biorremediación de aguas contaminadas, la biomonitorización de sustancias tóxicas, la paleoecología y la medicina forense, que pronto podrían combinarse para hacer de las diatomeas una fuente lucrativa de nuevas sustancias significativas (Herbert and Sharp, 1992; De Rosa et al. 1994; Kale y Karthick, 2015; Bozarth et al. 2009). Las diatomeas de las aguas termales sulfurosas del estado de Guanajuato fueron estudiadas para obtener información sobre la diversidad de géneros y especies que habitan en estas aguas y tener conocimiento sobre su ecología y ciclo de vida y poder utilizarlas para diversos fines comerciales e industriales ya que no existen publicaciones sobre las diatomeas termales de Guanajuato. El género

*Achnanthes* y su especie *Achnanthes brevipes* var. *intermedia* (Kützing) Cleve, son las diatomeas más abundantes en las aguas termales sulfurosas estudiadas. Estas diatomeas comparten el ambiente térmico con algunos géneros bacterianos. Las bacterias termófilas son el grupo más dominante de estos nichos ecológicos, incluyendo ambientes extremos presentes tanto en la litosfera como en la hidrosfera, donde sus capacidades metabólicas juegan un papel crítico en el ciclo geoquímico de los nutrientes y en la producción de una amplia gama de productos de importancia industrial (Daniel, 2005).

## TEORÍA

Las diatomeas se presentan a través de diferentes formas celulares con capacidad para crecer en un amplio intervalo de valores de pH, temperatura, salinidad, concentración de nutrientes e incluso en presencia de contaminantes orgánicos e inorgánicos. Por lo tanto, debido a la presión selectiva que han sufrido las comunidades de microalgas en las zonas hidrotermales esperamos encontrar una alta riqueza específica de estas comunidades.

## PARTE EXPERIMENTAL

Los aspectos morfológicos se investigaron mediante la observación (SEM) con recubrimiento de oro y microscopio óptico. El instrumento SEM (JEOL, JSM- 6010 PLUS/LA) fue operado a 15 kV en bajo vacío. Para su observación se utilizó el protocolo (Martin-Jézéquel et al. 2015) que se describe a continuación: 1. La muestra se filtró con un filtro que no se disuelve con un solvente orgánico. 2. Los filtros se colocaron en recipientes adecuados para su secado en puntos críticos. 3. Se fijó con una solución de glutaraldehído al 2,5% en tampón fosfato 0,1M preparada con agua de mar filtrada. 4. Eliminar las sales; las muestras se transfirieron a concentraciones decrecientes de agua de mar. 5. Después de la fijación, se deshidrató en una serie de etanol creciente. 6. Por último, la muestra se secó en el desecador hasta alcanzar el punto crítico. Para la asignación genérica de las diatomeas se utilizó la guía de (Lorenz and Eck, 2005).

## RESULTADOS

Las observaciones realizadas en microscopía muestran que las válvulas del rafe de la especie *Achnanthes brevipes* var. *intermedia* (Kützing) Cleve son poco profundas y arqueadas con un esternón estrecho y excéntrico. El tamaño de las valvas es de 20µm de largo y 5µm de ancho, lineales-lanceoladas o lineales, elípticas, en forma de cuña, redondeadas en los ápices, a menudo ligeramente cóncavas en el centro. La zona central es bastante estrecha, los bordes forman una fascia transversal. La vista interna muestra cópulas en dos filas (Figura 1A). La válvula está ligeramente curvada de forma geniculada, con una válvula aráfida (ARV) convexa y una válvula de rafido (RV) cóncavo. La frústula suele estar formada por RV, ARV y tres o cuatro cópulas. Frústula arqueada formando una "V". Cíngulo formado por un número reducido de cópulas. Todas las cópulas, incluidas las valvocópulas, son bandas que se abren alternativamente y se conectan entre sí. Las fisuras terminales están desviadas en sentido contrario a los poros centrales. Las estrías son uniseriadas, con una disposición radial, compuestas por areolas casi redondas con forámenes ligeramente rebajados, ocluidas por la cribra con perforaciones redondeadas (Figura 1B,C). Las areolas suelen ser redondas, a menudo tendiendo al cuadrado, ligeramente hundidas por debajo de la capa silíceo basal en la vista externa (Figura 1C). El género *Achnanthes* ha sido descrito en aguas marinas, dulces y salobres (VanLandingham, 1967). Según Hustedt (1931), *Achnanthes brevipes* var. *intermedia*, está ampliamente distribuida y vive en aguas de menor concentración salina. Leira et al. (2017), mencionan que esta especie tiene una distribución cosmopolita a lo largo de zonas bajas incluso en estuarios.

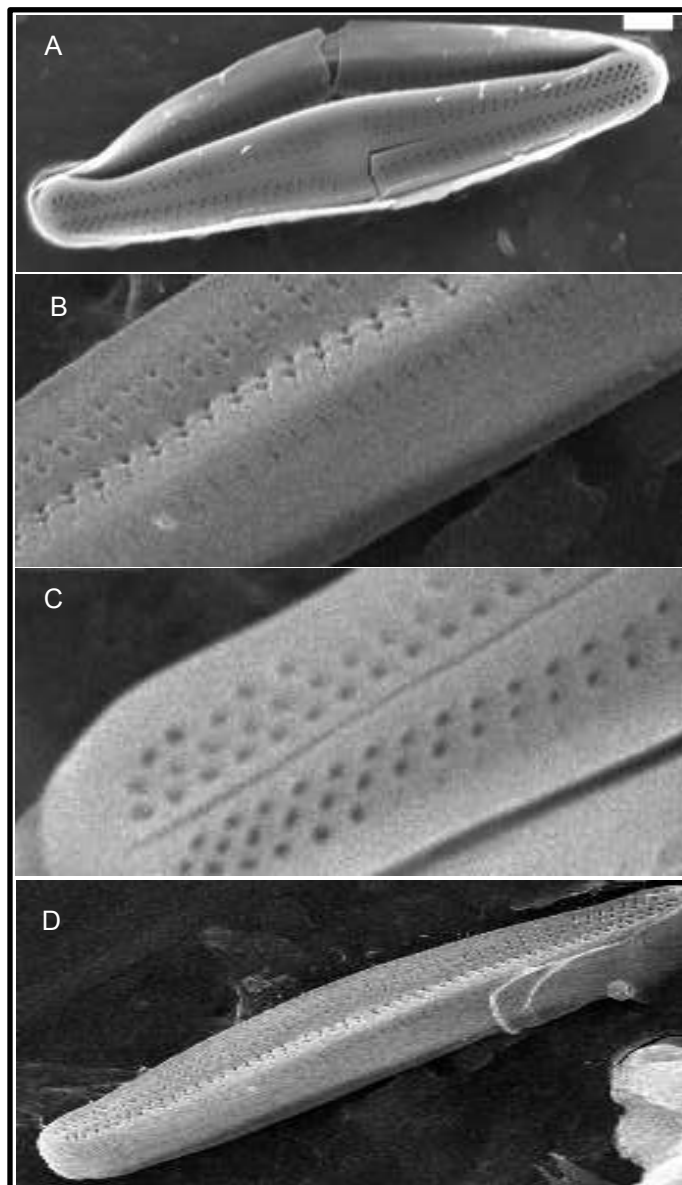


Figura 1. Morfología de *Achnanthes brevipes* var *intermedia* vista en microscopía electrónica de barrido (SEM). A) Válvulas, B y C) Estrias, D) Areolas.

### CONCLUSIONES

Las características físicas como pH, temperatura, turbidez y composición química del agua son factores significativos que afectan la abundancia relativa de las especies de *Achnanthes brevipes* var *intermedia*. La diversidad de microorganismos termófilos (bacterias y diatomeas) encontradas en los tapetes microbianos de las aguas termales de la zona geotérmica de Comanjilla puede ser aprovechada para el beneficio a gran escala de la humanidad.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Bory De Saint Vincent, J.B.M. (1822). Collaborator in Dictionnaire Classique d'Historie Naturelle 1: 79-80. Paris.

2. Boyle, J.A. Pickett-Heaps, J.D. Czarnecki, D.B. (1984). Valve morphogenesis in the pennate diatom *Achnanthes coarctata*. *Journal Phycology*, 20: 563–573.
3. Bozarth, A. Maier, U.G. Zauner, S. (2009). Diatoms in biotechnology: modern tools and applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 82:195-201.
4. Cleve, P.T. (1894). Synopsis of the naviculoid diatoms. Part I. *Kongliga Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar*, series 4, 26(2): 1-194, 5 pls.
5. Daniel, R. (2005). The metagenomics of soil. *Nature Review Microbiology*, 3: 470-478.
6. De Rosa, M. Morana, A. Riccio, A. Gambacorta, A. Trincone, A. Incani, O. (1994). Lipids of the archaea: a new tool for bioelectronics. *Biosensor Bioelectronic*, 9: 669-675.
7. Ghazzi, K. Zemzem, M. Dhiab, R.B. Challouf, R. Yahia, A. Omrane, H. Ouada, H.B. (2013). Screening of thermophilic microalgae and cyanobacteria from Tunisian geothermal sources. *Journal Arid Environment*, 97: 14-17.
8. Herbert, R. Sharp, R. (1992). *Molecular Biology and Biotechnology of Extremophiles*. Chapman and Hall.
9. Hustedt F. (1931). Die Kieselalgen Deutschlands, Österreichs und der Schweiz. In: *Kryptogamen-Flora von Deutschlands, Oesterreichs und der Schweiz* (Rabenhorst L, ed). Akademische Verlagsgesellschaft m.b.h, Leipzig, pp 609-920.
10. Kale, A. and Karthick, B. (2015). The Diatoms Big Significance of Tiny Glass Houses. *Resonance*, 919-930.
11. Kale, A. and Karthick, B. (2015). The Diatoms Big Significance of Tiny Glass Houses. *Resonance*, 919-930.
12. Leira, M., López - Rodríguez, M.C. and Carballeira, R. (2017). Epilithic diatoms (Bacillariophyceae) from running Waters in NW Iberian Peninsula (Galicia, Spain). *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 74 (2): e062.
13. Lorenz, P. and Eck, J. (2005). Metagenomics and industrial applications. *Nature Reviews Microbiology*, 3: 510-516.
14. Mann, D.G. (1982). Structure, life history and systematics of *Rhoicosphenia* (Bacillariophyta) I. The vegetative cell of *Rh. curvata*. *Journal of Phycology*, 18: 162–176.
15. Martin-Jézéquel, V. Calu, G. Candela, L. Amzil, Z. Jauffrais, T. Séchet, V. Weigel, P. (2015): Effects of organic and inorganic nitrogen on the growth and production of domoic acid by *Pseudo-nitzschia multiseriata* and *P. australis* (Bacillariophyceae) in Culture *Marine Drugs*, 13: 7067–7086.
16. Mayama, S. Kobayashi, H. (1989). Sequential valve development in the monoraphid diatom *Achnanthes minutissima* var. *saprophila*. *Diatom Research.*, 4: 111–117.
17. Ramachandra, T.V. Madhab- Mahapatra, D. Karthick, B. Gordon, R. (2009). Milking Diatoms for Sustainable Energy: Biochemical Engineering versus Gasoline-Secreting Diatom Solar Panels. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 48 (19), 8769-8788.
18. Simonsen, R. (1979). The diatom system: ideas on phylogeny. *Bacillaria*, 2: 9–71.60.
19. Toyoda, K. Williams, D. M. (2004). Description of *Achnanthes* Bory (Bacillariophyceae) based on Kiitzing's type slides and materials I: New morphological information on *Achnanthes brevipes* var. *intermedia* (Kiitz.) Cleve. *Diatom Research*, 20: 159-165.
20. VanLandingham S.L. (1967). Catalogue of the fossil and recent genera and species of diatoms and their synonyms. Part I. *Acanthoceras* through *Bacillaria*, Vol 1. Verlag von J Cramer, Lehre.
21. Werum, M. and Lange-Bertalot, H. (2004). Diatoms in springs from central Europe and elsewhere under the influence of hydrogeology and anthropogenic impacts. *Iconographia Diatomologica* 13. 480 pp. A.R.G. Gantner Verlag K. G. Ruggell.



## CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LA RIZOSFERA DE *CLOROPHYTUM COMOSUM* A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA (AGNP'S).

Adriana Giles Antúnez,<sup>1</sup> María de Lourdes Moreno Rivera<sup>2</sup> y Marina Olivia Franco Hernández<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Alumna de Licenciatura de la Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología

<sup>2</sup>Departamento de Ciencias Básicas de la Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, IPN. Ciudad de México

### RESUMEN

La rizosfera es la parte en la que la raíz de la planta está en contacto con el suelo y es donde se encuentran una gran cantidad de mohos, levaduras, bacterias, actinomicetos, protozoarios y algas; estos microorganismos se encuentran estableciendo una asociación con las raíces, la cual puede ser de carácter benéfico o nocivo. Por lo que el objetivo del trabajo fue: Caracterizar mediante microbiología tradicional la rizosfera de cultivos de *Clorophytum comosum* en presencia de Nanopartículas de Plata (AgNP's). La técnica empleada fue la de NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-092-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS. MÉTODO PARA LA CUENTA DE BACTERIAS AEROBIAS EN PLACA, Se caracterizó microbiológicamente al suelo y a la rizosfera de la planta y al suelo con la rizosfera probando concentraciones 1.2 mM y 2 mM de AgNP's durante 10, 20 y 30 minutos, en donde se encontró que la concentración 2 mM AgNP's a los 30 minutos obtuvo un 98.1 % para actinomicetos. Para los organismos mesofílicos aerobios disminuyó el 93.3% a una concentración 1.2 mM de AgNP's en 30 minutos y para Mohos y levaduras, la concentración 1.2 mM AgNP's a los 30 minutos se obtuvo una inhibición del 99.2 %.

**Palabras clave:** Nanopartículas (AgNP's), rizosfera, caracterización microbiológica.

### INTRODUCCIÓN

El suelo según la FAO: es una capa muy delgada que se ha ido formando muy lentamente a lo largo del tiempo debido a la desintegración de rocas superficiales por acción del agua, cambios de temperatura y viento. Y la NOM-021-RECNAT-2000: define al suelo como la colección de cuerpos naturales formados por sólidos (minerales y orgánicos), líquidos y gases, sobre la superficie de los terrenos. Presenta, ya sea, horizontes o capas, que se diferencian del material de origen como resultado de adiciones, pérdidas, migraciones, y transformaciones de energía y materia; o por la habilidad de soportar raíces de plantas en un ambiente natural.

“Cuerpo natural que se encuentra sobre la superficie de la corteza terrestre que es capaz de soportar vida.”

Componentes del suelo:

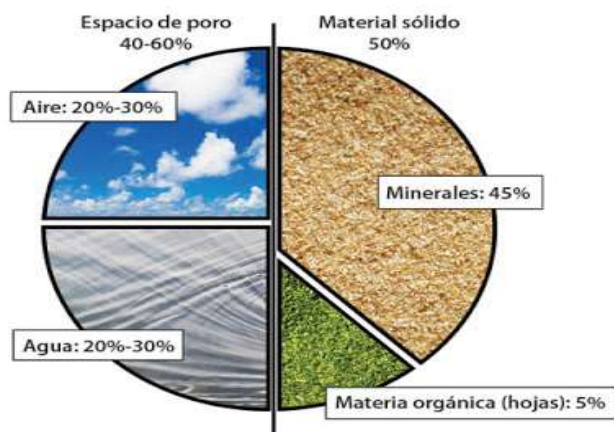


Figura 1 Composición promedio del suelo. Recuperada de: The COMET program

La rizosfera es la parte en la que la raíz de la planta está en contacto con el suelo y es donde existe gran actividad por parte de los microorganismos presentes en ambos. En ella se pueden encontrar gran cantidad de microorganismos, entre ellos hongos, bacterias, actinomicetos, protozoarios y algas; estos microorganismos se encuentran estableciendo una asociación con las raíces, la cual puede ser de carácter benéfico o nocivo.



Figura 2 Rizosfera de *Clorophytum comosum*.

### TEORÍA

Las nanopartículas de plata son una herramienta debido a su tamaño, ya que pueden acceder a sitios donde otros compuestos no podrían llegar, además de que poseen una buena conductividad, estabilidad química y su actividad catalítica antibacteriana (Ávalos et al, 2013)

Por lo que el objetivo del trabajo fue: Caracterizar mediante microbiología tradicional la rizosfera de cultivos de *Clorophytum comosum* en presencia de nanopartículas de Plata (AgNP's).

### PARTE EXPERIMENTAL

La técnica empleada fue la del vaciado en placa como lo menciona la norma oficial mexicana nom-092-ssa1-1994, bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa, para la caracterización microbiológica de la rizosfera, del suelo, del suelo con agnp's en un solo tiempo y para las concentraciones 1.2 mm y 2 mm de agnp's con tiempos de 10, 20 y 30 minutos, se determinaron organismos mesofilicos aerobios con agar cuenta estándar, para mohos y levaduras agar papa dextrosa y para actinomicetos se utilizó el agar czapek, las siembras se realizaron por duplicado y se hicieron 3 corridas para cada tiempo y concentración y se incubaron a temperatura ambiente de 3-5 días para posteriormente realizar el conteo, como se muestra en la figura 3 y la síntesis de nanopartículas de plata (AGNP'S) SE PREPARARON POR EL MÉTODO DE TURKEVICH.

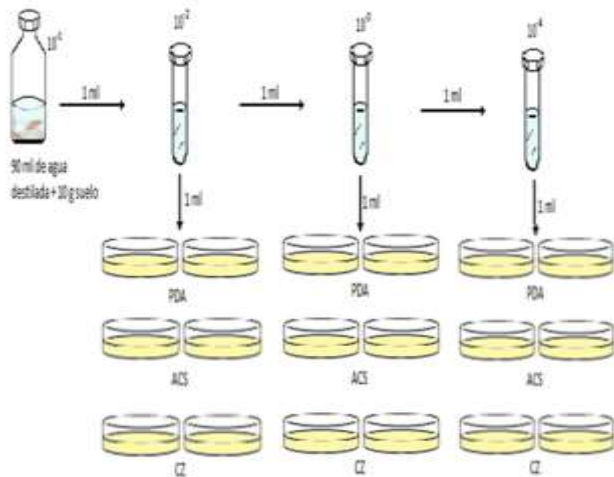


Figura 3 muestra el vaciado en placa del suelo para cuantificar organismos mesofílicos aerobios, Actinomicetos y Mohos y levaduras.

## RESULTADOS

En la Tabla 1 se muestra la cuantificación de diferentes microorganismos presentes en el suelo y en la rizosfera sin tratamiento con las nanopartículas de plata (AgNP's).

CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA			
	10 <sup>3</sup> Organismos / g de suelo	suelo sin AgNP's	Rizosfera de C. comosum sin AgNP's.
Profundidad cm	3-8	5	15
Organismos mesofílicos aerobios	7,800	22x10 <sup>7</sup>	74x10 <sup>5</sup>
Actinomicetos	2,080	36x10 <sup>6</sup>	12x10 <sup>6</sup>
Mohos y levaduras	119	17x10 <sup>5</sup>	18x10 <sup>6</sup>

Tabla 1. Caracterización microbiológica del suelo y rizosfera de *Chlorophytum comosum* sin AgNP's.

Los microorganismos que responden a la presencia de raíces vivas son notoriamente muy diferentes de la comunidad característica del suelo. Las raíces no alteran apreciablemente las cifras totales de hongos, lo que se pudo incrementar en la rizosfera comparado con el suelo son las levaduras, que a veces también pueden ser abundantes, pero no tanto como las bacterias y fue lo que se observó en la caracterización, los mohos parecían ser los mismos del suelo y de la rizosfera, pero no las levaduras.

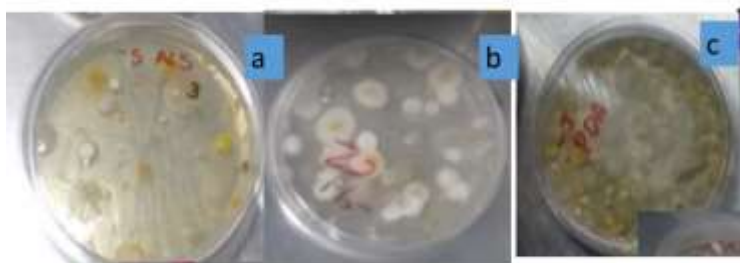


Figura 4 a) Organismos mesofílicos aerobios del suelo en Agar cuenta estándar sin tratamiento con AgNP's. b) Actinomicetos del suelo en Agar Czapek sin tratamiento con AgNP's. c) Mohos y levaduras del suelo en Agar PDA sin tratamiento con AgNP'S.



Figura 5. a) Organismos mesofílicos aerobios de la rizosfera de *C. cmosum* en Agar cuenta estándar sin tratamiento con AgNP's. b) Actinomicetos de la rizosfera en Agar Czapek sin tratamiento con AgNP's. c) Mohos y levaduras de la rizosfera en Agar PDA sin tratamiento con AgNP's.

Con las imágenes anteriores se observa que la población microbiana de la rizosfera es muy diferente a la del suelo.

Las concentraciones de nanopartículas que se agregaron a la rizosfera y los tiempos de tratamiento se muestran a continuación en la Tabla 2 se muestra la cuantificación de la población final de cada microorganismo a los 3 tiempos (10, 20 y 30 minutos) sometidos a las concentraciones de 1.2 mM y 2 mM de AgNP's comparados con la densidad microbiana de la rizosfera sin tratamiento.

**Caracterización microbiológica de la rizosfera en diferentes tiempos a una concentración de 2mM y 1.2 mM de AgNP's.**

Microorganismo	Sin tratamiento	10 min		20 min		30 min	
Mesofílicos aerobios (UFC/g)	74x10 <sup>5</sup>	25x10 <sup>5</sup>	70x10 <sup>4</sup>	60x10 <sup>4</sup>	67x10 <sup>4</sup>	56x10 <sup>4</sup>	50x10 <sup>4</sup>
Actinomicetos (UFC/g)	12x10 <sup>6</sup>	51x10 <sup>4</sup>	35x10 <sup>4</sup>	40x10 <sup>4</sup>	30x10 <sup>4</sup>	22x10 <sup>4</sup>	28x10 <sup>4</sup>
Levaduras y Mohos	18x10 <sup>6</sup>	6x10 <sup>5</sup>	34x10 <sup>4</sup>	52x10 <sup>4</sup>	19x10 <sup>4</sup>	31x10 <sup>4</sup>	13x10 <sup>4</sup>

■ 2 mM AgNP's

■ 1.2 mM AgNP's

Tabla 2. Caracterización microbiológica de la rizosfera en diferentes tiempos a una concentración de 2mM y 1.2 mM de AgNP's.

Se observó que, desde los 10 minutos, los microorganismos estudiados tuvieron una considerable disminución, Por ejemplo: la densidad para los OMA's en la rizosfera sin tratamiento fue de 74x10<sup>5</sup> UFC/g suelo, cuando estos se sometieron al tratamiento se notó que a los 10 minutos y a una concentración de 2 mM la población disminuyendo un tercio de la que había en la rizosfera sin tratamiento quedando en 25x10<sup>5</sup> UFC/g suelo, en cambio con la concentración de 1.2 mM disminuyó casi la novena parte pensando así que esta concentración sería la más efectiva.

En la Tabla 3 se presentan los porcentajes de inhibición para cada microorganismo, cada concentración y cada tiempo quedando para los OMA's y los Mohos y levaduras, un mayor porcentaje de inhibición a una concentración de 1.2 mM en 30 minutos siendo de 93.3% y 99.2% respectivamente.

Para los Actinomicetos el mejor porcentaje se obtuvo a los 30 minutos, pero a una concentración de 2 mM quedando con un 98.1 % de inhibición.

Porcentajes de inhibición de microorganismos en la rizosfera de *C. comosum* a los tiempos 10, 20 y 30 min con concentración de AgNP's 1.2 mM y 2 mM.

Microorganismo	% Inhibición		% Inhibición		% Inhibición	
	10 min	20 min	20 min	30 min	30 min	30 min
Mesofílicos aerobios (UFC/g)	66	90	91.8	90	92.4	93.3
Actinomicetos (UFC/g)	95.7	97	96.6	97.5	98.1	97.6
Mohos y levaduras (UFC/g)	96.7	98.1	97	98.9	98	99.2

■ 2 mM AgNP's      ■ 1.2 mM AgNP's

Tabla 3 Porcentajes de inhibición de microorganismos en la rizosfera de *C. comosum* a los tiempos 10, 20 y 30 min con concentración de AgNP's 1.2 mM y 2 mM.

### CONCLUSIONES

Para la caracterización microbiológica de OMA's los que disminuyeron fueron los puntiformes y circulares de color amarillo y aumentaron los de forma lobular y circular de color blanco y beige en ambas concentraciones de AgNP's.

La velocidad de crecimiento de los mohos se vio afectada para ambas concentraciones de AgNP's. La densidad de la población de organismos mesofílicos aerobios disminuyó en un 93.3% a una concentración 1.2 mM de AgNP's en 30 minutos, siendo la inicial de  $74 \times 10^5$  UFC/g suelo y la final de  $50 \times 10^4$  UFC/g. De igual forma para Mohos y levaduras, la concentración 1.2 mM AgNP's a los 30 minutos fue la que mejor porcentaje de inhibición obtuvo con un 99.2 % quedando una población final de  $13 \times 10^4$  UFC/g suelo.

La concentración 2 mM AgNP's a los 30 minutos obtuvo mejor porcentaje de inhibición de un 98.1 % para actinomicetos resultando en  $22 \times 10^4$  UFC/g suelo como población final.

### REFERENCIAS

1. Avalos, A., et al. (2013). Silver Nanoparticles: Applications and toxic risks to human health and environment. Revista Complutense de Ciencias Veterinaria 2013.
2. FAO. (2014). El suelo. 2017, de FAO página web: [www.fao.org](http://www.fao.org)
3. González A. (2017). Modificaciones en *Chlorophytum comosum* por AgNP's en suelo. UPIBI.IPN, México.
4. Gutiérrez Wing C. Las nanopartículas: pequeñas estructuras con gran potencial ¿Por qué el interés en estos materiales? ¿Qué aplicaciones tienen? Página web: <http://www.inin.gob.mx/publicaciones/documentospdf/39%20NANOPARTICULAS.pdf>
6. Martín, A. (1994). Introducción a la microbiología del suelo. Libros y Editoriales, S.A. PP60-150
7. NOM-021-RECNAT-2000. Norma Oficial Mexicana que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis.

## CONTROL DE CALIDAD EN COSMÉTICOS ELABORADOS CON EL INSECTO *DACTYLOPIUS COCCUS COSTA* Y SU SACRIFICIO

Gabriela Arroyo Figueroa, Nallely J. Hernández Carrillo, Tarsicio Medina Saavedra, Jorge G. Dzul Cauich, María Guadalupe Casimiro Rodríguez, Patricia Rafael Martínez

Universidad de Guanajuato  
[g.arroyo@ugto.mx](mailto:g.arroyo@ugto.mx)

### RESUMEN

Debido a la moda ecológica que ha prevalecido en los últimos años, donde se busca un estilo de vida saludable y conservación del patrimonio cultural. Se pretende el mayor uso de colorantes naturales en productos que tienen un mayor contacto con el ser humano. Por otro lado, se pretende encontrar un mayor rendimiento de dichos colorantes al momento de su cultivo. Como es el caso de la grana cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa), donde se requiere obtener mayores concentraciones de ácido carmínico (poder colorante del insecto). Por lo que el objetivo de este trabajo fue realizar pruebas de solidez del color a extensiones teñidas con el colorante extraído de la grana cochinilla y además analizar el color del insecto con respecto a las técnicas de sacrificio durante su cultivo. La metodología consistió en dos etapas: La primera, en determinar el color de las extensiones una vez teñidas con un champú tinte elaborado con el colorante natural, posteriormente realizar pruebas de solidez del color al frote y al lavado, para finalmente volver analizar el color y determinar el cambio de este ( $\Delta E$ ), comparando con un champú tinte comercial y evaluar la calidad del color aplicado. La segunda consistió en realizar dos pruebas de sacrificio en el cultivo del insecto, en la parte del manejo postcosecha (agua caliente y congelación), y posteriormente determinar el porcentaje de ácido carmínico. Como resultado se obtuvo mayores valores en  $\Delta E$  del champú comercial (15.27), contra valores menores en  $\Delta E$  para el champú tinte elaborado con grana cochinilla (2.05), lo que indica una mayor estabilidad en el color para las extensiones teñidas con este champú tinte. Por otro lado, se obtuvo un mayor porcentaje de ácido carmínico en el sacrificio usando el método de congelación, lo que manifiesta que es importante el manejo postcosecha en el cultivo del insecto para obtener mayores valores de concentración de ácido carmínico. Este trabajo permite por un lado incentivar la aplicación del colorante natural obtenido del insecto grana cochinilla y por otro observar la importancia de las etapas de cultivo del insecto para obtener una mejor calidad de este.

### INTRODUCCIÓN

El precio de la grana cochinilla, según muchos de los productores de esta, depende del porcentaje de ácido carmínico, antiguamente se creía que entre más plateado era el insecto contenía más cantidad de ácido carmínico y entre más rojizo era el insecto tenía una menor cantidad de ácido carmínico (Del Río, 2006). Se cree que la calidad del insecto depende del color y a su vez del precio de esta (Marrone, 2015). Por lo que se considera que es relevante la medición del color, los productores tienen mucha experiencia en el manejo del insecto y solo se basan en la vista para determinar el color, sin embargo, se requiere realizar una medición que dé como resultado un valor determinado, esto debido a que lo anterior pudiera ser un método para evaluar la calidad del insecto, sin necesidad de determinar el porcentaje de ácido carmínico. Asimismo, se considera que el manejo postcosecha en donde parte de este es el sacrificio del insecto, tiene influencia en la calidad del producto final (Casilla, 2012). En las empresas cada vez más se busca cambiar los colorantes sintéticos por los naturales, sobre todo en productos cosméticos que estén más en contacto con los usuarios como son los tintes para cabello. Por otro lado, es importante determinar la calidad de los tintes, mediante pruebas de solidez en extensiones de cabello natural, con la finalidad de observar que tanta estabilidad presenta el colorante a los cambios, algunas pruebas de solidez al color aplicadas son: Solidez al frote solidez al lavado. Es importante que los productos cosméticos elaborados con colorantes naturales tengan una buena calidad. Para que puedan competir con los productos comerciales que se encuentran en el mercado. Por lo que el objetivo de este trabajo fue realizar pruebas de solidez del color a extensiones teñidas con el colorante extraído de la grana cochinilla y además analizar el color del insecto con respecto a las técnicas de sacrificio durante su cultivo.

## TEORÍA

Para el caso de cosméticos en donde se emplean colorantes naturales, como el caso del champú tinte, es indispensable determinar la estabilidad del color de las extensiones donde fue aplicado dicho champú, las pruebas de solidez al color que generalmente son realizadas son: al lavado normal, al lavado a altas temperaturas, al frote en seco, a la luz artificial, al pH (Sanker y Vankar, 2007). Siendo esta etapa fundamental para resolver si se continúa con la siguiente fase, que sería las pruebas dermatológicas del producto, para ver si puede ser usado sobre el cuero cabelludo (Bellatin *et al.*, 2014).

En la figura 1, se muestra una fotografía de la grana entera seca, para tres diferentes calidades (baja, mediana y alta), con sus relativos porcentajes de ácido carmínico (Molero y Herrera, 2013). A simple vista se puede observar que el insecto seco de calidad más baja (18-20% de ácido carmínico), es más rojiza, y conforme va aumentando la calidad se va haciendo más grisácea (tono plateado), como es el caso de la calidad mediana (20-21% de ácido carmínico). Finalmente, para una calidad más alta el color de la grana seca es más plateada oscura (tono todavía más plateado) a simple vista (21-23% de ácido carmínico) (Molero y Herrera, 2013). Desde nuestros antepasados se consideraba que la grana entera seca entre más color plateado tenía, era de una mejor calidad, es decir un mayor porcentaje de ácido carmínico (Dahigren, 1990). Sin embargo, generalmente solo se realiza la valoración a simple vista, en base a la experiencia del productor. Por lo que se precisa utilizar un aparato que pueda dar un valor determinado, esto quizás podría apoyar para medir la calidad de la grana cochinilla sin necesidad de determinar el porcentaje de ácido carmínico.



Figura 1. Grana cochinilla entera con sus tres calidades (Molero y Herrera, 2013)

## PARTE EXPERIMENTAL

La metodología consistió en dos etapas a realizar: Pruebas de solidez y pruebas de sacrificio, la primera, en determinar el color de las extensiones una vez teñidas con un champú tinte elaborado con el colorante natural, posteriormente realizar pruebas de solidez del color al frote y al lavado, para finalmente volver a analizar el color y determinar el cambio de este (conocido como  $\Delta E$ ), y a su vez comparar con un champú tinte comercial y evaluar así la calidad del color aplicado.

La segunda etapa consistió en realizar dos pruebas de sacrificio en el cultivo del insecto, en la parte del manejo poscosecha (agua caliente y congelación), y posteriormente determinar el color y el porcentaje de ácido carmínico, para analizar la relación entre ambos.

### Etapa 1: Pruebas de solidez

Se realizaron dos pruebas de solidez (lavado y frote en seco), en extensiones de cabello natural teñidas con un champú tinte elaborado con grana cochinilla. Las mismas pruebas de solidez fueron realizadas con extensiones naturales una vez teñidas con un champú tinte comercial. Posteriormente se analizó el color antes y después de realizadas las pruebas de solidez por medio de un colorímetro



CR-400 marca Minolta, en donde se obtuvieron los valores de las coordenadas  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ , para posteriormente calcular  $\Delta L^*$ ,  $\Delta a^*$ ,  $\Delta b^*$  (diferencias entre las coordenadas antes y después de las pruebas de solidez), Para encontrar el valor de  $\Delta L$  a partir de la raíz cuadrada del cuadrado de cada una de las diferencias de las coordenadas. Cada una de las pruebas de solidez se realizaron de la siguiente manera.

**Solidez al lavado:** Las extensiones de cabello natural teñidas con el champú tinte elaborado con grana cochinilla y el champú tinte comercial (6 unidades en total, por realizarse 3 réplicas), fueron ingresadas a un ciclo de lavado por 10 minutos con 100 ml de agua desionizada y 10 ml de champú base con agitación vertical y horizontal. Se dejaron 10 minutos en reposo y posteriormente se secaron a la sombra por 24 horas, posteriormente se determina el color de las extensiones antes y después de las pruebas.

**Solidez al frote:** Las extensiones de cabello natural teñidas con el champú tinte elaborado con grana cochinilla y el champú tinte comercial (6 unidades en total, por realizarse 3 réplicas). Cada muestra fue colocada en la base del frotímetro sobre una unidad de papel lija. Cubriendo el vástago de este con un recuadro de tela blanca (testigo) especial para el equipo, cuadros de 6X6 cm. El vástago con el medio de control se baja sobre las extensiones teñidas, y se hace el frotado dando 120 RPM. Posteriormente, se retiran la muestra y la tela testigo, mismas que pasan por el colorímetro para determinar la diferencia entre dos valores registrados, la tela testigo fue llevada para la determinación del color (Fig.2).



Figura 2. Frotímetro, para realizar la prueba de frote en seco.

#### Etapa 2: Pruebas de sacrificio

Esta etapa se lleva a cabo durante el proceso de producción de la grana cochinilla. Técnicas de sacrificio: Una vez cosechada la grana cochinilla y cernida para retirar impurezas, se dividió en dos para llevarlos a las diferentes técnicas de sacrificio:

**Agua caliente:** Se llevó a un recipiente de agua hirviendo ( $98^{\circ}\text{C}$ ), durante 15 min. Posteriormente se llevó a un secador solar y se tomaron las muestras para medir el color y determinar el porcentaje de ácido carmínico.

**Congelación:** La muestra de grana limpia se llevó a un refrigerador dentro de un congelador ( $4^{\circ}\text{C}$ ), se dejó a esta temperatura durante 24 h, se sacó y se dejó en reposo por 15min, llevándolo posteriormente a un secador solar.

Posteriormente se midió el color, se tomaron muestras del insecto por triplicado para medir el color del insecto seco con el promedio de tres lecturas, mediante un colorímetro marca Minolta CR 400 en las coordenadas CIELab\*, es un sistema coordinado cartesiano definido por tres coordenadas colorimétricas  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , de magnitudes adimensionales y a su vez se midió el porcentaje de ácido carmínico con el método de espectrofotométrico (Marmion, 1987).

## RESULTADOS

Etapa 1: Pruebas de solidez

Para la solidez al lavado (tabla 1), se puede observar un mayor valor de la diferencia en el tinte comercial  $\Delta E^* = 15.27$ , comparado con el tinte natural  $\Delta E^* = 2.05$ , lo que permite distinguir que las extensiones teñidas con el tinte natural tienen una mejor solidez al color en la prueba. Se puede observar un mayor valor de la diferencia del tinte comercial  $\Delta E^* = 5.24$ , comparado con el tinte natural  $\Delta E^* = 4.27$ , lo que permite distinguir que las extensiones teñidas con el tinte natural tienen una mejor solidez al color en la prueba al frote en seco.

Tabla 1. Resultados de la prueba de solidez al color (lavado y frote en seco)

Tinte	Lavado			Frote en seco	
	CIELab	$\Delta PROM$	$\Delta E$	$\Delta PROM$	$\Delta E$
Con grana cochinilla	L*	1.69±0.27	2.05	1.21±0.26	4.27
	a*	-1.15±0.43		0.51±0.43	
	b*	-0.18±0.18		4.06±0.79	
Comercial	L*	3.99±0.25	15.27	1.43±0.19	5.24
	a*	-13.33±1.09		2.48±0.23	
	b*	6.28±0.43		4.39±0.24	

Etapa 2: Pruebas de sacrificio

Se obtuvo un mayor porcentaje en la técnica de congelación (23.5±0.36%), observando también que entre mayor sea el porcentaje de ácido carmínico el color del insecto fue más oscuro-rojizo (55.07L\*, 0.54a\* y 0.32b\*) (Tabla 2). Por lo que se confirma que existe una relación entre el color del insecto y el porcentaje de ácido carmínico y a su vez tiene que ver el método de sacrificio usado para la producción del insecto, observando que en el método de congelación se obtuvo un mayor porcentaje de ácido carmínico, lo anterior también comprobado con la experiencia de algunos productores.

Tabla 2. Porcentaje de ácido carmínico y color del insecto, para los dos métodos de sacrificio.

Método de sacrificio	Porcentaje de ácido carmínico	Color del insecto	
		Cielab*	Color
Agua caliente	20.98±0.12 <sup>c</sup>	L*	48.32
		a*	0.82
		b*	0.34
Congelación	23.48±0.36 <sup>d</sup>	L*	41.01
		a*	2.16
		b*	0.59

## CONCLUSIONES

Se encontró que es posible aplicar el extracto hidrosoluble en el teñido de extensiones de cabello natural, esto para lograr una coloración. Y se determinó que es importante la realización de pruebas de solidez al color en las extensiones teñidas, pues permite determinar la calidad del tinte. Por otro lado, se observó que el sacrificio afecta la calidad del insecto, asimismo se pudo observar que existe una relación entre el color del insecto seco y el porcentaje de ácido carmínico.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Casilla García M. E., "Asistencia técnica dirigida en manejo post cosecha de cochinilla". Ed UNALM y Agrobanco servicios financieros para el Perú rural. Perú. 2012. Pp 26-29.
2. Bellatin L., Herrera O., Navarro A., Sun-Ko R., y Llanos B. "Estudio de la bisorción de Rojo ácido 18, Azul básico 99 y Amarillo básico 57, presentes en los tintes de cabello, con residuos de hojas de té verde", (Revista Sociedad Química Perú, 2014), Pp. 9-23.
3. Dahigren B., "La grana cochinilla", Editado por Instituto de Investigaciones Antropológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México 1990, pp. 341.
4. Del Río y Dueñas I., "Grana cochinilla fina, regalo de México para el mundo". 2006, pp 1-53.

5. Marmion M. Handbook of U.S. colorants for foods, drugs, and cosmetic. Wiley interscience publication. 1985. Pp. 443.
6. Marrone, L. "Tintes naturales. Técnicas ancestrales en un mundo moderno", (Ed, Dunken, Argentina, 2015), Pp.89-90.
7. Molero S., Herrera A. "Tres calidades de cochinilla: *Dactylopius coccus* Costa en el Perú". (Cactusnet News letter. -Icarda Cactus Net Fao. 2013). Pp. 127-136.
8. Sanker, R. Vankar, P.S. "Dyeing cotton, wool and silk with *Hibiscus mutabilis* (Guizaba)". *Dyes and pigments*, 2007, 74: 464-469.

## ACTITUDES DESEABLES EN ESTUDIANTES DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA: PERCEPCIÓN DEL DOLOR ANIMAL

María-Guadalupe Torres Cardona<sup>1\*</sup>, José-Isidro Alejos de la Fuente<sup>2</sup>, Cristina Pérez Linares<sup>3</sup>, Isaac Almaraz Buendía<sup>1</sup>, Jesús-Germán Peralta Ortiz<sup>1</sup>, Fernando Figueroa Saavedra<sup>3</sup>, Martín Meza Nieto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Agropecuarias, Área Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia. <sup>2</sup>Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Zootecnia. <sup>3</sup>Universidad Autónoma de Baja California, Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias.

\*Autor para correspondencia: María Guadalupe Torres Cardona: maria\_torres7599@uaeh.edu.mx

### RESUMEN

El dolor es una sensación física y emocionalmente desagradable, que puede causar un alto grado de sufrimiento, por lo tanto, para procurar el bienestar de los animales, éste debe aliviarse de manera oportuna y eficaz, por lo que comprender, reconocer y gestionar el dolor en los animales debe ser un imperativo del profesional de la Medicina Veterinaria y Zootecnia. Desarrollar actitudes positivas hacia los animales durante la formación de profesionales relacionados al uso, manejo y cuidado animal, debe ser fundamental, ya que se relaciona con una mayor competencia profesional respecto al bienestar y a la calidad de vida de los animales. Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue describir la percepción que el estudiante de medicina veterinaria y zootecnia tiene hacia el dolor animal, considerándola como una actitud deseable y de alto impacto en el bienestar de los animales. Para ello, se aplicó una encuesta a 440 estudiantes de Medicina Veterinaria y Zootecnia mexicanos, recolectando datos sociodemográficos (género, área de interés profesional y semestre cursado) y de percepción del dolor animal a través de la descripción escrita de 21 situaciones a las que están expuestos comúnmente los animales de compañía y de producción y que son generadoras de dolor, haciendo hincapié en el uso nulo de anestésicos. A los encuestados se les pidió que indicaran, para cada situación, su percepción del dolor experimentado por el animal en una escala de 0 (sin dolor experimentado) al 10 (peor dolor experimentado). El análisis estadístico de los datos recolectados se realizó con el Programa IBM SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versión 22.0. Se encontraron diferencias significativas en la percepción del dolor animal como efecto de género, semestre que se cursa y área de interés profesional de los estudiantes. Los valores más altos de percepción del dolor animal en estudiantes de medicina veterinaria se encontraron en mujeres; en los primeros semestres de la formación profesional; y en estudiantes con preferencias profesionales hacia las áreas de fauna silvestre y salud pública y epidemiología. Mientras que los valores más bajos se encontraron en varones; en los últimos semestres de la formación profesional; y en las áreas de interés profesional de producción animal, investigación y clínica de animales. Considerando que el reconocimiento y la percepción del dolor en los animales es un requisito esencial para gestionar el dolor en los animales, y que esto es de importancia crítica para su bienestar, se sugiere ampliamente revisar los planes y programas de estudio del Médico Veterinario Zootecnista para incluir e implementar contenidos y herramientas que permitan desarrollar e incrementar actitudes positivas hacia los animales, entre ellas, la percepción del dolor animal.

**Palabras clave:** dolor animal; estudiantes; bienestar animal.

### INTRODUCCION

Los animales no humanos están presentes en la vida diaria de los humanos e impregnan una diversidad de contextos sociales al proporcionarnos alimentos y ropa, utilizarlos en la investigación, y ofrecer entretenimiento, ocio y compañía, entre otros. A pesar del impacto que los animales tienen en la vida humana y viceversa, existen relativamente pocos estudios que aborden el impacto de la formación de los futuros profesionistas del ámbito pecuario en las relaciones entre humanos y animales como un dominio importante de la actividad humana.

En términos generales, es posible afirmar que, en las últimas décadas, el interés de profesionistas y de la sociedad en general, respecto al bienestar de los animales y a su calidad de vida, ha ido en franco incremento. La ciencia brinda evidencia de las capacidades de sintiencia y sufrimiento de los

animales no humanos, lo que nos obliga a brindarles condiciones de vida que les aseguren un adecuado bienestar y una calidad de vida libre o con el mínimo sufrimiento posible, procurando en mayor medida su disfrute.

Las actitudes son juicios de valor aprendidos (Prado y Millet, 2015.), encaminados a responder de una manera consistente o inconsciente, favorable o desfavorable respecto a una persona, animal, grupo, situación, idea, etc. Zubieta (2018) indica que las actitudes son estilos de percepción aprendidos en función de la relación de creencias, factores sociales, cultura, conocimientos y valores con el criterio propio. Segura (2014) plantea que las actitudes darán paso a la presentación de respuestas conductuales específicas, por lo que concluye que éstas se aprenden y todo lo que se aprende se puede también enseñar; se puede decir entonces que las actitudes se pueden educar y refinar, así como deteriorarse y desaparecer por factores internos o externos que las afecten.

Swan (2016) indica que las actitudes de los individuos hacia los animales varían con el género, la edad, el nivel de educación, la existencia urbana o rural, la experiencia de la infancia, la religiosidad y la personalidad. Indica también que, en términos generales, las mujeres, los adultos más jóvenes, los habitantes urbanos de educación superior, y los que tenían mascotas en la infancia, tienen niveles más altos de actitudes positivas hacia los animales. Serpell (2004) dice que, por el contrario, los hombres, los adultos mayores y los habitantes rurales con poca educación tienden a tener niveles más bajos de actitudes positivas hacia los animales.

Comprender, reconocer y gestionar el dolor en los animales es de importancia crítica para su bienestar. El dolor se ha definido como "una experiencia sensorial y emocional desagradable, asociada a un daño tisular real o potencial" (Treede, 2018). En este sentido, el dolor implica una percepción subjetiva, intransferible entre individuos, cuya percepción genera una respuesta adaptativa que indica la presencia de lesiones y eventos que atentan contra la vida (Orihuela y Ungerfeld, 2019). "El dolor es una experiencia sensorial y emocionalmente aversiva que representa una conciencia por parte del animal de daño o amenaza a la integridad de sus tejidos. Cambia la fisiología y el comportamiento del animal para reducir o evitar el daño, para reducir la probabilidad de que se repita y para promover la recuperación", (Viñuela-Fernández et al., 2007). Es una sensación física y emocionalmente desagradable, que puede causar un alto grado de sufrimiento, por lo tanto, para procurar el bienestar de los animales, éste debe aliviarse de manera oportuna y eficaz, siendo el profesional de la medicina veterinaria y zootecnia, quien tiene las herramientas técnicas para poder hacerlo; sin embargo, adicionalmente debe tener actitudes positivas hacia los animales, que le permitan tener un reconocimiento adecuado del dolor, que a su vez lo guíe hacia una intervención oportuna y eficaz para paliarlo. Se ha indicado que la percepción del dolor animal depende de la formación médica veterinaria, la actitud ante el dolor animal, género, edad y empatía del individuo, entre otros (Fajt et al., 2011).

Por todo lo anterior, este estudio se realizó con el objetivo de describir la percepción que el estudiante de medicina veterinaria y zootecnia tiene hacia el dolor animal, considerándola como una actitud de alto impacto en el bienestar de los animales.

## **METODOLOGÍA**

Se elaboró una encuesta conformada por dos secciones. En la primera sección se obtuvo información sociodemográfica de la población encuestada como género, área de interés profesional y semestre cursado. En la segunda sección se obtuvo información sobre la percepción del estudiante al dolor animal mostrándole, en una tabla, 21 situaciones a las que están expuestos comúnmente los animales de compañía y de producción y que son generadoras de dolor, tales como técnicas de manejo implementadas por muchos productores y profesionistas del ámbito pecuario, haciendo hincapié en el uso nulo de anestésicos. A los encuestados se les pidió que indicaran, para cada situación, su percepción del dolor experimentado por el animal en una escala de 0 (sin dolor experimentado) al 10 (peor dolor experimentado). La encuesta se aplicó a 440 estudiantes de Medicina Veterinaria y Zootecnia de una Institución Pública Estatal en México, durante los meses de septiembre a noviembre del 2019. El análisis estadístico de los datos recolectados se hizo con el Programa IBM SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versión 22.0; se realizaron análisis de varianza para establecer diferencias significativas de la percepción del dolor animal entre grupos de interés (género, semestre que se cursa y área de interés profesional).

## RESULTADOS Y DISCUSION

### Información sociodemográfica

La población total encuestada fue de 440 estudiantes, siendo las mujeres las que participaron en mayor proporción con un total de 282 encuestadas lo que equivale al 64% de la población, mientras que los hombres que participaron fueron 158 equivalente al 36% restante. Se observa una disminución considerable en la cantidad de estudiantes participantes al paso de los semestres, manteniéndose una mayor proporción de mujeres participantes en todos los semestres (Cuadro 1).

Cuadro 6. Población estudiantil encuestada agrupada por género y semestre que se cursa.

GÉNERO	SEMESTRE									TOTAL	%
	1	2	3	4	5	6	7	8	9		
HOMBRE	30	13	29	14	24	8	27	5	8	158	36%
MUJER	74	29	43	29	40	18	29	7	13	282	64%
TOTAL	104	42	72	43	64	26	56	12	21	440	100%

En la figura 1 se muestran resultados respecto al área de interés profesional, observándose que las mujeres mostraron un mayor interés hacia el área de clínica de animales (54%), seguido la producción animal (23%) y Fauna silvestre (18%), mientras que los encuestados del género masculino mostraron una marcada preferencia por la producción animal (45%), seguido de la clínica de animales (40%) y la fauna silvestre (11%). Las áreas de investigación y salud pública o epidemiología fueron preferidas en menor medida, en porcentajes iguales o menores al 3%. Existe suficiente evidencia científica sobre las diferencias de género respecto las relaciones humano-animal. En general, el género masculino tiende a mostrar actitudes utilitarias hacia el uso de animales no humanos, explicándose así su preferencia hacia la producción animal (45%) en comparación con las mujeres (23%) (Swan, 2016). En comparación con los hombres, las mujeres muestran mayor compromiso y preocupación por el sufrimiento animal, y en general, tienden a mantener actitudes positivas hacia los animales y a estar más comprometidas con la protección animal (Amiot y Bastian, 2015; Graça et al., 2018; Sakellari y Skanavis, 2013).

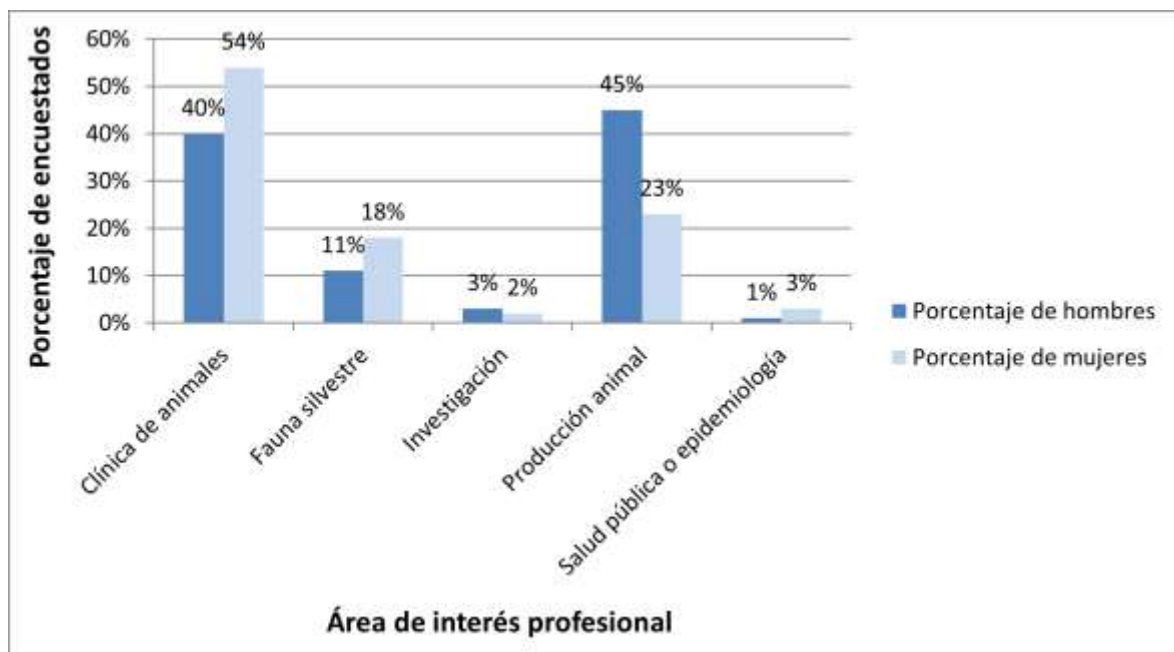


Figura 1. Porcentaje de encuestados agrupados por género y área de interés profesional.

## Percepción del dolor

En el cuadro 2 se presentan las medias de percepción de dolor animal agrupadas por género, mostrando diferencia significativa ( $p < 0.01$ ) entre ambos géneros, donde el género femenino mostró una mayor percepción del dolor animal ante las diferentes situaciones planteadas en este estudio, en comparación con el género masculino (7.37 vs 6.36, respectivamente). Estos resultados concuerdan con lo mencionado por Díez-Goñi y Rodríguez-Díez (2017) quienes concluyen que las mujeres son más receptivas a las señales emocionales de los animales, lo que se refleja en una mejor relación empática. De forma parecida Norring et al., (2014) mencionan que las mujeres tienen una mayor capacidad para detección de señales faciales del dolor en los animales, por lo que tienen una mayor consideración al dolor animal, en comparación con los hombres, quienes generalmente muestran actitudes utilitaristas hacia los animales. Por su parte, Mejía de Díaz, (2012) indica que las mujeres son más receptivas a las señales emocionales, lo que conduce a una mejor comprensión y a una mejor relación empática tanto cognitiva como emocional asumiendo así una mayor tendencia a imaginarse en el lugar del otro, mientras que los varones tienden más a acciones instrumentales. Por su parte, Graca et al. (2018), mencionan que las mujeres mostraron niveles más bajos de creencias de supremacía humana y especismo, y niveles más altos de empatía en comparación con los hombres. Estos hallazgos refuerzan el papel del género tanto en las relaciones entre humanos y animales (no humanos) como en algunos rasgos que impactan en las relaciones entre humanos.

Cuadro 2. Percepción del dolor animal por estudiantes de Medicina Veterinaria y Zootecnia, agrupados por género.

ITEMS	MEDIA		
	GENERAL	HOMBRE	MUJER
Castración en animales de compañía	5.97	6.16	5.77
Prolapso uterino en ganado (vacas, cabras, etc)	6.97	6.84	7.09
Corte de cola en perros	6.65	6.25	7.04
Fractura expuesta en ganado	7.25	6.98	7.52
Corte de orejas en perros	7.03	6.73	7.32
Desplazamiento de abomaso	7.09	6.77	7.4
Fractura expuesta en animales de compañía	8.29	8.05	8.53
Parto distócico en ganado	7.70	7.4	7.99
Descolmille en cerdos	6.71	6.27	7.14
Infección en ombligo de becerros	6.21	5.63	6.79
Castración en ganado	6.78	6.58	6.98
Prolapso uterino en animales de compañía	7.38	7.12	7.63
Marcaje con hierro en ganado	7.49	7.01	7.96
Heridas en la cola derivadas del canibalismo en cerdos	6.90	6.37	7.42
Despique en aves	6.68	6.02	7.34
Timpanismo severo en ganado	7.32	6.82	7.82
Parto distócico en animales de compañía	7.57	7.29	7.85
Infección de ombligo en perros	6.57	6.19	6.95
Heridas en el cuerpo derivadas del canibalismo en aves	6.92	6.45	7.38
Mastitis aguda en ganado (fiebre, grumos en leche)	7.32	7	7.63
Descole en cerdos	6.57	5.89	7.25
<b>PROMEDIO GENERAL</b>	<b>7.01 ±1.1</b>	<b>6.66<sup>b</sup></b>	<b>7.37<sup>a</sup></b>

En la figura 2 se muestran los resultados de percepción del dolor animal por estudiantes de medicina veterinaria y zootecnia, agrupados por semestre que se cursa. Se encontró diferencia significativa entre semestres ( $p < 0.01$ ); Los estudiantes de los primeros semestres de formación profesional,

mostraron valores más altos de percepción de dolor (6.22a y 6.25a en los semestres 1 y 3, respectivamente) en comparación a los valores obtenidos en semestres medios (5.76c, 5.62 c, 5.63 c y 5.77 c en los semestres 4, 5, 6 y 7, respectivamente) e incluso terminales (6.1b y 5.98 b en los semestres 8 y 9, respectivamente). Estos resultados coinciden con las conclusiones de otras investigaciones, en las que se ha encontrado que las actitudes de estudiantes de las ciencias pecuarias hacia los animales empeoran mientras avanza su formación universitaria, sobre todo en los últimos años de su formación, ocasionando un efecto deletéreo traducido en una insensibilización hacia el dolor y el sufrimiento de los animales (Paul y Podberscek., 2000; Hazel et al., 2011; Cornish et al., 2016; Menor-Campos et al., 2019).

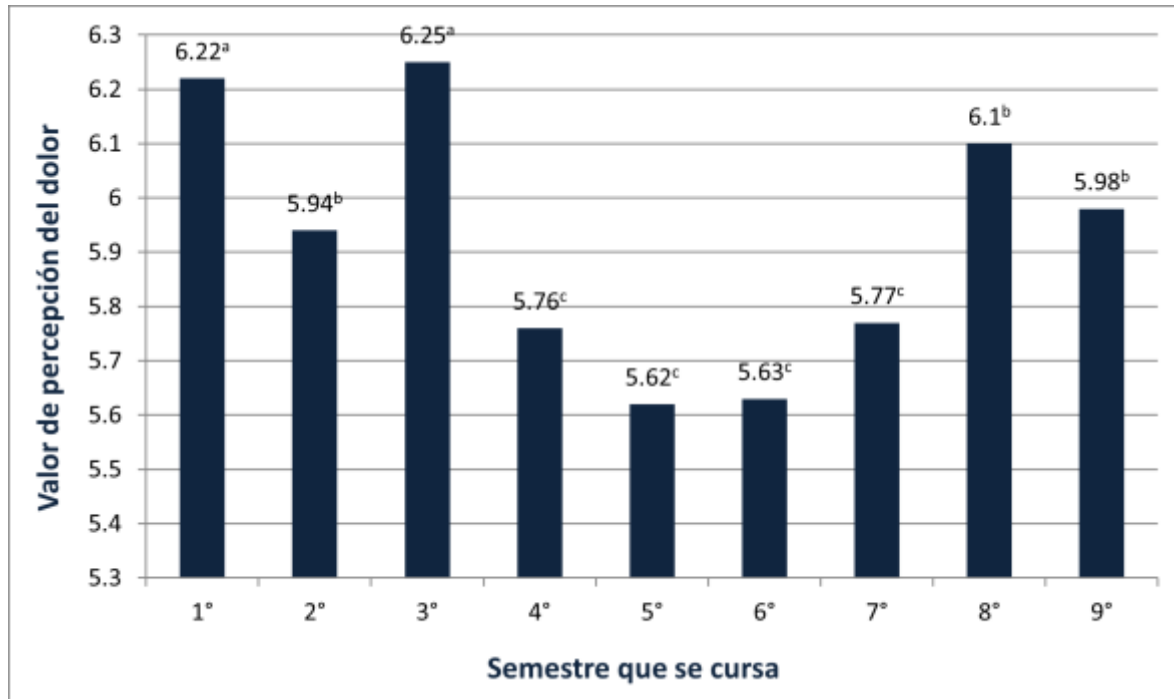


Figura 2. Percepción del dolor animal por estudiantes de Medicina Veterinaria y Zootecnia, agrupados por semestre que se cursa.

Este es un punto en el que se debe poner especial atención, sobre todo si se considera que las actitudes positivas hacia los animales se pueden enseñar y refinar (evidentemente esto no está pasando en la población encuestada) y que estas actitudes positivas son deseables en la formación del profesional del ámbito pecuario por su gran impacto futuro en el bienestar y calidad de vida de los animales. La disminución de la percepción del dolor a medida que se avanza en la formación profesional, se ha relacionado a la disminución de la empatía humano-animal a lo largo de la formación profesional, la cual se ha explicado principalmente basándose en la sobrecarga de trabajo académico, que aumenta la ansiedad de los estudiantes y disminuye su empatía; la falta de relevancia de la empatía en el currículo del alumno y en la priorización de la adquisición de conocimientos teóricos y de habilidades, sobre el conocimiento humanístico y afectivo (Paul y Podberscek, 2000; Díez-Goñi y Rodríguez-Díez, 2017; Mejía, 2012). La disminución de la empatía hacia los animales puede atribuirse también al uso poco ético de los animales en la educación, a la poca preocupación por el bienestar animal y a actitudes de los docentes por no reforzar el vínculo humano-animal (Calderón -Amor, 2015; Paul y Podberscek, 2000; Díez-Goñi y Rodríguez-Díez, 2017).

Se encontró diferencia significativa ( $p < 0.01$ ) en la percepción del dolor en estudiantes agrupados según el área de interés profesional (figura 3). Se encontró que los valores más altos corresponden a los alumnos con interés en las áreas de Salud pública y Fauna Silvestre (7.64 y 7.61 respectivamente), mientras que los alumnos con interés en las áreas de Clínica de animales,



Producción animal e Investigación mostraron los valores más bajos (7.05, 7.21 y 6.78 respectivamente). Al respecto, Norring et al., (2014) mencionan que los veterinarios con una orientación hacia la producción animal pueden clasificar el dolor animal más bajo que los veterinarios en general, argumentando que frecuentemente se asume que los animales de producción son menos sensibles al dolor en comparación con los animales de compañía, lo que puede representar que los animales de producción se conceptualizan de una forma utilitaria (Calderón- Amor, 2015).

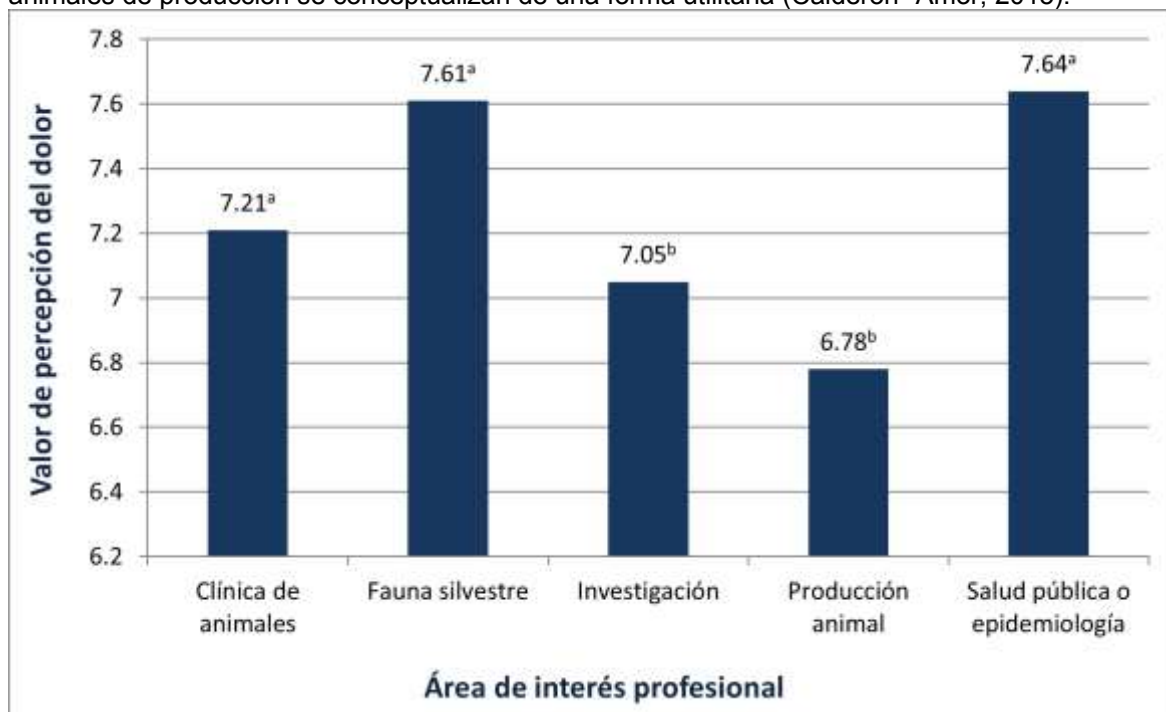


Figura 3. Percepción del dolor animal por estudiantes de Medicina Veterinaria y Zootecnia, agrupados por Área de interés profesional.

## CONCLUSIONES

Los valores más altos de percepción del dolor animal en estudiantes de medicina veterinaria se encontraron en mujeres; en los primeros semestres de la formación profesional; y en estudiantes con preferencias profesionales hacia las áreas de fauna silvestre y salud pública y epidemiología. Mientras que los valores más bajos se encontraron en varones; en los últimos semestres de la formación profesional; y en las áreas de interés profesional de producción animal, investigación y clínica de animales. Considerando que el reconocimiento y la percepción del dolor en los animales es un requisito esencial para gestionar el dolor en los animales, y que esto es de importancia crítica para su bienestar, se sugiere ampliamente revisar los planes y programas de estudio del Médico Veterinario Zootecnista para incluir e implementar contenidos y herramientas que permitan desarrollar e incrementar actitudes positivas hacia los animales, entre ellas, la percepción del dolor animal.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Amiot, C. E., & Bastian, B. 2015. Toward a psychology of human–animal relations. *Psychological Bulletin*, 141: 6–47.
2. Calderón-Amor, J. L. 2015. Estudio de los niveles de Empatía Humano-Humano y Humano-Animal en estudiantes de medicina veterinaria. Tesis de Licenciatura. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. Santiago, Chile.
3. Díez-Goñi, N., & Rodríguez-Díez, M. 2017. ¿Por qué es importante la enseñanza de la empatía en el Grado de Medicina? *Rev Clín Esp*, 217(6):332–335. doi.org/10.1016/j.rce.2017.01.005

4. Fajt, V.R., Wagner, S.A., Norby, B. 2011. Analgesic drug administration and attitudes about analgesia in cattle among bovine practitioners in the United States. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 238:755–767.
5. Graça, J., Calheiros, MM, Oliveira, A. y Milfont, TL. 2018. Why are women less likely to support animal exploitation than men? The mediating roles of social dominance orientation and empathy. *Personality and Individual Differences*, 129:66–69. doi: 10.1016 / j.paid.2018.03.007
6. Mejía de Díaz, M. A. 2012. Conducta empática en los estudiantes de las Ciencias de la Salud. (Doctorado). Madrid, España. Universidad Autónoma de Madrid.
7. Noring, M., Wikman, I., Hokkanen, A.-H., Kujala, M., & Hänninen, L. 2014. Empathic veterinarians score cattle pain higher. *The Veterinary Journal*, 200:186-190. doi:10.1016/j.tvjl.2014.02.005
8. Orihuela, Agustín; Rodolfo Ungerfeld. 2019. Prácticas Zootécnicas Dolorosas: Evaluación y alternativas para el bienestar animal. Primera edición. Editorial del Colegio de Postgraduados. Colección BBA Biblioteca Básica de Agricultura. México. Pp 206
9. Paul, E., & Podberscek, A. 2000. Veterinary education and students' attitudes towards animal welfare. *Veterinary Record*, 146: 269-272.
10. Prado, A. D., & Millet, A. P. (2015). Senciência, bioética e bem estar animal: conceitos que necessitam ser discutidos no ensino superior para mudar o paradigma na forma de ensinar e pesquisar. *Ciencias Agrarias*, 36(6):4031-4036. doi:10.5433/1679-0359.2015v36n6p4031
11. Sakellari, M., & Skanavis, C. 2013. Environmental behavior and gender: An emerging area of concern for environmental education research. *Applied Environmental Education & Communication*, 12, 77–87.
12. Serpell, J. A. (2004). Factors influencing human attitudes to animals and their welfare. *Animal Welfare*, 13:145-151
13. Swan, P. (2016). The human- Animal Interaction. *Clare Veterinary Group*, 189-199.
14. Treede RD. 2018. The International Association for the Study of Pain definition of pain: as valid in 2018 as in 1979, but in need of regularly updated footnotes. *Pain Rep* 3(2):643 doi.org/10.1097/PR9.0000000000000643
15. Viñuela-Fernández, Ignacio; Susan M. Fleetwood-Walker; Emma Jones; Elizabeth M. Welsh. 2007. Pain mechanisms and their implication for the management of pain in farm and companion animals. *The Veterinary Journal* 174:227–239 doi:10.1016/j.tvjl.2007.02.002
16. Zubieta, E. M. 2018. Valores y actitudes. *Psicología Política y Social*, 25-46
17. 20. Paul, E., & Podberscek, A. 2000. Veterinary education and students' attitudes towards animal welfare. *Veterinary Record*, 146: 269-272.
18. 21. Hazel, S. J., Signal, T. D., & Taylor, N. 2011. Can Teaching Veterinary and Animal-Science Students about Animal Welfare Affect Their Attitude toward Animals and Human-Related Empathy? *Journal of Veterinary Medical Education*, 38(1):74-83.
19. 22. Cornish, A., Raubenheimer, D., & McGreevy, P. 2016. What we know about the public's level of concern for farm animal welfare in food production in developed countries. *Animals*, 6(11):74-82.
20. 23. Menor-Campos D. J., Sarah Knight, Carolina Sánchez-Muñoz & Rocío López-Rodríguez. 2019. Human-Directed Empathy and Attitudes Toward Animal Use: A Survey of Spanish Veterinary Students. *Anthrozoös*, 32(4):471-487.

## CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DEL PROPÓLEO ELABORADO POR ABEJAS *APIS MELLIFERA*. DEL ÁRBOL *PINUS GREGGII*

Karla Itzél Alcalá Escamilla<sup>1</sup>, Yolanda Beatriz Moguel Ordoñez<sup>2</sup>, Francisco Javier Ramírez Ramírez<sup>1</sup>, Claudia García Figueroa<sup>1</sup>, Laura Yavarik Alvarado Ávila<sup>1</sup>, Miguel Enrique Arechavaleta Velasco<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INIFAP, Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal.

<sup>2</sup>INIFAP, Campo Experimental Mocochoá.

alcala.karla@inifap.gob.mx

### RESUMEN

El propóleo es una mezcla elaborada por las abejas *Apis mellifera* a partir de resinas segregadas por la corteza y yemas de algunas plantas, combinadas con enzimas y cera; las abejas lo utilizan para sellar y desinfectar la colmena, cubrir las celdas antes de la postura y embalsamar animales que murieron en el interior de la colmena. En el propóleo se han identificado componentes bioactivos con actividad antioxidante, antimicrobiana, antiviral, antiinflamatoria, anticancerígena, entre otras; sin embargo, su composición y actividad biológica varía dependiendo de la planta de donde se obtenga, por tal motivo, propóleos provenientes de diferentes zonas geográficas y plantas, pueden presentar diferente actividad biológica. El objetivo del trabajo fue determinar algunas características fisicoquímicas y actividad biológica del propóleo colectado dentro de una plantación de *Pinus greggii* en el estado de Oaxaca, México. Las muestras se obtuvieron raspando el propóleo de la tapa interna de las colmenas, se tomaron tres lotes (A, B y C) de un total de 20 colmenas cada uno. Los análisis realizados fueron; contenido de cera, contenido de mezclas mecánicas, reacción cualitativa ante compuestos flavonoides, índice de oxidación e índice de yodo, Los parámetros seleccionados y las técnicas analíticas se realizaron de acuerdo a los estándares de calidad establecidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-003-SAG/GAN-2017 y en la Norma Rusa RS-RSFR-317-77. El contenido de cera fue de 8.6%, 10.15 y 9.5% para cada lote, presentando valores debajo de límite (30%). El contenido de mezclas mecánicas fue mayor al 40% en los tres lotes, probablemente debido a que se obtuvo por raspado. La presencia de compuestos flavonoides de todos los lotes fue positiva, lo que indica que puede presentar actividad antioxidante, antiinflamatoria y/o antimicrobiana. El índice de oxidación fue de 4, 2 y 3 segundos respectivamente para cada lote. El valor del índice de yodo no debe ser menor de 35% cumpliéndolo únicamente el propóleo del lote B (35.5%), seguido del A con 31.7% y el C con 25.4%. Los resultados del índice de oxidación indica la capacidad de atrapar radicales libres, causantes de envejecimiento celular y el índice de yodo ayuda a determinar la actividad biológica, por lo que en conjunto proporcionan información de las propiedades terapéuticas de los propóleos. Se debe de disminuir el contenido de impurezas al momento de cosechar el propóleo; realizando un mejor manejo al momento de su recolección, evitando raspar el propóleo; sin embargo, los propóleos obtenidos de *Pinus greggii* presentan actividad biológica, con una posible acción antioxidante y antimicrobiana.

### INTRODUCCIÓN

El propóleo es un producto elaborado por las abejas *Apis mellifera* L. a partir de resinas segregadas por la corteza y yemas de algunas plantas, el cual es mezclado con cera y sustancias enzimáticas.<sup>1</sup> Etimológicamente la palabra deriva de dos vocablos: *pro* –delante de o antes- y *polis* –ciudad-, haciendo referencia a que es una sustancia que se encuentra en la entrada y que está a favor o en defensa de la colmena.<sup>2</sup> Las abejas lo emplean con diversos fines, como fijar partes móviles en la colmena, cubrir las celdas antes de la postura de un huevo, embalsamar animales que murieron en el interior de la colmena que al ser demasiado grandes no es posible retirar y al descomponerse pueden ser una fuente de infección; y en zonas frías, las abejas lo utilizan para reducir su piquera.<sup>3</sup> Los países con mayor producción de propóleo son: China, Argentina, Brasil, Cuba, Chile, Uruguay y Canadá. En México la limitada producción de propóleo se debe principalmente al tipo de apicultura que se practica en el país, la cual se enfoca principalmente a la extracción de miel y a la falta de empresas que demanden la compra de este producto.<sup>4</sup> Actualmente, debido a su composición, el propóleo es usado en la industria farmacéutica,<sup>5</sup> alimenticia<sup>6</sup> y cosmética.<sup>7</sup>

*Pinus greggii* es una especie de pino endémico de México, el árbol posee una gran importancia ecológica ya que es uno de los componentes estructurales clave en las comunidades donde crece, debido a que forma parte del dosel dominante y en muchos casos es la única especie que representa el estrato arbóreo, generando un microambiente que beneficia a diversas plantas y animales. De igual manera, posee importancia económica debido a que se utiliza para la obtención de madera para la industria del aserrío, elaboración de postes para cerca y como leña combustible.<sup>8</sup>

## TEORÍA

El propóleo contiene de manera general 50% de resinas de plantas, 30% de cera, 10% de aceites esenciales y aromáticos, 5% de polen y 5% de otras sustancias orgánicas; entre los componentes químicos que conforman al propóleo sobresalen los compuestos fenólicos.<sup>1</sup> La composición del propóleo le permite tener una actividad biológica amplia, por ejemplo, presenta actividad antibacteriana, antiviral, antifúngica, citotóxica, contra protozoarios, antioxidante, inmunomoduladora, antiinflamatoria, entre otras.<sup>5, 9</sup> Sin embargo, su composición química varía y depende del lugar, la época de colecta y la planta que hayan visitado las abejas, lo que significa que su actividad biológica también varía de una región a otra.<sup>9,10</sup>

La diversidad en los métodos de cosecha y en la composición química del propóleo, además de las opciones de empleo en la industria, origina la necesidad de un control de calidad para su uso, y considerando que su composición varía de una región a otra, es obligatorio tener en cuenta que la actividad biológica no será la misma en todos los propóleos. Es necesario conocer el origen, la calidad del propóleo y su composición antes de utilizarlo en la industria, con el fin de garantizar su calidad, seguridad y eficiencia. Por tal motivo, el objetivo del trabajo fue determinar algunas características fisicoquímicas y actividad biológica del propóleo colectado dentro de una plantación de *Pinus greggii* establecida en el estado de Oaxaca, México.

## PARTE EXPERIMENTAL

Se trabajó en un apiario ubicado en el municipio de Santo Domingo Barrio Bajo en Villa de Etla, Oaxaca, México. El apiario estaba formado por 20 colmenas y se localizaba en el centro de una plantación de árboles de pino *Pinus greggii* los cuales llevaban 17 años de haber sido sembrados. Para obtener las muestras de propóleo en greña se realizó un raspado de la tapa interna de cada colmena con la ayuda de una cuña de apicultor que se utilizó únicamente con ese fin. El raspado obtenido de todas las colmenas se colocó en una bolsa de plástico nueva y limpia. Después de la obtención del propóleo se sellaron las bolsas con el fin de que no entrara ningún contaminante físico externo y se mantuvieron en un lugar limpio y fresco hasta su análisis. Se muestreo tres veces el apiario con diferencia de un mes entre cada muestreo; en total se tomaron tres lotes (A, B y C) de propóleos.

Los análisis de las muestras se realizaron en el laboratorio de Campo Experimental Mococho del INIFAP, localizado en el km 25 de la antigua carretera Mérida-Motul, Yucatán. Los parámetros evaluados y las técnicas analíticas aplicadas se realizaron de acuerdo a algunas de las especificaciones de calidad establecidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-003-SAG/GAN-2017, Propóleos, producción y especificaciones para su procesamiento,<sup>11</sup> y a la Norma Rusa RST-RSFR-317-77<sup>12</sup> para el propóleo. Cada estudio se realizó por triplicado a cada uno de los lotes. Los análisis realizados fueron: Contenido de cera, contenido de mezclas mecánicas, reacción cualitativa ante compuestos flavonoides, índice de oxidación e índice de yodo.

Para determinar el contenido de cera se pesaron 3 gr de muestra a los cuales se les agregó 200 ml de agua destilada. La mezcla se hirvió por 15 minutos y posteriormente se permitió que se enfriara para poder filtrarla con la ayuda de papel filtro. El papel filtro se colocó en la estufa a 80°C hasta obtener un valor constante. Para obtener el porcentaje de cera se utilizó la siguiente fórmula:

$$1.- \% \text{ de cera} = \frac{\text{Peso de la muestra en papel}}{\text{Peso inicial de la muestra}} \times 100$$

Para determinar el porcentaje de impurezas mecánicas se pesó un gramo de muestra al que se le agregaron 15 ml de solución cloroformo:acetona. Posteriormente se dejó reposar a temperatura ambiente por una hora y se filtró con papel filtro, el cual posteriormente se lavó con una solución de cloroformo:acetona y se dejó secar a temperatura ambiente hasta obtener un peso constante. Se utilizó la siguiente fórmula para obtener el porcentaje:

$$2.- \% \text{ de impurezas mecánicas} = \frac{\text{Peso de la muestra en papel}}{\text{Peso inicial de la muestra}} \times 100$$

Con respecto a los compuestos flavonoides, se tomaron 0.2 gr de muestra a los que se les agregaron 5 ml de alcohol etílico, posteriormente se colocó en baño maría por tres minutos, transcurrido el tiempo se permitió que se enfriara para la filtración. A continuación, se tomó 1 ml del filtrado y se colocó en un vaso de precipitado donde se añadió también alcohol etílico. De la solución obtenida se tomó 1 ml al que se le adiciono una gota de hidróxido de sodio (20%). En otro tubo se tomó un ml de la solución y se le agrego 0.5 ml de acetato de plomo al 10%. Se observó y se reportó el cambio de color.

Para determinar el índice de oxidación se utilizaron 0.2 gr de muestra a los que se le agregaron 5 ml de alcohol etílico. La mezcla se dejó reposar aproximadamente por una hora a temperatura ambiente y posteriormente se le agrego 100 ml de agua destilada. Se filtró y del filtrado se tomaron 10 ml que se pasaron a un matraz aforado de 100 ml el cual se completó con agua destilada. De la solución obtenida se tomó 2 ml a los que se les adiciono 1 ml de ácido sulfúrico. Se agitó por un minuto y se agregó una gota de permanganato de potasio y se tomó el tiempo en el que ocurrió el cambio de color.

Respecto al índice de yodo, se tomó una muestra de 50 mg de propóleo y se colocó en un matraz esmerilado al que se le agrego 2.5 ml de cloroformo y 6.25 ml de solución de bromuro de yodo, se tapó el matraz y se dejó reposar por una hora en un lugar oscuro. Transcurrido el tiempo se agregó 5 ml de ioduro de potasio al 10% con 50 ml de agua destilada y 5 gotas de solución de almidón. La mezcla se agitó y tituló a 0.1N de tiosulfato de sodio hasta que se observó decoloración de la solución. El resultado se obtuvo con la siguiente fórmula:

$$3.- \% \text{ de yodo} = \frac{\text{Cantidad de tiosulfato} \times 0.02169}{\text{Cantidad inicial de propóleo}} \times 100$$

## RESULTADOS

Todos los resultados de los análisis realizados a las muestras de propóleo se encuentran en el Cuadro 1. Los parámetros de contenido de cera y contenido de mezclas mecánicas, son indicadores de la pureza del propóleo; la presencia de un exceso de ceras o de impurezas mecánicas deprecia el producto y le resta pureza al propóleo, por lo tanto, cuando el contenido sobrepasa los valores establecidos en las normas se considera un propóleo de mala calidad.<sup>13</sup> Respecto al contenido de cera, las tres muestras salieron muy por debajo del límite establecido, lo que sirve de indicador de la pureza del propóleo. Sin embargo, en cuanto al contenido de mezclas mecánicas los valores en los tres lotes fueron mayores al límite máximo establecido en la norma, por lo que los resultados son un indicador de que probablemente se realizó un mal manejo al momento de tomar la muestra, debido a que se obtuvieron por raspado en la tapa interna, lo cual pudo arrastrar pedazos de madera y abejas muertas.<sup>14</sup>

Cuadro 1.- Resultados de los análisis realizados a las muestras de propóleo

Parámetro	Muestras			Especificaciones	Observaciones
	A	B	C		
Contenido de cera (%)	8.6	10.15	9.5	No más del 30%	Debajo del límite
Contenido de mezclas mecánicas (%)	44.8	45	47.3	No más del 20%	Arriba del límite
Reacción cualitativa ante compuestos flavonoides	Detectable	Detectable	Detectable	Positivo	Positivo
Índice de oxidación (segundos)	4	2	3	No mayor a 22	Debajo del límite
Índice de Yodo (%)	31.7	35.5	25.4	No menor a 35%	Solo B

Todas las muestras presentaron reacciones positivas ante compuestos flavonoides. Los flavonoides tienen propiedades medicinales de tipo antioxidante, anticancerígena antiinflamatoria, antibacteriano, entre otras, por lo que su presencia es un indicador de que el propóleo se puede utilizar con fines terapéuticos.<sup>15</sup> En relación al Índice de oxidación, este es influenciado por el contenido de compuestos fenólicos, lo que indica que a mayor concentración de fenoles totales el tiempo de reacción es más rápido. Los resultados en las muestras fueron inferiores al límite establecido en las Normas, por tal razón, se puede indicar que el propóleo obtenido de *Pinus greggii* presenta una buena cantidad de compuestos oxidables, demostrando sus propiedades antioxidantes y su capacidad de atrapar radicales libres causantes del daño celular.

El índice de yodo es una medida del grado de insaturaciones de los componentes de una grasa, debido a que los aceites vegetales son grasas insaturadas, la prueba permite conocer que tan rico en estos compuestos es el propóleo.<sup>15</sup> La norma indica que el valor no debe ser menor de 35% cumpliendo este requisito únicamente el propóleo del lote B.

## CONCLUSIONES

La recolección del propóleo no significa para el apicultor ninguna disminución en el rendimiento de producción de miel, cera, jalea real o polen, por lo que puede considerarse como un producto más de la colmena para obtener un nuevo ingreso. La producción de propóleos puede contribuir a mejorar la rentabilidad de las explotaciones apícolas debido a su bajo costo de producción y porque existe una demanda creciente en el mercado internacional. Sin embargo, como todos los productos de la colmena también es necesario un manejo adecuado en su recolección y que cumpla los estándares de calidad. Las muestras de propóleo cosechado por las abejas del árbol *Pinus greggii* presentan características que se encuentran dentro de los valores establecidos en la Norma Oficial Mexicana y en la Norma Rusa, exceptuando el contenido de mezclas mecánicas el cual supera el 20% en todos los lotes. Con los resultados obtenidos, se hace un aporte en el proceso de caracterización del propóleo proveniente de *Pinus greggii* en el estado de Oaxaca; no obstante, es necesario realizar más estudios para conocer a mayor profundidad todas sus características sensoriales y fisicoquímicas, así como realizar estudios para conocer a profundidad su actividad biológica.

**BIBLIOGRAFÍA**

1. S. Huang, C.P. Zhang, K. Wang, G.Q. Li, F.L. Hu. "Recent Advances in the Chemical Composition of Propolis" *Molecules*. Vol. 19, 2014, pp. 19610-19632.
2. E.L. Ghisalberti. "Propolis: A review". *Bee World*, Vol. 60:2, 1979, pp. 59-84.
3. V.S. Bankova, de Castro S. I. M.C. Marcucci. "Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*, Vol. 31, 2000, pp.3-15.
4. Claridades agropecuarias. Situación actual de la apicultura en México. Coordinación General de ganadería. Programa Nacional para el control de la abeja africana. 2010. 199.
5. M.C. Marcucci. "Propolis: Chemical composition, biological properties and therapeutic activity". *Apidologie*. Vol 26, 1995, pp. 83-99.
6. J. Figueroa, J. Salcedo, Y. Aguas, R. Olivero, G. Narvaez. Recubrimientos comestibles en la conservación del mango y aguacate y perspectiva al uso del propóleo en su formulación. *Rev. Colombiana Cienc Anima*. Vol. 3,2, 2011, pp. 386-400.
7. L.E. Benavidez. "Actividad antioxidante del extracto de propóleos y su incorporación en una formulación cosmética" *Ciencia e Investigación*. Vol. 20,2, 2017, pp. 3-8.
8. B. Ramírez-Herrera, J.J. Vargas-Hernández, J. López-Upton. "Distribución y conservación de las poblaciones naturales de *Pinus greggii*" *Acta Bot. Mex*. Vol. 72, 2005, pp. 1-16.
9. L. Cornara, M. Biagi, J. Xiao, B. Burlando. "Therapeutic properties of bioactive compounds from different honeybee products." *Front. Pharmacol*. Vol. 8, 2017, p.20
10. V. Bankova, A. Dyulgeroc, S. Popov, L. Evstatieva, L. Kuleva, O. Pureb, Z. Zamjansan. "Propolis produced in Bulgaria and Mongolia: phenolic compounds and plant origin. *Apidologie*. Vol 23, 1992, pp. 79-85.
11. Norma Oficial Mexicana NOM-003-SAG/GAN-2017, Propóleos, producción y especificaciones para su procesamiento.
12. Russian Regional Standards RSFSR Norma Rusa RS-RSFR-317-77.
13. L.R. Palomino G., J.P. Martínez G., C.M. García P., J.H. Gil G., D.L. Durango R., "Caracterización fisicoquímica y actividad antimicrobiana del propóleos en el Municipio de La Unión (Antioquía, Colombia). *Rev. Fac. Nac. Agron. Medellin*. Vol 63,1, 2010, pp. 5373-5383.
14. M.S. Álvarez. "Caracterización organoléptica y físico-química de propóleos del departamento de la libertad, Perú". *The Biologist (Lima)*. Vol 10, 1, 2012, pp. 34-40.
15. M. Silva R., A. Torres, W. Hoffman. "Determinación de propiedades fisicoquímicas de propóleos provenientes de cinco especies de abejas sin aguijón del norte de Santander-Colombia" *Bistua: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas*. Vol 14, 1, 2016, pp. 0.-16.

## EFFECTO DE ESTRÉS OSMÓTICO Y RADIACIÓN LUMÍNICA SOBRE LA PROPAGACIÓN *IN VITRO* DE *LIPPIA GRAVEOLENS*

Jesus E. Medrano-Garcia, Araceli Rodríguez-Sahagún, Rayn C. Aarland, Gustavo J. Acevedo-Hernández y Osvaldo A. Castellanos-Hernández

Centro de Investigación en Biología Molecular Vegetal, Centro Universitario de la Ciénega–  
Universidad de Guadalajara  
jesus.medrano@alumnos.udg.mx

### RESUMEN

Cuando las plantas se encuentran expuestas a factores de estrés hídrico, estas llevan a cabo diferentes mecanismos morfo-fisiológicos y bioquímicos para poder sobrevivir<sup>1</sup>. De igual manera, cuando ocurre un cambio en la intensidad o en la calidad de la luz incidente, se originan modificaciones en las plantas que cambian su anatomía y fisiología, al igual que su crecimiento y desarrollo<sup>2</sup>. Dada la poca información que se tiene hasta el momento sobre el rendimiento de cultivos de *Lippia graveolens*, con este trabajo se evidencia el comportamiento morfológico de *L. graveolens* sometido a diferentes tipos de estrés osmótico y radiación, para evaluar parámetro en la producción de biomasa en la propagación *in vitro* de orégano mexicano. Por ello en este proyecto se implementaron distintos tratamientos de estrés osmótico y radiación lumínica sobre la propagación *in vitro* de *Lippia graveolens*. Se evaluó el efecto de dos diferentes factores de manera simultánea, el primer factor consiste en la inducción de estrés osmótico en el medio del cultivo (NaCl 50 mM, PEG 4000 al 12 % y medio sin estrés osmótico como control); y el segundo factor diferentes longitudes de onda de luz (roja, azul, LED y UV<sup>3</sup>), tomando como control la luz LED. Se prepararon 20 medios MS (Murashige y Skoog) con PEG al 12%, 20 medios MS con NaCl a 50 mM y 20 medios MS sin ningún tratamiento de estrés osmótico (controles). Los medios de cada tratamiento se dividieron en las diferentes longitudes de onda de luz y así obtener cinco réplicas de cada tratamiento. El tratamiento con luz Roja/Medio Ctl mostró un incremento en la producción de biomasa. En los tratamientos con luz LED/Medio Ctl y Medio NaCl se mostró una mayor longitud en cuanto a la altura de la plántula. Los tratamientos con luz LED/Medio Ctl, luz Roja/Medio Ctl y luz Azul/Medio PEG mostraron la mayor cantidad de segmentos nodales. En cuanto al número de hojas, los tratamientos con luz LED/Medio Ctl y con luz Roja/Medio Ctl, son en los que se observa la mayor cantidad. En el número de brotes, en el tratamiento con luz Azul/Medio Ctl, fue en el cual se obtuvieron mejores resultados. Por último, en los tratamientos con luz UV/Medio NaCl y luz Azul/Medio Ctl, fueron donde se pudo registrar la mayor generación de producción de callo. Se llegó a la conclusión que la implementación de estrés osmótico y radiación lumínica tiene una influencia a nivel morfológico sobre las plántulas de *Lippia graveolens* cuando son propagadas *in vitro*, con estos datos se pudo conocer como estos factores muchas veces condicionan el rendimiento de los cultivos, afectándolos de manera sinérgica o antagónica, dependiendo las condiciones a los que son expuestos.

### INTRODUCCIÓN

*Lippia graveolens* H.B.K. comúnmente conocida como orégano mexicano, es encontrada en estado silvestre en regiones áridas y semiáridas en al menos 24 estados de la república<sup>4</sup>. Tiene un uso muy extendido como condimento y aromatizante en los platillos típicos mexicanos, pero además también se utiliza ampliamente como analgésico, antiinflamatorio, antipirético y en el tratamiento de diferentes malestares como son desórdenes menstruales, diarrea, enfermedades respiratorias, y la disentería, esto por sus propiedades tónicas, digestivas, estomacales y antiasmáticas<sup>5,6</sup>.

La propagación *in vitro* o micropropagación, es una técnica de cultivo en la cual a partir de un fragmento (explante), se obtienen plantas genéticamente idénticas a la planta madre, las cuales son denominadas clones<sup>7</sup>. Hoy en día este sistema de propagación *in vitro* ha sido utilizado para la obtención de metabolitos secundarios y mejoramiento de diversas especies del género *Lippia*<sup>8</sup>, con el objetivo de obtener nuevos conocimientos de nuevos híbridos y variedades que satisfagan las necesidades del consumidor y del mercado de exportación<sup>9</sup>.



Las plantas como todos los organismos vivos durante su ciclo experimentan reacciones a factores ambientales que inducen estados de estrés, entre los que se encuentran: Déficit hídrico, radiación UV, salinidad, etc<sup>10</sup>. Estos cambios ambientales se originan principalmente por las actividades antropogénicas, que han causado la contaminación del aire y del suelo, la lluvia ácida, la degradación del suelo, la salinidad, el aumento de radiación UV-B, el cambio climático, entre otras. Algunos de estos factores de estrés pueden oscilar significativamente en duración e intensidad en escalas de tiempo de horas, días, estaciones o años, mientras que otros pueden cambiar lentamente las condiciones de crecimiento de las plantas<sup>11</sup>.

La cantidad y calidad del crecimiento de las plantas se logra por medio de la división celular, el agrandamiento y la diferenciación celular, e involucra eventos genéticos, fisiológicos, ecológicos y morfológicos y sus complejas interacciones. Todos estos eventos se ven afectados por el déficit de agua<sup>12</sup>. El mecanismo de reducción del rendimiento en condiciones de estrés hídrico está relacionado con la absorción de luz reducida, bajas tasas fotosintéticas, eficiencia del uso del agua (WUE) y el índice de cosecha. El nivel de vulnerabilidad del cultivo frente al estrés por sequía depende de la intensidad del estrés, genotipos de las plantas y etapa de crecimiento del cultivo. Las plantas sobreviven bajo un suministro de agua limitado a través de varios mecanismos morfo-fisiológicos y bioquímicos, por ejemplo, cambiando su arquitectura, controlando la tasa de crecimiento, ajustando el equilibrio hídrico de las células y los tejidos y activando los sistemas de defensa antioxidantes<sup>1</sup>.

De igual manera, el desarrollo y crecimiento de una planta se encuentran afectados, entre otros factores, por la calidad, así como la intensidad de la luz que es captada por los órganos que realizan la fotosíntesis. Es decir, cuando ocurre un cambio en la intensidad o en la calidad de la luz incidente, se originan modificaciones en las plantas que cambian y repercuten su anatomía y fisiología, al igual que su crecimiento y desarrollo, influenciados fuertemente por la calidad de la radiación lumínica en términos de longitud de onda que llega a la superficie de las hojas<sup>2</sup>. Tras la exposición, las plantas y las algas verdes pueden detectar directamente un flujo de fotones de alta incidencia utilizando varias clases de fotorreceptores, que incluyen fototropinas, neocromos, fitocromos, rodopsinas y criptocromos. Como las longitudes de onda variables de la luz son concomitantes con el desarrollo de la planta, estos receptores se mecanizan naturalmente para detectar un rango de diferentes longitudes de onda<sup>13</sup>.

El objetivo del presente trabajo es evaluar el efecto morfológico del estrés osmótico y radiación lumínica sobre la propagación *in vitro* de *Lippia graveolens*.

## PARTE EXPERIMENTAL

El presente estudio se llevó a cabo en el Centro de Investigación en Biología Molecular Vegetal de la Universidad de Guadalajara, Sede Centro Universitario de la Ciénega.

Propagación *in vitro* de *Lippia graveolens*.

Para la propagación *in vitro* se utilizó el método propuesto por Castellanos-Hernández *et al.*, 2013<sup>14</sup>. Los segmentos nodales utilizados para la proliferación de yemas axilares se obtuvieron de plántulas germinadas *in vitro* que tuvieron entre 3 y 4 semanas de desarrollo. Los segmentos del tallo que contenían dos yemas axilares se cultivaron en medio MS suplementado con 1,5 mg L<sup>-1</sup> de BA (N<sup>6</sup>-bencilaminopurina) (Figura 1).

El medio nutriente utilizado fue el mismo que en todos los experimentos de Castellanos-Hernández *et al.*, 2013<sup>14</sup> consistió en sales y vitaminas de Murashige y Skoog (MS) (Murashige y Skoog 1962) complementado con 3% (w/v) de sacarosa. El medio se solidificó con la adición de Phytigel.™ (Sigma P8169) a 0.25% (w/v) y el pH del medio se ajustó a 5,8 antes de esterilizar en autoclave a 121° C durante 15 min.

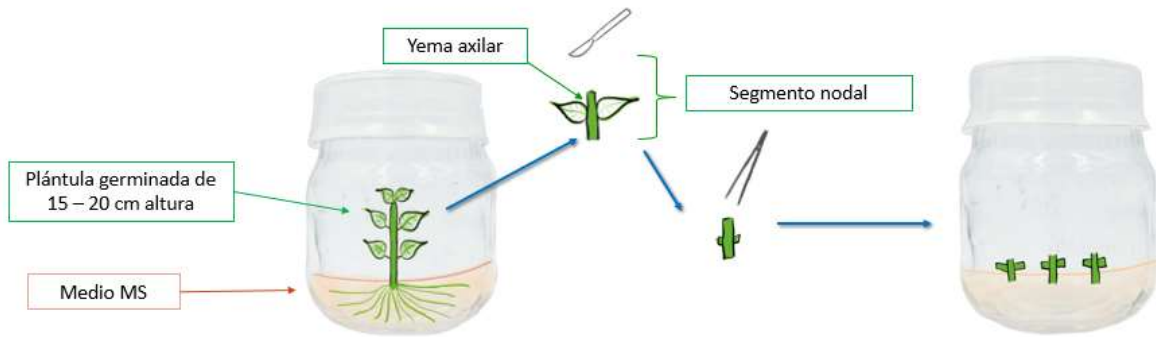


Figura 1. Propagación *in vitro* de *Lippia graveolens*

Diseño experimental

Se evaluó el efecto de dos diferentes factores de manera simultánea, el primer factor consistió en la inducción de estrés osmótico en el medio del cultivo (NaCl 50 mM, PEG 4000 al 12 % y medio sin estrés osmótico como control); y el segundo factor diferentes longitudes de onda de luz (roja, azul, LED y UV)<sup>3</sup>, tomando como control la luz LED, con un fotoperiodo 16/8 horas (luz/oscuridad) excluyendo la luz UV donde su fotoperiodo fue 2/14/18 (luz UV/luz/oscuridad). Se prepararon 20 medios MS (Murashige y Skoog) con PEG al 12%, 20 medios MS con NaCl a 50 mM y 20 medios MS sin ningún tratamiento de estrés osmótico (controles). Los medios de cada tratamiento se dividieron en las diferentes longitudes de onda de luz y así obtener cinco réplicas de cada tratamiento (Figura 2):

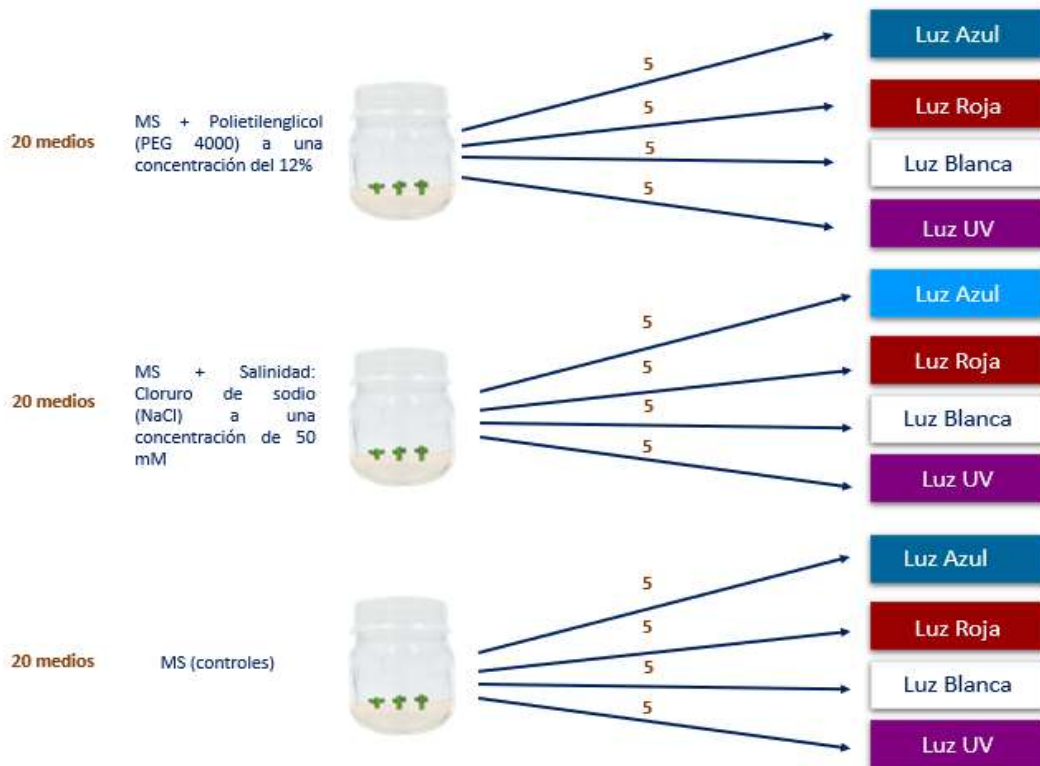


Figura 2. Distribución en las diferentes longitudes de onda de luz de los distintos tratamientos de estrés osmótico sobre la propagación *in vitro* de *Lippia graveolens*.

### Parámetros de crecimiento

Transcurridas 4 semanas, se determinó biomasa en peso fresco, el número de brotes, número de segmentos nodales, número de hojas, longitud del brote (cm) y formación de callo de las plántulas expuestas a las condiciones previamente establecidas, de las cuales se tomaron 3 réplicas de cada uno de los tratamientos para su correspondiente análisis.

## RESULTADOS

Una vez que las plántulas de *Lippia graveolens* se desarrollaron en los distintos tratamientos de estrés osmótico y radiación lumínica se evaluaron los parámetros morfológicos, encontrándose que en la totalidad de los parámetros valorados hubo diferencias estadísticamente significativas en los distintos tratamientos efectuados, los cuales se pueden observar en las gráficas correspondientes.

### Biomasa

Se observó que en las plántulas bajo la radiación de luz Roja se obtuvo una mejor respuesta para este parámetro (Figura 3.a) implementando el medio Ctl obteniéndose valores de aproximadamente 4 gramos y encontrándose diferencias estadísticamente significativas con respecto a los tratamientos bajo la luz control (LED), donde se obtuvieron valores inferiores a los 4 gramos, por su contraparte las plántulas bajo los tratamientos expuestos a radiaciones de luz Azul y UV tienden a la disminución a comparación de los valores de biomasa obtenidos bajo la luz control, viéndose que la cantidad de biomasa producida al inducir estrés osmótico por NaCl 50 mM y PEG 12 % tiende a presentar menores respuestas en las luces Azul, Roja y UV, donde la respuesta bajo la radiación de luz UV fue en la cual se obtuvieron los resultados con los valores inferiores en cuanto a biomasa y número de brotes (Figura 3).

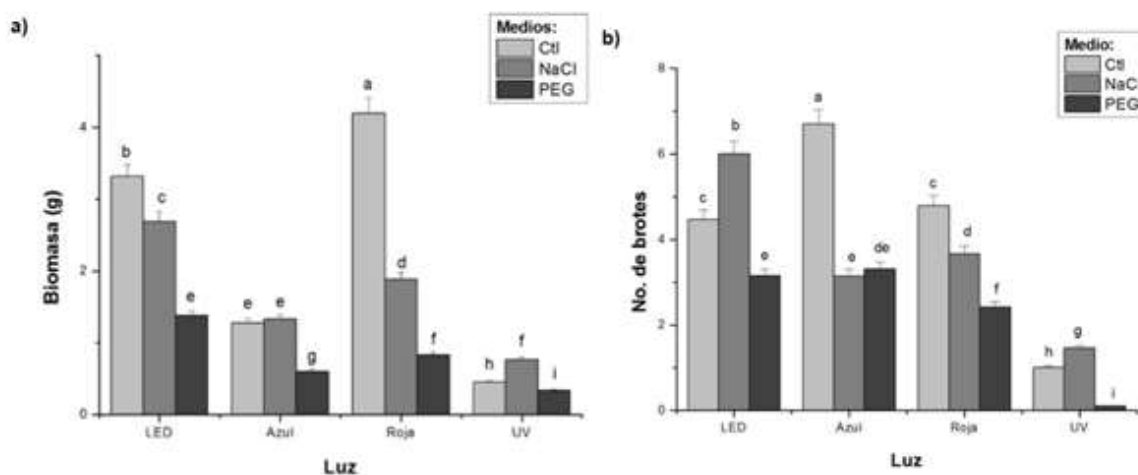


Figura 3. Biomasa peso fresco en gramos (a) y número de brotes (b) de plántulas de *Lippia graveolens* sometida a diferentes tratamientos de estrés osmótico y radiación lumínica donde la Luz LED es el control. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas. Resultados reportados como la media  $\pm$  DE de tres muestras biológicas.

### Número de brotes

En los resultados sobre el número de brotes (Figura 3.b) se observó que la mejor respuesta en cuanto a cantidad se obtuvo bajo la radiación de luz Azul implementando el medio Ctl obteniéndose como media aproximadamente 7 brotes promedio por explante, encontrando diferencias estadísticamente significativas con respecto a los tratamientos bajo la radiación de luz control en donde se obtuvieron valores de entre 3 y 6 brotes; la segunda mejor respuesta se obtuvo bajo la luz control en el medio suplementado con NaCl 50 mM, donde también se observa una diferencia estadísticamente significativa a comparación de las radiaciones de luz restantes. Cabe mencionar que en los tratamientos restantes bajo los espectros de luz Azul, Roja y UV se observa una tendencia

hacia la disminución del número de brotes a comparación de los tratamientos bajo la radiación de luz LED control.

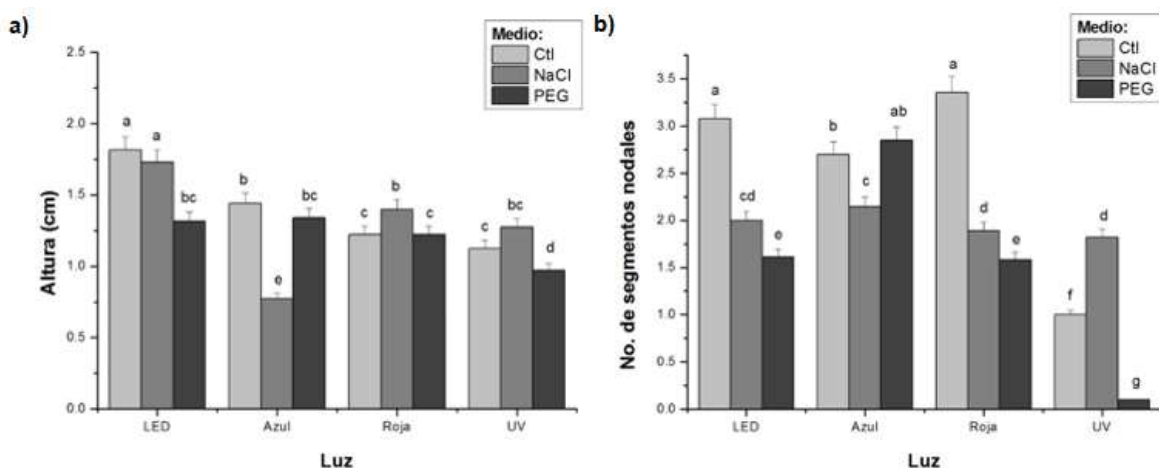


Figura 4. Altura en centímetros (a) y Número de segmentos nodales (b) de plántulas de *Lippia graveolens* sometida a diferentes tratamientos de estrés osmótico y radiación lumínica. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas. Resultados reportados como la media  $\pm$  DE de tres muestras biológicas.

#### Altura

En cuanto a la altura de las plántulas de *Lippia graveolens* (Figura 4.a), se observó que los mejores resultados en las plántulas con la mayor altura se obtuvieron bajo la radiación de luz LED control alcanzándose valores entre los 1.25 y 1.75 cm, siendo que en el tratamiento donde se implementó el medio Ctl es donde se observa la mejor respuesta para este parámetro con una altura aproximada por encima de los 1.75 cm y que además es una respuesta similar al segundo mejor tratamiento registrado, el cual se obtuvo bajo la misma radiación de luz LED control con el medio implementado con estrés osmótico por NaCl 50 mM, no existiendo diferencia estadísticamente significativa entre ellos.

#### Número de segmentos nodales

Acerca del número de segmentos nodales (Figura 4.b), se pudo observar que la mejor respuesta en cuanto a cantidad se obtuvo bajo la radiación de luz Roja en la cual el valor más alto se registró implementando el medio Ctl con un número de segmentos nodales promedio aproximados de 3.25 y que además es similar a tratamientos bajo las radiaciones de luz Azul y luz LED control los cuales corresponden a LED/Ctl y Azul/PEG, siendo que no existen diferencias estadísticamente significativas entre estos. Cabe mencionar que se puede observar una tendencia superior del número de segmentos bajo las radiaciones de luz Azul y Roja respecto a la luz control. En cuanto a los tratamientos bajo la radiación de luz UV, se puede observar que estos tienden a la descendencia y es en donde se obtuvo la respuesta más baja respecto al número de segmentos nodales con el tratamiento de luz UV/PEG.

#### Número de hojas

Se pudo observar que la mejor respuesta se obtuvo bajo la radiación de luz LED control con valores promedio ligeramente por encima de 8 hojas promedio por explante esto en medio Ctl y que además es un tratamiento similar al tratamiento donde se obtuvo la segunda mejor respuesta registrada con valores promedio ligeramente por debajo de las 8 hojas la cual corresponde al medio donde se implementó un tratamiento de estrés osmótico con PEG al 12% bajo una radiación de luz Roja (Figura 5.a). Cabe mencionar que bajo las radiaciones de luz Azul y Roja se observa una tendencia superior de los valores con respecto a la radiación de luz LED control en cuanto al número de hojas, por su parte en los resultados obtenidos bajo la radiación de luz UV se observa una tendencia a

decremento del número de hojas, siendo la radiación de luz donde se registró la respuesta con los valores más bajos.

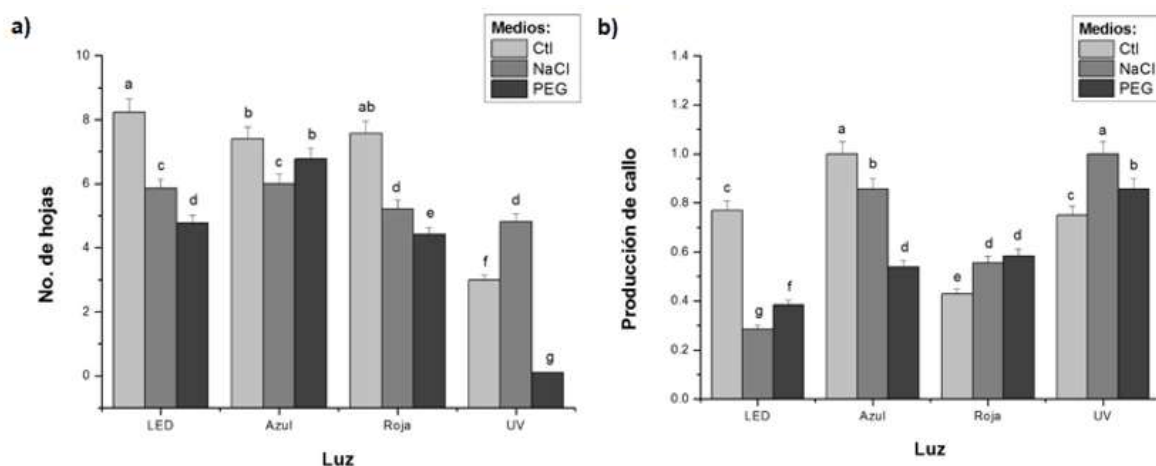


Figura 5. Número de hojas (a) y producción de callo (b) de las plántulas de *Lippia graveolens* sometida a diferentes tratamientos de estrés osmótico y radiación lumínica. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas. Resultados reportados como la media  $\pm$  DE de tres muestras biológicas.

#### Producción de callo

Por último en cuanto a los tratamientos donde se obtuvo una mayor producción de callo, se puede observar que la mejor respuesta se obtuvo bajo las radiaciones de luz Azul y UV (Figura 5.b), obteniéndose valores similares en ambas de aproximadamente 1.0 cm por explante (todas las plántulas bajo estos tratamientos presentaron desarrollo de callo), donde el tratamiento implementado medio Ctl bajo la luz Azul (Azul/Ctl) y el tratamiento implementado en medio con estrés osmótico por NaCl 50 mM bajo la luz UV (UV/PEG) corresponden a los mejores resultados no existiendo diferencia estadísticamente significativa entre ellos, a diferencia de los tratamientos bajo la luz LED control donde se observa una diferencia estadísticamente significativa entre estos tratamientos y los tratamientos que registraron las mejores respuestas.

#### CONCLUSIONES

El tratamiento con luz Roja/Medio Ctl mostró un incremento en la producción de biomasa. En el número de brotes, en el tratamiento con luz Azul/Medio Ctl, fue en el cual se obtuvieron mejores resultados. Además de que bajo la radiación de luz UV se obtiene una disminución en biomasa y número de brotes. En los tratamientos con luz LED/Medio Ctl y Medio suplementado con NaCl se mostró una mayor longitud en cuanto a la altura de la plántula. Los tratamientos con luz LED/Medio Ctl, luz Roja/Medio Ctl y luz Azul/Medio PEG mostraron la mayor cantidad de segmentos nodales. En cuanto al número de hojas, los tratamientos con luz LED/Medio Ctl y con luz Roja/Medio Ctl, son en los que se observa la mayor cantidad. Por último, en los tratamientos con luz UV/Medio NaCl y luz Azul/Medio Ctl, fueron donde se pudo registrar la mayor generación de producción de callo. Por lo cual se llegó a la conclusión que la implementación de estrés osmótico y radiación lumínica tiene una influencia a nivel morfológico sobre las plántulas de *Lippia graveolens* cuando son propagadas *in vitro*, con estos datos se pudo conocer como estos factores muchas veces condicionan el rendimiento de los cultivos, siendo la luz y el déficit hídrico factores clave para su crecimiento y desarrollo, afectándolos de manera sinérgica o antagónica, dependiendo las condiciones a las que están expuestas y a la variable de respuesta que se quiera mejorar.

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Hussain, S., Hussain, S., Qadir, T., Khaliq, A., Ashraf, U., Parveen, A., Saqib, M. & Rafiq, M. (2019). Drought stress in plants: An overview on implications, tolerance mechanisms and agronomic mitigation strategies. *Plant Science Today*, 6(4), 389-402.
2. Casierra-Posada, F., & Peña-Olmos, J. E. (2015). Modificaciones fotomorfogénicas inducidas por la calidad de la luz en plantas cultivadas. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 39, 84-92.
3. Rodríguez-Sahagún, A., Acevedo-Hernández, G., Rodríguez-Domínguez, J. M., Rodríguez-Garay, B., Cervantes-Martínez, J., & Castellanos-Hernández, O. A. (2011). Effect of light quality and culture medium on somatic embryogenesis of *Agave tequilana* Weber var. Azul. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 104(2), 271-275.
4. Sánchez-Velázquez, E., Rodríguez-Sahagún, A., Acevedo-Hernández, G. J., Aarland, R. C., & Castellanos-Hernández, O. A. (2021). Efecto de la fuente de luz sobre la micropropagación de plantas de orégano mexicano (*Lippia graveolens*). *e-CUCBA*, (15), 44-52.
5. Figueroa-Fuentes, J. R., & Valdez-Oyervides, M. C. (2015). Producción de biomasa y aceites esenciales en plántulas de orégano mexicano *Lippia graveolens* HBK por efecto de inducción de estrés con sales (NaCl) y metales (Cu) y (Fe) (no. Tesis laguna tp958. F53 2010).
6. Hernández, G. J. A., Macías, H. Y. O., Román, R. I. L., Hernández, O. A. C., & Sahagún, A. R. (2019). Aislamiento y clonación parcial de un gen de terpeno sintasa de orégano mexicano (*Lippia graveolens* Kunth). *Biotecnología y Sustentabilidad*, 3(2), 10-10.
7. Castillo, A. (2004). Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo. *Las Brujas, Uruguay: AR-VITRO, INIA*, 382, 8.
8. Urrea, A. I., Castrillón, P. A., & Monsalve, Z. (2009). Propagación in vitro y desdiferenciación tisular en *Lippia dulcis*. *Actualidades Biológicas*, 31(90), 21-29.
9. García-Pérez, E., Fernando Francisco, C. Á., Gutiérrez-Urbe, J. A., & García-Lara, S. (2012). Revisión de la producción, composición fitoquímica y propiedades nutraceuticas del orégano mexicano. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 3(2), 339-353.
10. Cabello Ruiz, E.D ; Valdés Oyervides, F. J., Benavides Mendoza A., Núñez González, M. A., Báez, J.G ; Moreno Limón S., Rivas Morales C. Oranday Cárdenas A., Cárdenas Ávila M. L. (2010). Determinación de prolina libre como indicador de estrés en orégano (*Lippia graveolens*). In *Memorias XII congreso deficiencia y tecnología de alimentos*.
11. Valdés-Oyervides, F. J., Rivas-Morales, C., Benavides Mendoza, A., González, N., Verde Star, J., Oranday Cárdenas, A., & Robledo Torres, V. (2012). Efectos de iones y sales en la productividad y acumulación de prolina en *Lippia gaveolens* HBK. *Phyton (Buenos Aires)*, 81(2), 191-198.
12. Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. B. S. M. A., & Basra, S. M. A. (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. In *Sustainable agriculture* (pp. 153-188). Springer, Dordrecht.
13. Yang, B., Tang, J., Yu, Z., Khare, T., Srivastav, A., Datir, S., & Kumar, V. (2019). Light stress responses and prospects for engineering light stress tolerance in crop plants. *Journal of Plant Growth Regulation*, 38(4), 1489-1506.
14. Castellanos-Hernández, O. A., Acevedo-Hernández, G. J., Torres-Morán, M. I., Zurita, F., Gutiérrez-Lomelí, M., Del Toro-Sánchez, C. L., & Rodríguez-Sahagún, A. (2013). In vitro clonal propagation and regeneration of the commercially important plant Mexican oregano (*Lippia graveolens*). In *Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*. <https://doi.org/10.1007/s11627-013-9538-4>

## EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE SUSTANCIAS CON ACTIVIDAD TENSOACTIVA DE CEPAS BACTERIANAS AISLADAS DE SITIOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS

<sup>1</sup>Argelia Ríos-Posada, <sup>2</sup>Armando Tapia-Hernández, <sup>3</sup>Teresita Jiménez-Salgado, <sup>4</sup>Oscar Méndez-Zepeda.

<sup>1,4</sup>Preparatoria Emiliano Zapata, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. <sup>2,3</sup>Centro de Investigación en Ciencias Microbiológicas. IC-BUAP.  
argelia.rios@correo.buap.mx

### RESUMEN

Los accidentes producidos por el manejo cotidiano de hidrocarburos, así como la extracción clandestina de los mismos, han contribuido de manera importante en la contaminación de suelos y acuíferos. En los últimos años la venta de biosurfactantes a nivel mundial se ha incrementado, debido a que su aplicación en procesos de bioremediación de suelos contaminados con hidrocarburos ha incrementado hasta en un 50% la eficiencia. Por lo que es necesario contar con cepas bacterianas capaces de producir estas sustancias para su empleo en procesos de biorremediación. Para evaluar la eficacia de los biosurfactantes se tomaron cinco muestras a diferentes profundidades de dos sitios contaminados, uno con diésel y otro con petróleo crudo, de Puebla y Veracruz, respectivamente. Las muestras fueron mantenidas a 4 °C hasta su análisis. La caracterización parcial fisicoquímica de las muestras de suelo se realizó de acuerdo con la NOM -021-RECNAT- 2000, los parámetros determinados fueron pH, textura, materia orgánica, fósforo y nitrógeno. La concentración de Hidrocarburos Totales Petróleo (HTP's) se realizó por el método EPA 418.1 modificado, usando tetracloroetileno (Sigma-Aldrich) como solvente, en un equipo IR InfraCal TOG/TPH. Para el aislamiento de las cepas bacterianas se realizó en medio salino descrito por Banat (Banat, 1994) modificado y en medio de métodos estándar. En la prueba de Actividad Emulsificante, el 62% de las cepas aisladas de suelo contaminado con diésel presentaron actividad alta; mientras que las cepas aisladas de suelo contaminado con crudo solo el 35% presentaron ésta misma condición. El 22% de las cepas aisladas fueron identificadas como *Pseudomonas sp.* siendo estas productoras de sustancias con actividad tensoactiva, las cuales pudieran ayudar en los procesos de bioremediación. Las cepas SDUAP-03 y SCUAP-01 fueron probadas en microcosmos con suelo contaminado con 10000 ppm de diésel, obteniendo una reducción en la concentración inicial de HTP's del 36.7% y 35.5% respectivamente, después de 75 días de iniciado el tratamiento, lo que sugiere un gran avance en el área de la biotecnología.

### INTRODUCCIÓN

La contaminación de suelo, con sustancias químicas peligrosas es un problema que está superando a la sociedad actual. Esta alteración de los ecosistemas se debe en gran parte, a las actividades que se realizan normalmente en zonas industriales, principalmente actividades relacionadas con la industria petrolera, tales como: exploración, transporte y explotación de crudo, lo que puede provocar derrames en suelo o acuíferos, en muchos de los casos, irreversibles (Bravo, 2007).

Una de las prácticas más comunes que se utiliza para la remediación de sitios contaminados por hidrocarburos, es el uso de compuestos químicos, como los tensoactivos, que ayudan a la degradación de los contaminantes orgánicos, sin embargo, ha resultado ser una técnica demasiado costosa y ecológicamente incompatible. En la década de 1960 comenzó la inquietud por desarrollar métodos tecnológicos e incluso biotecnológicos para minimizar las concentraciones de los contaminantes en los sitios (Glick, 1998). Al inicio de la década de 1970 surgieron las primeras investigaciones a cerca de la biorremediación de sitios contaminados con diésel; siendo en el año de 1972 oficialmente en que se comienza a utilizar la biorremediación como alternativa de saneamiento de sitios contaminados con hidrocarburos.

Es por ello que se ha incrementado el estudio de microorganismos productores de compuestos con actividad tensoactiva que presentan las mismas características que los surfactantes químicos, pero no las desventajas de éstos. Tal es el caso de los biosurfactantes, los cuales tienen varias ventajas sobre los surfactantes sintéticos, como baja toxicidad, una gran biodegradabilidad, mejor

compatibilidad con su medio, mayor producción de espuma, así como su capacidad de ser sintetizados a partir de desechos comunes renovables.

## TEORÍA

La biorremediación es el nombre genérico que recibe un conjunto de técnicas cuyo fin es estimular la degradación de contaminantes o la recuperación del ecosistema mediante procesos biológicos (Riojas González, Torres Bustillos, Mondaca Fernández, & Balderas Cortes, 2010).

Todo proceso de biorremediación está basado en las actividades realizadas por microorganismos heterótrofos, aeróbicos y anaeróbicos. En ciertos procesos de remediación se han aplicado productos a base de detergentes, con el objeto de hacer un lavado del suelo y así separar la matriz (suelo, sedimento o agua) del hidrocarburo a un costo considerable, ya que tienden a inhibir la actividad microbiológica del suelo sobre las moléculas del contaminante (Boopathy, 2000). Las propiedades de los surfactantes derivan de su influencia sobre la tensión interfacial o superficial, su efecto sobre la capacidad de humedecer superficies sólidas y su agregación en solución, formando micelas, microemulsiones, miniemulsiones, dispersiones, espumas y otros (Riojas González, Torres Bustillos, Mondaca Fernández, & Balderas Cortes, 2010). Hay cuatro tipos de surfactantes: aniónicos, catiónicos, no iónicos y anfotéricos. Las propiedades de emulsificación de estas sustancias, así como su actividad detergente se deben a la existencia de moléculas hidrofílicas e hidrofóbicas en la misma molécula, la cual permite la interacción entre dos fases con diferentes características fisicoquímicas. Estas sustancias son denominadas biosurfactantes. Los biosurfactantes son sustancias producidas por microorganismos las cuales pueden estar adheridas a la superficie o bien ser excretadas al ambiente. Estas sustancias son definidas como moléculas producidas por células vivas, en la mayoría de los casos por microorganismos. En muchos sitios contaminados se han encontrado microorganismos capaces de producir biosurfactantes; identificando al género *Pseudomonas* con la mayor frecuencia (50%). La eficiencia y efectividad de estos compuestos son determinadas por su habilidad de reducir la tensión superficial en solución acuosa y por la medición de la Concentración Micelar Crítica (CMC) (Jiménez Islas, Medina Moreno, & Gracida Rodríguez, 2010)

## PARTE EXPERIMENTAL

Se realizó un muestreo en dos zonas afectadas una por derrame de diésel y otra por derrame crudo. El derrame de diésel se presentó en el kilómetro 394+350 del poliducto 12"-20" O.N. Minatitlán-México, Ejido Santa María Actipan de Morelos, municipio de Acatzingo, Puebla, debido a una toma clandestina, lo que provocó que el hidrocarburo derramado en terrenos de cultivo -maíz y calabaza- alcanzara una longitud de 650 m aproximadamente; el derrame de crudo se presentó un derrame debido a la ruptura del ducto en el kilómetro 54+590 del oleoducto de 30" Nuevo Teapa-Salina Cruz Rancho la Cuña, municipio de Texistepec, Acajucan, Ver. De ambos sitios se tomaron 10 muestras de suelo contaminado a 0.30 m, 1.00 m, 2.00 m y 3.00 m de profundidad y fueron trasladadas al Laboratorio de Microbiología de Suelos del ICUAP, manteniéndolas en frascos color ámbar a 4°C para realizar análisis fisicoquímico y microbiológico. La caracterización parcial fisicoquímica de las muestras de suelo se realizó de acuerdo con la NOM-021-RECNAT-2000 (DOF, 2002), los parámetros determinados fueron pH, textura, materia orgánica, fósforo y nitrógeno. Se hizo el aislamiento de cepas bacterianas en un medio salino descrito por Banat (Banat, 1994) modificado y en medio de métodos estándar. Se realizaron las pruebas de actividad hemolítica en placas de agar gelosa sangre y actividad emulsificante como lo describe S. Navon-Venezia (Navon-Venezia, 1995) midiendo la turbidez en un colorímetro Klett-Summerson de filtro verde (Bertrand, 1993). La concentración de Hidrocarburos Totales Petróleo (HTP's) se realizó por el método EPA 418.1 modificado, usando tetracloroetileno (Sigma-Aldrich) como solvente, en un equipo IR InfraCal TOG/TPH.

## RESULTADOS

Como parte de este trabajo, se realizó la caracterización de las muestras tomadas de los dos sitios contaminados, determinando: pH, Textura, Contenido de Materia Orgánica, Nitrógeno y Fósforo (Tabla 1).



Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas de los suelos analizados.

Análisis fisicoquímico de las muestras de suelo analizado					
Muestra	pH	Textura	% Materia Orgánica	% Nitrógeno	P (ppm)
Blanco SD	7.87	Migajón Arcillo Arenoso	1.7	0.19	50
Muestra SD	7.61	Migajón Arcillo Arenoso	1.67-8.36	0.135	39
Blanco SC	7	Arcillosa	4.8	0.15	32
Muestra SC	6.62	Arcillosa	2.28-6.55	0.65	26

SD: suelo de Acatzingo, Puebla

SC: suelo de Acayucan, Veracruz

El suelo contaminado con diésel presentó un pH promedio de 7.61 lo que se considera ligeramente alcalino; por otro lado, el suelo contaminado con crudo presenta un pH igual a 6.62, considerado como neutro.

El suelo procedente de Acatzingo, Pue. presentó una textura tipo migajón arcillo arenoso, mientras que el suelo procedente de Acayucan, Ver. presentó una textura de tipo arcilloso.

La población estimada de bacterias en medio Banat fue de  $0.40 \times 10^6$  unidades formadoras de colonia por gramo (ufc/g) de suelo en la muestra sin contaminar procedente de Acatzingo, Pue. y de  $1.51 \times 10^6$  a  $8 \times 10^6$  ufc/g de suelo en las muestras contaminadas procedentes del mismo sitio; en cuanto al suelo procedente de Acayucan, Ver. se estimó una población bacteriana de  $0.74 \times 10^6$  ufc/g de suelo en la muestra sin contaminar y un intervalo de  $6.36 \times 10^6$  a  $99.60 \times 10^6$  ufc/g de suelo contaminado (Tabla 2).

Tabla 2. Población bacteriana estimada en las muestras de suelo ( $\times 10^6$  UFC/g de suelo).

Acatzingo, Puebla.		Acayucan, Veracruz.	
Muestra	UFC/ g de suelo	Muestra	UFC/ g de suelo
M Blanco	0.40*	M Blanco	0.74
M 1	3.60	M 1	6.36
M 7	1.51	M 2	7.06
M 11	5.10	M 4	99.60
M 13	8.00	M 6	67.00

\* media de tres repeticiones

Se aislaron 69 cepas del suelo contaminado con Diesel (Acatzingo, Pue.) y 26 cepas del suelo contaminado con crudo (Acayucan, Ver.). A cada cepa se le realizaron pruebas para seleccionar las que pudieran ser productoras de biosurfactante.

El 29% de las cepas aisladas del suelo de Acatzingo, Pue. mostró halos de hemólisis mayores a 10 mm; el 7% de las cepas presentan halos de hemólisis de 3 mm - 10 mm; mientras que el 64% de las cepas presentaron actividad menor a 3 mm. En el caso de las cepas aisladas del suelo de Acayucan, Ver., el 31% de las cepas mostraron halos de hemólisis mayores a 10 mm; 27% de las cepas mostraron actividad hemolítica de 3 mm a 10 mm, y el 42% de las cepas presentaron actividad menor a 3 mm o nula (Figura 1a y 1b).

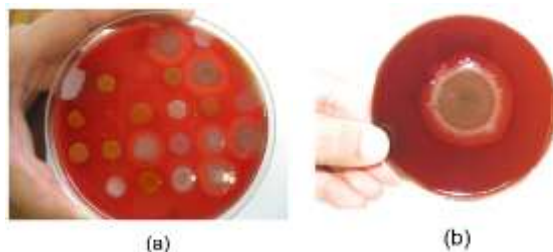


Figura 1. Actividad hemolítica. (a) Colonia de bacterias. (b) Aislamiento de una sola bacteria que presentó una mayor actividad hemolítica.

En la prueba de actividad emulsificante, el 62% de las cepas aisladas de suelo contaminado con diésel presentaron actividad mayor a 40 unidades arbitrarias (u.a.) hasta 199 u.a.; el 35% de las cepas manifestó actividad emulsificante media, registrándose un intervalo de 21 a 38 u.a., y un 3% de las cepas presentaron actividad casi nula, de 13 a 16 u.a., mientras que las cepas aisladas de suelo contaminado con crudo el 35% de las cepas presentaron actividad emulsificante mayor a 40 u.a. hasta 53 u.a.; el 57% de las cepas presentaron actividad media, de 20 a 37 u.a., y el 8% de las cepas no presentaron actividad emulsificante notable, 17 a 18 u.a. (Figura 2a y 2b).

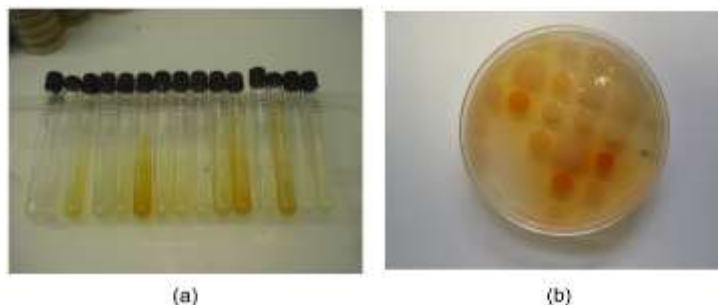


Figura 2. Actividad emulsificante. (a) Cultivo de cepas bacterianas en solución. (b) Cepas aisladas que mostraron alta actividad emulsificante.

El ensayo de crecimiento en hidrocarburos se realizó en caldo utilizando como fuente de carbono diésel. Las cepas utilizadas fueron: SDUAP-01, SDUAP-02, SDUAP-03, SDUAP-04, SCUAP-01, SCUAP-02 y SCUAP-03. El criterio para la selección de estas cepas fue en base a su actividad hemolítica y emulsificante; se seleccionaron cepas con alta actividad hemolítica y emulsificante, así como cepas con actividad nula.

El crecimiento bacteriano fue medido durante 10, 15 y 20 días. Durante el ensayo se observó el aumento de microorganismos mediante la medición de biomasa y de cantidad de sobrenadante. Las cepas que presentaron mayor crecimiento en estas fuentes de carbono fueron SDUAP-01 y SCUAP-03.

El crecimiento bacteriano en diésel sin embargo tuvo variaciones significativas. La cepa SCUAP-01 presentó una curva de crecimiento de cantidad de biomasa que va de 0.0015 g a 0.016 g y 105 a 186 unidades arbitrarias de emulsificación (u.a.e.) en los 20 días en que duró el ensayo. El cultivo inoculado con la cepa SDUAP-03 mostró un intervalo de 0.0018 g a 0.0036 g de cantidad de biomasa. El cultivo no inoculado presentó un ligero aumento en la cantidad de biomasa de 0.0005 g a 0.001 g y 0.0029 g a 0.0058 g y cantidad de sobrenadante de 31-33 u.a.e. y 43-44 u.a.e., de las cepas SCUAP-01 y SDUAP-03, respectivamente (Figura 3).

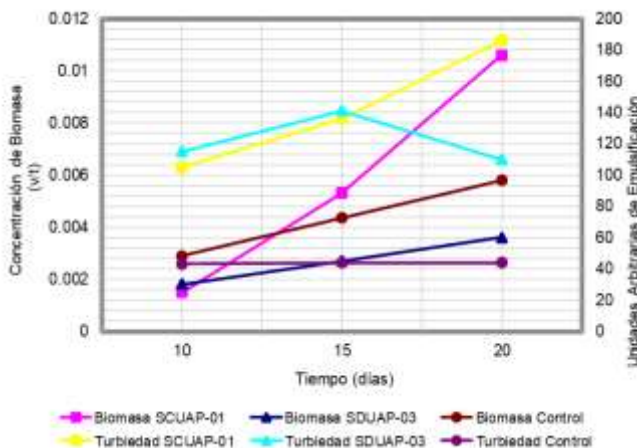


Figura 3. Relación entre la concentración de biomasa y el tiempo de crecimiento microbiano en diésel.

Para el ensayo de degradación de diésel se utilizó suelo no estéril con textura areno-limosa, conteniendo un porcentaje de materia orgánica alto (2.89%), un pH neutro (7.0) y 10.5% de nitrógeno total.

El ensayo para la degradación se llevó a cabo durante 75 días; las cepas inoculadas fueron SDUAP-03 y SCUAP-01. A los 15 días después de la inoculación de la cepa SDUAP-03 se observó un aumento en la cuenta total de bacterias de  $2.92 \times 10^6$  ufc/g de suelo, a los 30 días aumentó a  $1.94 \times 10^8$  ufc/g de suelo y al final del ensayo disminuyó a  $5.27 \times 10^6$  ufc/g de suelo; mientras que para la cepa SCUAP-01 a los 15 días después de la inoculación la cuenta total de bacterias fue de  $2.32 \times 10^5$  ufc/g de suelo, a los 30 días aumentó a  $4.44 \times 10^5$  ufc/g de suelo, y a los 75 días de iniciado el ensayo la cuenta total de bacterias aumentó a  $3.37 \times 10^7$  ufc/g de suelo; mientras que en el tratamiento que no fue inoculado la cuenta total bacteriana fue de  $3.30 \times 10^5$  ufc/g de suelo y al final del ensayo fue de  $760 \times 10^5$  ufc/g de suelo (Figura 4).

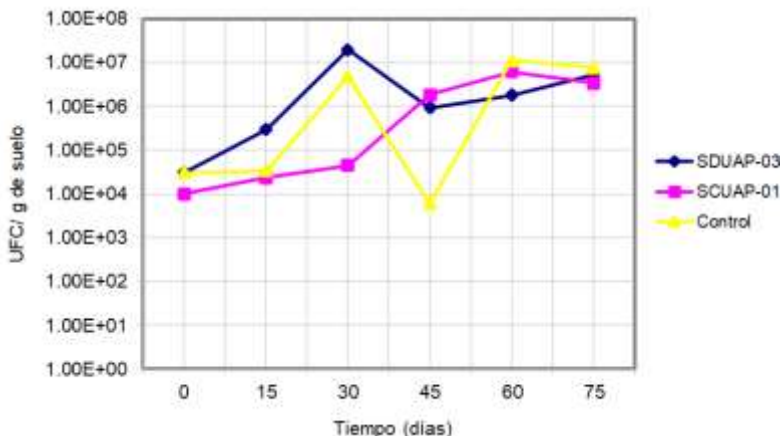


Figura 4. Evaluación de la población bacteriana viable en días de la inoculación.

En el tratamiento de degradación en suelo contaminado con diésel, se observó una disminución notable del tratamiento inoculado en comparación con el tratamiento control que se redujo en un 20.6%, obteniendo después de 75 días de iniciado el tratamiento la reducción de la concentración del contaminante en un 36.7% en el tratamiento inoculado con la cepa SDUAP-03 de 10,000 ppm a 6,326 ppm, mientras que en el tratamiento inoculado con la cepa SCUAP-01 se redujo el contaminante en un 35.5%, de 10,000 ppm a 6,453 ppm (Figura 5).

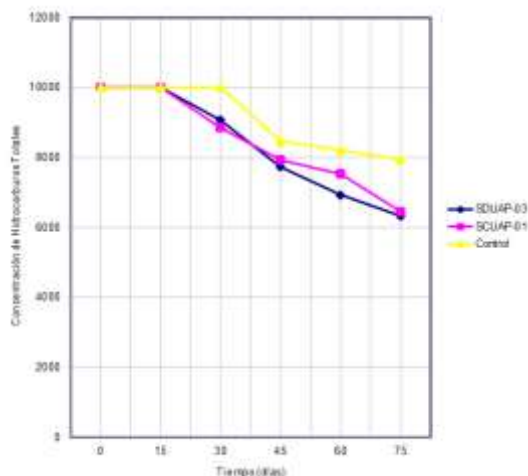


Figura 5. Evaluación de la degradación de diésel en suelo.

Finalmente, se realizó la identificación bioquímica de las cepas aisladas de los sitios contaminados con diésel y crudo mediante la técnica de galerías API, resultando el 22% como *Pseudomonas sp.*

## CONCLUSIONES

Las bacterias aisladas de suelo contaminado con hidrocarburos con características emulsificantes presentaron propiedades para crecer en compuestos lipofílicos.

Existe mayor población de cepas con capacidad de crecer en fuentes de carbono hidrofóbicas en suelo contaminado con hidrocarburos que en suelo no contaminado.

El 22% de las cepas aisladas fueron identificadas como *Pseudomonas sp.* siendo éstas productoras de sustancias con actividad tensoactiva.

Las cepas probadas promueven la disminución de la concentración de HTP's en suelo contaminado con diésel, lo que sugiere un gran avance en el área de la biotecnología.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Banat, I. S. "Biosurfactant production and use un oil tank clean-up", World Microbiol. Technol., 1994, pp. 80-88.
2. Bertrand, J. B. "The potential application of biosurfactants in combating hydrocarbon pollution in marine environments", Biorremediation: Scientific and Technological Issues, 1993, pp. 53-56.
3. Boopathy, R. "Factors limiting bioremediation technologies", Bioresource Technology, 2000, pp. 63-67.
4. Bravo, E. "Los impactos de la explotación petrolera en ecosistemas tropicales y la biodiversidad", obtenido de [https://www.inredh.org/archivos/documentos\\_ambiental/impactos\\_explotacion\\_petrolera\\_es\\_p.pdf](https://www.inredh.org/archivos/documentos_ambiental/impactos_explotacion_petrolera_es_p.pdf)
5. DOF, "Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000". Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2002.
6. Glick, B., "Bioremediation and Biomass Utilization", Molecular Biotechnology Principles and Applications of Recombinant DNA, 1998, pp. 235-266.
7. Jiménez Islas, D., Medina Moreno, S., & Gracida Rodríguez, J. N. , "Propiedades, aplicaciones y producción de biotensoactivos", Contaminación Ambiental, 2010, pp. 65-84. Obtenido de <http://www.scielo.org.mx/pdf/rica/v26n1/v26n1a6.pdf>
8. Navon-Venezia, S. Z., "Alasan, a New Bioemulsifier from Acinetobacter radioresistens, Applied and Environmental Microbiology, 1995, pp. 3240-3244.

9. Riojas González, H. H., Torres Bustillos, L. G., Mondaca Fernández, I., & Balderas Cortes., "Efectos de los surfactantes en la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos", *Química Viva*, 2010, pp. 120-145, obtenido de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86315692003>

## EVALUACIÓN DE LA FERTILIDAD DE SUELOS AGRÍCOLAS ALEDAÑOS AL RÍO EL TUNAL, DURANGO, MÉXICO

Leticia de Jesús Velázquez-Chávez<sup>1</sup>, Ixchel Abby Ortiz-Sánchez<sup>2</sup>, Gerardo Antonio Pámanes-Carrasco<sup>3</sup>, Jorge Armando Chávez-Simental<sup>3</sup>, Artemio Carrillo-Parra<sup>3</sup>, Martín Emilio Pereda-Solis<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Universidad Juárez del Estado de Durango, Programa Institucional de Doctorado en Ciencias Agropecuarias y Forestales. <sup>2</sup>Tecnológico Nacional de México campus Instituto Tecnológico del Valle del Guadiana. <sup>3</sup>Instituto de Silvicultura e Industria de la Madera, Universidad Juárez del Estado de Durango. <sup>4</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Juárez del Estado de Durango.

Autor de correspondencia: leticia.1108157@ujed.mx

### RESUMEN

El suelo es uno de los elementos principales en las actividades agrícolas, cuya propiedad principal es la capacidad de sostener el desarrollo de las plantas, así como optimizar el rendimiento de diversos cultivos. Sin embargo, en los últimos años la fertilidad de los suelos se ha visto seriamente afectada debido a procesos de degradación, que comprometen las propiedades fisicoquímicas y biológicas de este recurso natural. La subregión hidrológica Río San Pedro está conformada por un conjunto de ríos que comprenden, principalmente, los estados de Durango y Nayarit. El Tunal es uno de los principales afluentes que atraviesan el área urbana de la capital de Durango, por lo que es el cauce final de la disposición de aguas residuales municipales y cuyo recurso hídrico es utilizado principalmente para el riego de cultivos aledaños al río. Por tanto, el objetivo de este estudio fue determinar las características fisicoquímicas de suelos agrícolas cercanos al río y determinar su calidad para esta actividad. Se consideraron cuatro áreas cercanas al río, tomando 24 muestras de suelo, con profundidades de 0 a 30 cm y de 30 a 60 cm de forma aleatoria. Se determinaron los parámetros de textura, densidad aparente, porosidad, conductividad eléctrica, iones y nutrientes, incluidos el fósforo, magnesio, calcio, carbonatos y bicarbonatos. El suelo no presentó variaciones significativas ( $p > 0.05$ ) entre los puntos de muestreo o profundidades, por lo que las condiciones de suelo se mantienen constantes conforme avanza el trayecto del río. En general, las propiedades físicas y químicas presentan condiciones aptas para la agricultura. Una distribución espacial de las variables, dentro de un análisis de componentes principales explicó que la estructura del suelo es la variable que más contribuye en el estudio. Aunque los suelos presentan una buena estructura física, aún existe una deficiencia de nutrientes que pueden perjudicar o limitar el desarrollo de los cultivos. Es por ello que se deben enriquecer las propiedades químicas del suelo mediante la fertilización que ayude a fortalecer y mejorar las plantaciones de los agricultores. Estos resultados muestran la necesidad de incrementar el contenido orgánico del suelo por medio de fertilizantes orgánicos que beneficien esta actividad. Además, es importante realizar un análisis de agua del río El Tunal, para contrastar el contenido de nutrientes y determinar su calidad como agua para el uso agrícola.

### INTRODUCCIÓN

El suelo es un sistema dinámico que funciona a través de la interacción de componentes fisicoquímicos y biológicos (Mancero *et al.*, 2019). Además, el suelo tiene una función económica a nivel mundial, por lo que debe mantener una alta productividad (Martín *et al.*, 2018). Solamente en el estado de Durango, en 2018, se alcanzó una producción agrícola de más de 9 millones de pesos (SADER, 2019). Por esta razón, es importante conocer la distribución de nutrientes y la calidad de las propiedades que constituyen un suelo fértil y ser considerados para una agricultura sostenible y así, mantener su productividad sin causar un deterioro ambiental (Almendro *et al.*, 2007; Mancero *et al.*, 2019). Aunado a lo anterior, el riego cumple una función indispensable para la producción de cultivos, donde el aprovechamiento de los ríos es una de las principales fuentes del recurso hídrico para dicha actividad. Sin embargo, algunos efluentes son utilizados como descarga final de las aguas residuales municipales que a su vez, son aguas aprovechadas para el riego agrícola por su aportación elevada de nutrientes a los cultivos (Guzmán *et al.*, 2007). A su vez, en los últimos años, los problemas en el suelo agrícola debido a la disolución, suspensión o acumulación de elementos, han generado inconvenientes en los cultivos, creando suelos salinos o alcalinos (Castellón *et al.*,

2015). Esta cuestión es muy común en regiones áridas o semiáridas, donde se localizan las zonas más afectadas por las sales, reduciendo la fertilidad del suelo, así como el rendimiento y la calidad de los productos agrícolas (Medina-Valdovinos *et al.*, 2016). No obstante, la problemática de salinidad y sodicidad han sido considerados como estudios secundarios en el agua de riego, pues no representan un riesgo a la salud de los consumidores como otros compuestos biológicos o químicos, pero sí a la productividad del suelo a mediano y largo plazo (Ontiveros-Capurata, *et al.*, 2013).

Dado lo anterior, en el estado de Durango, el río El Tunal atraviesa el área urbana de la capital. Este afluente es el cauce principal de la cuenca San Pedro Mezquital, con una superficie mayor a 28 000 km<sup>2</sup> y actualmente, es la principal fuente para el abastecimiento hídrico de la actividad agrícola (Rodríguez-Téllez *et al.*, 2012). Pese a lo anterior, siendo un río dentro de la zona urbana es utilizado para la disposición de aguas municipales, por lo que es importante conocer la situación actual de los suelos agrícolas que son regados con agua de este recurso natural y así, lograr establecer un manejo adecuado que garantice el desarrollo óptimo de los cultivos, sobre todo en Durango, donde la agricultura es una de las principales actividades económicas. Por tanto, el objetivo de este estudio es analizar las propiedades edáficas del suelo agrícola de zonas aledañas al río para evaluar su calidad fértil.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Área de muestreo

El estudio se desarrolló en el estado de Durango (Figura 1), donde se ubicaron cuatro sitios agrícolas entre la zona de la Ferrería (23.95686N, -104.672034O) y el poblado El Arenal (24.050381N, -104.430614O), incluyendo el poblado Navacoyán y 5 de Febrero, áreas cercanas al río El Tunal. Se tomaron aleatoriamente 24 muestras simples de suelo (seis muestras por sitio), a profundidades de 0 – 30 cm y de 30 – 60 cm.



Figura 1. Muestreo de suelos agrícolas en el estado de Durango. 1) La Ferrería, 2) Navacoyán, 3) 5 de Febrero, 4) El Arenal.

### Análisis físicos del suelo

Las muestras de suelo fueron sometidas a un proceso de secado a temperatura ambiente durante una semana; posteriormente cada muestra se trituró y tamizó con una malla #10 (2 mm). Se

determinó la clase textural por el método de Bouyoucos (método AS-09), con base en el triángulo de texturas de acuerdo al Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA por sus siglas en inglés). La densidad aparente (Da) y la porosidad total (PT) fueron determinadas de acuerdo al método de la probeta. Estas metodologías fueron tomadas de la NOM-021-RECNAT-2000, que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos.

#### Análisis químicos

Una vez tamizadas las muestras de suelo, se realizó una pasta saturada para determinar la conductividad eléctrica a partir del extracto del suelo. La determinación de fósforo se realizó por el método AS-10 de Olsen, para el caso del magnesio y calcio, carbonatos y bicarbonatos fueron analizados de acuerdo a las especificaciones de la NOM-021-RECNAT-2000.

#### Análisis estadístico

Se realizó un análisis factorial (factores: sitios y profundidad). Se incluyó un análisis de varianza (ANOVA) y prueba de comparación de medias de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) para determinar las diferencias estadísticas entre cada uno de las zonas agrícolas y las profundidades del suelo. Se desarrolló un análisis de componentes principales (ACP) para determinar la contribución de las variables en el estudio. Todos los análisis estadísticos se realizaron en el software R studio versión 1.2 (R Development Core Team, 2007).

## RESULTADOS

En el Cuadro 1 se muestran las medias de las variables físicas de los sitios muestreados. La clase textural que predomina en los suelos es de tipo franco – arenoso, únicamente presentando diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en el contenido de arcilla y de limo en el poblado 5 de Febrero en ambas profundidades. En general, los suelos se encuentran en una clase textural ideal, con un equilibrio entre la permeabilidad y la retención de agua y sus nutrientes. Sin embargo, al encontrarse en una categoría de tipo arenoso, se puede presentar una capacidad amortiguadora baja, pues altos porcentajes de arena en los suelos provocan que la capacidad amortiguadora sea menor (Salgado-Tránsito *et al.*, 2012), por lo que son fácilmente susceptibles a los cambios de parámetros como el pH. Además, al tratarse de suelos arenosos la cantidad de materia orgánica puede presentarse en porcentajes muy bajos como lo reporta Medina-Valdovinos *et al.*, (2016) por lo que es importante considerar fuentes externas que aporten contenido orgánico al suelo.

Por otro lado, la densidad aparente (Da) presentó valores entre 0.9 y 1.2 g/cm<sup>3</sup> (Cuadro 1). De acuerdo a las medias determinadas en cada punto y a cada profundidad, la NOM-021-RECNAT-2000 indica que estos valores se encuentran en una categoría como suelos con textura de arcilla (1.0 – 1.19 g/cm<sup>3</sup>) y suelos de tipo franco (1.20 – 1.32 g/cm<sup>3</sup>). Estos valores indican que, mayormente, los suelos agrícolas analizados no presentan problemas referentes a compactación, facilitando la capacidad de infiltración y aireación. Además, los suelos agrícolas con buena actividad biológica, normalmente contienen un 60 % de espacio poroso (López-Pérez *et al.*, 2018) por lo que la porosidad de los suelos analizados se encuentran cerca de este porcentaje (53 - 60 %).

Cuadro1. Parámetros físicos de los suelos muestreados a profundidades de 0 – 30 cm y 30 – 60 cm.

Muestra	Profundidad (cm)	% Arcilla	% Arena	% Limo	Da (g/cm <sup>3</sup> )	Poros (%)
La Ferrería	0 – 30	14.0±3.05 ab	52.1±5.41 a	33.7±5.70 ab	1.1±0.11 a	58.3±4.04 a
La Ferrería	30 – 60	16.2±0.41 ab	58.4±8.47 a	25.3±8.08 ab	0.9±0.18 a	60.6±4.04 a
Navacoyán	0 – 30	12.2±2.04 ab	59.7±2.04 a	28.0±0.00 ab	1.0±0.15 a	60.6±4.04 a
Navacoyán	30 – 60	12.2±2.04 ab	66.1±5.99 a	21.5±4.56 ab	1.0±0.18 a	60.6±4.04 a
5 Febrero	0 – 30	10.0±2.00 a	66.0±2.00 a	24.0±3.46 b	1.1±0.04 a	57.0±1.73 a
5 Febrero	30 – 60	8.2±3.27 b	74.1±9.73 a	17.5±6.76 a	1.2±0.12 a	53.3±4.62 a
El Arenal	0 – 30	5.4±3.05 ab	80.6±5.03 a	13.9±6.42 ab	1.1±0.27 a	57.0±5.57 a
El Arenal	30 – 60	12.6±9.01 ab	67.5±25.40 a	19.8±16.38 ab	1.2±0.05 a	53.3±2.31 a

± Desviación estándar. Los valores con diferentes letras en la misma columna son estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ).



Respecto a los parámetros químicos del suelo, presentan poca variación entre localidades y profundidades (Cuadro 2). La conductividad eléctrica de los suelos analizados presentan valores muy bajos, con un promedio de 308.7  $\mu\text{S/cm}$  para profundidad de 0 – 30 cm, y 352.5  $\mu\text{S/cm}$  de 30 – 60 cm, sin existir diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre sitios de muestreo y profundidad. La NOM-021-RECNAT-2000 indica efectos despreciables de salinidad ( $< 1000 \mu\text{S/cm}$ ). Estos resultados pueden ser atribuidos a la textura del suelo, pues al ser suelos francos – arenosos con una Da óptima, facilita el drenaje interno, sin representar un riesgo al desarrollo de cultivos debido a la concentración de sales en los suelos (Sarabia-Meléndez *et al.*, 2011).

Cuadro 2. Parámetros químicos de los suelos muestreados a profundidades de 0 – 30 cm y 30 – 60 cm.

Muestra	Profundidad (cm)	C.E. ( $\mu\text{S/cm}$ )	Fósforo (mg/kg)	Magnesio (Meq/L)	Calcio (Meq/L)	Bicarbonatos (Meq/L)
La Ferrería	0 – 30	218.4 $\pm$ 44.66 a	22.1 $\pm$ 5.39 a	0.5 $\pm$ 0.0 a	1.0 $\pm$ 0.86 a	3.6 $\pm$ 1.15 ab
La Ferrería	30 – 60	261.1 $\pm$ 15.98 a	23.9 $\pm$ 3.03 a	0.6 $\pm$ 0.28 a	0.5 $\pm$ 0.0 a	4.0 $\pm$ 0.86 ab
Navacoyán	0 – 30	284.6 $\pm$ 27.05 a	24.9 $\pm$ 6.62 a	1.5 $\pm$ 0.0 a	1.1 $\pm$ 0.28 a	4.8 $\pm$ 0.28 ab
Navacoyán	30 – 60	300.5 $\pm$ 81.63 a	16.3 $\pm$ 6.51 a	1.6 $\pm$ 1.25 a	1.6 $\pm$ 0.76 a	4.3 $\pm$ 1.04 ab
5 Febrero	0 – 30	314.5 $\pm$ 104.80 a	27.8 $\pm$ 11.48 a	0.5 $\pm$ 0.0 a	0.6 $\pm$ 0.28 a	6.3 $\pm$ 1.89 a
5 Febrero	30 – 60	439.3 $\pm$ 92.50 a	15.0 $\pm$ 0.53 a	0.8 $\pm$ 0.58 a	1.3 $\pm$ 1.44 a	2.8 $\pm$ 0.29 b
El Arenal	0 – 30	417.4 $\pm$ 123.82 a	26.5 $\pm$ 4.34 a	1.5 $\pm$ 0.0 a	1.6 $\pm$ 1.26 a	4.8 $\pm$ 1.26 ab
El Arenal	30 – 60	409.2 $\pm$ 224.69 a	14.8 $\pm$ 7.89 a	0.6 $\pm$ 0.29 a	0.8 $\pm$ 0.29 a	4.0 $\pm$ 1.32 ab

$\pm$  Desviación estándar. Los valores con diferentes letras en la misma columna son estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

Para el caso del fósforo, de acuerdo a la NOM-021-RECNAT-2000, presenta una clase alta ( $> 11 \text{ mg/kg}$ ) para todos los casos. Por lo tanto, existe una concentración adecuada ( $> 20 \text{ mg/kg}$ ) a profundidad de 0 – 30 cm, donde se desarrollan la mayoría de los cultivos (Sarabia-Meléndez *et al.*, 2011; Medina-Valdovinos *et al.*, 2016). Aún cuando se observa que en el poblado de Navacoyán, 5 de Febrero y El Arenal, a profundidades de 30 – 60 cm hay una notable reducción de este elemento ( $< 16.3 \text{ mg/kg}$ ) no existen diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ) entre sitios y profundidad. Los micronutrientes magnesio y calcio, se encuentran en una clase media y muy baja, respectivamente (NOM-021-RECNAT-2000). El magnesio alcanza valores más altos (1.6 Meq/L) a profundidades de 30 – 60 cm, siendo común la deficiencia de este nutriente en el horizonte superior por tratarse de suelos arenosos que permiten su lixiviación. Por otro lado, el calcio alcanza valores de hasta 1.6 Meq/L a profundidades de 0 – 30 cm, presentando una mayor variabilidad entre ambas profundidades pero sin diferencias estadísticas significativas.

Por otro lado, no hubo presencia de carbonatos. Los bicarbonatos se encuentran en un rango de 2.8 Meq/L – 4.8 Meq/L, parámetro que debe ser monitoreado continuamente ya que cuando el agua de riego contiene concentraciones elevadas de carbonatos y bicarbonatos ( $> 8.5 \text{ Meq/L}$ ) existe una posibilidad de formar carbonato de sodio, produciéndose una defloculación del suelo (Castellón *et al.*, 2015).

La distribución espacial en el análisis de componentes principales (Figura 2) representa las contribuciones de cada parámetro físico y químico, siendo la Da, poros y arena los de mayor contribución. El primer componente explicó el 33.7 % de la varianza total, mientras que el segundo componente recogió el 21 % de la varianza. Las variables positivamente correlacionadas se agrupan cerca una de la otra, mientras que las correlacionadas de forma negativa se representan en cuadrantes opuestos, observándose una alta correlación positiva entre limo – arcilla y una alta correlación negativa entre limo – arena, arcilla – arena, Da – poros, por encontrarse en cuadrantes opuestos.

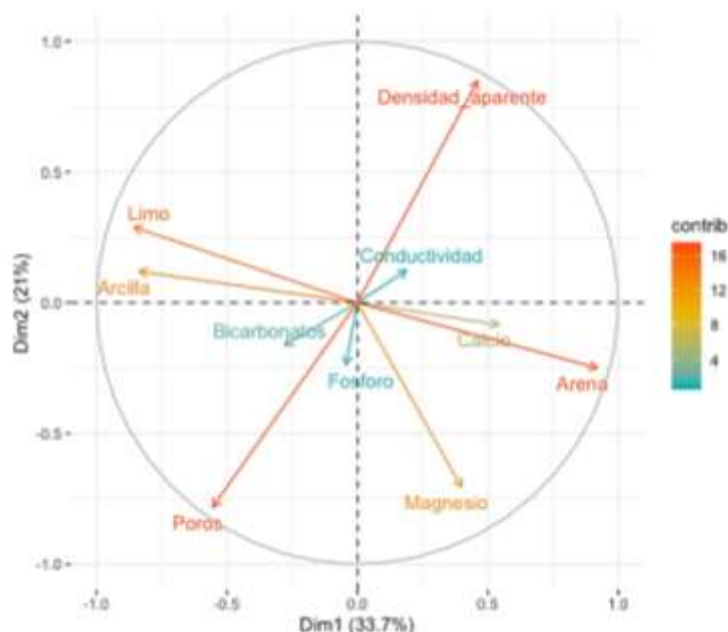


Figura 2. Contribución de las variables del suelo en el Análisis de Componentes Principales.

## CONCLUSIONES

Los suelos de las zonas agrícolas adyacentes al río El Tunal, son considerados aptos para la actividad agrícola con un alto potencial para su desarrollo, presentando una buena disponibilidad de nutrientes así como una óptima estructura física para los cultivos. No hay signos de deterioro pues los parámetros fisicoquímicos se encuentran en una situación adecuada para el desarrollo de cultivos. Sin embargo, se debe considerar la evaluación del contenido orgánico, pues la estructura del suelo dificulta su abundancia. Asimismo, es importante realizar análisis químicos del agua del río para determinar la calidad del agua de riego y su interacción con el suelo y los cultivos de la zona.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Almendro, J. P., López-Piñeiro, A., García, A., Cabrera, D. y Nunes, J. M. R. (2007). Nivel de fertilidad de los suelos de la comarca de Tierra de Barros (Extremadura, España). *EDAFOLOGÍA*, 14(1,2,3), 1–8.
2. Castellón, J. ., Bernal, R. y Hernández, M. L. (2015). Calidad del agua para riego en la agricultura protegida en Tlaxcala. *Ingeniería*, 19(1), 39–50.
3. Guzmán, A., Palacios, O., Carrillo, R., Chávez, J. y Nikolskii, I. (2007). La contaminación del agua superficial en la cuenca del río Texcoco, México. *Agrociencia*, 41(4), 385–393.
4. López-Pérez, M. E., Del Rincón-Castro, M. C., Muñoz-Torres, C., Ruiz-Aguilar, G. M. L., Solís-Valdez, S. y Zanor, G. A. (2018). Evaluación de la contaminación por elementos traza en suelos agrícolas del suroeste de Guanajuato, México. *Acta Universitaria*, 27(6), 10–21.
5. Mancero, M. Y., Carrera, L. C. y Santillán, L. M. (2019). Influencia de la fertilización en la calidad del suelo de cultivo de maíz - Caso Loreto. *European Scientific Journal*, 15(9), 51–61.
6. Martín, G. M., Espinosa, R., Fundora, L. R., Cabrera, A., Martín, N. y Alonso, C. (2018). Evolución de algunas propiedades químicas de un suelo después de 20 años de explotación agrícola. *Cultivos tropicales*, 39(4), 21–26.
7. Medina-Valdovinos, E. K., Mancilla-Villa, O. R., Larios, M. M., Guevara-Gutiérrez, R. D., Olgún-López, J. L. y Barreto-García, O. A. (2016). Calidad del agua para riego y suelos agrícolas en Tuxcacuesco, Jalisco. *IDESIA (Chile)*, 34(6), 51–59.

8. NOM-021-RECNAT-2000. Establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis. Diario Oficial de la Federación. 31 de diciembre de 2002. México.
9. Ontiveros-Capurata, R. E., Diakite-Diakite, L., Álvarez-Sánchez, M. E. y Coras-Merino, P. M. (2013). Evaluación de aguas residuales de la ciudad de México utilizadas para riego. *Tecnología y Ciencias del Agua*, IV(4), 127–140.
10. R Development Core Team (2007). R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
11. Rodríguez-Téllez, E., Domínguez-Calleros, P. A., Pompa-García, M., Quiroz-Arratia, J. A. y Pérez-López, M. E. (2012). Calidad del bosque de ribera del río El Tunal, Durango, México; mediante la aplicación del índice QBR. *Gayana. Botánica*, 69(1), 147–151.
12. SADER. 2019. Programa de concurrencia con las entidades federativas, compendio de indicadores 2018, Durango. 1-82. Disponible en: <https://www.agricultura.gob.mx/sites/default/files/sagarpa/document/2020/03/19/1889/1903-2020-compendio-pcef-2018.pdf>
13. Salgado Tránsito, J. A., Palacios Vélez, O., Galvis Spínola, A., Gavi Reyes, F. y Mejía Sáenz, E. (2012). Efecto de la calidad de agua del acuífero Valle de Guadalupe en la salinidad de suelos agrícolas. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3(1), 79–95.
14. Sarabia-Meléndez, I. F., Cisneros Almazán, R., Aceves de Alba, J., Durán-García, H. M. y Castro-Larragoitia, J. (2011). Calidad del agua de riego en suelos agrícolas y cultivos del valle de San Luis Potosí, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 27(2), 103–113.

## EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE CRECIMIENTO DE PLANTAS DE *LIPPIA GRAVEOLENS* IN VITRO SOMETIDA A ESTRÉS HÍDRICO

Jesús Marcelino Hernández-Zaragoza, Osvaldo A. Castellanos-Hernández, Gustavo J. Acevedo-Hernández, Rayn C. Aarland y Araceli Rodríguez-Sahagún

Centro Universitario de la Ciénega, Universidad de Guadalajara.

[jesus.hzaragoza@alumnos.udg.mx](mailto:jesus.hzaragoza@alumnos.udg.mx)

### RESUMEN

*Lippia graveolens* es una planta aromática perteneciente a la familia *Vervaceae* endémica de México con propiedades medicinales y culinarias altamente valorada en la industria por su aceite esencial (Muños-Miranda et al. 2019). La adaptabilidad de las plantas a ambientes cada vez más secos es un mecanismo que permitirá la creciente evolución de especies superiores con mejor capacidad de crecimiento con menos exigencia de agua. En el estudio se expusieron plantas de *L. graveolens* a diferentes concentraciones de polietilenglicol [10, 25 y 50 gr/L] y manitol [50, 100 y 150 mM] como agentes osmolíticos (con capacidad de generar estrés hídrico) (Patel and Williamson, 2016) en medio de cultivo MS incubadas a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  bajo un fotoperiodo 16/8 h luz/oscuridad con una intensidad lumínica de  $32 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  luz blanca, se observó que con mayor concentración de los agentes osmolíticos los parámetros de desarrollo de las plantas expuestas se vieron afectados de manera evidente tanto en el tamaño del tallo como en la longitud de la raíz y la cantidad de hojas producidas por la planta. Los resultados sugieren que es posible la adaptación de *Lippia graveolens* a ambientes más inhóspitos como lo serían las tierras semidesérticas, en las cuales es difícil cultivar plantas de consumo extendido, con un gran requerimiento de agua ya que a pesar de sufrir una reducción en su desarrollo le es posible sobrevivir durante largos periodos de tiempo, bajo los efectos del estrés abiótico sin sufrir grandes cambios en su morfología, los tratamientos con mayor concentración de polietilenglicol y manitol redujeron el número de hojas y la altura de la planta sin afectar la sobrevivencia. En los experimentos de mejoramiento genético es importante contar con un sistema de selección de plantas élite, que en este caso se estableció basado en la tolerancia de las plantas a estrés hídrico severo. La poca disponibilidad de agua en muchas poblaciones indígenas es una limitante para obtener ingresos por el cultivo de especies vegetales de alto valor comercial como lo es el orégano, por ello se pretende con el presente trabajo obtener una línea de semillas de plantas con alta tolerancia a la sequía.

### INTRODUCCIÓN

*Lippia graveolens* es una planta aromática perteneciente a la familia *Vervaceae*, con características organolépticas y medicinales que la hacen muy atractiva para las industrias farmacéutica, culinaria y cosmética, siendo una de las especies con mayor relevancia dentro de esta familia (Muños-Miranda et al., 2019). Perteneciente a productos del bosque no maderables, el abuso en su consumo ha generado una reducción en su población natural, poniendo en peligro su existencia, así como la fuente de ingresos para los poblados circundantes que se encuentran cerca de su hábitat, por lo que su estudio para el mejoramiento de sus capacidades de supervivencia como el aumento de su producción y manejo se ha vuelto en un objetivo primordial dada su importancia económica (Llamas-Torres et al., 2019).

Siendo observados algunos mecanismos que se llevan a cabo durante los procesos naturales de adaptación a ambientes estresantes que envuelven principalmente diversos factores genéticos que se han determinado como factores de respuesta al estrés abiótico, entre los que se tiene la activación de genes que codifican para enzimas que participan en la biosíntesis de osmoprotectores como lo son las poliaminas, prolina, azúcares, glicina, betaina y terpenos fenólicos (Marco et al., 2015), se ha tomado como objetivo de estudio estos mecanismos que participan en la respuesta al estrés y los eventos que transcurren durante el proceso, para ello es necesario la exposición de las plantas al estrés por sequía con lo que se pretende observar la expresión de los genes responsables de la adaptación celular a determinados tipos de estrés de manera indirecta (Neto et al., 2018), esto permitirá la selección de aquellas plantas que cuenten con la capacidad de expresar resistencia, lo

cual es fundamental en la generación de adaptabilidad de las mismas, lo que dirige a una mayor producción con cultivos mejorados y caracterizados (Irfan et al., 2020).

Se ha buscado remediar los efectos del estrés abiótico en el cultivo de plantas ya que es un problema cada vez más común debido a la contaminación y al cambio climático. El estrés abiótico es uno de los factores que afectan las cosechas con mayor severidad y que disminuyen en mayor grado el crecimiento y la producción en el mundo, inclusive para las tierras de irrigación (Latef et al., 2016). La sequía es uno de los tipos de estrés de mayor relevancia dado que está presente en más de la mitad de las regiones terrestres y una gran parte de las tierras cultivables son susceptibles a ella (Vishwakarma et al., 2017). En estudios recientes se han observado los efectos de los diferentes tipos de estrés en plantas, teniendo especial interés en los procesos que ocurren durante la sequía como lo son la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS) y la disminución en el metabolismo celular (Marco et al., 2015), lo cual afecta de manera directa la germinación de las semillas y el crecimiento de las plantas, teniendo la germinación como uno de los puntos críticos en el establecimiento de las cosechas y la etapa más sensitiva para el ciclo de vida de las plantas, esto resulta en una disminución de la productividad de las principales plantas de consumo en el mundo en un promedio de más del 50% (Channaoui et al., 2019).

Para la reproducción de las condiciones de estrés hídrico por sequía se emplean agentes osmolíticos, los cuales son compuestos con la capacidad de secuestrar o restringir el acceso al agua mediante diversos mecanismos que limitan a la planta en su obtención, dos de los más utilizados son el manitol y el polietilenglicol (PEG).

El manitol es el carbohidrato más distribuido en la naturaleza, es un azúcar-alcohol, una forma reducida de un azúcar, se sabe que forma parte del metabolismo de muchas especies de plantas y que cumple un rol como osmoprotector o como osmoregulador en dichos casos. Sus cualidades le permiten actuar como osmolito de manera que le es posible alterar la presión osmótica al retener las moléculas de agua mediante interacciones por puentes de hidrógeno (Patel and Williamson, 2016).

El polietilenglicol (PEG) es un polímero u oligómero creado a partir de secuencias repetidas del óxido de etileno, es capaz de generar redes dentro de los medios semisólidos restringiendo el movimiento o el flujo de agua de manera que las plantas tienen un acceso limitado a ella (Muscolo et al., 2014).

En este estudio se sometieron plantas de *Lippia graveolens* a estrés hídrico por sequía con la finalidad de desarrollar medios selectivos para la separación de plantas con capacidades superiores de supervivencia y adaptabilidad, esto mediante el uso de los agentes osmolíticos manitol y PEG en diferentes concentraciones y la comparación de las mediciones de los parámetros de desarrollo de número de hojas, tamaño de raíz, longitud del tallo y número de brotes en cada una de las concentraciones.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Material vegetal

Las semillas empleadas en el estudio fueron obtenidas al norte del estado de Jalisco en la localidad de Colotlán.

### Condiciones *in vitro* de germinación de *Lippia graveolens*

La sanitización de las semillas se llevó a cabo mediante un lavado con etanol al 70% durante un minuto seguido de 3 lavados con agua destilada, un minuto por lavado. Luego se realizó un segundo lavado con cloro comercial al 30% (1.62% NaOCl) durante 5 minutos seguido de 3 lavados con agua destilada, un minuto por lavado.

Las semillas de *Lippia graveolens* previamente desinfectadas fueron sembradas en medio MS (Murashige & Skoog, 1962) adicionado con Manitol en las concentraciones de 50, 100 y 150 mM y polietilenglicol (PEG) en las concentraciones de 10, 25 y 50 g/L. Se colocaron 10 semillas por repetición con 10 repeticiones por tratamiento, siendo un total de 600 semillas. Los tratamientos fueron colocados bajo una fuente de luz blanca fluorescente de 32  $\mu\text{mol}^{-1}\text{s}^{-1}$  con un fotoperiodo de 16h luz/8h oscuridad.

### Toma de mediciones y análisis de datos

Luego de 30 días de crecimiento dentro de los medios se seleccionaron 10 plantas por cada nivel de tratamiento, resultando en un total de 60 plantas, el criterio de selección fue tomar aquellas plantas

que contaran con el mayor desarrollo y la morfología más completa con las características de no presentar deformidades o cambios drásticos en la pigmentación de las hojas. Posterior a la selección se procedió a tomar las medidas de los parámetros de desarrollo. El análisis de los datos se llevó a cabo con el programa Statgraphycs Centurion 16, se realizó análisis de varianza ANOVA.

## RESULTADOS

En el estudio se muestran los resultados para las plantas con crecimiento en manitol con un decremento en los parámetros medidos proporcional al incremento de la concentración de manitol en el medio (Figura 1).

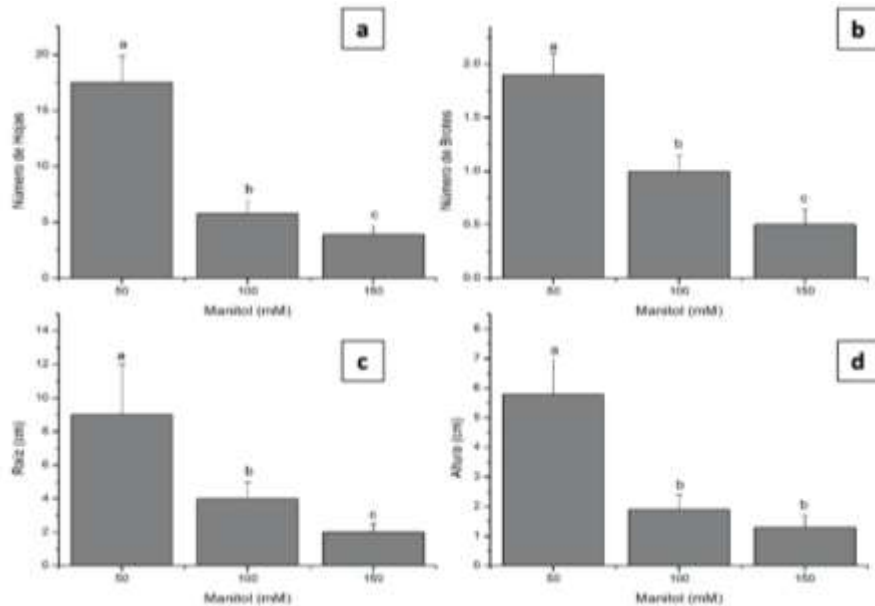


Figura 1. Características morfológicas de plantas sometidas a estrés con manitol. a) número de hojas promedio por explante, b) número de brotes promedio por explante, c) longitud de raíz promedio por explante y d) altura de planta promedio. Para cada una de las gráficas las barras con la misma letra indican no diferencia significativa ( $p < 0.05$ ).

Como resultado del crecimiento en manitol, la reducción del desarrollo se vuelve evidente conforme la concentración aumenta, mostrando plantas cada vez más pequeñas y con un color decreciente del verde al amarillo de las hojas, así como una raíz más corta y con menos raíces secundarias (Figura 2).



Figura 2. Plantas de *Lippia graveolens* sometidas a manitol. Efecto de los tratamientos en concentración creciente de manitol sobre plantas de orégano.

En el estudio realizado por Mata-González et al. en 2005 se sometieron plantas de *Lippia berlandieri* Schauer a concentraciones crecientes de cloruro de sodio (NaCl) se observaron resultados similares en los parámetros morfofisiológicos con excepción en el parámetro de la longitud y ramificaciones de las raíces que se vieron menos afectadas en su desarrollo con la conclusión de que el efecto fue causado por interacción de iones, mostrando un patrón muy similar a nuestro estudio en lo que respecta a la longitud del tallo, el número de brotes y la cantidad de hojas, siendo observada una recuperación gradual en el estado general de las plantas al ser retiradas del medio con NaCl y colocadas en medio de crecimiento regular.

En los resultados obtenidos de las plantas con crecimiento en polietilenglicol (PEG) se puede observar un decremento más marcado al ser comparado con los resultados obtenidos de las plantas con crecimiento en manitol siendo los rangos en altura considerablemente menores, así como un casi nulo número de brotes en el caso de la concentración más alta de polietilenglicol (Figura 3).

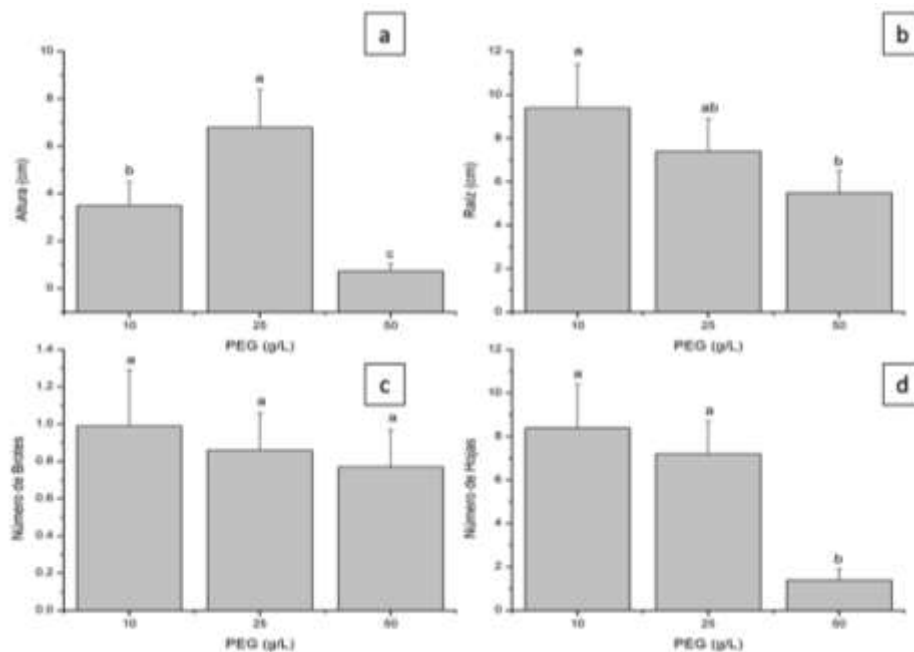


Figura 3. Características morfológicas de plantas sometidas a estrés con PEG. a) altura de planta promedio, b) longitud de raíz promedio por explante, c) número de brotes promedio por explante y d) número de hojas promedio por explante. Para cada una de las gráficas las barras con la misma letra indican no diferencia significativa ( $p < 0.05$ ).

En otra perspectiva, en el estudio llevado a cabo por Neto y colaboradores (Neto et al., en 2019) en el que se sometieron plantas de *Lippia grata* Schauer a estrés hídrico por sequía mediante la reducción gradual del riego en cultivos en tierra se observó un incremento en la producción y actividad de las enzimas involucrada en la respuesta a estrés hídrico y durante la recuperación se observó además un incremento en los tricomas tanto de la sección abaxial como de la adaxial además de una recuperación acelerada dado a la ausencia de daños en la estructura celular debido al efecto de las enzimas de respuesta al estrés. Nuestro estudio permitió observar las limitaciones de crecimiento de *Lippia graveolens* así como su capacidad de supervivencia, su recuperación y adaptación a un ambiente altamente estresante con un severo déficit de agua de manera *in vitro* y aunado a los estudios realizados en *Lippia grata* y *Lippia bernardieri* sobre el factor de salinidad y la disminución en el riego en suelo indican que le es posible sobrevivir durante un periodo corto de tiempo a condiciones que se podrían considerar extremas y recuperarse sin presentar remanentes visibles de daños en su estructura morfológica.

Las plantas mostraron un visible deterioro y un desarrollo deficiente con el incremento de concentración de PEG en el medio. En el caso de las plantas en el medio con mayor concentración

mostraron vitrificación, coloración amarillenta pálida, así como una raíz corta y en algunos casos deformidades en toda la parte aérea como son protuberancias y hojas asimétricas o enroscadas (Figura 4).

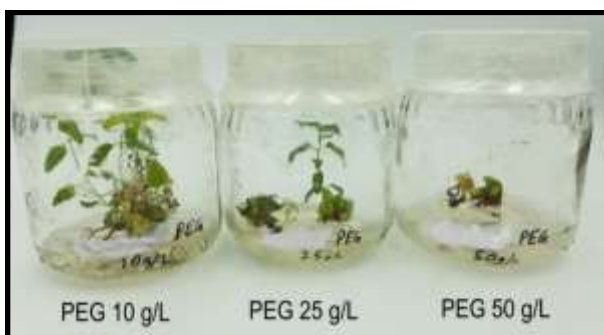


Figura 4. Plantas de *Lippia graveolens* sometidas a PEG. Efecto de los tratamientos en concentración creciente de PEG sobre plantas de orégano.

Algunos estudios recientes en *Lippia grata* Schauer, también perteneciente a la familia Verbenaceae, han arrojado importantes datos sobre su comportamiento bajo los efectos de estrés abiótico, mostrando que los miembros de ésta familia naturalmente poseen una tolerancia moderada a la salinidad y presentan una rápida recuperación a los efectos negativos debido a la eficiencia de su sistema antioxidante con lo que pueden incluso llegar a presentar una ausencia de daños irreversibles en su fisiología (Neto et al., 2019).

## CONCLUSIONES

Las plantas con crecimiento en manitol presentaron un desarrollo que se vio afectado por la presencia y concentración del osmolito ya que con el aumento de manitol se vio reducida la capacidad de las plantas para obtener agua, lo que limitó su crecimiento y por ende su metabolismo, aunque no presentaron cambios drásticos que causaran su muerte de forma prematura o signos de marchitez severos. Para las plantas con crecimiento en polietilenglicol su desarrollo se vio severamente afectado en especial en la concentración mas alta (50 g/L), presentando deformidades y signos de marchitez siendo un número reducido de plantas las que sobrevivieron manteniendo una integridad medianamente uniforme en todos los parámetros morfofisiológicos. Con lo que se puede concluir que es posible seleccionar plantas de la familia *Verbenaceae* como lo es *Lippia graveolens*, empleando polietilenglicol como agente selectivo osmolítico, con una resistencia y adaptabilidad superior y su posterior multiplicación *in vitro* para su subsecuente aclimatación y establecimiento en territorios con condiciones de poca precipitación pluvial y tierra con un bajo contenido nutrimental con una alta probabilidad de éxito.

## REFERENCIAS

1. Channaoui S.; Saghour I.E.I.; Mazouz H. and Nabloussi A. (2019) Reaction of some rapeseed (*Brassica napus* L.) genotypes to different drought stress levels during germination and seedling growth stages. EDP science. Oilseeds & fats crops and lipids. 26,23. doi.org/10.1051/ocl/2019020.
2. Irfan S.M.; Back S.; Lee J.; Jo J.; Jang S.; Han K.; Venkatesh J.; Kwon J.; Deuk J.Y. and Kang B. (2020) Development and characterization of an ethyl methane sulfonate (EMS) induced mutant population in *Capsicum annum* L. Plants Vol. 9. doi:10.3390/plants9030396.
3. Latef A.A.H.A.; Hashem A.; Rasool S.; Abd\_Allah E.F.; Alqarawi A.A.; Egamberdieva D.; Jan S.; Anjum N.A. and Ahmad P. (2016) Arbuscular mycorrhizal symbiosis and abiotic stress in plants: a review. Journal of plant biology. Vol. 59. Pag. 407-426. DOI 10.1007/s12374-016-0237-7.
4. Llamas-Torres I.; Bello-Pineda J.; Castillo-Burguete M.T.; Leyequien-Abarca E. y Calvo-Irabién L.M.C. (2019) Integrating ecological and socioeconomic criteria in a GIS-based multicriteria-multiobjective analysis to develop sustainable harvesting strategies for Mexican



- oregano *Lippia graveolens* Kunth, a non-timber forest product. Land Use Policy 81. Pag. 668-679.
5. Marco F.; Bitrián M.; Carrasco P.; Rajam M.V.; Alcázar R. and Tiburcio A.F. (2015) Genetic engineering strategies for abiotic stress tolerance in plants. Plant biology and biotechnology. Vol. 2: Plant genomics and biotechnology. Pag. 579-609. DOI 10.1007/978-81-322-2283-5\_29.
  6. Mata-González R. and Meléndez-González R. (2005) Growth characteristics of mexican oregano (*Lippia berlandieri* shauer) under salt stress. The southwestern naturalist. Vol. 50(1). Pag. 1-6. doi.org/10.1894/0038-4909(2005)050<0001:GCOMOL>2.0.CO;2.
  7. Muños-Miranda L.A.; Rodríguez-Sahagún A.; Acevedo G.J.H.; Cruz-Martínez V.O.; Torres-Morán M.I.; Lépiz-Ildelfonso R.; Aarland R.C. y Castellanos-Hernández O.A. (2019) Evaluation of Somaclonal and Ethyl Methane Sulfonate-Induced Genetic Variatio of Mexican Orégano (*Lippia graveolens* H.B.K.). Agronomy, 9, 166. doi:10.3390/agronomy9040166.
  8. Murashige T. and Skoog Folke (1962) A revised medium for rapid growth and bio assays with Tobacco tissue cultures. Physiologia plantarum. Vol 15. Pag. 473-496. DOI 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
  9. Muscolo A.; Sidari M.; Anastasi U.; Santonoceto C. and Maggio A. (2014) Effect of PEG-induced drought stress on seed germination of four lentil genotypes. Journal of plant interactions. Vol. 9, No.1. Pag. 354-363. doi.org/10.1080/17429145.2013.835880.
  10. Neto L.P.; Souza L.M.; Morais M.B.; Arruda E.; Figueiredo R.C.B.Q.; Albuquerque C.C. and Ulisses C. (2019) Morphophysiological and biochemical responses of *Lippia grata* Schauer (Verbenaceae) to water deficit. Journal of plant growth regulation. Springer. doi.org/10.1007/s00344-019-09961-6.
  11. Patel T.K. and Williamson John D. (2016) Mannitol in plants, fungi, and plant-fungal interactions. Trends in plant science. Vol. 21. No. 6. doi.org/10.1016/j.tplants.2016.01.006
  12. Vishwakarma K.; Upadhyay N.; Kumar N.; Yadav G.; Singh J.; Mishra R.K.; Kumar V.; Verma R.; Upadhyay R.G.; Pandey M. and Sharma S. (2017). Abscisic acid signaling and abiotic stress tolerance in plants: A review on current knowledge and future prospects. Frontiers in plant science. Vol. 8. doi: 10.3389/fpls.2017.00161.

## POTENCIAL DE ADSORCIÓN DE *BRASSICA OLERACEA* (BRÓCOLI) Y *LIPPIA GRAVEOLENS* (ORÉGANO) CONTRA CROMO HEXAVALENTE

Alejandra Bernal Gudiño<sup>1</sup>, Jesús Eduardo Leura Quintana<sup>2</sup>, Karla Lizbeth Macias Sánchez<sup>3</sup>,  
Estefania Odemaris Juárez Hernández<sup>4</sup>

Unidad Profesional Interdisciplinaria de Ingeniería Campus Guanajuato del IPN.  
[abernalg1400@alumno.ipn.mx](mailto:abernalg1400@alumno.ipn.mx)<sup>1</sup>, [jleuraq1400@alumno.ipn.mx](mailto:jleuraq1400@alumno.ipn.mx)<sup>2</sup>, [kmaciass@ipn.mx](mailto:kmaciass@ipn.mx)<sup>3</sup>,  
[ejuaresh@ipn.mx](mailto:ejuaresh@ipn.mx)<sup>4</sup>.

### RESUMEN

Los diferentes compuestos de cromo (Cr) representan una amenaza al ambiente y al hombre debido a sus efectos nocivos, tales como, lesiones renales, gastrointestinales, del hígado, del riñón, de la glándula tiroides y la médula ósea, ya que la velocidad corporal de eliminación es muy lenta. Varias industrias utilizan sales de Cr en sus procesos, que generan cantidades de efluentes líquidos con alto contenido de este metal, el cual, debe ser removido. La presente investigación se centra en evaluar el potencial de biosorción que tienen las biomásas derivadas de desechos agroindustriales, tales como el brócoli y el orégano ante el cromo en su forma hexavalente. Utilizando el método de cuantificación de cromo por espectrofotometría teniendo como referencia el reactivo 1,5-difenilcarbazida, evaluando además los efectos del potencial de hidrógeno, la temperatura, la cantidad de biomasa, y el tiempo de exposición entre el adsorbato y adsorbente. Los resultados obtenidos muestran los máximos porcentajes de remoción de Cr VI. Siendo así, que el orégano presenta un 49% en un gramo de tierra y un 33.12% en 10 ml de agua, y para el caso de la parte aérea del brócoli (cabeza) un 44.66% en un gramo de tierra, y así mismo, un 72.30% en 10 ml de agua. Por lo tanto, estos vegetales presentan futuro como método de remediación ambiental.

### INTRODUCCIÓN

Se ha demostrado que los metales pesados son tóxicos ambientales muy peligrosos debido a que sus características más comunes son: persistencia, bioacumulación, biotransformación y elevada toxicidad, haciendo que su degradación natural sea complicada<sup>[1]</sup>. Por definición los metales pesados son elementos con elevado peso atómico y potencialmente tóxicos, incluso en bajas concentraciones pueden ser nocivos para las plantas y los animales<sup>[2]</sup>.

En México, se ha reportado la presencia de metales pesados en ríos, lagos, cultivos, suelos y aire de zonas urbanas, así como en ambientes costeros y marinos<sup>[3, 4]</sup>. Los principales metales contaminantes en México considerando su toxicidad y abundancia son: mercurio (Hg), arsénico (As), plomo (Pb) y el cromo (Cr)<sup>[5]</sup>.

Los límites máximos permitidos de estos metales para suelos y aguas en México están establecidos en las normas NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004<sup>[6]</sup> y NOM-001-SEMARNAT-1996<sup>[7]</sup> respectivamente (tabla 1).

Tabla 1. Límites máximos permisibles de metales pesados y arsénico en suelos<sup>[6]</sup> y en agua<sup>[7]</sup>

Metal	Suelo uso agrícola	Suelo uso	Agua uso	Agua uso
	residencial/comercial	industrial	agrícola	público
	(mg/kg)		(mg/L)	
As	22	260	0.20	0.100
Hg	23	310	0.01	0.005
Pb	400	800	0.50	0.200
Cr (VI)	280	510	1.00	0.500

En la tabla 2 se identifican algunos de los principales lugares de la República Mexicana donde existe una problemática de metales pesados.

Tabla 2. Lugares de la República Mexicana más afectados por la contaminación de metales pesados.

Lugar	Estado	Metal	Afectación	Referencia
San Felipe, Nuevo Mercurio	Zac	Hg	En suelos (1569 mg/kg) y orina de niños (29.6 µg/gr)	[8]
San Joaquín, Sierra Gorda	Qro		En suelo (300 mg/kg) y cultivos de maíz	[9]
Sistema Lagunar Alvarado	Ver	As	Acumulación de baja a moderada en personas por ingesta de mariscos	[10]
Zimapán	Hgo		En acuífero (1.09 mg/L), suelos (14,700 mg/kg), en cabello de personas (8.55 mg/kg)	[11]
Villa de la Paz	SLP		En suelos (7200 mg/kg), agua (5.9 mg/L)	[12]
Milpillas, Minatitlán	SLP, Ver	Pb	En sangre de niños (SLP: 5.6 µg/dL. Ver: 5.5 µg/dL)	[13]
Varias comunidades	Chih, SLP, Tlax		En suelos (400 mg/kg), en sangre de niños (Tlax: 52.3 µg/dL)	[14]
Vetagrande	Zac	Cr	En sangre de niños (>10 µg/dL)	[15]
León	Gto		En suelos (12.960 mg/kg de Cr (III), 65.14 mg/kg de Cr (VI))	[16]

Dada nuestra residencia y el crecimiento de la ciudad por la urbanización, el lugar de estudio será León, Guanajuato. Como se puede observar, en el municipio existen altas concentraciones de cromo, en especial de Cr VI (tabla 2), por lo cual será el objeto de estudio, verificando las afectaciones y su posible solución.

### Cromo hexavalente y presencia en León, Guanajuato

El cromo se encuentra presente en la naturaleza y posee ciertas características que lo convierten en un elemento químico complicado de sintetizar, tales como ser un metal de transición (existiendo en distintos estados de oxidación), dureza y resistencia [17]. Las formas químicas más comunes son el cromo trivalente (Cr III) y cromo hexavalente (Cr VI), siendo este último su forma más tóxica [18].

El Cr VI es liberado al ambiente encontrándose principalmente en agua y suelo, dentro de las principales actividades que lo originan encontramos industrias de galvanoplastia, curtido de cuero, producción de textiles, y por combustión de combustibles fósiles (gas natural, petróleo y carbón), madera y papel [17].

Debido al crecimiento que ha experimentado el municipio de León, se han detectado situaciones de conflicto respecto al uso de suelo especialmente por la urbanización, donde existe una clara competencia por el uso habitacional en relación con otros usos. Lo anterior provoca desajustes bióticos y abióticos en el área causados por agentes contaminantes emitidos por el hombre, degradándolos y provocando pérdidas que en ocasiones son irreparables [19].

Los problemas de contaminación en este municipio comenzaron desde el año 1975 donde fueron detectadas concentraciones de 0.10 mg/L en muestras de suelo agrícola en la zona sur del municipio de León [18]. De acuerdo con un reporte de la Asociación de Grupos Ecologistas de León, el Cr VI enfermó de cáncer a por lo menos 200 personas, ya que presentaron este elemento en su sangre [20].

### Problemas de salud asociados a la exposición de Cr VI

La exposición a algunos metales pesados ha sido asociada a una gran variedad de efectos adversos sobre la salud, en donde los agricultores sufren riesgo de exposición derivado de sus actividades agrícolas como la recolección e ingesta del producto [21, 1].

Los seres humanos se exponen al Cr VI por [22]:

- Inhalación de aerosoles o partículas
- Ingestión (comer y beber)

- Contacto con la piel

El Cr VI es conocido por causar diferentes consecuencias a la salud cuando se tiene una larga exposición al ser ingerido o inhalado, y efectos menores cuando es por contacto con la piel provocando alergias o erupciones cutáneas. Entre los principales efectos se encuentran <sup>[22]</sup>:

- Cáncer de pulmón, y cánceres nasales
- Irritación de la nariz, la garganta y los pulmones (secreción nasal, tos)
- Síntomas alérgicos (sibilancias, dificultad para respirar)
- Llagas nasales y perforación de la membrana que separa las fosas nasales (a niveles muy altos de aire en los lugares de trabajo).

### **Biosorción**

La biosorción es un mecanismo bioquímico de eliminación de metales por la unión a biomasa no viva a partir de soluciones acuosas, basándose en el principio de la adsorción. Los estudios de esta técnica se intensificaron por los problemas medioambientales ocasionados por la exposición con metales <sup>[23]</sup>. La adsorción retiene los iones metálicos en la superficie, esto puede ocurrir por intercambio iónico, precipitación, complejación o atracción.

### **Ventajas <sup>[23]</sup>:**

- La eficiencia de remoción es similar a las resinas de intercambio iónico, sin embargo, en ocasiones la adsorción llega a un 50 % del peso de la biomasa, haciéndolo económico.
- Minimización de lodos biológicos y químicos
- El equipo es simple
- La biomasa una vez utilizada es posible reutilizarla mediante un proceso de desorción.
- Mínimo residuo de volumen de químicos o biológicos a tratar.
- Se puede recuperar el metal gracias a soluciones ácidas.

### **Clasificación de los biosorbentes**

El éxito de este tipo de mecanismo radica en el tipo de adsorbente elegido, entre los que se encuentran biomasa de origen vegetal, fúngico y bacteriológico.

#### **1. Biomasa de origen biológico**

Es derivada principalmente de algas, hongos y bacterias, a partir de cepas inactivadas; este tipo de biosorbente permite la acumulación de los metales gracias a la afinidad de los iones metálicos con las células y el metabolismo propio de los organismos. Una de las ventajas de la utilización de este recurso es que se pueden emplear técnicas recombinantes, para así mejorar el proceso de adsorción; sin embargo, es necesario realizar un estudio sobre los nutrientes añadidos al proceso para el crecimiento del organismo, además de que su modelado es complicado a nivel matemático, esto con el fin de predecir su comportamiento, ya que es un sistema no definido y los productos metabólicos pueden formar complejos con los metales, impidiendo la precipitación <sup>[24]</sup>.

#### **2. Biomasa inerte**

La mayor fuente de este tipo de biomasa es el carbón activado y la arcilla; sin embargo, en investigaciones recientes se ha mostrado que los residuos vegetales provenientes de procesos industriales o agrícolas también tienen altos rendimientos, aunque estos últimos parten de origen biológico, una vez procesados como biomasa (ex vivo) no es necesario adicionarles nutrientes, tratándolos como inertes. Este tipo de adsorbentes presentan ciertas ventajas importantes, tales como que la biomasa se comporta como un intercambiador de iones, no hay restricciones en cuanto a requerimientos metabólicos ni de toxicidad y los metales bajan su nivel de oxidación, lo que los hace fácilmente recuperables en procesos de desorción y no generan lodos. La mejora de estos procesos biológicos es limitada ya que las células no efectúan un metabolismo; la producción de

agentes adsorbentes ocurre durante la etapa de crecimiento y la saturación de la biomasa depende de factores como el tiempo y el pH <sup>[24]</sup>.

### **Factores fisicoquímicos que intervienen en el proceso de biosorción**

De manera generalizada, la captación de los metales con las biomásas residuales se atribuye a las propiedades del biosorbente, tales como las proteínas, carbohidratos y compuestos fenólicos que contienen grupos carboxilo, hidroxilo, sulfatos, fosfatos y amino, los cuales han demostrado afinidad hacia los iones metálicos. Dentro del proceso de adsorción se distinguen tres tipos, dependiendo de la atracción que presenten el adsorbato y el adsorbente <sup>[25]</sup>:

- Eléctrica: existe un intercambio iónico, en donde los iones de la solución se concentran en el material adsorbente gracias a la atracción electrostática.
- Fisorción: cuando los iones absorbidos se encuentran en la interfase del adsorbente y su unión se debe a fuerzas de Van der Waals.
- Quimisorción: Se forman enlaces con los centros activos del adsorbente.

El proceso de la adsorción también se puede ver afectado tanto positiva, como negativamente gracias a ciertas variables, tales como el pH, el tiempo de exposición, la temperatura y la concentración de biomasa o tamaño de partícula <sup>[25]</sup>.

### **Potencial de hidrógeno**

Especialmente el pH de la solución que contenga el metal juega un papel importante en el proceso de adsorción, esto debido a que los iones hidrógeno se constituyen en un entorno fuertemente competitivo. La adsorción de cationes suele estar favorecida para pH con valor superior a 4.5, mientras que los aniones presentan una mayor afinidad a los pH ácidos, de 1 a 4.

### **Temperatura**

La temperatura recae en gran medida en el adsorbente, debido a que a temperaturas superiores a los 70°C se puede provocar un deterioro del material o hasta un cambio en la textura, lo cual puede disminuir su capacidad adsorbente.

### **Partícula**

La adsorción se efectúa sobre las paredes del adsorbente y en partículas específicas dependiendo de la afinidad de los grupos funcionales, la cantidad adsorbida es proporcional al volumen al cual se le expone, y también es conocido que las partículas pequeñas tienen mayor área superficial, en la cual se puede suscitar una mayor atracción de los iones.

### **Tiempo**

Es necesario estimar el tiempo en donde el adsorbato y el adsorbente presentan un punto de equilibrio, al cual ya no podrá adsorberse mayor soluto, y ha llegado a la saturación.

### **Gestión de biomasa utilizada**

Gracias a la adherencia de los iones metálicos en la superficie de los biosorbentes utilizados, es necesario realizar un análisis y planteamiento sobre el tratamiento de los residuos y evitar problemas medioambientales aún mayores. Existen diversas alternativas con las cuales se puede realizar una apropiada gestión de residuos <sup>[26]</sup>.

### **Desorción del metal adsorbido**

Este tipo de tratamiento es usualmente utilizado mediante un tratamiento con algunas sustancias químicas, las cuales pueden ser ácidas (HCl, HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) o básicas (NaOH, KOH), y esta selección se realiza con base en las propiedades del adsorbato y el adsorbente, una vez desorbido el metal, el biosorbente puede ser reutilizado hasta cinco o seis veces consecutivas. El estudio de la regeneración del biosorbente incluye dos etapas: un estudio preliminar en discontinuo, para analizar la regeneración del biosorbente (elección del agente desorbente y de su concentración óptima) y el estudio de los ciclos sorción-desorción <sup>[27]</sup>. Sin embargo, esta técnica presenta ciertas desventajas

tales como un alto coste, pérdida de propiedades del sistema de adsorción, y aun así será necesario un tratamiento para el metal desorbido, haciendo de esta técnica poco escalable [28].

### **Aprovechamiento energético como combustible**

Se recomienda realizar un proceso controlado de secado, para su posterior utilización como combustible pelletizados, que consiste en la compactación de la biomasa mediante la aplicación de una gran presión (por encima de 100 bar) con unos rodillos sobre una matriz perforada, a través de la cual se hace pasar el material. Los pellets no necesitan ningún tratamiento posterior, una vez fabricados, estos se pueden enfriar y almacenar [29, 30].

Para que un residuo sea considerado apto para su utilización como combustible alternativo debe reunir las características que lo hagan compatible con el proceso productivo, tales como lo señala el autor [57]:

- Poder calorífico suficiente.
- Ausencia de interferencias en las características del equipo dónde se adicionará el combustible.
- Emisiones controladas, sin provocar aumentos significativos en las emisiones contaminantes y los respectivos límites de emisión.

Los numerosos estudios realizados sobre el comportamiento de los metales han demostrado que son retenidos mayoritariamente en el equipo al cual se le adiciona la fuente de energía (calderas, clínker, horno) debido a su previo tratamiento como pelletizado [26].

### **Incineración**

Aunque la incineración es un proceso de combustión controlada que transforma la fracción orgánica de los residuos sólidos en materiales inertes y gases. No es un sistema de eliminación total, pues genera cenizas, escorias y gases, pero con él se consigue una importante reducción de peso y volumen del residuo sólido. Con este tratamiento los metales pesados quedarían estabilizados en las cenizas o podrían ser recogidos por filtros de manga o precipitadores electrostáticos [33].

El realizar esta técnica puede provocar daños a la salud y sobre todo al lugar en donde esté instalado el horno donde se realizará este proceso, ya que los metales no son eliminados al 100%, provocando que aun así puedan ser devueltos al ambiente en forma de cenizas, adicional a sus altos costos [31]. Este tipo de procedimientos sólo es recomendable a pequeña escala, cuando la cantidad de biomasa utilizada es muy poca.

De acuerdo con la NOM-025-SSA1-1993 [32] es importante monitorear los procesos de incineración, debido a sus emisiones de metales al ambiente, las cuales no deben superar los  $3.2 \mu\text{g}/\text{m}^3$ .

### **TEORÍA**

La capacidad de adsorción de la biomasa de *Brassica oleracea* será mayor a la presentada por *Lippia graveolens*, siendo el pH, el tiempo de exposición, la temperatura y la concentración de biomasa factores determinantes en la adsorción del cromo.

### **PARTE EXPERIMENTAL**

#### **Preparación de soluciones iniciales**

Con base en la metodología descrita por Severiche-Sierra y González-García [34], se realizó la preparación de las siguientes soluciones:

- Solución patrón de cromo hexavalente 2mg/mL
- Solución de difenilcarbazida al 0.5% (m/v)
- Solución de ácido sulfúrico 1:1

Notas:

A menos que se indique lo contrario, el agua utilizada fue desionizada.

Todas las pruebas antes mencionadas se realizaron por duplicado.

#### **Obtención de biomasa de brócoli**

Se siguió la metodología planteada por Lkhagvajav y colaboradores [35].

- Preparación de la muestra: Se realizó un lavado del brócoli entero con agua tomando 50 gramos, posteriormente se cortaron en pedazos pequeños, separando tallo (B1) y cabeza (B2). Se suspendieron en agua, y "Microdyn®" (de acuerdo con indicaciones del producto), para eliminar posibles contaminaciones. Se realizaron tres lavados posteriores con agua.
- Obtención de biomasa vegetal: Se sometió la muestra a un proceso de secado a 70 °C durante tres días, y finalmente se realizó un proceso de maceración, y almacenamiento en frascos de vidrio.

#### **Obtención de biomasa de orégano**

Se siguió la metodología planteada por García-García y colaboradores [5].

- Preparación de la muestra: Se realizó una mezcla de hojas de orégano (O).
- Obtención de biomasa vegetal: Se realizó un proceso de cocinado tomando 25 gramos de muestra y 200 mL de agua, que se adicionaron a un matraz Erlenmeyer cubierto de la boquilla, y se colocaron a punto de ebullición por 30 minutos en una parrilla de calentamiento IKA RTC Basic, esto para que pierdan cualquier rastro de líquido y quede la biomasa seca. Posteriormente se dejó enfriar por 10 minutos, después se filtró a través de papel filtro y los sólidos se almacenaron en un frasco de vidrio.

#### **Preparación y verificación de la curva de calibración**

Se realizó la preparación de la curva de calibración modificando la metodología empleada por Severiche-Sierra [34], variando la concentración de la solución patrón de cromo. Posteriormente, se depositaron 200 µL en la microplaca de pozos y se leyó en un espectrofotómetro para microplacas UV-VIS Synergy HTX a 540 nm., lo cual permitió tener una mayor exactitud y lecturas de hasta 96 muestras.

Se consideró una curva aceptable aquella con valor de  $r^2 \geq 98\%$ .

Para las pruebas de parámetros de pH, tiempo, temperatura y concentración, se siguió la metodología de Olivo [35]; con ligeras modificaciones.

#### **Determinación del comportamiento de pH y tiempo con biomasa inerte**

Se prepararon cuatro soluciones de cromo a pH 1 a 4 en matraces aforados de 250 mL. Se midió el pH con un potenciómetro Conductronic y se añadieron pequeños volúmenes de ácido nítrico concentrado hasta lograr el pH deseado.

En tubos cónicos se añadieron 500 mg de biomasa con 10 mL de solución de cromo y se agitaron en vórtex VTX 5 cada 3 minutos. Se tomaron 150 µL del sobrenadante en los tiempos 0, 5, 10, 15 y 30 min, depositándolos en la placa de pozos y se añadieron 50 µL de difenilcarbazida. Se dejaron en reposo por 5 minutos y posteriormente se leyó la placa a 540 nm.

Nota: Se usó un control por biomasa para más fiabilidad en los resultados.

#### **Determinación del comportamiento de la temperatura con biomasa inerte**

Una vez determinado el pH y tiempo favorables (con mayor porcentaje de adsorción), se tomaron estas condiciones para realizar la prueba. En tubos cónicos se añadieron 500 mg de biomasa con 10 mL de solución de cromo. Se sometieron a las temperaturas de 28, 36, 50 y 60°C en incubadoras Isotherm a 100 rpm y se tomaron 150 µL del sobrenadante depositándolos en la placa de pozos y se añadieron 50 µL de difenilcarbazida. Se dejó en reposo por 5 minutos y posteriormente se leyó la placa en un espectrofotómetro para microplacas UV-VIS Synergy HTX a 540 nm.

Nota: Se usó un control por biomasa para más fiabilidad en los resultados.

**Determinación del comportamiento de la concentración con biomasa inerte**

Una vez determinado el pH, tiempo y temperatura favorables (con mayor porcentaje de adsorción), se tomaron estas condiciones para realizar la prueba. En tubos cónicos se varió la cantidad de biomasa, añadiendo 250, 500 y 750 mg. Se agitó en vórtex VTX5 cada tres minutos y se tomaron 150  $\mu$ L del sobrenadante depositándolos en la placa de pozos y se añadieron 50  $\mu$ L de difenilcarbazida. Se dejó en reposo por 5 minutos y posteriormente se leyó la placa en un espectrofotómetro para microplacas UV-VIS Synergy HTX a 540 nm.

Nota: Se usó un control por biomasa para más fiabilidad en los resultados.

**Aplicación en muestra de suelo**

Las muestras se tomaron del sur del municipio de León, Gto., debido a que es la zona agrícola por excelencia y que reciben efluentes de agua contaminadas principalmente de cromo hexavalente, el terreno a estudiar será en el “Rancho La Loma Agrícola”, el cual cultiva brócoli y recibe agua para riego del río Turbio y presas cercanas. Teniendo las siguientes coordenadas:

- Latitud: 21.015634
- Longitud: -101.778543
- Altitud: 2,962 msnm

Se tomaron dos muestras de la superficie del suelo y se depositaron por separado en dos botes de cristal (para la realización de la prueba por duplicado), cerrándolos herméticamente hasta su posterior análisis en el laboratorio.

Posteriormente, se realizó la digestión de suelo de acuerdo con la metodología planteada [36]. Se depositó 1 gramo de muestra de suelo en un vaso de precipitado de 100 mL para que una vez determinado el pH, tiempo, temperatura y concentración de biomasa favorables (con mayor porcentaje de adsorción), se tomaron estos valores para realizar la prueba de biosorción. En tubos cónicos se agregaron 10 mL de la digestión del suelo con las tres biomasas (B1, B2 y O) y se agitaron en vórtex VTX 5 cada tres minutos, y se tomaron 150  $\mu$ L del sobrenadante depositándolos en la placa de pozos y se añadieron 50  $\mu$ L de difenilcarbazida. Se dejó en reposo por 5 minutos y posteriormente se leyó la placa en un espectrofotómetro para microplacas UV-VIS Synergy HTX a 540 nm.

**Aplicación en muestra de agua**

Una vez determinado el pH, tiempo, temperatura y concentración de biomasa favorables (con mayor porcentaje de adsorción), se tomaron estas condiciones para realizar la prueba de biosorción en muestra de agua. En tubos cónicos se agregaron 10 mL de agua con las tres biomasas (B1, B2 y O), se agitaron en vórtex VTX 5 cada tres minutos, y se tomaron 150  $\mu$ L del sobrenadante depositándolos en la placa de pozos y se añadieron 50  $\mu$ L de difenilcarbazida. Se dejó en reposo por 5 minutos y posteriormente se leyó la placa en un espectrofotómetro para microplacas UV-VIS Synergy HTX a 540 nm.

**Análisis estadístico**

El diseño de experimento consistió en el análisis de las variables que afectan los porcentajes de adsorción del Cr VI con las biomasas empleadas, para ello se hizo uso del programa “Statgraphics Centurión XII”, en donde se realizó el diseño de experimento para la selección de factores (variable screening), el cual nos ayudó a determinar las variables importantes en la experimentación, discriminando aquellos que no tengan relevancia. Se realizó un análisis ANOVA y un contraste de igualdad de medias (LSD) para comparar las medias individuales provenientes del análisis de varianza y ayudar a medir el nivel de significancia, en el cual los parámetros utilizados serán llamados factores, los rangos de cada parámetro serán conocidos como niveles, y la variable de respuesta será el porcentaje de adsorción en cada prueba:

- Factores:
  - A. pH
  - B. Tiempo
  - C. Temperatura
  - D. Concentración



- Niveles:  
A1=1, A2=2, A3=3, A4=4  
B1= 0 min, B2=5 min, B3=10 min, B4=15 min, B5=30 min  
C1=28°C, C2=36°C, C3=50°C, C4=60°C  
D1= 250 mg, D2= 500 mg, D3= 750 mg

La realización de este análisis estadístico ayudó para validar o rechazar una hipótesis propuesta, tomando esto en consideración y partiendo de la hipótesis de este proyecto de investigación, se establecen las siguientes:

- H0= El pH, tiempo de exposición de adsorbato y adsorbente, temperatura y concentración de biomasa son parámetros determinantes en la capacidad de adsorción (medias iguales).
- H1= El pH, tiempo de exposición de adsorbato y adsorbente, temperatura y concentración de biomasa no son parámetros determinantes en la capacidad de adsorción (medias diferentes).

## RESULTADOS

De acuerdo con los datos de absorbancia arrojados por cada prueba, la concentración de Cr VI se determinó mediante la ecuación lineal de la curva de calibración.

Inicialmente se analizaron los porcentajes de biosorción del tallo y cabeza de brócoli, y de las hojas de orégano en las distintas pruebas. Para poder obtener el porcentaje de adsorción, se recurrió a la siguiente expresión reportada <sup>[37]</sup>.

$$PA = \left[ \frac{Ci - Ce}{Ci} \right] \times 100 \quad (1)$$

Donde:

- PA= porcentaje de adsorción o remoción (%)
- Ci= concentración inicial de adsorbato (mg/L)
- Ce= concentración en equilibrio de adsorbato (mg/L)

Efecto del pH en interacción adsorbato-adsorbente

El éxito de la determinación espectrofotométrica del cromo en soluciones depende en gran parte del pH de estas. El reactivo 1,5-difenilcarbazida forma un complejo con el cromo en un medio ácido provocando una coloración roja, debido a la cantidad de protones que se encuentran en el seno de la solución y que facilitan la formación del complejo coloreado <sup>[38]</sup>. En cambio, cuando se utilizan pH cercanos a los neutros se pierde sensibilidad de la prueba, es por lo que en la presente investigación se planteó el uso de soluciones con potencial de hidrógeno menores a 4.

En el caso de la cabeza de brócoli se muestra una clara tendencia de que entre más cerca se encuentre el pH al valor neutro se presenta un mayor porcentaje de adsorción, resultando el pH 4 el más favorable con un 65.21 % de adsorción. Similarmente, el tallo de brócoli presenta un alto porcentaje en pH 4 con un 55.2 % de adsorción. Con respecto a los resultados obtenidos con el orégano, éste mostró un mayor porcentaje a un pH más ácido, presentando un 40.2 % de adsorción de Cr VI en un pH con valor 1 (figura 1).

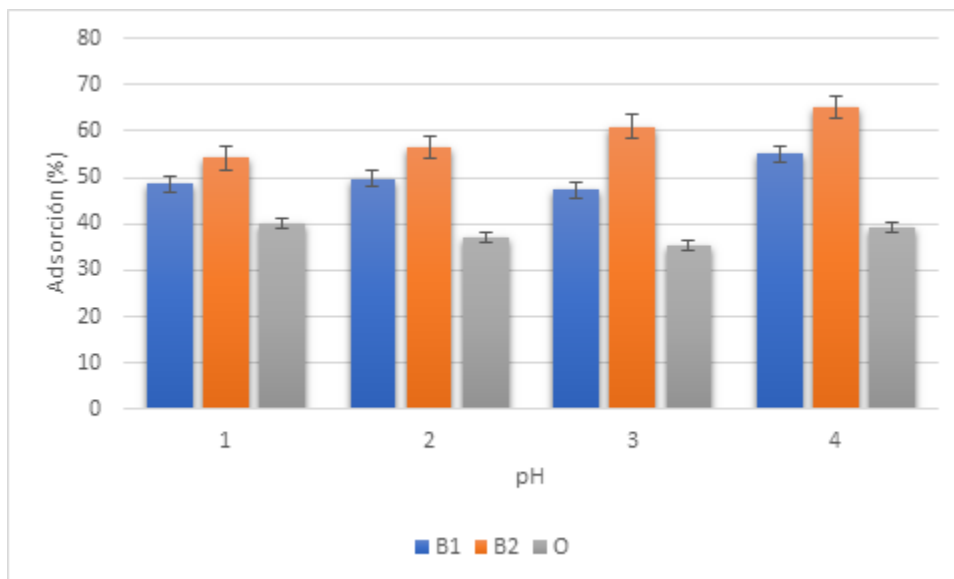


Figura. 1. Efecto del pH en el porcentaje de adsorción de Cr VI con biomasa de tallo de brócoli (B1), cabeza de brócoli (B2) y orégano (O).

Efecto del tiempo en interacción adsorbato-adsorbente

El proceso de biosorción es dependiente del tiempo y es muy importante saber su comportamiento. Una característica de la utilización de biomasa como adsorbente es que presenta una rápida saturación [39], por lo cual se evaluaron tiempos relativamente cortos de 0 a 30 minutos, y así poder estimar la rapidez de secuestro de iones de Cr VI.

En cuanto al parámetro del tiempo de exposición, en el tallo de brócoli encontramos un porcentaje mayor en el tiempo de 15 minutos con un 56.25% de adsorción, mientras que en la cabeza de brócoli se obtiene un porcentaje más alto a los 10 minutos con 63.63 % de adsorción. En nuestro trabajo el orégano presentó una mayor adsorción (62.25 %) a los 15 minutos (figura 2).

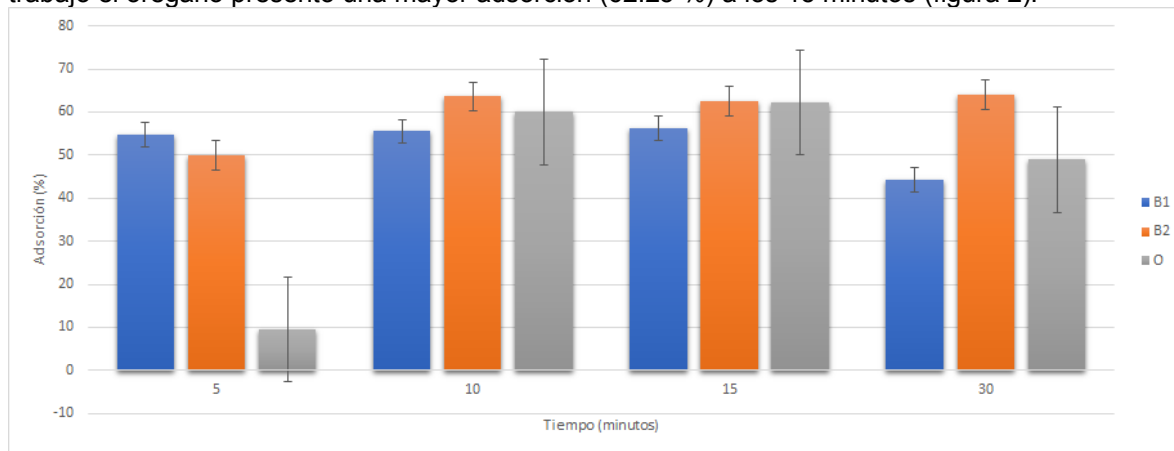


Figura. 2. Efecto del tiempo en el porcentaje de adsorción de Cr VI con biomasa de tallo de brócoli (B1), cabeza de brócoli (B2) y orégano (O).

Efecto del tiempo y pH en interacción adsorbato-adsorbente

Es importante evaluar el comportamiento del pH a través del tiempo para estimar correctamente las condiciones óptimas de cada biomasa.

En el tallo de brócoli se muestra que en el pH 4 y pH 3 va en aumento hasta los 15 min y pasado este periodo deja de ser efectivo, disminuyendo el porcentaje de adsorción. Además, presentando

un tiempo relativamente constante de 5 a 15 min, mientras que a pH más ácido con un valor de 1 y 2, se presenta comportamiento constante de la adsorción. El mayor porcentaje de adsorción bajo las condiciones empleadas se obtuvo a pH 4 y 15 min de incubación, con un valor de 64 % (figura 3).

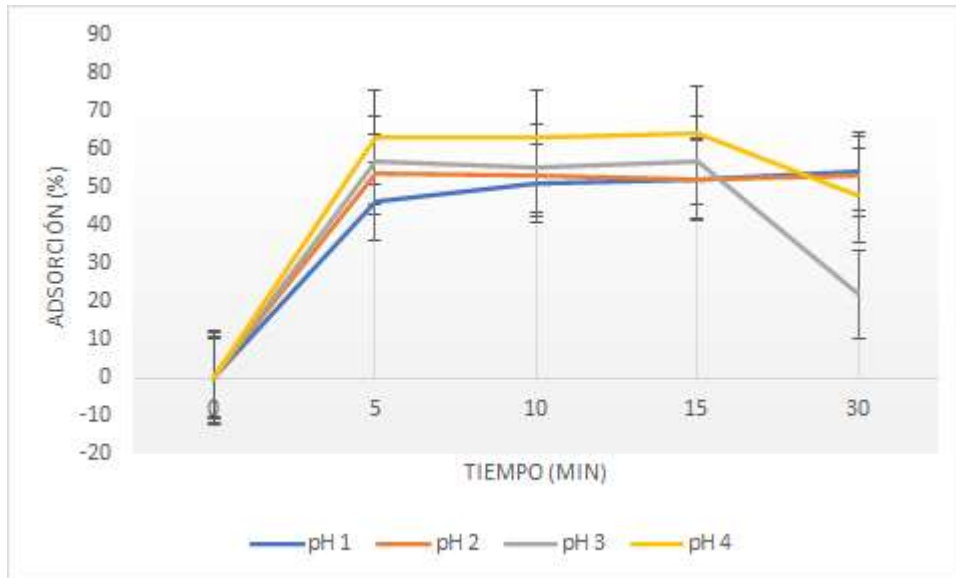


Figura 3. Comportamiento de tallo de brócoli a distintos pH y tiempo de exposición

La cabeza de brócoli mostró un aumento en los pH 2, 3 y 4 en cuanto al porcentaje de adsorción; sin embargo, transcurrido 10 minutos, la biomasa pierde su eficiencia, ya que presentan un descenso de adsorción del tiempo 10 al tiempo 15 y posteriormente un comportamiento más o menos constante hasta la media hora. Por el contrario, con el pH 1 se presenta la mayor eficiencia a los 5 y 15 minutos. Resultando su mayor porcentaje de adsorción en 74.09 % con un pH 4 y tiempo de 10 minutos. (figura 4).

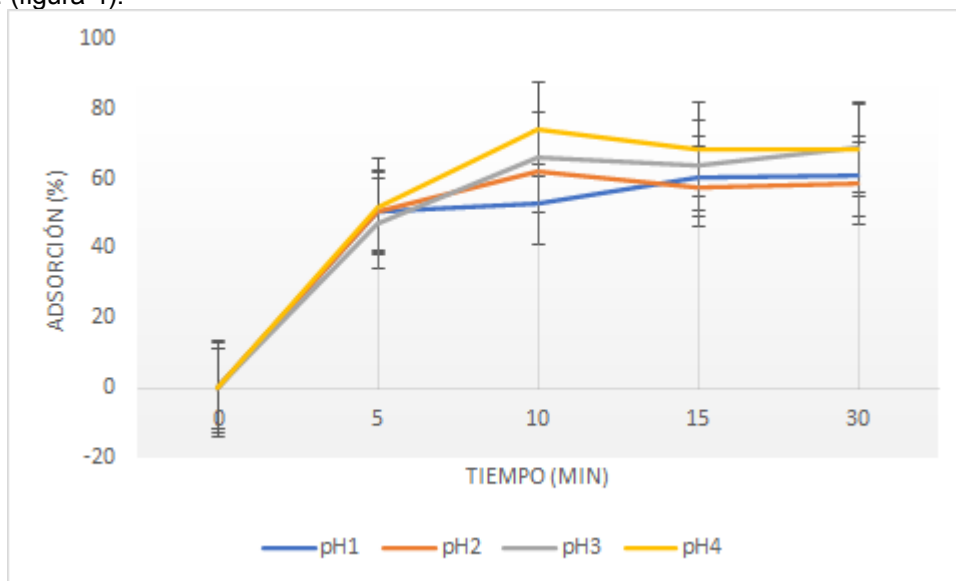


Figura 4. Comportamiento de la cabeza de brócoli a distintos pH y tiempo de exposición

En el caso del orégano, se presenta una tendencia en donde a mayor tiempo de incubación, aumenta el porcentaje de adsorción, hasta llegar a los 15 minutos, y posterior a ello sufre un descenso, este

efecto es observable en el pH con valor a 1, mientras que para los otros se presenta un aumento en la adsorción. El máximo porcentaje de remoción es observado con el pH 1 y a 15 minutos de incubación con un 69.44 % de adsorción (figura 5).

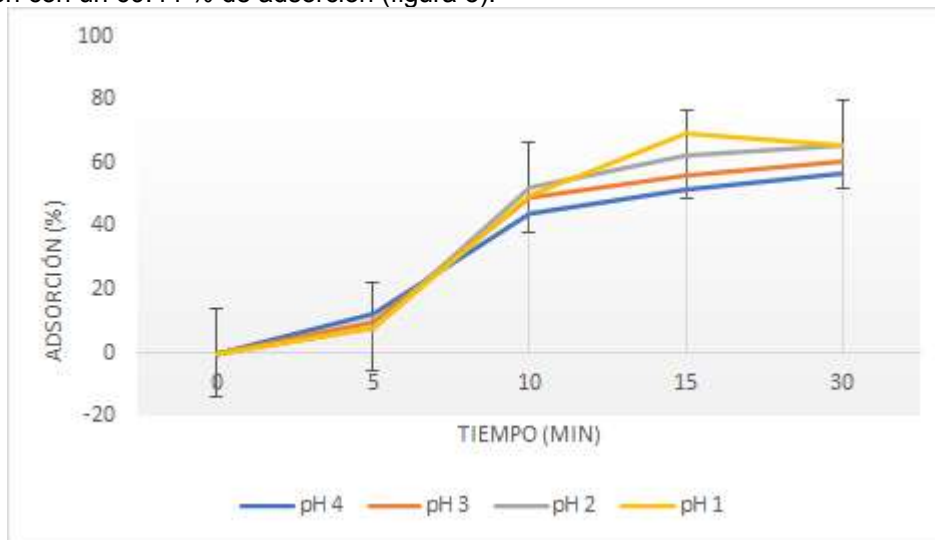


Figura 5. Gráfico del comportamiento del orégano a distintos pH y tiempo de exposición

Efecto de la temperatura en interacción adsorbato-adsorbente

Se emplearon las temperaturas de 28, 36, 50 y 60 °C para estimar el efecto que existe al incrementar la temperatura en cada prueba. Seleccionamos este rango de temperaturas debido a las condiciones climáticas de las zonas de cultivo (28 °C y 36 °C) y a temperaturas altas (50 °C y 60 °C) porque la biosorción se ha demostrado que trabaja mejor en estas condiciones [40].

Con la muestra de tallo de brócoli hay un mayor porcentaje de adsorción (71.69 %) con la temperatura intermedia (36 °C). A partir de la biomasa obtenida de la cabeza de brócoli se encontró un porcentaje de adsorción límite de 79.71 % con la temperatura de 60 °C. En el caso del orégano se observó un porcentaje de adsorción máximo (65.51 %) con la temperatura intermedia (36 °C) (figura 6).

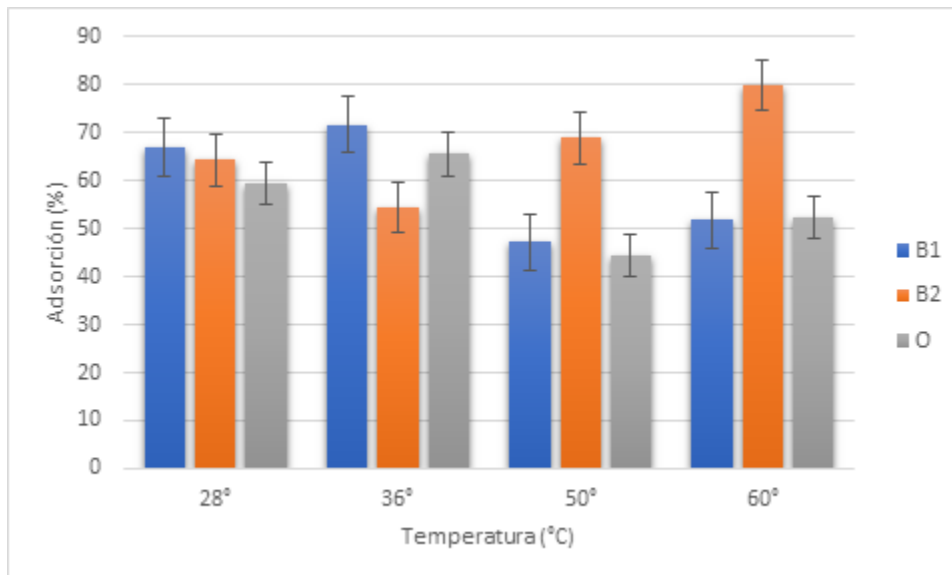


Figura 6. Efecto de la temperatura en el porcentaje de adsorción de Cr VI con biomasa de tallo de brócoli (B1), cabeza de brócoli (B2) y orégano (O).

#### Efecto de la concentración en interacción adsorbato-adsorbente

Se utilizaron las concentraciones de 250, 500 y 750 mg para evaluar el efecto que existe al incrementar la concentración de biomasa en cada prueba. Con la muestra de cabeza de brócoli, existe un mayor porcentaje de adsorción (73.53%) con la menor concentración empleada (250 mg). Con la biomasa obtenida a partir del tallo de brócoli se observó un porcentaje de adsorción máximo del 79.95% con la concentración de 500 mg. Con la biomasa derivada de hojas de orégano se obtuvo el mayor porcentaje de adsorción (67.51%) con la mayor concentración empleada (750 mg) (figura 7).

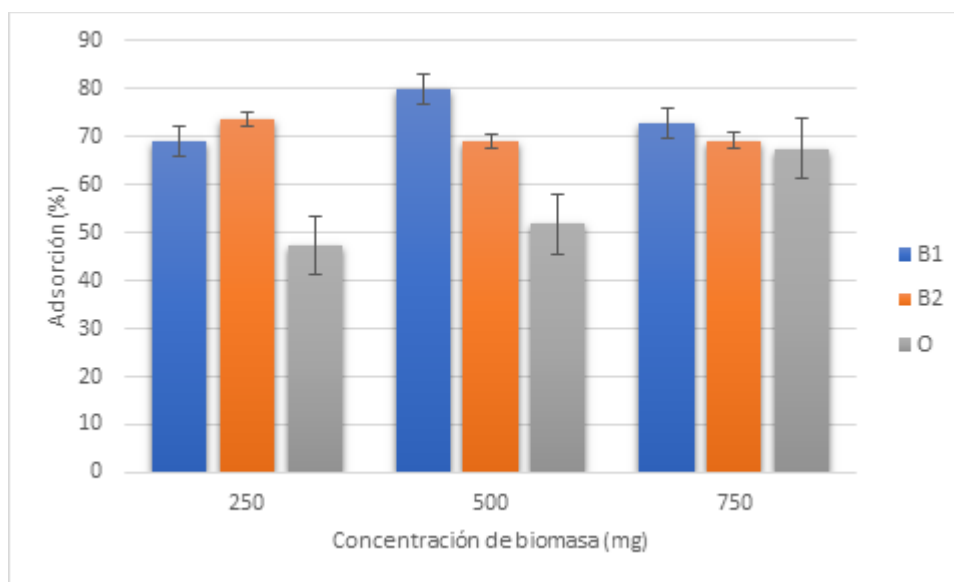


Figura 7. Efecto de la concentración en el porcentaje de adsorción de Cr VI con biomasa de tallo de brócoli (B1), cabeza de brócoli (B2) y orégano (O).

#### Evaluación de adsorción de Cr VI en muestra de suelo y agua

Después de encontrar nuestros factores favorables para la adsorción de Cr VI, se realizó una prueba con las muestras recogidas del rancho "Loma Agrícola", en donde de acuerdo con su concentración inicial, se obtuvo un 40.77% de remoción del metal con la biomasa originada del tallo de brócoli y un 44.66% con la cabeza de brócoli. Con el orégano se obtuvo un 49% en la disminución de la concentración inicial del Cr VI con la biomasa generada con hojas (tabla 4).

Tabla 4. Concentraciones iniciales y finales de la prueba de adsorción en tierra contaminada.

Origen de la biomasa	Concentración inicial (mg/L)	Concentración final (mg/L)	Disminución (%)
Tallo de brócoli		2.44	40.77
Cabeza de brócoli	4.12	2.28	44.66
Hojas de orégano		2.101	49

Por su parte, en la muestra de agua se aminoró la concentración inicial del Cr VI en un 66.24% con la biomasa obtenida del tallo del brócoli y un 72.30% en la cabeza del brócoli, en contraparte, se redujo en un 33.12% la concentración inicial del Cr VI con la biomasa generada a través de hojas de orégano (tabla 5).

Tabla 5. Concentraciones iniciales y finales de la prueba de adsorción en agua contaminada.

Origen de la biomasa	Concentración inicial (mg/L)	Concentración final (mg/L)	Disminución (%)
Tallo de brócoli	3.14	1.06	66.24
Cabeza de brócoli		0.87	72.30
Hojas de orégano		2.1	33.12

#### Análisis estadístico

Para aceptar o rechazar las hipótesis planteadas, se realizan dos análisis, el de varianza ANOVA. En la tabla 6 se resumen los resultados obtenidos del análisis de ANOVA simple, marcándose en color rojo los valores "P" significativos. Adicionalmente se muestran los gráficos arrojados por el programa StatGraphics.

Tabla 6. Resultados de análisis de ANOVA.

pH				
Biomasa	Desviación estándar	Coefficiente de variación	Valor F	Valor P
B1	10.0845	0.200693	0.54	0.6641
B2	7.80713	0.132089	2.33	0.1132
O	24.7295	0.651085	0.03	0.9918
Tiempo				
Biomasa	Desviación estándar	Coefficiente de variación	Valor F	Valor P
B1	7.38016	0.145232	73.80	0.0001
B2	5.80885	0.0969981	56.49	0.0002
O	22.6002	0.579909	33.92	0.0008
Temperatura				
Biomasa	Desviación estándar	Coefficiente de variación	Valor F	Valor P
B1	9.73403	0.16089	18.92	0.0079
B2	8.40894	0.125077	5.14	0.0738
O	7.90756	0.142675	18.13	0.0086
Concentración				
Biomasa	Desviación estándar	Coefficiente de variación	Valor F	Valor P
B1	4.55491	0.0600344	1.25	0.4037
B2	1.79909	0.0254288	8.53	0.0578
O	7.40397	0.132767	3.32	0.1736

#### CONCLUSIONES

- El porcentaje de adsorción de Cr VI en la biomasa de brócoli se encuentra altamente favorecido por un pH menos ácido (4) y en el orégano por un pH más ácido (1).
- Los tiempos que presentaron un mayor porcentaje de adsorción en orégano y tallo de brócoli fue de 15 minutos, mientras que en la cabeza de brócoli es de 10 min, lo que podría indicar que ésta última presenta una rápida saturación.
- Se requieren menores cantidades de biomasa de tallo de brócoli (500 mg) y cabeza de brócoli (250 mg) para que sean efectivas, en contraparte con la cantidad requerida de orégano que es mayor (750 mg).
- El tallo de brócoli y el orégano se encuentran favorecidos en cuanto a su adsorción en temperaturas cercanas al ambiente (28°C) y a altas temperaturas; se favorece la adsorción con el uso de la cabeza de brócoli (60°C).

- Se obtuvo un mayor porcentaje de adsorción en la muestra de tierra con el orégano, presentando una remoción de Cr VI de 49%, lo que podría representar un buen candidato en fitorremediación.
- Se obtuvo un mayor porcentaje de adsorción en agua con la cabeza de brócoli, presentando una remoción de Cr VI de 72.30%, lo que podría abrir la pauta de estudio como método de biorremediación.
- De acuerdo al análisis ANOVA, se deduce que en esta prueba los parámetros más significativos para la variable de respuesta (adsorción) son el tiempo y temperatura de exposición adsorbato-adsorbente.

## BIBLIOGRAFÍA

1. D. Rodríguez, "Occupational poisoning due to heavy metals", *Medisan*, Vol 21, 12, 2017, pp. 3372
2. Y. Chen, *et al.*, "Accumulation and health risk of heavy metals in vegetables from harmless and organic vegetable production systems of China", *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Vol. 98, 1, 2013, pp. 324-330
3. P. Gallegos, *et al.*, "Evaluación diferencial de extractos de orégano en la producción de ácidos grasos volátiles y metano durante fermentación ruminal *in vitro*", *Abanico Veterinario*. Vol. 9, 2018, pp. 3
4. O. González, *et al.*, "Plants and soil contamination with heavy metals in agricultural areas of Guadalupe, Zacatecas, Mexico", *Environmental contamination*. 2012, pp. 37-40
5. F. M. Romero y M. Gutiérrez, "Estudio comparativo de la peligrosidad de jales en dos zonas mineras localizadas en el sur y centro de México", *Bol. Soc. Geol. Mex.* 64, 2010, pp.43-53.
6. Norma Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 (SEMARNAT 2007). Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Diario Oficial de la Federación. Viernes 02 de marzo de 2017.
7. Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-1996 (SEMARNAT 2017). Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Diario Oficial de la Federación. Viernes 05 de enero de 2018.
8. R. Costilla, *et al.*, "Assessment of polychlorinated biphenyls and mercury levels in soil and biological samples from San Felipe, Nuevo Mercurio, Zacatecas, Mexico", *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* Vol 86, 2010, pp. 212.
9. S. Martínez-Trinidad, *et al.*, "Total Mercury in terrestrial systems (air-soil-plant-water) at the mining región of San Joaquín, Querétaro, México", *Vol. 52, 2013, pp. 43.*
10. J. L. Guentzel, *et al.*, "Mercury transport and bioaccumulation in riverbank communities of the Alvarado lagoon system, Veracruz state Mexico", *Sci. Total Environ.*, Vol. 388, 2007, pp. 316-324.
11. L. K. Ongley, *et al.*, "Arsenic in the soils of Zimapan, Mexico", *Environ. Pollut. Vol. 145, 2007, pp. 793-799.*
12. I. Razo, *et al.*, "Arsenic and heavy metal pollution of soil, water and sediments in a semi-arid climate mining area in Mexico". *Water, Air, Soil Pollut.* Vol. 152, 2003, pp.129-152.
13. A. Trejo, *et al.*, "Exposure assessment of persistent organic pollutants and metals in Mexican Children". *Chemosphere*, Vol. 74, 2009, pp. 974-980.
14. R. Flores, *et al.*, "Exposición infantil al plomo en sitios contaminados". *Salud Pública México*. Vol. 54, 2012, pp. 383-392.
15. E. González, *et al.*, "Blood lead levels and risk factors for lead poisoning in mexican children". *Rev. Fac. Ing.-Univ. Ant.* 43, 2008, pp. 114-119.
16. A. Mauricio, *et al.*, "Isolation and characterization of hexavalent Chromium-reducing rhizospheric bacteria from a wetland". *Int. J. Phytoremediat*, Vol. 12, 2010, pp. 317.
17. Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria (ELIKA). Ficha de compuesto químico de cromo. 2014. Recuperado el 14 de noviembre de 2020 en: [http://www.elika.net/datos/pdfs\\_agrupados/Documento145/30.Cromo.pdf](http://www.elika.net/datos/pdfs_agrupados/Documento145/30.Cromo.pdf)
18. ATSDR: Agency for Toxic Substances and Disease Registry . ToxFAQs for Chromium. *Division of Toxicology and Human Health Services*. CAS-7440-47-3, 2012.

19. J. Robles y M. A. Armienta, "Natural chromium contamination of groundwater at Leon Valley Mexico". *J. Geochem. Explor.* Vol. 68, 2000, pp. 167-181.
20. C. García. "Acusan a empresa de contaminar Guanajuato durante tres décadas". Periódico la Jornada. 2013. Recuperado el 14 de noviembre de 2020 en: <https://www.jornada.com.mx/2013/08/04/estados/027n1est>
21. N. García-García, et al., "Evaluación preliminar de riesgos para la salud humana por metales pesados en las bahías de Buenavista y San Juan de los Remedios, Villa Clara, Cuba". *Rev Cubana de Química*. Vol. 24(2), 2012, pp.126-35.
22. Oficina de Evaluación de Peligros de Salud Ambientales (OEHHA). "Efectos del cromo hexavalente sobre la salud". *Science for a Healthy California*. 2016.
23. S. D. Alami. "Aprovechamiento de hueso de aceituna (biosorción de iones metálicos)". Universidad de Granada, 2010, pp. 20-22.
24. J. Ordóñez y R. Moreno. "Estudio del aprovechamiento de residuos orgánicos de cultivo de flores (tallos de rosa) como biosorbente de cadmio para el tratamiento de aguas residuales". Universidad Politécnica Salesiana. 2013, pp. 35-37.
25. C. Appelo y D. Postma, "Geochemistry, groundwater and pollution", *CRC Press*, Ed. 2, 2005, p. 683-685.
26. L. Hernández, et al., "Elaboración de un material biosorbente a partir de la cáscara de plátano (*musa sp.*) para ser utilizado en la remoción de cromo vi proveniente de las aguas residuales de la industria de curtiembre". Universidad del Salvador, 2019, pp. 87.
27. A. Ronda, "Preparación y aplicación de biosorbentes activados químicamente para la eliminación de plomo de medios acuosos". Universidad de Granada, 2016.
28. J. Sánchez, "Eliminación de Metales Pesados de Efluentes Líquidos por Adsorción en Materiales Naturales Residuales de Bajo Coste (Acículas de Pino)". Universidad de Murcia, 2014.
29. J. Cadena, "Uso de leguminosas (*Fabaceae*) en fitorremediación". *Colegio de Posgrados*, Vol. 10, 2017, pp. 4-10.
30. G. San Miguel y F. Gutiérrez, "Tecnologías para el uso y transformación de biomasa energética". *Mundiprensa Madrid*, 2015, pp.101.
31. V. Barrera-Trujillo. "Operaciones para la gestión de residuos industrial". Ed. Elearning. 2016.
32. Norma Oficial Mexicana NOM-025-SSA1-1993 (2002). Salud Ambiental. Diario Oficial de la Federación. Miércoles 16 de octubre de 2002. pp. 107
33. Norma ISO 17225 -1:2014. (2014). Biocombustibles sólidos. Especificación y tipos de combustibles. Organización Internacional de la Estandarización.
34. C. A. Sereviche y H. González, "Verificación analítica para las determinaciones de cromo hexavalente en aguas por espectrofotometría". *Ing. USBMed*, Vol. 4(1), 2013, pp. 22-26.
35. F.P. Olivo, et al., "Remoción de Cromo (VI) en solución acuosa por la biomasa de brócoli (*Brassica oleracea*)". Laboratorio de Micología Experimental. Facultad de Ciencias químicas. San Luis Potosí. *Revista Mexicana de Industria y Salud*. Vol 2. No. 10, 2019.
36. N. Lkhagvajay, et al. "Antimicrobial activity of colloidal silver nanoparticles prepared by sol-gel method. Vol. 6, 2011, pp. 149-154.
37. M. Hernández, et al., "Adsorción de Ni (II) en carbón activado con conchas de coco modificado con soluciones de ácido nítrico". *Revista Tecnología Química*. Vol.37(1), 2017.
38. APHA-AWWA-WEF: American Public Health Association-American Water Works Association-Water Environment Association. "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater". Ed. 22. USA, 2012, pp. 3-67 y 3-68.
39. I. Acosta, J. Cárdenas, V. Martínez, "El uso de diferentes biomásas para la eliminación de metales pesados en sitios contaminados". *Ideas CONCYTEG*. Vol.7. (85), 2012, pp. 9-11.
40. L. E. Martínez-Gamboa, "Efecto de la temperatura en isotermas de adsorción de Aguaymato (*Physalis peruviana L.*) deshidratado". 2015.



## VARIANZAS GENÉTICAS, FENOTÍPICAS Y RESIDUALES DEL PUNTAJE DE CÉLULAS SOMÁTICAS DENTRO DE RAZA Y A TRAVÉS DE RAZA DE CABRAS DE ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA

Estefania Aguirre Arroyo, Mauricio Valencia Posadas, César Andrés Ángel Sahagún

Departamento de Veterinaria y Zootecnia, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato.

Autor responsable: Estefania Aguirre Arroyo, Correo: [e.aguirrearrollo@ugto.mx](mailto:e.aguirrearrollo@ugto.mx)

### RESUMEN

El conteo de células somáticas se asocia al estado de salud de la glándula mamaria. Usualmente, el conteo de células somáticas es transformado a una escala lineal y analizado como puntaje de células somáticas. En ganado caprino lechero no existe información disponible sobre la estimación de las varianzas genéticas, fenotípicas y residuales para el puntaje de células somáticas en razas Nubia, Alpina, LaMancha, Toggenburg, Saanen, Oberhasli y Enana nigeriana, por lo que es necesario realizar estudios, que permitan conocer la variabilidad dentro y a través de raza, y en su caso reorientar los esquemas de selección para establecer programas eficientes de mejoramiento genético en cabras lecheras. El objetivo del presente estudio fue estimar varianzas genéticas, fenotípicas y residuales para el puntaje de células somáticas dentro de raza y a través de raza en cabras de Estados Unidos de América. Se utilizó un archivo perteneciente a la Asociación Americana de Cabras Lecheras de los Estados Unidos de América, al cual se realizó una edición, con la finalidad de obtener estimadores precisos, esta edición incluyó los procesos de depuración y recodificación de los datos obteniéndose un archivo final de 13791 registros de animales en producción, correspondientes al periodo de 1992 a 2015. Se probaron diferentes modelos mixtos univariados para la estimación de varianzas del puntaje de células somáticas dentro de raza y a través de raza utilizando un modelo univariado mixto  $y = X_b + Z_a + e$ . Se seleccionaron los modelos que mejor ajustaron con los datos y tuvieron el menor valor para los criterios de información de Akaike y Bayesiano, además de contener las fuentes de variación que mejor explicaban a la variable. Las varianzas genéticas aditivas estimadas dentro de raza y en el conjunto todas razas fueron de los 0.36 a 1.85. Para cabras Alpinas y Saanen se estimó una varianza fenotípica y error estándar para el puntaje de células somáticas de  $2.87 \pm 0.07$  y  $3.49 \pm 0.11$ . Las varianzas genéticas aditivas, fenotípicas y residuales estimadas en el presente estudio para el puntaje de células somáticas mostraron variación dentro de raza y a través de raza, lo que indica que estas características deberían ser analizadas por raza al incluirlas en las evaluaciones genéticas de los Estados Unidos de América para evitar la subestimación o sobrestimación de los valores genéticos predichos.

### INTRODUCCIÓN

El conteo de células somáticas se utiliza para determinar el estado de salud de la glándula mamaria (Poutrel *et al.*, 1997). Usualmente, el conteo de células somáticas es transformado y analizado como puntaje de células somáticas (PCS) (Reents *et al.*, 1995; Format 4, 2006). En ganado lechero bovino, las células somáticas están conformadas en su mayoría por células blancas (neutrófilos, linfocitos y macrófagos) y en menor proporción de células epiteliales (partículas citoplásmicas) (Dulin *et al.*, 1983).

Conteos altos de células somáticas han sido asociadas a la presencia de mastitis subclínica en caprinos y a la reducción en la producción de leche y grasa (Poutrel *et al.*, 1997; Barrón-Bravo *et al.*, 2013). En ganado caprino lechero no existe información disponible sobre la estimación de las varianzas genéticas, fenotípicas y residuales para el puntaje de células somáticas de las razas Nubia, Alpina, LaMancha, Toggenburg, Saanen, Oberhasli y Enana nigeriana; por lo que es necesario realizar estudios, que permitirán conocer la variabilidad dentro y a través de raza, y en su caso reorientar los esquemas de selección para establecer programas eficientes de mejoramiento genético en cabras lecheras. El objetivo del presente estudio fue estimar varianzas genéticas, fenotípicas y residuales para el puntaje de células somáticas dentro de raza y a través de raza en cabras de Estados Unidos de América.

## TEORÍA

El conteo de células somáticas (CCS) en leche es utilizado como un parámetro de calidad, debido a que un incremento puede causar cambios físicos, químicos y microbiológicos; las pruebas para realizar el conteo directo de células somáticas en leche son el recuento de células somáticas por microscopía directa y el recuento electrónico de células somáticas (PMO, 2017). Este último se realiza mediante diferentes técnicas, por ejemplo el método fluoro-opto-electrónico (Paape *et al.*, 2001) el cual es un procedimiento colorimétrico basado en la reacción con el ácido desoxirribonucleico (ADN o DNA, del inglés Deoxyribonucleic Acid) de las células, utilizado para determinar el contenido de ADN que está relacionado directamente con el número de células presentes en la muestra (Foss, 2018) y otros métodos relacionados con la citometría y la cantidad total de células dentro de la muestra de leche (ChemoMetec, 2020).

Un método rápido, preciso y económico para el recuento individual y en muestras de leche de células somáticas a gran escala se realiza principalmente con equipos como Foss y Bentley. Descartando los contadores ópticos Coulter y Technicon que requieren de la dispersión de grasa en la leche y de gran espacio para su instalación (Paape *et al.*, 2007).

Los valores normales del CCS en leche de ganado caprino es más alto que en bovinos lecheros y ovinos (Paape *et al.*, 2001) derivado de esto, se estableció en Estados Unidos de América y la Unión Europea, un límite legal del CCS en leche de cabra de 1500000 células/mL y <1500000, respectivamente. En ganado bovino el límite legal es de 750000 células/mL y <400000 en Estados Unidos de América y en la Unión Europea, respectivamente (PMO, 2017; NMC, 2005; Directive 92/46ECC Council, 1992).

Las células somáticas están constituidas por una asociación de células pertenecientes al sistema inmune y células epiteliales, por lo cual, el CCS se incrementa con la presencia de infecciones intramamarias, donde la mayor cantidad de células del sistema inmune predominantes son los neutrófilos (Dulin *et al.*, 1983).

Es conocido que factores ambientales distintos de la infección intramamaria, como las prácticas de manejo, el periodo de la lactancia, el parto y la infección por el virus de la artritis y encefalitis caprina contribuyen a la elevación del conteo de células somáticas por lactancia en ganado caprino (Paape *et al.*, 2007).

Por ejemplo, en ganado caprino en las dos primeras semanas posteriores al parto, se puede presentar una elevación natural del CCS en la leche (WCDHIS, 2018), también, la presencia del estro en las hembras incrementa el CCS en leche de ganado caprino (Mehdid *et al.*, 2013), ambos son criterios importantes para considerar en la interpretación correcta del CCS.

Otros factores no infecciosos involucrados en la variación del CCS, son la época de parto y la producción de leche, los cuales están asociados con un incremento del CCS (Paape *et al.*, 2001). Moroni *et al.* (2005) determinaron que el CCS fue más bajo para animales de primera lactancia, pero su conteo se incrementó en relación con el aumento del número de lactancias; y de forma similar se presentó un aumento en los promedios del Puntaje de Células Somáticas (PCS) en relación con el aumento o transcurso de los días en lactancia (Rupp *et al.*, 2000).

Se determinó que, por unidad de aumento en los PCS para las segundas o posteriores lactancias, equivale a una pérdida de 200 kg de leche por lactancia, lo que es equivalente a 0.66 kilogramos de leche por día (WCDHIS, 2018).

Dulin *et al.* (1983) determinaron que existe una diferencia significativa ( $P < 0.01$ ) entre los promedios del CCS de las primeras lactancias ( $0.15 \times 10^6$ /mL) y los promedios para cabras con más de tres lactancias ( $0.229 \times 10^6$ /mL) en cabras sin mastitis, con relación a los promedios del CCS de cabras con mastitis entre la primera ( $0.568 \times 10^6$ /mL) y segunda lactancia ( $1.140 \times 10^6$ /mL).

Rupp *et al.* (2000) determinaron que el promedio del PCS en ganado bovino francés de primera lactancia de las razas Holstein, Montbéliarde y Normande del año 1997 fue variada según la región de crianza y la raza. También, se determinó que la época de parto es un factor que influye en el incremento del CCS en cabras lecheras (Amin, 2017).

Una buena conformación de las características de ubre y pezones está asociada genéticamente y de forma favorable con la disminución del CCS, ya que algunas de las características de esta categoría tienen correlaciones negativas, en específico para las cabras con pezones cilíndricos, los cuales son cortos y delgados, posiblemente las cabras tendrán bajos CCS por problemas en el

ordeño. En las razas Saanen y Alpina, esto se puede lograr mediante la selección, debido a que tiene adecuada variabilidad genética (Rupp *et al.*, 2011).

## PARTE EXPERIMENTAL

### Datos

En este estudio se utilizó un archivo que contenía inicialmente 28292 registros individuales e información de múltiples lactancias, correspondientes al periodo de 1981 a 2016, los cuales contenían información de producción de leche y pedigrí de cabras lecheras.

Los archivos pertenecían a la Asociación Americana de Cabras Lecheras de los Estados Unidos de América, los cuales fueron previamente procesados en los centros regionales del Laboratorio de Programas de Mejoramiento Animal (AIPL, del inglés Animal Improvement Programs Laboratory) del Servicio de Investigación Agrícola (ARS, del inglés Agricultural Research Service) que pertenece al Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América (USDA, del inglés United States Department of Agriculture) el cual certifica los registros de producción de leche y las evaluaciones genéticas.

Dentro de la amplia cantidad de información y variables del archivo de producción, las variables de interés para este estudio fueron: raza, identificación del animal, del padre y de la madre, fecha de nacimiento, rebaño, fecha de parto, número de lactancia, adicionalmente se contó con la información de las determinaciones mensuales de producción, la cual incluyó hasta 20 determinaciones mensuales por registro productivo, con información de producción de leche real, porcentaje de leche, porcentaje de grasa, porcentaje de proteína, el puntaje de células somáticas (PCS o SCS, del inglés Somatic Cell Score) y los días en lactancia a la determinación mensual (DLD o DIM, del inglés Days in milk).

### Edición de datos

Se utilizó el programa Statistical Analysis System JMP® versión 6.0.0. (JMP, 2005) para realizar la edición del archivo, con la finalidad de obtener estimadores precisos. Esta edición incluyó los procesos de depuración y recodificación de los datos con el cual se obtuvo un archivo final de 13791 registros de animales en producción, correspondientes al periodo de 1992 a 2015; dichos procedimientos se describen a continuación.

Se eliminaron los registros de animales que carecían de información o que era errónea la asignación de la raza, la identificación del animal, la fecha de nacimiento y/o parto y registros duplicados (Castañeda-Bustos *et al.*, 2014).

A partir del archivo editado se obtuvo el número de registros para cada una de las siete razas: Nubia (n= 3391), Alpina (n=3023), LaMancha (n= 2279), Toggenburg (n= 1231), Saanen (n= 2025), Oberhasli (n= 755) y Enana nigeriana (n=1087), las cuales se recodificaron generando siete niveles para el factor raza; se eliminaron los registros existentes de cabras denominadas experimentales (n= 1651) debido a que eran cruza en distintos grados de diferentes grupos raciales y los de la raza Sable por tener un reducido número de registros (n= 316).

De acuerdo con la metodología usada por Castañeda-Bustos *et al.* (2014) y debido a la estacionalidad reproductiva de la especie caprina se generaron niveles para la época de nacimiento, el año de nacimiento, la época de parto y el año de parto, tratando de mantener un número adecuado de observaciones por nivel, como se explica a continuación.

A partir de la fecha de nacimiento se obtuvo el mes de nacimiento de los animales, con los cuales se generó la época de nacimiento. Los meses de nacimiento se agruparon en 4 niveles/épocas de nacimiento: nivel 1: cabras que nacieron en el mes de marzo (n= 4884), nivel 2: cabras que nacieron en el mes de abril (n= 2958), nivel 3: cabras que nacieron en los meses de mayo a julio (n= 1767) y nivel 4: cabras que nacieron en los meses de agosto a febrero (n= 4182).

Se obtuvo también el año de nacimiento de los animales, a partir de la fecha de nacimiento. Con el año de nacimiento se realizó una agrupación, y debido a la poca cantidad de registros en algunos años, estos fueron para los años 1992 a 2000 (n= 1072) y otro grupo para los años 2012 a 2014 (n= 1048); se generaron 13 niveles como se muestra en la Figura 1.

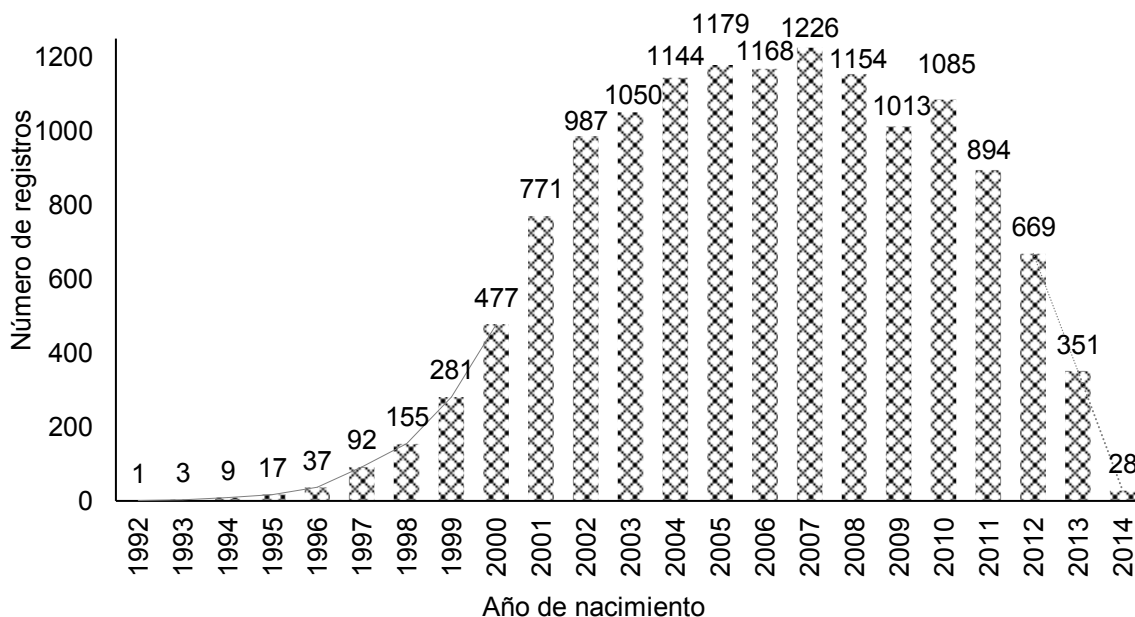


Figura 1. Distribución del número registros por año de nacimiento (n= 13791).

De la fecha de parto de los animales se obtuvo el mes de parto, con el cual posteriormente se generaron tres niveles para establecer las épocas de parto; nivel 1: cabras que parieron en el mes de marzo (n= 4840); nivel 2: cabras que parieron en el mes de abril y mayo (n= 4754) y nivel 3: cabras que parieron en los meses de junio a febrero (n= 4197) (Castañeda-Bustos *et al.*, 2014).

A partir de la fecha de parto de los animales se definió el año de parto de las cabras y se reagruparon los años de 2000 a 2004 (n= 1812) y 2014 a 2015 (n= 1548) debido a que contenían pocos registros; correspondiendo a un total de 11 niveles por año de parto (Figura 2).

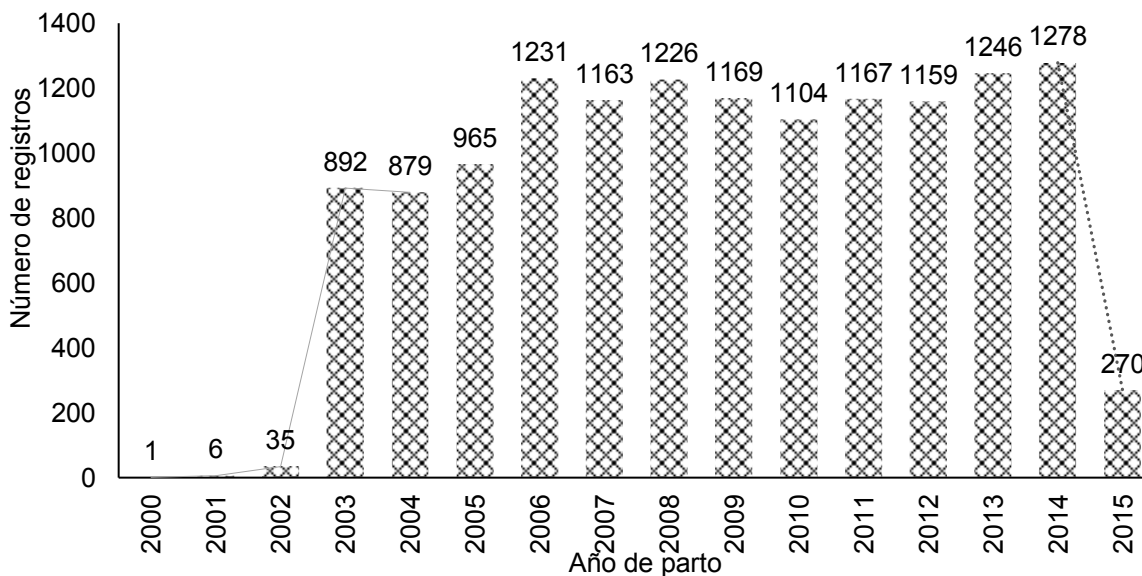


Figura 2. Distribución del número de registros por año de parto (n= 13791).

Los registros contenían el número de lactancia de las cabras; a partir de esa información se obtuvo el número de registros por número de lactancia. A partir de la información de número de lactancia se realizó una agrupación en cinco niveles; nivel 1: registros de primera lactancia (n= 6066), nivel 2: registros de segunda lactancia (n= 3390), nivel 3: registros de tercera lactancia (n= 2035), nivel 4:

registros de cuarta lactancia (n= 1158) y nivel 5: registros de  $\geq$  quinta lactancia (n= 1142), tratando de mantener un número adecuado de observaciones por nivel, como se representa en la Figura 9 (Torres-Vázquez *et al.*, 2009). Usualmente solo se considera la información de las primeras seis lactancias en las evaluaciones genéticas debido a que los registros de más de seis lactancias aportan poca información adicional, pero se decidió conservar los para tener una mayor cantidad de registros (Wiggans *et al.*, 2020).

A partir de las fechas de nacimiento y parto se eliminaron registros de hembras con fechas de parto erróneas, como aquellas cuya fecha de parto fuera antesora a la fecha de nacimiento del animal, o que la fecha del segundo parto fuera antesora a la fecha de primer parto (Castañeda-Bustos *et al.*, 2014).

Con la información del rebaño se generaron grupos para animales que procedían del mismo rebaño (333 niveles), de los cuales previamente fueron eliminados registros de rebaños que contenían menos de 5 registros.

De la información que contenían las determinaciones mensuales de producción solo se conservaron los puntajes de células somáticas y los días en lactancia a la determinación mensual; se eliminaron aquellos registros que tuvieran menos de cuatro determinaciones mensuales y solo se conservó la información de las primeras 12 determinaciones mensuales ya que una lactancia en promedio tiene una duración de 305 días (Wiggans *et al.*, 2020), y los 12 segmentos en promedio generan en 335 días. Para los días en lactancia a la determinación mensual, se eliminaron aquellos registros que tenían más 100 días en lactancia a la primera determinación y más de 65 días entre las posteriores determinaciones mensuales.

Los puntajes de células somáticas de las determinaciones mensuales están definidos en una escala lineal de 0 a 9 que explica biológicamente que a partir de la determinación en miles de células/mL se efectúa una transformación logarítmica para lograr una distribución normal y lograr homogeneidad de varianzas (Ali y Shook, 1980; Shook, 1982; Wiggans y Shook, 1987; USDA, 2009), mediante la fórmula:

$$\text{Puntaje de células somáticas (PCS)} = \log \text{ base } 2 \left( \frac{\text{Conteo de Celulas Somaticas(CCS)}}{100,000} \right) + 3$$

(Reents *et al.*, 1995; Format 4, 2006).

El puntaje de células somáticas es una representación logarítmica del conteo de células somáticas por mililitro de leche en una escala de puntaje lineal, debido a la relación lineal que tiene con la producción de leche (Cuadro 1) (ADGA, 2020a; Wiggans y Shook, 1987).

Los polinomios de Legendre estandarizados a los días en lactancia se calcularon como en Brotherstone *et al.* (2000).

Cuadro 1. Escala lineal del puntaje de células somáticas y su interpretación en relación con el conteo de células somáticas.

Puntaje de células somáticas	Rango del conteo de células somáticas expresado en miles y millones de células por mililitro de leche	
	Mínimo	Máximo
0	0	18000
1	19000	35000
2	36000	71000
3	72000	141000
4	142000	283000
5	284000	565000
6	566000	1130000
7	1131000	2262000
8	2263000	4523000
9	4524000	9045000

(ADGA, 2020b).

Los puntajes de células somáticas se promediaron en relación con el número de determinaciones mensuales con el que contaba el registro del animal obteniendo el promedio del puntaje de células somáticas por lactancia (Scholtens *et al.*, 2019; Rupp *et al.*, 2011). También se estimaron los días reales por lactancia (DRL) (Cuadro 2) a partir de la información de los días en lactancia a la determinación mensual y el número de determinaciones por lactancia (NDL) esto para lactancias ajustadas a 305 días (Figura 2).

Cuadro 2. Estadísticos descriptivos de días reales a la lactancia a través de raza y dentro de raza.

Raza	n	Mínimo	Máximo	Media	DE	Varianza	CV (%)
Nubia	3391	90	455	238.41	53.65	2879.30	22.50
Alpina	3023	92	477	257.00	55.33	3061.56	21.50
LaMancha	2279	89	475	245.61	49.77	2477.59	20.26
Saanen	2025	98	482	261.11	55.02	3027.32	21.08
Toggenburg	1231	144	429	252.62	49.24	2425.00	19.49
Enana Nigeriana	1087	100	406	236.25	51.74	2677.18	21.90
Oberhasli	755	93	417	237.43	46.46	2159.41	19.57
Todas las razas	13791	89	482	248.09	53.51	2863.57	21.56

n= Número de observaciones, DE= Desviación estándar y CV (%)= Coeficiente de variación.

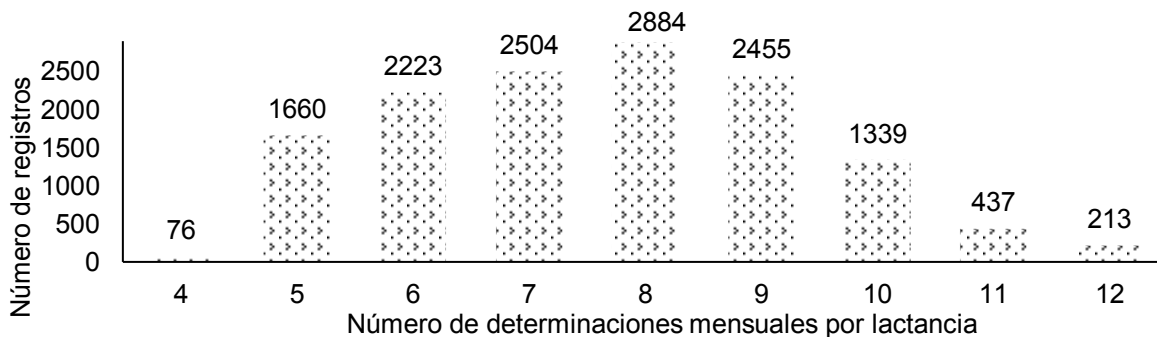


Figura 2. Distribución del número de registros de acuerdo con el número de determinaciones mensuales por lactancia (n= 13791).

La información de genealogía se editó eliminando los registros del pedigrí de cabras con la misma identificación del padre o la madre (ADGA, 2017) y registros de animales con errores en la fecha de nacimiento; solo se conservaron los registros de animales con identificación de padre (Pryce *et al.*, 1998; Wiggans *et al.*, 2020). Posteriormente fueron recodificadas las identificaciones de los animales cronológicamente utilizando el programa Pedigree Viewer versión 6.5f (Kinghorn y Kinghorn, 2015). Con el archivo de pedigrí se determinó el número total de individuos (n= 18719), el número de hembras con registros de producción (n= 9678), el número de hembras sin registros de producción (n= 4627), el número total de sementales (n= 4414), el número total de hembras que fueron madres (n= 7202), el número máximo de crías de las que fue padre un semental (n= 31), el número máximo de crías de las que fue madre una hembra (n= 8), el número máximo de crías de un mismo semental con una misma hembra (n= 6), el número de hembras hijas de sementales (n= 1661), el número de hembras hijas de hembras (n= 2157), el número máximo de hembras apareadas con un semental (n= 26), el número máximo de sementales apareados con una hembra (n= 5) y el número de generaciones (n= 6).

#### Modelo estadístico

Se probaron diferentes modelos animales mixtos para la estimación de varianzas del puntaje de células somáticas, iniciando con una serie de análisis univariados. Los modelos incluyeron fuentes de variación como factores principales y combinando factores fijos, se utilizó un modelo univariado mixto:

$$y = X_b + Z_a + e$$

Donde:  $y$  es el vector de observaciones para el puntaje de células somáticas a través de raza y dentro de raza, donde  $X$  es la matriz de incidencia de efectos fijos, estos se definieron dependiendo la variable dependiente evaluada, lo cual se presenta en los cuadros posteriores.  $b$  es el vector de soluciones para los efectos fijos;  $Z$  es la matriz de incidencia de efectos aleatorios donde se consideró el efecto genético del animal, para todos los modelos;  $a$  es el vector de soluciones de la matriz de efectos aleatorios y  $e$  corresponde a un vector de efecto residual aleatorio.

Se seleccionó el mejor modelo para cada variable, utilizando el Criterio de Información de Akaike (CIA o AIC, del inglés Akaike Information Criterion) y el Criterio de Información Bayesiano (CIB o BIC, del inglés Bayesian Information Criterion). Estos fueron estimados manualmente mediante las siguientes formulas:

$$AIC = -2\mathcal{L}_{R_i} + 2ti$$

$$BIC = -2\mathcal{L}_{R_i} + t_i \log v$$

Donde:  $\mathcal{L}_{R_i}$  es el logaritmo estimado para el modelo,  $ti$  es el número de parámetros de varianza estimados en el modelo,  $v$  es  $n - p$  ( $n$  es el número de observaciones de la variable dependiente y  $p$  es el número de parámetros de varianza estimados) y  $\log$  es logaritmo natural o base e, donde  $e$  es la constante igual a aproximadamente 2.71 (Gilmour et al., 2009).

El modelo univariado seleccionado para la estimación de las varianzas genéticas aditivas, residuales y fenotípicas, del puntaje de células somáticas a través de raza fue el modelo 4 del Cuadro 3 y dentro de raza se seleccionaron los modelos 1 del cuadro 4, esto debido a que fueron los modelos que mejor ajustaron con los datos y tuvieron el menor valor para los criterios de información de Akaike y Bayesiano, además de contener las fuentes de variación que mejor explican a las variables. Todos los análisis fueron realizados con el programa ASReml versión 3.0 (Gilmour et al., 2009).

Cuadro 31. Modelos probados para el puntaje de células somáticas a través de raza ( $n= 13791$ ).

Número de modelo	Factores fijos	Factores aleatorios	Log	AIC	BIC
1	Polinomio de Legendre Raza (7 niveles) • Rebaño-Año de parto-Época de parto (3086 niveles)	Animal Residual	-7295.58	34595.15	34610.22
2	Polinomio de Legendre Época de parto (3 niveles) Rebaño-Año de parto-Raza (2037 niveles)	Animal Residual	-7342.04	34688.07	34703.13
3	Polinomio de Legendre Época de parto-Raza (21 niveles) Rebaño-Año de parto-Raza (2037 niveles)	Animal Residual	-7348.81	34701.61	34716.67
4	<b>Polinomio de Legendre Época de parto (3 niveles) Rebaño (333 niveles) Año de parto-Raza (76 niveles)</b>	<b>Animal Residual</b>	<b>-7288.36</b>	<b>34580.72</b>	<b>34595.78</b>

Log= Logaritmo, AIC= Criterio de información Akaike, BIC= Criterio de información Bayesiano, Polinomio de Legendre= Número de lactancia (5 niveles) • número de determinaciones mensuales (9 niveles), días reales a la lactancia, días reales a la lactancia • días reales a la lactancia y • = Multiplicación.

Cuadro 4. Modelos probados el puntaje de células somáticas dentro de raza.

Número de modelo	Factores fijos	Factores aleatorios	Log	AIC	BIC
Alpina					
1	<b>Año de parto (11 niveles)</b> <b>Época de parto (3 niveles)</b> <b>Rebaño (333 niveles)</b> <b>Polinomio de Legendre</b>	<b>Animal</b> <b>Residual</b>	<b>-3087.44</b>	<b>6178.88</b>	<b>6190.90</b>
2	Rebaño-Época de parto-Año de parto (3086 niveles) Polinomio de Legendre	Animal Residual	-3088.24	6180.48	6192.50
Saanen					
1	<b>Año de parto (11 niveles)</b> <b>Época de parto (3 niveles)</b> <b>Rebaño (333 niveles)</b> <b>Polinomio de Legendre</b>	<b>Animal</b> <b>Residual</b>	<b>-2275.67</b>	<b>4555.34</b>	<b>4566.56</b>
2	Rebaño-Época de parto-Año de parto (3086 niveles) Polinomio de Legendre	Animal Residual	-2276.26	4556.52	4567.74
LaMancha					
1	<b>Año de parto (11 niveles)</b> <b>Época de parto (3 niveles)</b> <b>Rebaño (333 niveles)</b> <b>Polinomio de Legendre</b>	<b>Animal</b> <b>Residual</b>	<b>-3310.68</b>	<b>6625.36</b>	<b>6636.82</b>
2	Rebaño-Época de parto-Año de parto (3086 niveles) Polinomio de Legendre	Animal Residual	-3307.33	6618.66	6630.12
Enana Nigeriana					
1	<b>Año de parto (11 niveles)</b> <b>Época de parto (3 niveles)</b> <b>Rebaño (333 niveles)</b> <b>Polinomio de Legendre</b>	<b>Animal</b> <b>Residual</b>	<b>-736.77</b>	<b>1477.54</b>	<b>1487.52</b>
2	Rebaño-Época de parto-Año de parto (3086 niveles) Polinomio de Legendre	Animal Residual	-733.51	1471.03	1481.01
Nubia					
1	<b>Año de parto (11 niveles)</b> <b>Época de parto (3 niveles)</b> <b>Rebaño (333 niveles)</b> <b>Polinomio de Legendre</b>	<b>Animal</b> <b>Residual</b>	<b>-5026.81</b>	<b>10057.63</b>	<b>10069.88</b>
2	Rebaño-Época de parto-Año de parto (3086 niveles) Polinomio de Legendre	Animal Residual	-5014.99	10033.98	10046.23
Oberhasli					
1	<b>Año de parto (11 niveles)</b> <b>Época de parto (3 niveles)</b> <b>Rebaño (333 niveles)</b> <b>Polinomio de Legendre</b>	<b>Animal</b> <b>Residual</b>	<b>-689.45</b>	<b>1382.91</b>	<b>1392.15</b>
2	Rebaño-Época de parto-Año de parto (3086 niveles) Polinomio de Legendre	Animal Residual	-690.21	1384.42	1393.67
Toggenburg					



1	<b>Año de parto (11 niveles) Época de parto (3 niveles) Rebaño (333 niveles) Polinomio de Legendre</b>	<b>Animal Residual</b>	<b>-1852.12</b>	<b>3708.24</b>	<b>3718.46</b>
2	Rebaño-Época de parto-Año de parto (3086 niveles) Polinomio de Legendre	Animal Residual	-1857.36	3718.72	3728.94

Log= Logaritmo, AIC= Criterio de información Akaike, BIC= Criterio de información Bayesiano, Polinomio de Legendre= Número de lactancia (5 niveles) • número de determinaciones mensuales (9 niveles), días reales a la lactancia, días reales a la lactancia • días reales a la lactancia y • = Multiplicación.

Para la estimación de las varianzas fenotípicas se consideró:

$$\sigma_f^2 = \sigma_a^2 + \sigma_r^2$$

Donde:  $\sigma_f^2$  = es la varianza fenotípica,

Donde:  $\sigma_a^2$  = es la varianza genética aditiva y

Donde:  $\sigma_r^2$  = es la varianza residual o medio ambiental (Wright, 1922; Mrode, 2005; Rupp *et al.*, 2011; Castañeda-Bustos *et al.*, 2014; Castañeda-Bustos *et al.*, 2017).

## RESULTADOS

Los estadísticos descriptivos del puntaje de células somáticas dentro de raza y a través de raza se presentan en el Cuadro 5; la raza Enana Nigeriana obtuvo los valores menores para el mínimo (0.10), máximo (7.31) y media (2.94, que corresponde de 36000 a 71000 mil células por mililitro de leche) con respecto al resto de las razas; sin embargo, esta raza obtuvo el mayor coeficiente de variación (100%) en comparación con las otras razas.

El promedio más alto para el puntaje de células somáticas se estimó para la raza Toggenburg (4.92, que corresponde a aproximadamente de 142000 a 283000 células por mililitro de leche) esto con respecto a las otras razas. La raza con la menor desviación estándar con respecto a la media y coeficiente de variación fue la raza Alpina con 1.73 y 35.45, respectivamente (Cuadro 5).

Para el puntaje de células somáticas, la media y desviación estándar del presente estudio fueron ligeramente menores a las reportadas por Rupp *et al.* (2011) en cabras de primer parto, con  $5.09 \pm 1.36$  para la raza alpina y  $5.32 \pm 1.19$  para la raza Saanen (Cuadro 5).

Maroteau *et al.* (2014) estimaron en cabras Alpinas una media y desviación estándar de  $5.27 \pm 1.66$  y en cabras Saanen de  $5.58 \pm 1.66$  para el puntaje de células somáticas, lo cual fue inferior a lo estimado en el presente estudio, pero los coeficientes de variación (%) estimados por este mismo autor fueron menores a los del presente estudio, con 38% de coeficiente de variación en cabras Alpinas y en cabras Saanen 30% de coeficiente de variación.

Cuadro 5. Estadísticos descriptivos para el puntaje de células somáticas (0 a 9 puntos) dentro de raza y a través de raza.

Raza	n	Mínimo	Máximo	Media	DE	CV (%)
Nubia	3391	0.60	8.95	4.88	2.80	57.42
Alpina	3023	0.81	8.70	4.88	1.73	35.45
LaMancha	2279	0.70	8.76	4.87	2.62	53.86
Saanen	2025	0.96	8.91	4.89	2.41	49.38
Toggenburg	1231	1.45	8.07	4.92	2.70	54.91
Enana Nigeriana	1087	0.10	7.31	2.94	3.21	100.00
Oberhasli	755	0.32	8.74	4.46	3.80	85.03
Todas razas	13791	0.10	8.95	4.67	2.23	47.76

n= Número de observaciones dentro de raza y a través de raza, DE= Desviación estándar y CV (%)= Coeficiente de variación en porcentaje.

La época de parto, el rebaño, el año de parto con la raza y el número de lactancia con el número de determinaciones mensuales afectaron significativamente ( $P < 0.01$ ) el puntaje de células somáticas en el conjunto todas razas (Cuadro 6).

Cuadro 6. Niveles de significancia de los factores fijos usados para el análisis del puntaje de células somáticas (0 a 9 puntos) a través de raza.

Puntaje de células somáticas					
Época de parto	Rebaño	Año de parto-Raza	Polinomio de Legendre		
			NL • NDM	DRL	DRL • DRL
0.001**	0.003**	0.001**	0.001**	0.805 <sup>NS</sup>	0.565 <sup>NS</sup>

NL • NDM= Número de lactancia • número de determinaciones mensuales, DRL = Días reales a la lactancia, DRL • DRL= Días reales a la lactancia • días reales a la lactancia, • = Multiplicación, NS= No significativo (P>0.05), \* = Significativo (P<0.05) y \*\* = Altamente significativo (P<0.01).

Las varianzas genéticas aditivas, residuales y fenotípicas estimadas para el puntaje de células somáticas (0 a 9 puntos) dentro de raza y a través de raza se presentan en el Cuadro 7. Las varianzas genéticas aditivas estimadas dentro de raza y en el conjunto todas razas fueron de los 0.36 a 1.85, lo cual corresponde a un coteo de células somáticas por mililitro de leche de 0 a 35000.

Únicamente en cabras de Nueva Zelanda se ha reportado la varianza genética aditiva (0.32±0.02) y la varianza residual (0.79±0.01) para el puntaje de células somáticas por lactancia (Scholtens *et al.*, 2019), las cuales son inferiores a las estimadas en el presente estudio, sin embargo, los ajustes realizados en ambos estudios fueron diferentes (Cuadro 7).

En el presente estudio para cabras Alpinas y Saanen se estimó una varianza fenotípica y error estándar para el puntaje de células somáticas de 2.87±0.07 y 3.49±0.11, lo cual es menor a lo estimado por Maroteau *et al.* (2014) de 3.26 (Alpinas) y 2.40 (Saanen) en cabras de Francia.

Cuadro 7. Varianzas genéticas aditivas ( $\sigma_a^2$ ), fenotípicas ( $\sigma_f^2$ ) y residuales ( $\sigma_r^2$ ) para el puntaje de células somáticas (0 a 9 puntos) dentro de raza y a través de raza.

Raza	n	Varianza genética aditiva ( $\sigma_a^2 \pm EE$ )	Varianza fenotípica ( $\sigma_f^2 \pm EE$ )	Varianza residual ( $\sigma_r^2 \pm EE$ )
Nubia	3391	1.36±0.15	7.16±0.17	5.79±0.17
Alpina	3023	0.70±0.08	2.87±0.07	2.16±0.08
LaMancha	2279	1.85±0.26	6.87±0.22	5.01±0.23
Saanen	2025	0.83±0.14	3.49±0.11	2.65±0.13
Toggenburg	1231	0.84±0.29	7.14±0.29	6.29±0.34
Enana Nigeriana	1087	0.36±0.07	1.37±0.06	1.00±0.07
Oberhasli	755	0.41±0.12	2.12±0.11	1.70±0.13
Todas razas	13791	1.02±0.05	4.63±0.05	3.61±0.05

n= Número de observaciones utilizadas para estimar las varianzas dentro de raza y a través de raza, EE= Error estándar y Varianza fenotípica = Varianza genética aditiva + varianza residual ( $\sigma_a^2 + \sigma_r^2$ ).

## CONCLUSIONES

Las varianzas genéticas aditivas, fenotípicas y residuales estimadas en el presente estudio para el puntaje de células somáticas mostraron variación dentro de raza y a través de raza, lo que indica que estas características deberían ser analizadas por raza al incluirlas en las evaluaciones genéticas para evitar la subestimación o sobrestimación de los valores genéticos predichos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. American Dairy Goat Association (ADGA). 2017. [online]. Seeing a dairy goat 'by the numbers'. Disponible en la web: <https://adga.org/seeing-a-dairy-goat-by-the-numbers/>
2. American Dairy Goat Association (ADGA). 2020a. [online]. Recent Work on Milk Somatic Cell Counts in Goats. Disponible en la web: <https://adga.org/knowledgebase/somatic-cell-counts-goats/>
3. Ali, A.K.A. y Shook, G.E. 1980. An Optimum Transformation for Somatic Cell Concentration in Milk. *J Dairy Sci.* 63:487-490.
4. Barrón-Bravo, O.G., Gutiérrez-Chávez, A.J., Ángel-Sahagún, C.A., Montaldo, H.H., Shepard, L. y Valencia-Posadas, M. 2013. Losses in milk yield, fat and protein contents according to

- different levels according of somatic cell count in dairy goats. *Small Rumin Res.* 113:421-431.
5. Brotherstone, S., White, I.M.S. y Meyer, K. 2000. Genetic modelling of daily milk yield using orthogonal polynomials and parametric curves. *Anim Sci.* 70:407-415.
  6. Castañeda-Bustos, V.J., Montaldo, H.H., Torres-Hernández, G., Pérez-Elizalde, S., Valencia-Posadas, M., Hernández-Mendo, O. y Shepard, L. 2014. Estimation of genetic parameters for productive life, reproduction, and milk-production traits in US dairy goats. *J Dairy Sci.* 97(4):2462-2473.
  7. Castañeda-Bustos, V.J., Montaldo, H.H. Valencia-Posadas, M., Shepard, L., Pérez-Elizalde, S., Hernández-Mendo, O. y Torres-Hernández, G. 2017. Linear and nonlinear genetic relationships between type traits and productive life in US dairy goats. *J Dairy Sci.* 100(2):1232-1245.
  8. ChemoMetec. 2020. [online]. Somatic Cell Counter NucleoCounter® SCC-100™. Disponible en la web: <https://chemometec.com/cell-counters/somatic-cell-counter-scc-100-nucleocounter/>
  9. Directive 92/46ECC Council. 1992. Diario Oficial de las Comunidades Europeas, Vol. L 268. European Council, Brussels, Belgium. 1-34.
  10. Dulin, A.M., Paape, M.J., Schultze, W.D. y Weinland, B.T. 1983. Effect of Parity, Stage of Lactation, and Intramammary Infection on Concentration of Somatic Cells and Cytoplasmic Particles in Goat Milk. *J Dairy Sci.* 66:2426-2433.
  11. Format 4. 2006. [online]. Listing of Format 4 Cow/Doe Lactation Data utilizing multiple test day segments. Disponible en la web: [https://redmine.uscdcb.com/projects/cdcb-customer-service/wiki/Format\\_4](https://redmine.uscdcb.com/projects/cdcb-customer-service/wiki/Format_4)
  12. Foss. 2018. [online]. Manual Diffusion Test System. Disponible en la web: <https://scancotec.com/productos/fossomatic-7/>
  13. Gilmour, A.R., Gogel, B.J., Cullis, B.R. y Thompson, R. 2009. ASReml User Guide Release 3.0 VSN International Ltd, Hemel Hempstead, HP1 1ES, UK. www.vsnl.co.uk
  14. JMP®, Version 6.0.0. 2005. SAS Institute Inc., Cary, NC.
  15. Kinghorn, B. y Kinghorn, S. 2015. [online]. Pedigree Viewer 6.5f. Disponible en la web: <https://bkinghor.une.edu.au/pedigree.htm>
  16. National Mastitis Council (NMC). 2005. [online]. Human health risks associated with high somatic cell count milk. Disponible en la web: <http://www.nmconline.org/wp-content/uploads/2016/08/HUMAN-HEALTH-RISKS-ASSOCIATED-WITH-HIGH-SOMATIC-CELL-COUNT-MILK.pdf>
  17. Maroteau, C., Palhière, I., Larroque, H., Clément, V., Ferrand, M., Tosser-Klopp, G. y Rupp, R. 2014. Genetic parameter estimation for major milk fatty acids in Alpine and Saanen primiparous goats. *J Dairy Sci.* 97(5):3142-3155.
  18. Mehdid, A., Díaz, J.R., Martí, A., Vidal, G. y Peris, C. 2013. Effect of estrus synchronization on daily somatic cell count variation in goats according to lactation number and udder health status. *J Dairy Sci.* 96:4368-4374.
  19. Moroni, P., Pisoni, G., Ruffo, G. y Boettcher, P.J. 2005. Risk factors for intramammary infections and relationship with somatic-cell counts in Italian dairy goats. *Prev Vet Med.* 69:163-173.
  20. Mrode, R.A. 2005. Linear models for the prediction of animal breeding values. *CABI.* Ed. 2.
  21. Paape, M.J., Poutrel, B., Contreras, A., Marco, J.C. y Capuco, A.V. 2001. Milk Somatic Cells and Lactation in Small Ruminants. *J Dairy Sci.* 84:E237-E244.
  22. Paape, M.J., Wiggans, G.R., Bannerman, D.D., Thomas, D.L., Sanders, A.H., Contreras, A., Moroni, P. y Miller, R.H. 2007. Monitoring goat and sheep milk somatic cell counts. *Small Rumin Res.* 68:114-125.
  23. Pasteurized Milk Ordinance (PMO). 2017. [online]. Grade "A" Pasteurized milk ordinance. Disponible en la web: <https://www.fda.gov/media/114169/download>
  24. Poutrel, B., de Crémoux, R., Ducelliez, M., y Verneau, D. 1997. Control of Intramammary Infections in Goats: Impact on Somatic Cell Counts. *J Anim Sci.* 75:566-570.

25. Pryce, J.E., Esslemont, R.J., Thompson, R., Veerkamp, R.F., Kossaibati, M.A. y Simm, G. 1998. Estimation of genetic parameters using health, fertility and production data from a management recording system for dairy cattle. *Anim Sci.* 66: 577-584.
26. Reents, R., Jamrozik, J., Schaeffer, L.R. y Dekkers, J.C.M. 1995. Estimation of genetic parameters for test day records of somatic cell score. *J Dairy Sci.* 78:2847-2857.
27. Rupp, R., Boichard, D., Bertrand C. y Bazin, S. 2000. Bilan national des numérations cellulaires dans le lait des différentes races bovines laitières françaises. *INRA Prod Anim.* 13(4):257-267.
28. Rupp, R., Clément, V., Piacere, A., Robert-Granié, C. y Manfredi, E. 2011. Genetic parameters for milk somatic cell score and relationship with production and udder type traits in dairy Alpine and Saanen primiparous goats. *J Dairy Sci.* 94(7):3629-3634.
29. Scholtens, M.R., Lopez-Villalobos, N., Garrick, D., Blair, H. Lehnert, K. y Snell, R. 2019. Genetic parameters for total lactation yields of milk, fat, protein, and somatic cell score in New Zealand dairy goats. *Anim Sci J.* 00:1-8.
30. Shook, G.E. 1982. Approaches to summarizing somatic cell count which improve interpretability. Proceedings 21<sup>st</sup> Annual Meeting. National Mastitis Council. 150-166.
31. Torres-Vázquez, J.A., Valencia-Posadas, M., Castillo-Juárez, H. y Montaldo, H.H. 2009. Genetic and phenotypic parameters of milk yield, milk composition and age at first kidding in Saanen goats from Mexico. *Livest Sci.* 126:147-153.
32. United States Department of Agriculture (USDA). 2009. [online]. Animal Improvement Programs Laboratory. Agricultural Research Service. Listing of format 4E. Disponible en la web: <http://aipl.arsusda.gov/formats>
33. Western Canadian Dairy Herd Improvement Services (WCDHIS). 2018. [online]. Somatic Cell Counts. Disponible en la web: [http://www.companylisting.ca/Western\\_Canadian\\_Dairy\\_Herd\\_Improvement\\_Services/default.aspx](http://www.companylisting.ca/Western_Canadian_Dairy_Herd_Improvement_Services/default.aspx)
34. Wiggans, G.R., y Shook, G.E. 1987. A lactation measure of somatic cell count. *J Dairy Sci.* 70:2666-2672.
35. Wiggans, G.R., Hubbard, S.M. y Wright, J.R. 2020. [online]. GENETIC EVALUATION OF DAIRY GOATS FOR YIELD AND TYPE. Disponible en la web: <https://aipl.arsusda.gov/reference/goat/goatsfs.html>
36. Wright, S. 1922. Coefficients of inbreeding and relationship. *Am Nat.* 56:330-338.

## EFFECTOS NEGATIVOS DE LA VINAZA EN EL MEDIO AMBIENTE COMO CO-PRODUCTO DE LA PRODUCCIÓN DE ETANOL

Aarón Montiel Rosales<sup>1</sup>, Félix David Murillo Cuevas<sup>2</sup>, Gregorio Fernández Lambert<sup>1</sup>, Carlos Yossio Nakase Rodríguez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Tecnológico Nacional de México / ITS de Misantla, <sup>2</sup>Tecnológico Nacional de México / IT de Úrsulo Gálvan  
ar.chimedes@hotmail.com

### RESUMEN

El garantizar la seguridad alimentaria es un tema complejo debido a la cantidad de factores que intervienen; e.g., la ONU proyecta que la población mundial alcanzará los 8.548 millones en 2030 y 10.875 millones en 2100<sup>1</sup>, mientras que, en el marco medioambiental se tiene que casi la mitad de los bosques han desaparecido<sup>2</sup>. Estos fenómenos están asociados al cambio en la dietética de la población, la FAO considera que habrá mayor cantidad de personas consumiendo menos cereales y mayor cantidad de carnes, frutas, hortalizas y alimentos procesados<sup>2</sup>. Ahora bien, la satisfacción de las necesidades alimenticias de la población ha ocasionado sobreexplotación a largo plazo y prácticas agrícolas insostenibles<sup>3</sup>, lo que deriva en la aparición y migración de contaminantes en medios porosos saturados<sup>4</sup>. Siendo la vinaza —co-producto derivado de la producción de alcoholes—, un producto que afecta significativamente al medio ambiente si es vertido directamente al ecosistema debido a que los valores de la DQO y DBO5 para un contenido de sodio de 10% m/m son 116,000 y 41,200 ppm respectivamente<sup>5</sup>; la vinaza contamina aproximadamente 100 veces más que las aguas residuales domésticas, asociado a su pH tan bajo (3.5-5.0) y a la DBO (10-65 g/L)<sup>6</sup>, además contiene altas concentraciones de potasio y sulfatos. A partir de lo reportado en la literatura se tiene que, la vinaza por su alta carga orgánica genera un suelo infértil ocasionando muerte en la flora y fauna, impactando con ello el rendimiento de la producción agrícola al verse disminuida la producción de alimentos para consumo humano y animal; lo que pone en riesgo la seguridad alimentaria de la actual y futuras generaciones. El presente trabajo, (1) describe los impactos de la vinaza reportadas del año 2005 al 2021 y, (2) sienta las bases para el desarrollo de productos y procesos de innovación que abonen a mitigar el impacto negativo de la vinaza al medio ambiente.

### INTRODUCCIÓN

En la actualidad, los diversos actores inmersos en la producción agrícola han implementado diversas prácticas agrícolas con la intención de incrementar la producción de alimentos con el menor uso de recursos y con el objetivo de obtener un producto de calidad. Algunas malas prácticas agrícolas ponen en riesgo el medio ambiente; e.g., el uso de fertilizantes químicos, el sobrepastoreo y el monocultivo, generan una importante disminución en la biodiversidad de los agroecosistemas<sup>7</sup>. Si bien es cierto, que estas prácticas en primera instancia proveen una producción elevada, al paso del tiempo estas malas prácticas generan desertificación. La desertificación, es un proceso de degradación de la capacidad productiva de la tierra<sup>8</sup>.

En los cultivos agrícolas es una práctica común incorporar como fertirriego la vinaza en forma directa, debido a que, al ser un producto con alta carga orgánica, es considerada por los agricultores como un mejorador del cultivo. La vinaza, es un co-producto que se desprende de la producción de alcohol etílico.

La vinaza constituye un material altamente contaminante, si es vertido directamente a los mantos acuíferos, esto asociado al elevado contenido de materia orgánica; ya que, los valores de DQO y DBO para un contenido de sólidos del 10% m/m son 116,000 y 41,200 ppm, respectivamente<sup>5</sup>. Generalmente, la vinaza se incorpora a altas temperaturas —directamente de la salida de línea de producción de alcoholes—, impactando por los valores de DQO y DBO, a la flora y fauna del ecosistema.

A partir de lo anteriormente expuesto, el presente trabajo de investigación aborda la identificación y análisis de los efectos negativos en la flora y fauna que la vinaza como co-producto de la producción de etanol, representa al medio ambiente como práctica agrícola de fertirriego. Con lo que, la adecuada identificación de los efectos negativos de la vinaza de etanol permitirá la identificación de áreas de oportunidad para el desarrollo de proyectos de investigación que permitan mitigar el impacto negativo de esta práctica agrícola en los cultivos.

## TEORÍA

La vinaza, es un efluente resultante de la producción de alcohol, a partir de la fermentación y destilación de una materia prima<sup>9</sup>; es un material líquido, de color marrón, con gran contenido de sólidos suspendidos, olor a miel y sabor a malta<sup>10</sup>. Los valores de DQO y DBO, de la vinaza para un contenido de sólidos del 10% m/m son 116,000 y 41,200 ppm, respectivamente<sup>5</sup>. Finalmente, se considera, que por cada litro de etanol se generan en promedio de 10 a 15 litros de vinaza, esto dependiendo de los equipos disponibles en la destilería<sup>11-13</sup>.

En la Tabla 1 se presenta la composición elemental de la vinaza del 55% y del 10%<sup>5</sup>.

Tabla 1. Composición elemental de la vinaza de 55% y de 10% de sólidos totales<sup>5</sup>.

Componente	Unidades	al 55% s.t.	al 10% s.t.
N	kg/m <sup>3</sup>	4.30	0.63–1.14
P	kg/m <sup>3</sup>	0.22	0.04–0.11
K	kg/m <sup>3</sup>	34.03	4.05–9.01
Ca	kg/m <sup>3</sup>	5.00	0.74–2.2
Mg	kg/m <sup>3</sup>	5.40	0.80–1.36
S	kg/m <sup>3</sup>	11.55	1.28
pH	–	4.3–4.5	3.5–4.3
CE	Ds/m	17	11.0

A partir de esto, la vinaza es considerada como un co-producto indeseado en la cadena de valor sucro-alcoholera. Sin embargo, por las propiedades que presenta ha sido empleada como materia prima en otras áreas (ver Tabla 2).

Tabla 2. Usos y aplicaciones de la vinaza<sup>14</sup>.

Usos	Aplicaciones
Fertilizante	Considerando que la vinaza concentra una gran parte de los nutrientes exportados por el cultivo de caña (en particular más del 70% del potasio).
Ferti-irrigación	Es la aplicación de vinaza al suelo, la práctica más difundida a nivel global.
Compostaje	La vinaza proveniente de las destilerías es sometida a un proceso de evaporación, y posteriormente, es transportada para la generación de compost.
Reactores Biológicos	La vinaza es reducida por acción microbiológica mediante reacción anaeróbica. Entonces, la vinaza cruda con elevado DBO y DQO ingresa a un biorreactor donde se obtiene vinaza tratada, CO <sub>2</sub> y biogás.
Concentración y combustión	Se concentra la vinaza hasta 60° Brix, la vinaza se quema en calderas junto con bagazo y, así generar energía eléctrica.
Levadura forrajera	Alimento de animales.
Disposición en los cursos fluviales	Prohibido en la mayoría de los países.
Tierras de sacrificio	Descarga de grandes volúmenes de efluente en suelos con escasa aptitud agrícola con el consecuente riesgo de salinizarlo o afectar su fertilidad.

La vinaza, presenta una diversidad de usos que oscilan desde su misma incorporación al ecosistema hasta la generación de energía eléctrica. Por lo que, resulta de suma importancia la identificación y análisis de los efectos negativos de este co-producto, en su incorporación a cadenas de valor como insumo.

### PARTE EXPERIMENTAL

El presente estudio de investigación abordó una revisión literaria descriptiva sistemática exploratoria comparativa no experimental de los efectos negativos que la vinaza de etanol como co-producto de la producción de alcoholes representa al medio ambiente, si esta es depositada directamente al ecosistema. El estudio consideró la revisión de trabajos depositados en bases de conocimiento como Scopus, Google Academic, Scielo, ResearchGate, Web of Science, así como, repositorios institucionales.

### RESULTADOS

La vinaza constituye un material altamente contaminante, si es vertido directamente a los mantos acuíferos, esto asociado al elevado contenido de materia orgánica<sup>5</sup>. La Tabla 3, presenta los componentes contaminantes de la vinaza.

Tabla 3. Componentes contaminantes de la vinaza diluida y concentrada al 60%<sup>5</sup>.

Componente	Unidades	Concentración	
		V10	V60
DQO	mg/l	116,000	590,000
DBO	mg/l	41,200	240,000
pH	–	4.5	4.5
SST	mg/l	8,990	53,900
SSV	mg/l	7,100	–
Sulfatos	mg/l	5,626	33,750
Fósforo	mg/l	97	580

Las consecuencias negativas de la vinaza son: emisiones de CH<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>S, CO<sub>2</sub>, la contaminación de los suelos y/o subsuelo; también, la calidad de los cuerpos receptos puede verse afectada en actividades específicas como son el cultivo de peces y mariscos; mientras que, con respecto a la flora y fauna existen afecciones, en la primera se genera el deterioro de la calidad de las especies vegetales circundantes en el área y en la segunda con la reproducción y alimentación de vectores en los sitios de deposición no controlada; así mismo, existen daños relacionados con el medio socioeconómico y urbanístico, mediante las alteraciones en la infraestructura y los servicios, el paisaje, la población, así como en la destrucción accidental de los recursos culturales y los desagradados e impactos estéticos adversos<sup>15</sup>.

La utilización de vinaza para riego aplicada en dosis muy elevadas disminuye el rendimiento del cultivo e incrementa la salinidad de los suelos; estudios muestran que un riego en exceso con vinaza puede afectar el balance nutricional de las plantas dado su alto contenido de potasio; además, si el fertirriego es excesivo, puede aumentarse el contenido de sodio intercambiable y generar una menor tolerancia del suelo a las sequías; también, se ha registrado un aumento del contenido de potasio en profundidad luego de la aplicación sucesiva de vinaza<sup>16</sup>.

Por lo que, al verter la vinaza en fuentes hídricas, se genera gran cantidad de impactos negativos, como la eutrofización y la contaminación de ríos, fuentes de agua subterráneas y mares cercanos a las industrias alcohólicas<sup>17</sup>, *i.e.*, la vinaza genera eutrofización de aguas y la nitrificación excesiva de suelo<sup>18</sup>.

### CONCLUSIONES

El incremento de la contaminación está generando estragos en el medio ambiente, existe cambio climático, gases de efecto invernadero, entre otros factores que están poniendo en riesgo el

desarrollo de las futuras generaciones. Por lo que, es necesario identificar el efecto de los co-productos depositados en el medio ambiente para así desarrollar estrategias que permitan mitigar el efecto negativo de estos en el ecosistema. En el presente trabajo de investigación se identificó y analizó, el efecto negativo de la vinaza de etanol en el medio ambiente. Del estudio realizado se desprende, que por las propiedades físico-químicas de la vinaza éste líquido genera muerte a la flora y fauna, si es incorporada de forma directa al ecosistema. Para mitigar este impacto, la vinaza debe ser tratada antes de ser empleada como insumo en algún otro proceso. Entonces, el presente trabajo sienta las bases para el desarrollo de futuros proyectos de investigación que aborden mejorar productos y/o procesos a partir del uso de la vinaza tratada y así reducir —y en el mejor de los casos, eliminar—, las afecciones que la vinaza genera al medio ambiente, si esta es vertida directamente al medio ambiente.

### AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Tecnológico Nacional de México que por medio de la Convocatoria 2021: PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA; se financia el desarrollo del proyecto de investigación cp9rp7(11796).

### BIBLIOGRAFÍA

1. United Nations, Department of Economic and Social Affairs, & Population Division, "World Population Prospects 2019", *Highlights: Vol. ST/ESA/SER.A/423*, 2019.
2. FAO. "The future of food and agriculture – Alternative pathways to 2050", *Vol. CC BY-NC-SA 3.0 IGO*, 2018.
3. X. Jia, D. Hou, L. Wang, D. O'Connor & J. Luo, "The development of groundwater research in the past 40 years: A burgeoning trend in groundwater depletion and sustainable management", *In Journal of Hydrology*, 587, 125006, 2020, <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2020.125006>
4. X. You, S. Liu, C. Dai, Y. Guo, G. Zhong & Y. Duan, "Contaminant occurrence and migration between high- and low-permeability zones in groundwater systems: A review". *In Science of the Total Environment (Vol. 743, p. 140703)*, 2020, Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140703>
5. A. García & R. Rojas, "Posibilidades de Uso de la Vinaza en la Agricultura de Acuerdo con su Modo de Acción en los Suelos", *In Publicación de la Asociación Colombiana de Técnicos de la Caña de Azúcar—Tecnicaña*, 17(9), 3-13, 2005, Cali, Colombia.
6. C. E. Aristizábal, "Caracterización físico-química de una vinaza resultante de la producción de alcohol de una industria licorera, a partir del aprovechamiento de la caña de azúcar" 6(2), 36–41, 2015.
7. A. Yong, "The floristic biodiversity in agricultural systems. Cultivos Tropicales", *In Cultivos Tropicales*, 31(4), 2010.
8. D. Granados, M. Á. Hernández, A. Vázquez & P. Ruíz, "Los procesos de desertificación y las regiones áridas". *In Revista Chapingo. Serie ciencias forestales y del ambiente*, 19(1), 45-66, 2013.
9. J. Larrahondo, "La vinaza: Caracterización de la vinaza, usos y aprovechamientos potenciales". *In Memorias Seminario internacional de Fertilización y Nutrición de la Caña de Azúcar*, Tecnicaña. Cali, Colombia, 69–90, Noviembre 2009.
10. R. Bermúdez, J. Hoyos & S. Rodríguez, "Evaluación de la disminución de la carga contaminante de la vinaza de destilería por ensayo anaeróbico". *In Revista internacional de contaminación ambiental*, 16, 103–107, 2000.
11. C. A. Christofoletti, J. P. Escher, J. E. Correia, J. F. U. Marinho & C. S. Fontanetti, "Sugarcane vinasse: Environmental implications of its use", *In Waste Manag.*, 33(12), 2752–2761, 2013.
12. J. Fernanda, U. Marinho, J. E. Correia, A. Claudia, D. C. Marcato, J. Pedro-escher & C. Silvia, "Ecotoxicology and Environmental Safety Sugar cane vinasse in water bodies: Impact assessed by liver histopathology in tilapia", 110, 239–245, 2014.
13. B. S. Moraes, T. L. Junqueira, L. G. Pavanello, O. Cavalett, P. E. Mantelatto, A. Bonomi & M. Zaiat, "Anaerobic digestion of vinasse from sugarcane biorefineries in Brazil from



- energy, environmental, and economic perspectives: Profit or expense?”, *In Appl. Energy*, 113, 825–835, 2014.
14. J. M. Ortiz, “Producción de energía a partir de vinaza en Tucumán: análisis de las diferentes alternativas”, Trabajo de Tesis de Maestría: Energía y Ambiente, *Universidad Nacional de Tucumán*, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, 2018.
  15. J. M. C. Curbelo & Y. L. Acosta, “Alternativas de tratamiento de las vinazas de destilería. Experiencias nacionales e internacionales”. *In Revista Centro Azúcar*, 41(2), 2014.
  16. D. Senatore, “Vinaza como fertilizante de caña azucarera: efecto sobre la comunidad bacteriana del suelo”, Trabajo de Tesis de Maestría: Ciencias Biológicas, Universidad de la República, 2013.
  17. S. A. Vargas, “Efecto del nivel de inclusión y concentración de vinaza de caña (*Saccharum officinarum*) sobre los parámetros de fermentativos y calidad nutricional de un ensilaje de maralfalfa (*Penissetum* sp.)”, *In Departamento de Producción Animal*, 2014.
  18. E. A. Vazquez, “Utilización de vinazas como sustratos en biorreactores UASB y EGSB”, Trabajo de Tesis de Maestría: Materiales y Sistemas Energéticos Renovables, *Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas*, 2020.

## ACTIVIDAD ANTIHIPERTENSIVA Y ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DE JALEA REAL PRODUCIDA POR ABEJAS CON MORFOTIPO AFRICANIZADO.

Karla Itzél Alcalá Escamilla<sup>1</sup>, Yolanda Beatriz Moguel Ordoñez<sup>2</sup>, David Abraham Betancur Ancona<sup>3</sup>, Valentino Mukthar Sandoval Peraza<sup>4</sup>, Santiago Gallegos Tintoré<sup>3</sup>

<sup>1</sup>INIFAP, Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal.

<sup>2</sup>INIFAP, Campo Experimental Mocochoá. <sup>3</sup>UADY-Facultad de Ingeniería Química.

<sup>4</sup>UVM-Escuela Ciencias de la Salud-Mérida.

alcala.karla@inifap.gob.mx

### RESUMEN

La jalea real (JR) es una secreción glandular que producen las abejas obreras jóvenes, la cual utilizan para alimentar a las larvas y a la reina durante toda su vida. En su composición se encuentran componentes con actividad biológica como péptidos, ácidos grasos y compuestos fenólicos, por lo que es considerada como un alimento funcional. El objetivo del trabajo fue evaluar la actividad antihipertensiva y antioxidante *in vitro* de la JR elaborada por abejas africanizadas en Yucatán, México. Para determinar el morfotipo de las colonias se midió el ala anterior derecha en una muestra de 30 abejas por colmena. Se utilizó el método de transferencia de larvas para la producción de JR, con extracción a las 72 horas post traslarve. La actividad antihipertensiva se midió a través de cuantificar el porcentaje de Inhibición de la Enzima Convertidora de Angiotensina (%I-ECA), en concentraciones de proteína de 2, 3, 4 y 5 mg/ml. La actividad antioxidante se midió a través de la cuantificación de la capacidad de captación de radicales libres, con los métodos DPPH (%CRL DPPH), ABTS (%CRL ABTS)<sup>4</sup> y decoloración de  $\beta$ -caroteno (% ID  $\beta$ -caroteno)<sup>5</sup>. El valor más alto de %I-ECA fue de 16.8% a una concentración de proteína de 4mg/ml, lo que es considerado como un valor bajo de inhibición, en comparación con otros alimentos que presentan componentes bioactivos con actividad antihipertensiva. Respecto al %CRL DPPH el valor fue de 34.58, el %CRL ABTS fue de 23.27 y el % ID  $\beta$ -caroteno fue de 50.66; los resultados muestran que los componentes que conforman la JR poseen propiedades antioxidantes que ayudan a controlar los radicales libres, los cuales en grandes cantidades pueden dañar a las células y producir su muerte. A pesar de que la JR producida por abejas africanizadas presenta actividad antihipertensiva y antioxidante, es probable que los valores puedan incrementarse si se somete la JR a un proceso previo de hidrólisis, lo que permitiría la liberación de una mayor cantidad de componentes bioactivos.

### INTRODUCCIÓN

La jalea real (JR) es una sustancia lechosa secretada por las glándulas hipofaríngeas y una pequeña cantidad por las glándulas mandibulares de las abejas nodrizas, quienes la producen con el fin de alimentar a la reina durante toda su vida y a las larvas de obreras y zánganos.<sup>1</sup> Está conformada por una mezcla de agua, carbohidratos, proteínas, lípidos, vitaminas, aminoácidos, minerales, enzimas, hormonas y oligoelementos, y se le considera un alimento funcional con una amplia actividad biológica. La JR se puede utilizar para la prevención y/o control de algunos padecimientos como la presión arterial alta o hipertensión y la producción excesiva de radicales libres (RL) en los organismos; entre otras patologías.<sup>2</sup>

### TEORÍA

La presión arterial es la fuerza que ejerce la sangre contra las paredes de los vasos sanguíneos al ser bombeada por el corazón; el valor normal en un adulto es: presión sistólica de 120 mm/Hg y presión diastólica de 80 mm/Hg. Cuanta más alta es la presión más esfuerzo tiene que realizar el corazón para bombear y mayor es el riesgo de daño al corazón y a los vasos sanguíneos de otros órganos como cerebro o riñones. La hipertensión es la causa prevenible más importante de las enfermedades cardiovasculares; en México su prevalencia es del 25.5% en adultos y se calcula que la cuarta parte de la población de adultos en el mundo tiene problemas de hipertensión.<sup>3</sup>

La actividad antioxidante es un mecanismo que poseen los organismos para defenderse contra el estrés oxidativo (EO). El EO es la exposición de la materia viva a diversas fuentes que producen una

ruptura del equilibrio existente entre los factores pro-oxidantes y los mecanismos antioxidantes encargados de eliminar dichas especies químicas, ya sea por un déficit de defensas o por un incremento excesivo de la producción de RL, lo que ocasiona alteraciones en la relación estructura-función en cualquier órgano o sistema ocasionando daño celular.<sup>4</sup> El sistema de defensa que poseen los seres vivos contra los RL son los antioxidantes, sustancias que al estar presentes en baja concentración retardan o inhiben significativamente la oxidación de un sustrato oxidable y son eficaces al reaccionar más rápido como captoreadores de RL, neutralizando el efecto adverso en las células.<sup>5</sup>

La JR ha demostrado de manera científica que su consumo ayuda de manera positiva a mejorar la salud de las personas,<sup>6</sup> esto debido a que en su composición se encuentran péptidos bioactivos, ácidos grasos y componentes fenólicos, los cuales son los responsables de su actividad biológica. Sin embargo, debido a que las características de la JR pueden variar de una región a otra y son pocos los estudios realizados de componentes bioactivos en la JR producida por abejas africanizadas, el objetivo del trabajo fue evaluar la actividad antihipertensiva y antioxidante *in vitro* de la JR elaborada por abejas africanizadas en Yucatán, México.

### PARTE EXPERIMENTAL

El trabajo se realizó en el apiario del Campo Experimental Mocochoá, Yucatán, del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), localizado en el km 25 de la antigua carretera Mérida-Motul. Se utilizaron seis colmenas tipo Lanstrong con una sola cámara de cría que estaba dividida en dos secciones por un excluidor de reinas vertical. En la primera sección se encontraba la reina, cinco bastidores con alimento, espacio para postura y cría en diferentes etapas de desarrollo, en la segunda sección se encontraban tres bastidores con cría a punto de emerger, alimento y el bastidor porta copa celdas.

Para determinar el morfotipo de las colonias se utilizó la metodología de la regla-fija,<sup>7</sup> por lo que de cada colonia se tomó una muestra de abejas en alcohol al 70% y se les midió en el laboratorio el ala anterior derecha a 30 obreras por colmena. Para la producción de la JR se utilizó el método de transferencia de larvas, con extracción a las 72 horas post traslarve,<sup>8</sup> la JR cosechada se almacenó en frascos color ámbar en congelación a -4°C hasta su análisis.

La actividad antihipertensiva *in vitro* se determinó a través de la Actividad Inhibitoria de la Enzima Convertidora de Angiotensina (I-ECA), de acuerdo con la metodología propuesta por Hayakari, *et al.*, (1978),<sup>9</sup> la cual se basa en la reacción colorimétrica del ácido hipúrico formado por la reacción del Hipuril-L-Histidil-L-Leucina (HHL). Se utilizó una solución de ECA (100mU/mL), el sustrato HHL tenía una concentración de 0.3%(p/v), en buffer de fosfatos 0.1 M a un pH de 8.3 y una solución de NaCl 5M; cada muestra de JR se midió a distintas concentraciones de proteína (2, 3, 4 y 5 mg/mL). Las muestras se incubaron 37°C durante 45 min, posteriormente se detuvo la reacción con TT (2, 4, 6-tricloro-triasina) en dioxano al 3%. Las muestras se centrifugaron a 13,200 ·g por 10 min y se leyó la absorbancia del sobrenadante con un espectrofotómetro UV Vis Evolution<sup>TM</sup> 300 (Thermo Fisher Scientific, EUA) a 382 nm. La actividad de I-ECA se expresó como % I-ECA y se calculó con la siguiente fórmula:

$$1.- \%I-ECA = 100-[(ESM-BME) (ES-BES) X 100]$$

Donde:

ESM: densidad óptica de la ECA con muestra y sustrato

BME: densidad óptica de la ECA con la muestra

ES: densidad óptica de la ECA con el sustrato

BES: densidad óptica del sustrato.

La actividad antioxidante *in vitro* se midió a través de la cuantificación de la capacidad de captación de radicales libres, con los métodos DPPH, ABTS y decoloración de β-caroteno. Se preparó una solución de JR disolviendo 1 g en 10 mL de agua destilada, posteriormente la mezcla fue sonicada por 15 min. La solución se centrifugó a 1350 ·g durante 10 min y el sobrenadante obtenido se utilizó para realizar las pruebas.<sup>10</sup>

Captación de radicales libres DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil):

Se tomaron 0.3 mL de la solución de JR y se mezcló con 0.3 mL de solución de radical de DPPH (1.0 mM) y 2.4 mL de etanol (99%), La mezcla se incubó durante 30 min a temperatura ambiente, en la oscuridad y se midió la absorbancia a una longitud de onda de 517 nm, utilizando ácido ascórbico 1 mM como control positivo.<sup>11</sup> Los resultados se expresaron como porcentaje de captación de radicales libres DPPH (%CRL DPPH).

Captación de radicales libres ABTS (2,2' Azinobis-3-etil-benzotiazolin-6-ácido sulfónico):

Se realizó una curva estándar de trolox que fue de 0.5 a 3.5 mM para calcular el porcentaje de inhibición de las muestras. Una muestra de 10  $\mu$ L de cada JR o estándar de trolox se mezcló con 990  $\mu$ L de la solución radical ABTS y se tomaron las medidas de absorbancia a 734 nm.<sup>12</sup> Los resultados se expresaron como porcentaje de captación de radicales libres ABTS (%CRL ABTS).

Decoloración de  $\beta$ -caroteno:

La prueba permite establecer la capacidad de la JR para reducir la pérdida oxidativa de  $\beta$ -caroteno en presencia de  $\text{CuSO}_4$ , la cual se manifestó por una reducción de la decoloración determinada a una longitud de onda de 470 nm.<sup>13</sup> Se tomaron muestras de 600  $\mu$ L de la disolución de  $\beta$ -caroteno, y se mezclaron con 60  $\mu$ L de una solución de  $\text{CuSO}_4$  (50  $\mu$ M) y 60  $\mu$ L de JR, y se midió su absorbancia al inicio y posteriormente a los 60 min. Los resultados se expresaron en porcentaje de inhibición de la decoloración del  $\beta$ -caroteno (%ID  $\beta$ -caroteno).

## RESULTADOS

Todas las colonias que se utilizaron para la producción de JR fueron clasificadas con morfotipo africanizado de acuerdo a la metodología de regla-fija. Respecto a la actividad antihipertensiva *in vitro*, el valor más alto de inhibición fue de 16.8% a una concentración de proteína de 4mg/ml (Figura 1) lo que es considerado como un valor bajo de inhibición, en comparación con otros trabajos en donde el valor máximo de inhibición es del 60%,<sup>14</sup> los valores bajos probablemente se debieron a que la proteína de la JR no recibió ningún tipo de hidrólisis enzimática de manera previa, lo que permitiría la liberación de una mayor cantidad de componentes bioactivos, incrementando su porcentaje de inhibición.

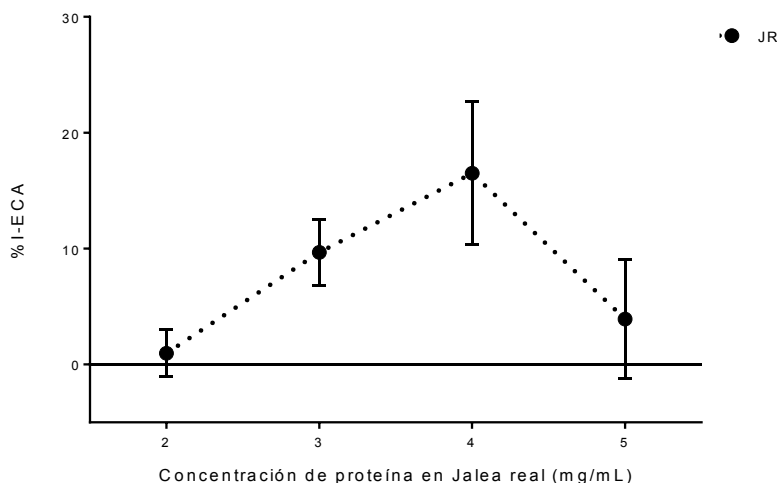


Figura 1 %I-ECA a diferentes concentraciones de proteína

Los resultados de la actividad antioxidante *in vitro* se encuentran en el Cuadro 1. Los resultados muestran que los componentes que conforman la JR poseen propiedades antioxidantes que ayudan a controlar los radicales libres, los cuales, en grandes cantidades pueden dañar a las células y producir su muerte. Para determinar la capacidad antioxidante de cualquier compuesto es recomendable que se utilicen distintas metodologías, con la finalidad de medir los diferentes métodos de acción antioxidante. Los resultados obtenidos concuerdan con la información encontrada por

otros autores que también midieron actividad antioxidante *in vitro* en jalea real fresca y reportan valores de captación de RL que van de un 35 a un 62% en la prueba de DPPH.<sup>10, 11</sup> La prueba de ABTS resulta muy efectiva para la medición de antioxidantes altamente pigmentados e hidrofílicos,<sup>15</sup> lo que permite que identifique compuestos antioxidantes diferentes a la prueba DPPH; ambas, DPPH y ABTS miden antioxidantes que trabajan con el método de transferencia de electrones, y la prueba de  $\beta$ -caroteno se basa en la reacción química de transferencia de un átomo de hidrógeno por lo que miden diferentes tipos de respuesta antioxidante.<sup>16</sup> La presencia de actividad en las tres pruebas indica que la JR posee una actividad antioxidante amplia, lo que puede beneficiar al organismo que lo consume.

Cuadro 1 Actividad antioxidante en la JR

Prueba	Porcentaje
CRL DPPH	34.58±7.17
CRL ABTS	23.27±2.36
ID $\beta$ CAROTENO	50.66±9.25

## CONCLUSIONES

Los componentes que conforman la JR le permite tener varias aplicaciones, una de las cuales es su uso como alimento funcional con la capacidad para coadyuvar en la prevención y control de padecimientos como la hipertensión y la producción excesiva de RL. La JR producida por abejas con morfotipo africanizado en el estado de Yucatán presenta actividad antihipertensiva, sin embargo, probablemente el valor de %I-ECA podría incrementarse si se somete la JR a un proceso de hidrólisis con el fin de liberar una mayor cantidad de componentes bioactivos. La actividad antioxidante presente en la JR es amplia y con valores que permiten considerar que su consumo ayudaría al control de los RL, beneficiando al consumidor.

## BIBLIOGRAFÍA

1. A.G. Sabatini, G.L. Marcazzan, M.F. Caboni, S. Bogdanov, L.B. Almeida-Muradian "Quality and standardisation of Royal Jelly" *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*. Vol.1,1, 2009, pp. 7–9.
2. M.F. Ramadan, A. Al-Ghamdi. "Bioactive compounds and health-promoting properties of royal jelly: A review", *J. Funct. Foods*. Vol. 4, 1, 2012, pp. 39–52.
3. ENSANUT. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino. 2016. Informe final de resultados. Instituto nacional de Salud Pública.
4. G.J.R. Venereo. "Daño oxidativo, radicales libres y antioxidants" *Rev. Cuba. Med. Mil.* Vol. 31, 2, 2002, pp. 126 – 133.
5. R. Kohen, A. Nyska. "Oxidation of biological systems: oxidative stress and antioxidants" *Toxicol. Pathol.* Vol 30, 2002, pp. 620-630.
6. S. Pourmoradian, R. Mahdavi, M. Mobasseri, E. Faramarzi, M. Mobasseri. "Effects of royal jelly supplementation on glycemic control and oxidative stress factors in type 2 diabetic female: A randomized clinical trial" *Chin. J. Integr. Med.* Vol 20, 5, 2014, pp. 347-352.
7. Prieto, K. I. Alcalá, E. Guzmán, C. Alcalá, M. Arechavaleta. Confiabilidad de dos métodos morfométricos simples para medir la longitud de ala anterior en abejas obreras (*Apis mellifera* L.) 12° Congreso Internacional de Actualización Apícola. 2005 SAGARPA.
8. F.L. Hu, K. Bilikova, H. Casablanca, G. Daniele, F.S. Espindola, M. Feng, C. Guan, B. Han, K.T. Kristof, J.K. Li, X.A. Li, J. Simuth, L.M. Wu, Y.Q. Wu, X.F. Xue, Y.B. Xue, K. Yamaguchi, Z.J. Zeng, H.Q. Zheng, J.H. Zhou. "Standard methods for *Apis mellifera* royal jelly research" *J. Apic. Res.* Vol 58, 2, 2019, pp. 1–68.
9. M. Hayakari, Y. Kondo, H. Izumi, Rapad and Simple Spectrophotometric Assay of Angiotensin-Converting Enzyme. *Anal. Biochem*, Vol. 84, 1978, pp. 361-369.

10. C.I. Pavel, L.A. Marghitas, D.S. Dezmirean, L.I. Tomos, V. Bonta, A. Sapcaliu, A. Buttstedt, (2014). "Comparison between local and commercial royal jelly—use of antioxidant activity and 10-hydroxy-2-decenoic acid as quality parameter" *J. Apic. Res.* Vol. 53, 1, 2014, pp. 116–123.
11. J.R. Liu, Y.C. Yang, L.S. Shi, C.C. Peng. "Antioxidante properties of royal jelly associated with larval age and time of harvest" *J. Agric Food Chem.* Vol. 56, 2008, pp. 11447-11452.
12. T. Pukalskas, R. Van Beek, J. Venskutonis, A. Linssen, A. Van Veldhuizen, A. Groot. "Identification of radical Scavengers in Sweet Grass (*Hierochloe odorata*)" *J. Agric. Food Chem.* Vol 50, 2002, pp. 2914-2919.
13. J. Pedroche, M. Yust, C. Megías, H. Lqari, J. Girón-Calle, M. Alaiz, F. Millán, C. Pineda. 2006. Binding to chickpea (*Cicer arietinum* L.) PA2 albumin enhances hemin-dependent oxidative reactions. *J. Food Biochem.* Vol 30, 2006. pp. 444-452.
14. S. Takaki-Doi, K. Hashimoto, M. Yamamura, C. Kamei. "Antihypertensive activities of royal jelly protein hydrolysate and its fractions in spontaneously hypertensive rats". *Acta Med.* Vol 3, 1, 2009, pp. 57-64
15. Floegel, D. Kim, S. Chung, S. Koo, O.K. Chun. "Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods" *J. Food. Compos. Anal.* Vol 24, 2011, pp.1043-1048.
16. B.H. Sarmadi, A. Ismail, A. "Antioxidative peptides from food proteins: A review" *Peptides.* Vol 31, 2010, pp. 1949-1956.

## CÍTRICOS CON ACTIVIDAD FOTOPROTECTORA PARA EL DESARROLLO DE PROTECTORES SOLARES

Juan Carlos Ramírez Granados, César Díaz Pérez y Lucero Alejandra Gonzalez Tejeda

Departamento de Ingeniería Agroindustrial, División de Ciencias de la Salud e Ingenierías,  
Universidad de Guanajuato, Campus Celaya-Salvatierra  
jcramirez@ugto.mx

### RESUMEN

La protección solar es de gran importancia para el cuidado de la salud. Actualmente hay una amplia gama de productos para fotoprotección que son capaces de reflejar, dispersar o absorber la radiación ultravioleta dañina para la piel. Sin embargo, casi todos los protectores solares comerciales contienen compuestos activos que se consideran inocuos, pero que en realidad tienen bajos niveles de toxicidad que con el uso frecuente pueden producir alteraciones en el organismo y en los ecosistemas, en especial los acuáticos. Por esta razón, en tiempos recientes se han investigado compuestos naturales más seguros y con actividad fotoprotectora, tales como los polifenoles. Estos compuestos poseen varias respuestas benéficas mediante su aplicación tópica o ingesta oral. Los polifenoles de los cítricos se encuentran dentro de este grupo y han demostrado tener propiedades biológicas como efectos antiinflamatorios, anticancerígenos e inmunomoduladores; además de actuar como potentes antioxidantes. Más aun, los polifenoles absorben la radiación ultravioleta, por lo que son relevantes en términos de fotoprotección. Los resultados indican que la adición de polifenoles cítricos a formulaciones fotoprotectoras puede incrementar la fotoprotección y la fotoestabilidad; además de disminuir la fototoxicidad. Esto confirma que los extractos cítricos tienen actividad fotoprotectora y pueden ser empleados como ingredientes activos para la elaboración de protectores solares tópicos o como suplementos alimenticios para prevenir los daños causados por la exposición de la piel a la radiación solar.

### INTRODUCCIÓN

Día con día, estamos expuestos a factores ambientales que son capaces de alterar las condiciones homeostáticas de nuestra piel que mantienen a nuestro organismo en equilibrio. Si bien es cierto que la radiación ultravioleta B (UVB) penetra sólo las capas más superficiales de la piel, se sabe que es la principal responsable de los eritemas cutáneos, y que la radiación UVA puede alterar la fisiología de la piel provocando daños como la degradación del ADN o el fotoenvejecimiento, principalmente a causa del estrés oxidativo producto de la creación de especies reactivas de oxígeno (ROS), las cuales estimulan la creación de metaloproteinasas matriciales que descomponen lípidos y proteínas como el colágeno y elevan los índices de apoptosis celular prematura.

Debido a esto, la protección frente a la radiación solar recae en fórmulas fotoprotectoras, por lo que se han puesto múltiples esfuerzos en el desarrollo de fotoprotectores solares que sean capaces de absorber tanto la radiación UVA, como UVB; así como otorgar características fotoprotectoras sin la necesidad de altas cantidades de compuestos químicos sintéticos, ya que algunos de ellos están asociados a reacciones alérgicas (1-3). Adicionalmente, la combinación de diferentes filtros químicos puede ser contraproducente, ya que, aunque actúan en sinergia para lograr una mayor efectividad del producto, en algunos casos pueden reaccionar entre ellos generando descomposición, disminución del factor de protección solar (FPS), o la formación de moléculas con propiedades tóxicas cuando entran en contacto con sustancias secretadas por la piel (4, 5), lo que ha aumentado la preocupación por compuestos que presentan fototoxicidad y por las propiedades fotoalérgicas de los filtros UV.

Con esta limitación, las fórmulas convencionales actuales aún no pueden cumplir con algunos criterios necesarios para la aplicación y utilización óptima, como una protección eficaz contra los daños cutáneos agudos y a largo plazo inducidos por los rayos UV, una elevada acumulación de absorbentes UV con absorción cutánea nula o mínima, la fotoestabilidad de los activos de protección solar, un bajo potencial de irritación cutánea, fácil aplicación, atributos estéticos deseables y una frecuencia de reaplicación reducida (6, 7).

En años recientes ha habido un interés creciente por el uso de compuestos naturales en formulaciones para protección solar, pues presentan beneficios cutáneos como propiedades antiinflamatorias, antioxidantes y absorbentes, lo que los ha vuelto más atractivos para su implementación en fórmulas fotoprotectoras. Los compuestos vegetales que han resultado más eficaces para la prevención de las alteraciones ocasionadas por la radiación UV incluyen los ácidos fenólicos, flavonoides y polifenoles de alto peso molecular (8); por lo que el objetivo del presente trabajo es la identificación de los compuestos cítricos con mayor capacidad fotoprotectora para mejorar las fórmulas fotoprotectoras convencionales mediante la adición de extractos naturales con una alta presencia de polifenoles.

## TEORÍA

La implementación de compuestos vegetales en productos fotoprotectores ha sido reportada en múltiples ocasiones, ya sea para uso tópico u oral. Por ejemplo, D. B. Kim *et al.* (2016) reportaron que la ingesta del jugo de diferentes cítricos como mandarina, naranja y uva morada provee beneficios fotoprotectores diversos, tales como la disminución de especies reactivas de oxígeno y senescencia celular, mejoramiento de viabilidad celular, inhibición de las vías de señalización de metaloproteinasas de matriz, incremento de proteínas que inducen el crecimiento y proliferación celular, inhibición del engrosamiento dérmico y fibras de colágeno pobremente dañadas después de la exposición a UV. Resultados similares fueron reportados también por V. Nobile *et al.* (2016) y C. Puglia *et al.* (2014).

Por otro lado, la adición de polifenoles a protectores solares químicos y físicos demostró una mejora en sus características fotoprotectoras. C. M. Kawakami y L. R. Gaspar (2015) encontraron que la adición de mangiferina y naringenina (metabolitos secundarios presentes en frutos como el mango y naranja, respectivamente), fotoestabiliza compuestos químicos fotoactivos como la avobenzona, el cual es uno de los filtros UV más distribuidos comercialmente y que bajo condiciones de exposición prolongada de la radiación UV se degrada y genera productos de naturaleza fototóxica. H. Gollavilli *et al.* (2020) indicaron que añadir flavonoides con alto potencial de antioxidantes a filtros solares físicos como el óxido de zinc o dióxido de titanio aumenta la estabilización de dichos compuestos; además de aumentar la neutralización de especies reactivas de oxígeno luego de la exposición a la radiación a UV; así como mayor retención del producto en la piel sin presentar absorción sistémica.

El FPS también se incrementa tras el uso de compuestos vegetales en fotoprotectores vegetales. R. Ruiz y K. Sifuentes (2018) probaron que el uso de un extracto de hojas de maracuyá con una concentración del 1.5% eleva el FPS de un fotoprotector comercial hasta 37, lo cual es explicado por la alta concentración de flavonoides como quercetina, orientina y vitexina, los cuales aumentan su actividad antioxidante ante la exposición a la radiación UVB. T. Moya y R. Osorio (2017) encontraron resultados similares usando un extracto de fresas, el cual actuó en conjunto con los filtros solares químicos elevando el FPS de 10 a 12 gracias al alto contenido de flavonoides como kaempferol, quercetina y miricetina. Además, M. Matias y N. R. Contreras (2020) demostraron que el jugo de arándanos, el cual es rico en antocianinas, presenta un FPS de 9.5 a 9.7; ofreciendo así un producto cosmético con una buena actividad antioxidante y protección similar a la de los fotoprotectores convencionales.

En general, los polifenoles absorben radiación UV en longitudes de onda entre 300-350 nm, lo que los vuelve un potencial candidato como ingrediente activo en fórmulas fotoprotectoras, además de poseer otras propiedades fotoprotectoras por sus efectos antiinflamatorios, anticancerígenos, inmunomoduladores y un elevado potencial antioxidante (3, 9, 10), evitando la formación de radicales libres por medio de la inhibición de enzimas activadoras. Por otro lado, los flavonoides actúan como neutralizadores de aniones superóxidos, oxígeno, radicales hidroxilos y radicales peroxilos lipídicos (11, 12, 13), los cuales fomentan el envejecimiento prematuro de la piel y el adelgazamiento cutáneo. También hay reportes de flavonoides que inhiben las actividades de muchas enzimas, incluyendo lipoxigenasa, ciclooxigenasa, monooxigenasa, xantina oxidasa, succinato deshidrogenasa mitocondrial, NADH oxidasa, fosfolipasa A2, proteínas quinasas y factores de transcripción (14, 15).



## RESULTADOS

Los polifenoles provenientes de los cítricos y otras frutas han desencadenado un alto interés por su uso como ingredientes activos debido a su absorción de radiación ultravioleta y otros beneficios asociados a la fotoprotección de la piel. Además, su estructura química les otorga una capacidad fotoestabilizadora que promueve su uso en fórmulas fotoprotectoras con filtros químicos y físicos para su mejoramiento y el incremento del tiempo de protección. En la Tabla 1 presentamos los compuestos biológicos con mayor actividad fotoprotectora que están presentes en extractos de cítricos y otras frutas; así como los principales beneficios asociados a la protección solar de la piel.

Tabla1. Compuestos biológicos con actividad fotoprotectora presentes en cítricos y otras frutas.

Compuesto	Fuente	Acción
<b>Mangiferina</b>	Mango	Reducción de especies reactivas de oxígeno. Alta capacidad antioxidante que promueve la fotoestabilización. (18)
<b>Naringenina</b>	Toronja y naranja	Fotoestabilización, mayor capacidad antioxidante y elevada liberación del flavonoide en el colágeno que permite una mayor retención en la fórmula. (18, 24)
<b>Hesperetina</b>	Naranja	Disminución de la expresión de las metaloproteinasas de matriz, aumento de la biosíntesis del colágeno, disminución de la senescencia celular después de su irradiación con UV. (23)
<b>Pelargonidina</b>	Frambuesa, fresa, arándano	Disminución del daño al ADN y senescencia celular después de la exposición a UV. (25)
<b>Tangeretina</b>	Mandarina	Disminución del fotoenvejecimiento y supresión de la respuesta inflamatoria por ciclooxigenasas y prostaglandinas luego de la exposición a UV. (26)
<b>Apigenina</b>	Cereza, uva	Propiedades antiinflamatorias y anticancerígenas. Retiene radicales libres e inhibe la expresión de COX-2 causada por UVB. (27)
<b>Quercetina</b>	Uva, arándano	Retención de radicales libres. Fotoestabilización de filtros UV y aumento del FPS de una formulación. (27)
<b>Revestrol</b>	Uva	Posee efectos antioxidantes, propiedades antimutagénicas, antiinflamatorias y antiproliferativos; además de inhibir la expresión de COX-2. (27)

## CONCLUSIONES

Aunque hace falta más investigación para encontrar una formulación que pueda cubrir ampliamente las necesidades actuales de protección solar de la piel, los fotoprotectores biológicos con extractos cítricos han demostrado múltiples beneficios a la salud humana que superan a los fotoprotectores físicos y químicos convencionales, ya que son menos agresivos con la piel y sus ensayos citotóxicos no superan los valores de importancia médica. Además, estos generan un menor impacto ambiental debido a que sus activos son menos dañinos para el entorno y pueden ser extraídos de partes de frutas y plantas considerados como desechos, tales como las hojas o cáscaras, lo que genera un menor volumen de desechos orgánicos y una producción más sustentable.

**BIBLIOGRAFÍA**

1. J. Kockler, M. Oelgemoller, S. Robertson, B.D. Glass, "Photostability of sunscreens", *J. Photochem. Photobiol. C.*, Vol. 13, 1, 2012, pp. 91–110.
2. L. R. Gaspar, P. M. Maia Campos, "Evaluation of the photostability of different UV filter combinations in a sunscreen", *Int. J. Pharm.*, Vol. 307, 2, 2006, pp. 123–128.
3. L. R. Gaspar, F. B. Camargo, M. D. Gianeti, P. M. Maia Campos, "Evaluation of dermatological effects of cosmetic formulations containing *Saccharomyces cerevisiae* extract and vitamins", *Food Chem. Toxicol.*, Vol. 46, 2008, pp. 3493–3500.
4. E. Damiani, L. Rosati, R. Castagna, P. Carloni, L. Greci, "Changes in ultraviolet absorbance and hence in protective efficacy against lipid peroxidation of organic sunscreens after UVA irradiation", *J. Photochem. Photobiol. B*, Vol. 82, 3, 2006, pp. 204–213.
5. E. Chatelain, B. Gabard, "Photostabilization of butyl methoxydibenzoylmethane (Avobenzone) and ethylhexyl methoxycinnamate by bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine (Tinosorb S), a new UV broadband filter", *Photochem. Photobiol.* Vol. 74, 3, 2001, pp. 401–404.
6. S. Forestier, "Rationale for sunscreen development", *Journal of the American Academy of Dermatology*, Vol. 58, 2008, pp. 134–138.
7. P. Tanner, "Sunscreen product formulation", *Dermatologic Clinics*, Vol. 24, 2006, pp. 53–62.
8. V. Nobile, A. Michelotti, E. Cestone, N. Caturla, J. Castillo, O. Benavente-García, A. Pérez-Sánchez, V. Micol, "Skin photoprotective and antiageing effects of a combination of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and grapefruit (*Citrus paradisi*) polyphenols", *Food & Nutrition Research*, Vol. 60, 1, 2016, pp. 235–241.
9. J. A. Nichols, S. K. Katiyar, "Skin photoprotection by natural polyphenols: anti-inflammatory, antioxidant and DNA repair mechanisms", *Arch. Dermatol. Res.*, Vol. 302, 2, 2010, pp. 1–19.
10. M. H. Aziz, F. Afaq, N. Ahmad, "Prevention of ultraviolet-B radiation damage by resveratrol in mouse skin is mediated via modulation in surviving", *Photochem. Photobiol.*, Vol. 81, 2005, pp. 25–31.
11. M. Sánchez-Campillo *et al.*, "Rosmarinic acid, a photoprotective agent against UV and other ionizing radiations", *Food Chem Toxicol.*, Vol. 47, 2009, pp. 386–92.
12. J. Torel, J. Cillar, "Antioxidant activity of flavonoids and reactivity with peroxy radical", *Phytochemistry*, Vol. 25, 1988, pp. 383–385.
13. M. Alcaraz *et al.*, "Liposoluble antioxidants provide an effective radioprotective barrier", *Br J Radiol.*, Vol. 82, 979, 2009, pp. 605–609.
14. L. W. Morton, R. A. A. Caccetta, I. B. Puddey, K. D. Croft, "Chemistry and biological effect of dietary phenolic compounds: relevance to cardiovascular disease," *Clin Exp Pharmacol Physiol.*, Vol 27, 2000, pp. 152–159.
15. G. Cao, E. Sofic, R. L. Prior, "Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships", *Free Radic Biol Med.* Vol. 5, 1996, pp. 749–760.
16. D. B. Kim, G. H. Shin, J. M. Kim, Y. H. Kim, J. H. Lee, J. S. Lee, H. J. Song, S. Y. Choe, I. J. Park, J. H. Cho, & O. H. Lee, "Antioxidant and anti-ageing activities of citrus-based juice mixture," *Food Chemistry*, Vol. 194, 2016, pp. 920–927.
17. C. Puglia, A. Offerta, A. Saija, D. Trombetta, C. Venera, "Protective effect of red orange extract supplementation against UV-induced skin damages: photoaging and solar lentigines. *Journal of Cosmetic Dermatology*", Vol. 13, 2, 2014, pp. 151–157.
18. C. M. Kawakami, L. R. Gaspar, "Mangiferin and naringenin affect the photostability and phototoxicity of sunscreens containing avobenzone", *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, Vol. 151, 2015, pp. 239–247.
19. H. Gollavilli, A. R. Hegde, R. S. Managuli, K. V. Bhaskar, S. J. Dengale, M. S. Reddy, G. Kalthur, S. Mutalik, "Naringin nano-ethosomal novel sunscreen creams: Development and performance evaluation", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, Vol. 193, 2020, pp. 111–122.
20. R. Ruiz, K. Sifuentes, "Evaluación in vitro de la fotoprotección del extracto de las hojas de *Passiflora edulis maracuyá*", *Tesis*, Universidad Nacional de Trujillo, (Trujillo, Perú, 2018).

21. T. Moya, R. Osorio, “Actividad fotoprotectora de formulación tópica a base del extracto hidroalcohólico de *Fragaria vesca* L. (fresa)”, *Tesis*, Universidad Nacional de San Marcos (2017).
22. M. Matias, N. R. Contreras, “Evaluación de la actividad antioxidante y fotoprotectora in vitro de la crema gel elaborada con extracto etanólico de los frutos de *Vaccinium corymbosum* L. (Arándano)”, *Tesis*, Universidad María Auxiliadora, (2020).
23. B. Choquenot, C. Couteau, E. Paparis, L. J. Coiffard, “Flavonoids and Polyphenols, Molecular Families with Sunscreen Potential: Determining Effectiveness with an in Vitro Method,” *Natural Product Communications*, Vol. 4, 2, 2009.
24. G. Badea, N. Badea, L. I. Brasoveanu, M. Mihaila, R. Stan, D. Istrati, T. Balaci, I. Lacatusu, “Naringenin improves the sunscreen performance of vegetable nanocarriers”, *New Journal of Chemistry*, Vol. 41, 2, 2007, pp. 480–492
25. F. Giampieri, J. M. Alvarez-Suarez, S. Tulipani, A. M. Gonzàles-Paramàs, C. Santos-Buelga, S. Bompadre, J. L. Quiles, B. Mezzetti, M. Battino, “Photoprotective Potential of Strawberry (*Fragaria×ananassa*) Extract against UV-A Irradiation Damage on Human Fibroblasts”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 60, 9, 2012, 2322–2327
26. N. Yoshizaki, T. Fujii, H. Masaki, T. Okubo, K. Shimada, R. Hashizume, “Orange peel extract, containing high levels of polymethoxyflavonoid, suppressed UVB-induced COX-2 expression and PGE2production in HaCaT cells through PPAR- $\gamma$ activation”, *Experimental Dermatology*, Vol. 23, 2014, pp. 18–22.
27. J. C. Mejía, L. Atehortúa, M. A. Puertas, “Fotoprotección: mecanismos bioquímicos, punto de partida hacia mejores filtros solares”, *Dermatología Cosmética, Médica y Quirúrgica*, Vol. 12, 4, 2014, pp. 272–281.

## LA FORMULACIÓN DE MERMELEDA DE MANGO AFECTA LOS PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS Y SENSORIALES

Cesar San Martín-Hernández<sup>1</sup>, Eber Addí Quintana-Obregón<sup>2</sup>, Flor María Montero-Solis<sup>3</sup>, María Guadalupe Peralta-Sánchez<sup>1</sup>, Ramiro Maldonado-Peralta<sup>4</sup>, Marco Polo Carballo-Sánchez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco km. 36.5. 56230, Texcoco, Edo. Méx., México. <sup>2</sup>Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C., (CONACYT-CIAD), Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal. Carretera Gustavo Enrique Astiazarán Rosas 46, 83304, Hermosillo, Son., México. <sup>3</sup>Universidad Veracruzana, Facultad de Ciencias Biológicas. Carretera Tuxpan Tampico km. 7.5, Universitaria 92870, Tuxpan de Rodríguez Cano, Ver. <sup>4</sup>Instituto Tecnológico Superior de Guasave, Carretera Internacional Entronque a La Brecha, Ejido El Burrioncito, 81149, Guasave, Sin. México. E-mails: sancesar79@gmail.com; eber.quintana@ciad.mx; monterosolisf@gmail.com; mgperalta@colpos.mx; ramy\_20009@hotmail.com; polocarballo@gmail.com.

### RESUMEN

Mermelada se denomina al producto formulado a base de fruta, más la adición de azúcar, un acidificante y pectina. En estos productos se han evaluado los gelificantes carboximetil celulosa, almidón y pectina, siendo este último el preferido. La pectina se encuentra en el mango, pero su contenido cambia al madurar el fruto. Durante la maduración del fruto los sólidos solubles totales aumentan; el color (hue) y contenido de pectinas disminuye. El comportamiento físicoquímico y sensorial de una mermelada puede afectarse cuando en su formulación se emplea mango con diferente madurez y gelificante. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la formulación de mermelada elaborada con mango en dos estados de madurez y diferente gelificante, en los parámetros físicoquímicos y sensoriales. El diseño experimental fue completamente al azar. Los tratamientos se obtuvieron por la combinación de dos estados de madurez de mango 'Kent' (80% maduro y >100% o sobremaduro) con cuatro gelificantes (pectina, goma xantana, goma guar y fécula de maíz), más una mermelada comercial como testigo. La unidad experimental fue un frasco (250 g) de mermelada con tres repeticiones. La formulación de mermelada afectó significativamente ( $p \leq 0.05$ ) la acidez titulable (AT), pH y color (luminosidad, croma y hue); mientras que la calidad sensorial cambió discretamente. En luminosidad, croma y hue, la mermelada testigo fue estadísticamente inferior a la formulación con mango 80% maduro y fécula de maíz. La mermelada con mango 80% maduro y fécula de maíz tuvo el máximo hue, el cual se redujo cuando se usó mango sobremaduro. Cuando en las mermeladas se usó fruto de mayor madurez, la luminosidad declinó. Las mermeladas con fécula de maíz, mango 80% maduro y mango sobremaduro, tuvieron el mayor croma pero sin tendencias por el gelificante y madurez del fruto. Las formulaciones con mango 80% maduro más goma guar y con mango sobremaduro más fécula de maíz que sobresalieron en AT y pH, fueron estadísticamente superiores al testigo. Opuesto a la menor acidez de la mermelada con pectina y fécula de maíz, estos tratamientos mostraron diferencias estadísticas y el mayor pH cuando en la formulación se usó mango sobremaduro. La mermelada de fécula de maíz, más mango 80% maduro, registró el mayor color sensorial como el testigo. El olor sensorial más alto fue en las formulaciones mediante mango sobremaduro más fécula de maíz y el tratamiento con goma guar, siendo superiores al testigo. El mayor sabor sensorial se obtuvo en mermelada de mango sobremaduro más fécula de maíz, siendo equiparable al testigo. La mayor aceptabilidad sensorial se registró en la mermelada de mango 80% maduro con goma Guar, pero fue equiparable al testigo. En este estudio se comprobó que el color, pH y acidez titulable de la mermelada son afectados según su formulación, mientras que los atributos sensoriales (color, olor, sabor y aceptabilidad) cambian discretamente.

### INTRODUCCIÓN

La mermelada se define como aquel producto formulado a base de fruta y azúcar, más la adición de un acidificante y un agente gelificante. La gelificación se alcanza cuando la mezcla obtiene 65 °Brix y se adiciona una sustancia acidificante, más pectina al 1% (Paltrinieri y Figuerola, 1997). La acidez puede lograrse al usar ácido cítrico, presente en el jugo de limón (Penniston *et al.*, 2008). Como

gelificante puede emplearse pectina, almidón, agar, carragenina, gomas, alginato, metil e hidroximetil celulosa (Saha y Bhattacharya, 2010). Concentraciones de 0.8 a 1.2% de pectina, más sacarosa de 50 a 70% en mermelada de mango, incrementan la dureza, trabajo de corte, espesura y trabajo de adhesión, en tanto que la aceptabilidad mejora cuando la sacarosa aumenta en el producto procesado (Basu y Shivhare, 2010).

En la industria, es importante considerar las características de la materia prima puesto que conforme el fruto madura, se observan cambios fisicoquímicos importantes que impactan los procesos industriales. Al avanzar la madurez del fruto, aumentan las concentraciones de los sólidos solubles totales (Nolasco-González y Osuna-García, 2017), reduciendo el requerimiento de azúcar en mermeladas; por otra parte, el fruto se ablanda consecuencia de la degradación los pectatos (Martínez-González *et al.*, 2017) y se sintetizan los carotenoides responsables del color (Pott *et al.*, 2003); la acidez se reduce y el pH aumenta (Quintero *et al.*, 2013).

Entonces al cambiar la madurez del fruto de mango junto con el empleo de distintos agentes gelificantes, se puede afectar las propiedades físicas, químicas y sensoriales de los distintos productos procesados. Por tanto, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la formulación de mermelada elaborada con pulpa de mango en dos estados de madurez (80 y >100 %) y los gelificantes pectina de alto metoxilo, fécula de maíz, goma guar y goma xantana, más una mermelada comercial como testigo, en los parámetros fisicoquímicos y sensoriales.

## PARTE EXPERIMENTAL

La presente investigación se realizó en el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Culiacán, Sinaloa.

Mangos semimaduros y sobremaduros se adquirieron en una tienda comercial. La madurez se confirmó por análisis fisicoquímicos mediante firmeza, color (hue) y concentración de sólidos solubles totales (°Brix). El mango semimaduro tuvo una firmeza de 73.8 Newtons (N), hue 94° y 13.7 °Brix; mientras que los frutos sobremaduros tuvieron firmeza promedio de 8.3 N, hue 69° y una concentración de sólidos solubles totales 17.8 °Brix, los cuales coinciden para valores reportados de un mango con más del 100% de madurez en mangos sobremaduros y en el caso de mango semimaduro corresponde a una madurez de 80% según la literatura (NMB, 2010). La mermelada se elaboró de acuerdo a procedimientos estandarizados con algunas adecuaciones (Codex Alimentarius, 2009). Trecientos gramos de pulpa de mango se mezclaron con azúcar (40%), jugo de limón (0.2%), agua (70 mL) y el gelificante (1.2%). La mezcla fue evaporizada en 90 °C hasta alcanzar 65°Brix. La mermelada se almacenó en frascos de vidrio esterilizados y se pasteurizó a 85 °C por 20 min, después se enfriaron y se mantuvieron 20 d hasta determinación fisicoquímica y sensorial.

### *Variables determinadas*

El color se obtuvo con un colorímetro Minolta CR-3000 que registró los valores en términos de hue (°), croma y la luminosidad. La mermelada se colocó en una placa de Petri y las lecturas se obtuvieron sobre la superficie plana. La determinación de acidez titulable (% de ácido cítrico) y pH se hizo (AOAC, 1998) empleando 10 g de muestra, mediante un titulador automático Mettler Toledo (DL-21) y empleando NaOH (0.1 N). La evaluación sensorial se hizo con un panel no entrenado en CIAD, Culiacán, Sinaloa. Para la degustación, 5 g de cada formulación se sirvieron en vasos de 15 mL etiquetados con tres dígitos aleatorios. A los panelistas se les proporcionó pan blanco y agua para neutralizar el paladar por cada muestra. El color, olor, sabor y aceptabilidad, se evaluaron en una escala hedónica de 9 puntos (9= gusta extremadamente, 8= gusta mucho, 7= gusta moderadamente, 6= gusta ligeramente, 5= ni gusta ni disgusta, 4= disgusta ligeramente, 3= disgusta moderadamente, 2= disgusta mucho y 1= disgusta extremadamente) (Lim, 2011).

El diseño experimental fue completamente al azar. Los tratamientos se obtuvieron por la combinación de dos estados de madurez de mango 'Kent' (80% maduro y >100% o sobremaduro) con cuatro gelificantes (pectina, goma Xantana, goma Guar y fécula de maíz), más una mermelada comercial como testigo. La unidad experimental fue un frasco (250 g) de mermelada con tres repeticiones.

Con los datos se hizo análisis de varianza y prueba de comparación de promedios de Tukey en ( $p \leq 0.05$ ) SAS 9.0; y análisis de media ponderada en variables sensoriales.

## RESULTADOS

La formulación de mermelada afectó los parámetros del color. El cambio de mango semimaduro a mango sobremaduro, redujo la luminosidad en las mermeladas. La mayor luminosidad 39.2 de la formulación a base de mango 80% maduro y fécula de maíz disminuyó al utilizar mango sobremaduro, acentuándose una reducción del 18 y 17% en mermeladas con gomas xantana y guar, respectivamente, mientras que el testigo fue estadísticamente inferior a las formulaciones con mango 80% maduro. En croma, las mermeladas a base de mango 80% maduro y mango sobremaduro más fécula de maíz, significativamente tuvieron la más alta saturación del color con 22 y 21 respectivamente, pero no se observaron tendencias definidas por el gelificante y la madurez del fruto. La formulación con mango 80% maduro y fécula de maíz tuvieron el máximo hue (74°) y se redujo 13% cuando en la mermelada se utilizó mango sobremaduro (Figura 1). En el mesocarpio del mango, los carotenoides más abundantes son el  $\beta$ -caroteno, responsable del color anaranjado y la violaxantina que genera el color amarillo (Pott *et al.*, 2003). A medida que el fruto madura, el tono cambia de amarillo pálido a amarillo-anaranjado (Venkateswarlu y Reddy, 2014) reduciéndose tanto hue de 90° a 69°, como la luminosidad en madurez de consumo (Nolasco-González y Osuna-García, 2017), como se observó en esta investigación.

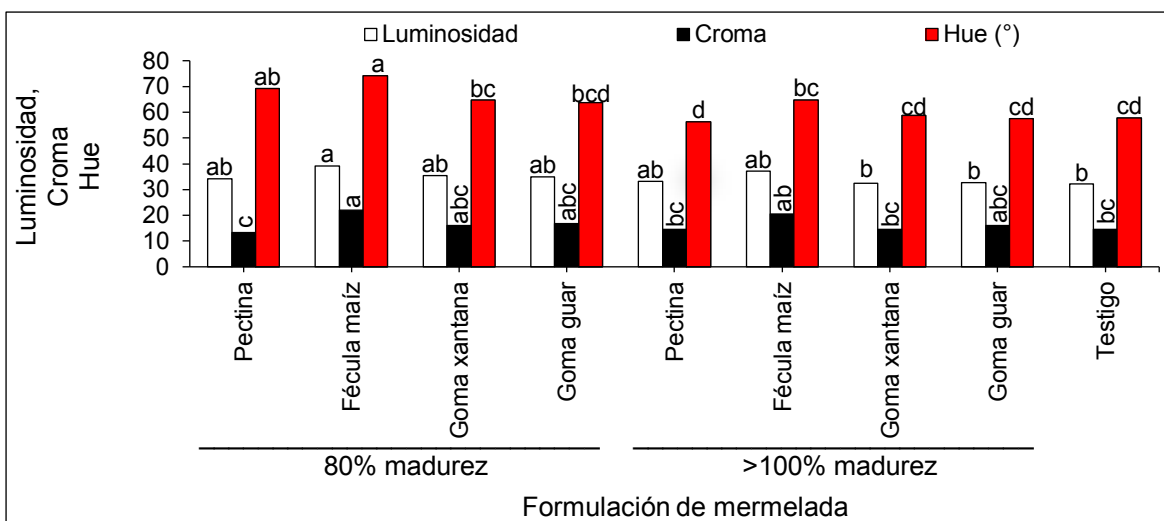


Figura 1. Color (luminosidad, croma y hue) en formulaciones de mermelada con mango en dos estados de madurez y cuatro gelificantes, más una mermelada testigo. Letras en barras con letra distinta, indican diferencias estadísticas (Tukey,  $p \leq 0.05$ ).

El pH y acidez de las mermeladas fueron afectadas por la formulación. En las mermeladas, la acidez disminuyó como consecuencia del cambio de la madurez de mango semimaduro a mango sobremaduro, mientras que el pH aumentó. Contrario a la menor acidez de la mermelada con pectina y fécula de maíz, estos tratamientos mostraron diferencias estadísticas y los mayores valores de pH cuando en la formulación se usó mango sobremaduro. Conforme avanza el climaterio del fruto, los ácidos orgánicos se degradan (Dick *et al.*, 2009) y el pH aumenta, como se reporta en la literatura (Quintero *et al.*, 2013).

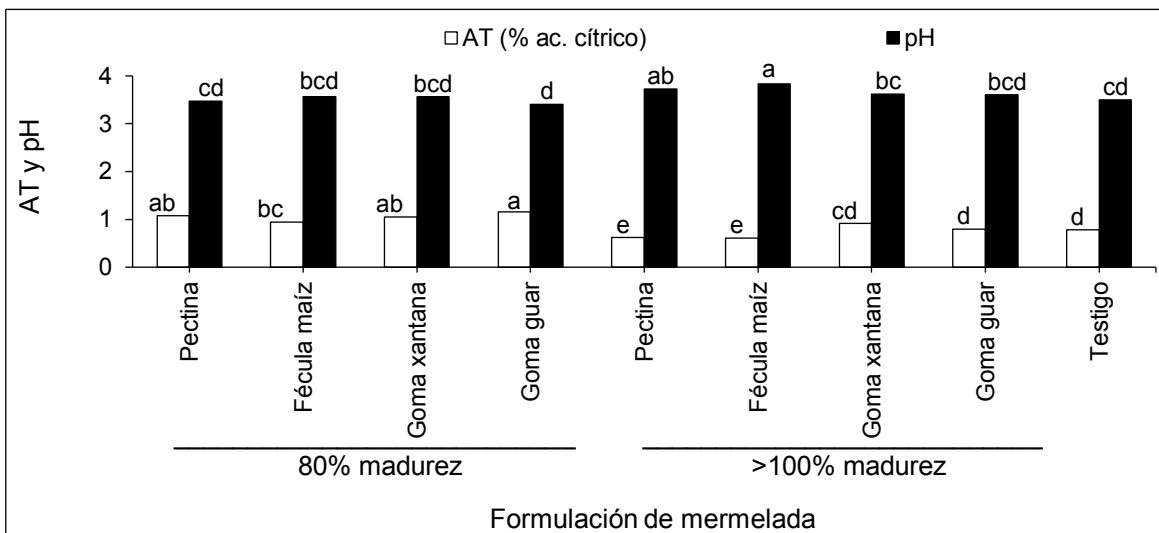


Figura 2. Acidez titulable (AT) y pH en formulaciones de mermelada con mango en dos estados de madurez y cuatro gelificantes, más una mermelada testigo. Letras en barras con letra distinta, indican diferencias estadísticas (Tukey,  $p \leq 0.05$ ).

El registro sensorial del olor y sabor las mermeladas se mantuvieron entre 6 a 7. El olor más alto (gusta moderadamente) se registró en las formulaciones de mango sobremaduro con fécula de maíz y goma Guar, siendo 9% superior al testigo 6.5. El sabor más alto 6.8 (gusta moderadamente) se registró en la mermelada a base de mango sobremaduro con fécula de maíz, siendo comparable al testigo (6.7) (Figura 3A). El color aumentó al cambiar de mango sobremaduro a mango semimaduro. La formulación elaborada con e fécula de maíz y mango 80% maduro registró el mayor color con 7.5 (gusta moderadamente), valor equiparable al testigo (7.4). El valor más alto de aceptabilidad (6.7) gusta moderadamente) se tuvo en la mermelada testigo, siendo similar a la formulación con goma guar y mango 80% maduro, pero fue superior (8%) al formulado de goma xantana y mango >100% maduro (Figura 3B).

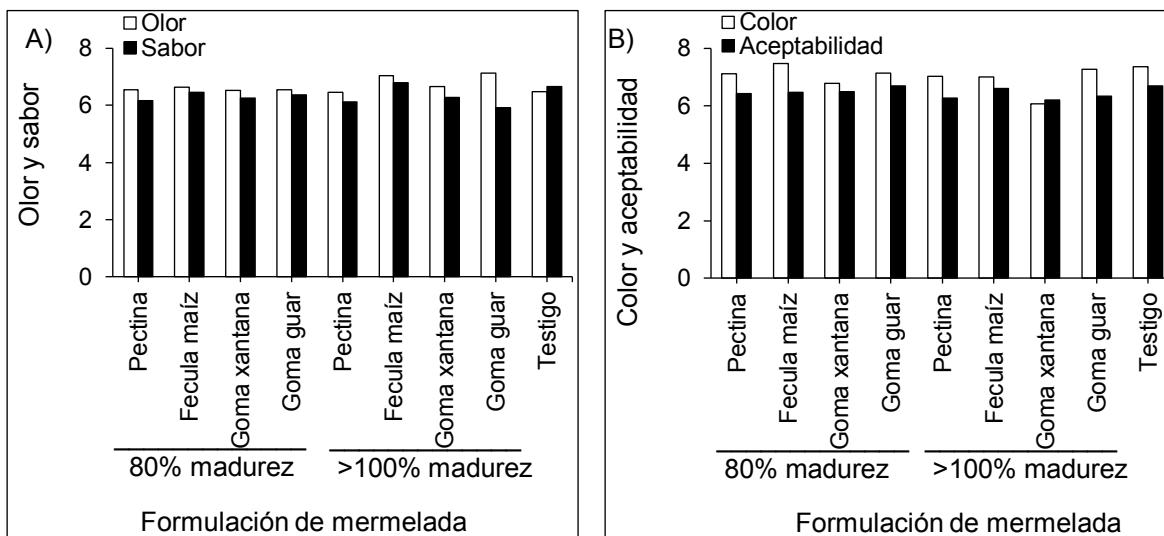


Figura 3. Olor, sabor (A) y color y aceptabilidad (B) en formulaciones de mermelada con mango en dos estados de madurez y cuatro gelificantes, más una mermelada testigo. Media ponderada.

En madurez de consumo, se han detectado hasta 127 compuestos aromáticos en el fruto de mango (Li *et al.*, 2017). Conforme el mango madura, el color (hue) disminuye (Nolasco-González y Osuna-García, 2017). Resultados similares en aceptabilidad se ha reportado cuando en la mermelada se usa pectina o almidón de sago (Javanmard *et al.*, 2012)

## CONCLUSIONES

En este estudio se comprobó que el color en sus parámetros luminosidad, croma o saturación y ángulo de tono o hue, además del pH y acidez titulable de la mermelada, son afectados según su formulación con mango 80% maduro o mango con más del 100% de madurez, más los gelificantes empleados; mientras que los atributos sensoriales olor, sabor, color y aceptabilidad cambian discretamente en función de la mermelada formulada.

## BIBLIOGRAFÍA

1. AOAC. Official methods of analysis. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists (AOAC), Washington, D.C., USA., 1998.
2. Codex Alimentarius. Standard for jams, jellies and marmalades. Rome, Italy: Codex stan 296, 2009.
3. D. Saha and S. Bhattacharya. "Hidrocolloids as thickening and gelling agents in food: a critical review", J. Food Sci. Technol., Vol. 47, 6, 2010, pp. 587-597.
4. E. Dick, A. N'DaAdopo, B. Camara, and E. Moudioh. "Influence of maturity stage of mango at harvest on its ripening quality". Fruits, Vol. 64, 1, 2009, pp. 13-18.
5. G. Paltrinieri y F. Figuerola, "Procesamiento a pequeña escala de frutas y hortalizas amazónicas nativas e introducidas: Manual técnico". TCA FAO DGIS PNUD, Roma Italia, 1997.
6. I. Pott, D. E. Breithaupt, and R. Carle. "Detection of unusual carotenoid esters in fresh mango (*Mangifera indica* L. cv. 'Kent')". Phytochemistry, Vol. 64, 4, 2003, pp. 825-829.
7. J. Lim, "Hedonic scaling: A review of methods and theory". Food Qual Prefer, 2011, vol. 22, no 8, pp. 733-747.
8. K. L. Penniston, S. Y. Nakada, R. P. Holmes, and D. G. Assimos. "Quantitative assessment of citric acid in lemon juice, lime juice, and commercially-available fruit juice products. J. Endourol, Vol. 22, 3, 2008, pp. 567-570.
9. K. Venkateswarlu, P. S. K. Reddy. "Mango: carotenoids". Int. J. Pharmamedix India, 2014, vol. 2, 2, 2014, pp. 741-44.
10. L. Li, X.-W. Ma, R.-L. Zhan, H.-X. Wu, Q.-S. Yao, W.-T. Xu, C. Luo, Y.-G. Zhou, Q.-Z. Liang, and S.-B. Wang. "Profiling of volatile fragrant components in a mini-core collection of mango germplasms from seven countries". PLoS ONE, Vol. 12, 12, 2017, pp. e0187487.
11. M. Javanmard, N. L. Chin, Y. A. Yusof, and J. Endan. Application of sago starch as a gelling agent in jam. CyTA-J. Food, Vol.10, 4, 2012, pp. 275-286.
12. M. E. Martínez-González, R. Balois-Morales, I. Alía-Tejacal, M. A. Cortés-Cruz, Y. A. Palomino-Hermosillo y G. G. López-Guzmán. "Poscosecha de frutos: maduración, ablandamiento y control transcripcional". Rev. Mex. Cienc. Agric. Pub. Esp., 19, 2017, pp. 4089-4101.
13. NMB. 2010. Mango handling and ripening protocol. [https://www.mango.org/wp-content/uploads/2017/10/Mango\\_Handling\\_and\\_Ripening\\_Protocol\\_Eng.pdf](https://www.mango.org/wp-content/uploads/2017/10/Mango_Handling_and_Ripening_Protocol_Eng.pdf) (Consulta: enero 2021).
14. S. Basu, U.S. Shivhare, "Rheological, textural, micro-structural and sensory properties of mango jam". J Food Eng. Vol.100, 2010, pp. 357-365.
15. V. Quintero, G. Giraldo, J. Lucas, J. Vasco, "Caracterización fisicoquímica del mango común (*Mangifera indica* L.) durante su proceso de maduración". Biotecnol. Sector Agrop. Agroind., vol. 11, 1, 2013, pp. 8-18.
16. Y. Nolasco-González y J. Osuna-García. "Calidad postcosecha en mango 'Kent' con fertilización normal y alta". Rev. Mex. Cienc. Agric. Pub. Esp., 19, 2017, pp. 4009-4022.



## EFACTORES INVOLUCRADOS EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE MUÉRDAGO *P. CALYCVLATUS*

Efraín Conejo Dávila<sup>1</sup>, Elizabeth Quintana Rodríguez<sup>2</sup>, Nancy Edith Lozoya Pérez<sup>2</sup>, Juan Vázquez Martínez<sup>3</sup>, & Domancar Orona Tamayo<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Unidad Profesional Interdisciplinaria de Ingeniería Campus Guanajuato (UPIIG)-Instituto Politécnico Nacional, <sup>2</sup>Centro de Innovación Aplicada en Tecnologías Competitivas (CIATEC A.C),

<sup>3</sup>Instituto Tecnológico Superior de Irapuato (ITESI).  
[econejod1700@alumno.ipn.mx](mailto:econejod1700@alumno.ipn.mx); [dorona@ciatec.mx](mailto:dorona@ciatec.mx) \*

### RESUMEN

*Psittacanthus calyculatus* es un muérdago hemiparásito de alta prevalencia en México, que infecta y penetra ramas jóvenes de árboles a través de una estructura especializada llamada haustorio, el cual es necesario para extraer los nutrientes del hospedero, provocándoles un estrés fisiológico y muerte a largo plazo. Se cree que el éxito infectivo de *P. calyculatus* depende de diferentes mecanismos como señales químicas de las cuales, se incluyen los factores inductores del haustorio (FIH) y la germinación, compuestos fenólicos producidos durante la degradación de la corteza y los compuestos orgánicos volátiles (VOCs) provenientes del hospedero. En este trabajo, se realizó la recolección de semillas y diferentes estadios infectivos de *P. calyculatus* para llevar a cabo un proceso de germinación *in vitro*, la determinación de los VOCs emitidos durante el proceso de germinación, la cuantificación de polifenoles totales y se realizó una separación de los extractos por TLC para visualizar las diferencias de cada estadio colectados de árboles infectados. Los resultados mostraron un alto porcentaje de germinación de semillas con substrato de corteza de mezquite y en papel filtro, se identificaron VOCs como  $\alpha$ -bisabolol, dihidroactinidiolido y 2,6-Di-tert-butilquinona involucrados en la repelencia de herbívoros, antimicrobianos y antioxidantes. Se obtuvieron cambios en las concentraciones de polifenoles totales a partir del estadio 3 del proceso de infección, posiblemente asociados a la formación del haustorio; los niveles de ROS fueron mayores en los estadios T1 y T2 previo a la penetración del haustorio. Estos resultados indican que existen compuestos químicos que son necesarios para la germinación de semillas y desarrollo del haustorio del muérdago *P. calyculatus*.

### INTRODUCCIÓN

Los muérdagos constituyen un grupo de especies de plantas parasitas aéreas, los cuales obtienen agua y nutrientes de otra planta mediante una estructura especializada llamada haustorio, que se conecta a los tejidos conectivos como el xilema y floema de ramas de árboles susceptibles ocasionando estrés, disminución de la productividad y la muerte a largo plazo del hospedero (Hegenauer et al., 2017; Smith et al., 2001). *P. calyculatus* es un muérdago hemiparásito muy abundante en el centro del país, este produce frutos grandes, flores coloridas con gran cantidad de néctar floral (Quintana-Rodríguez et al., 2018). El ciclo de germinación y proceso infectivo (Figura 1), inicia con el consumo de los frutos (estadio 0) por aves frugívoras, que posteriormente son defecadas en las ramas de otros árboles (Geils, Cibrian & Moody, 2002). Las semillas depositadas presentan un mucilago viscoso que permite el anclaje sobre el sitio de germinación e infección (estadio 1). Al inicio se produce un prehaustorio que se hincha (estadio 2), posteriormente se abren los cotiledones y comienza la formación y madurez del haustorio que es capaz de secretar enzimas lignocelulolíticas que ayudan a la degradación de la corteza (estadio 3). En el estadio 4, ocurre la penetración del haustorio y la conexión al floema. Después de 5 meses, se presentan las primeras hojas (estadio 5) y continua el crecimiento durante los próximos 3 años. En el cuarto año, se tiene la primera floración para llevar a cabo la polinización. Posterior a la polinización, la maduración de las frutas requiere cerca de un año hasta que el proceso vuelve a iniciar (Aguilar, 2019).

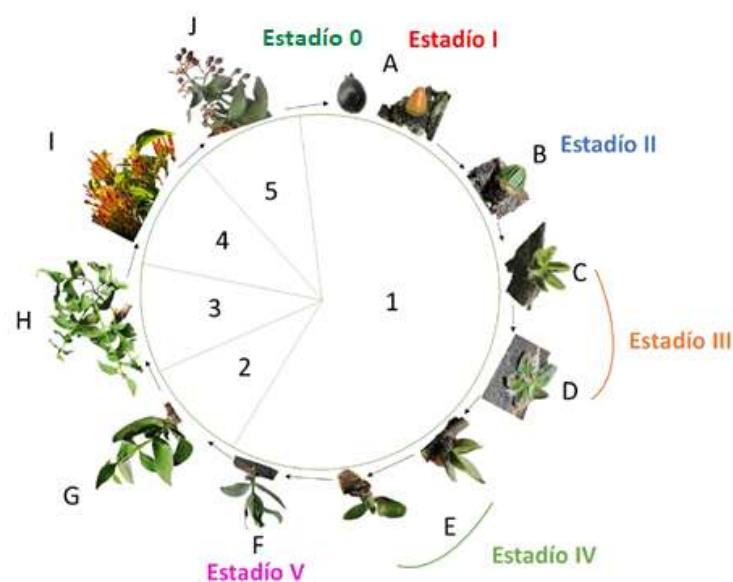


Figura 1. Ciclo de vida e infección de *P. calyculatus*.

#### Factores Inductores de Haustorio (FIH)

El proceso infeccioso, involucra la formación del haustorio, el cual sirve como un "puente viviente" entre el parásito y el árbol hospedero, ya que pueden transferir diversos nutrientes como agua, sales, proteínas, microARN y fragmentos de ADN que pueden contribuir a la supresión molecular del sistema de defensa del huésped y metabolitos específicos que promuevan la germinación y el desarrollo del muérdago (Clarke et al., 2019). Sin embargo, los procesos químicos y moleculares que orquestan la germinación y formación del haustorio, se conocen como factores inductores del haustorio (FIH), estos han sido determinados principalmente en plantas parásitas que se conectan a las raíces del hospedero; mientras que se desconoce el caso de los muérdagos aéreos (Goyet et al., 2019). Tomando como referencia esta información, podríamos pensar que el proceso infeccioso podría ser similar para *P. calyculatus*.

Los FIH corresponden a un conjunto de metabolitos secundarios que promueven la formación del tejido del haustorio en las plantas parásitas, mediante la diferenciación de las células del tejido y formación de células del xilema y llevar a cabo una conexión directa con el hospedero (Goyet et al., 2019). Los factores pueden ser producidos propiamente por la planta parásita o estos pueden obtenerse mediante la degradación de la lignina del hospedero, la cual es uno de los polímeros que conforman la pared celular de las plantas conformado principalmente por compuestos fenólicos, para ello, el pre-haustorio sintetiza enzimas del tipo lacasas y peroxidasas que permiten la liberación de las unidades monoméricas de la pared celular del hospedero (Cui et al., 2018; Wada et al., 2019), procesos que podrían ocurrir en la infección de *P. calyculatus* en el árbol de mezquite.

#### Compuestos Orgánicos Volátiles

Las plantas han desarrollado sistemas de comunicación con otras especies, para ello, llevan a cabo la síntesis de compuestos orgánicos volátiles (COVs) los cuales han presentado distintas interacciones con polinizadores, herbívoros, patógenos, otras plantas y microorganismos (Bouwmeester et al., 2019). Sin embargo, son pocos ejemplos los que existen que involucran a los COVs como inductores fisiológicos de eventos relacionados con la infección, polinización y crecimiento. Por ejemplo, en la planta parásita *Cuscutta pentagona* una planta parásita, se ha identificado que es capaz de reconocer los COVs provenientes de la planta hospedera para poder dirigir su crecimiento, formación del haustorio e infección del hospedero (Runyon et al., 2006). En el muérdago *Phoradendron leucarpum* se ha reportado que la liberación de COVs provenientes del

hospedero, son capaces de promover la germinación de semillas del parásito y dirigir el crecimiento radicular hacia la rama del árbol hospedero (Randle et al., 2018). Flores de *P. calyculatus* presentaron capacidad de emitir  $\beta$ -omiceno para la atracción de especies de insectos polinizadores que ayudan a la reproducción de la especie (Quintana-Rodríguez et al., 2018).

#### Estrés oxidativo y especies reactivas de oxígeno

Cuando una planta es sometida a algún tipo de estrés, la producción de ROS es reconocida por sensores específicos que desencadenan la producción de señales específicas, las cuales son decodificadas mediante reacciones del tipo redox que alteran las funciones y estructuras de las proteínas, dando así una respuesta de tolerancia al estrés. (Raja et al., 2017)

Los sistemas de control de las especies reactivas de oxígeno pueden ser clasificados en dos tipos: sistemas de defensa enzimáticas y no-enzimáticos. Dentro de los primeros podemos incluir a las enzimas superóxido dismutasa, catalasa, ascorbato peroxidasa y glutatión peroxidasa. El sistema de defensa no enzimático está formado por antioxidantes de bajo peso molecular como lo es el ácido ascórbico, los flavonoides y el glutatión. (Huang et al., 2019)

Por su parte, se ha identificado el papel de ROS en el proceso de formación del haustorio, en el que principalmente se tiene la oxidación de los compuestos fenólicos para la síntesis de benzoquinonas, asistida por enzimas oxidoreductasas, que forman los factores inductores del haustorio (Wada et al., 2019). Se ha encontrado que además de poder generar la muerte celular programada, la generación de ROS puede funcionar como un estímulo que promueva el crecimiento de plantas y generar respuesta sensible al estrés (Chen & Yang, 2020); en *Cuscutta* se encontró la presencia de ROS en los tallos basales, mientras que los brotes presentaron una actividad enzimática antioxidante, lo que se relaciona con condiciones que favorecen el crecimiento de la planta en busca de su hospedero (Zhang et al., 2021).

## PARTE EXPERIMENTAL

### Muestreo

Muestras de corteza de mezquite y de diferentes etapas infectivas de *P. calyculatus* fueron colectadas directamente de las ramas del árbol hospedero y fueron congeladas con hielo seco y almacenadas en ultracongelación. Las etapas infectivas fueron identificadas como estadios T0 (semilla), T1 (cotiledones sin abrir), T2 (cotiledones abiertos), T3 (disco haustorio), T4 (primeras hojas), T5 (hojas maduras) (Figura 1). La colecta se llevó a cabo en los meses de febrero a abril del 2021 en una zona suburbana con una alta población de mezquites (*P. laevigata*) altamente infectados con *P. calyculatus* en las afueras de Irapuato, Guanajuato (20° 43' N; 101° 19') (Figura 2).



Figura 2. Imagen satelital de la zona de muestreo.

#### Germinación de semillas *in vitro*

Las semillas fueron cultivadas en trozos de corteza de mezquite y papel filtro esterilizados en cajas Petri. Las cajas fueron expuestas a luz artificial, por otra parte, un set de semillas fueron incubadas en ausencia de luz. Semanalmente, las placas fueron irradiadas con luz UV durante 30 minutos para evitar el crecimiento de hongos y finalmente 200  $\mu$ L de agua desionizada estéril fue adicionada para mantener la humedad (Randle et al., 2018).

#### Análisis de compuestos orgánicos volátiles

La extracción de los COVs se llevó a cabo mediante una microextracción en fase sólida (SPME) en los estadios fenológicos del muérdago germinados *in vitro*. Para ello, los estadios fueron colocados dentro de viales de vidrio y cubiertos con papel aluminio y parafilm, posteriormente una fibra SPME fue introducida. Las fibras fueron expuestas con las muestras por 24 h a temperatura ambiente (Figura 3). Transcurrido este tiempo los COVs fueron desorbidos en un GC-MS. La determinación de los COVs emitidos se llevó a cabo mediante el software AMDIS y se identificaron utilizando sus espectros de masa y tiempos de retención con el software NIST. El área relativa bajo la curva se obtuvo mediante el software del equipo TurboMass (Gutierrez-Villagomez et al., 2020)



Figura 3. Sistema de extracción de COVs.

#### Cuantificación de $H_2O_2$

La cuantificación del peróxido de hidrógeno presente en los diferentes estadios de germinación del muérdago, se llevó a cabo utilizando un kit comercial (Sigma-Aldrich). Se pesaron 50 mg de cada estadio y 1 ml de agua destilada fue añadida dentro de un tubo de 1.5 ml. Las muestras se agitaron a 1500 rpm durante 10 min, posteriormente se centrifugaron a 12,000 rpm durante 15 min, se extrajo el sobrenadante y se volvió a llevar cabo otra centrifugación para obtener un clarificado. A partir del extracto obtenido, se realizó una dilución 1:10 para realizar la valoración colorimétrica utilizando como reactivo naranja de xilenol en una microplaca de 96 pozos, la muestra se dejó incubar 3 min y una vez transcurrido el tiempo se determinó su absorbancia a 585 nm en un espectrofotómetro MULTISKAN SkyHigh (ThermoScientific).

#### Cuantificación de polifenoles totales

La determinación de polifenoles totales se llevó a cabo a partir de un extracto metanólico de los estadios de la germinación, para ello, se pesaron 100 mg de muestra se les añadieron 1.5 ml de metanol al 70%. Las muestras se dejaron agitar a 1500 rpm por 24 h. Una vez transcurrido el tiempo, las muestras se sometieron a un doble ciclo de centrifugación a 12 000 rpm durante 15 min. Posteriormente, se llevó a cabo una dilución 1:10 del extracto. La cuantificación de PT se llevó a cabo

mediante la reacción colorimétrica con el reactivo Follin-Cicalteu midiendo su absorbancia a 760 nm en un espectrofotómetro de placas MULTISKAN (Martínez-Cruz & Paredes-López, 2014).

#### Cromatografía de capa fina de alta resolución

A partir del extracto metanólico de estadios de muérdago, se aplicaron 2 µl en una placa de HPTLC de Silica Gel 60 F<sub>254</sub> (Merck). La aplicación de las muestras se realizó con un equipo CAMAG Automatic TIC Sampler 4 (ATS4). El desarrollo de la placa se llevó a cabo utilizando como fase móvil acetato de etilo:ácido fórmico:ácido acético:agua (100:55:55:11 v/v). La placa una vez seca fue revelada y digitalizada bajo luz visible, UV a longitudes de 254-366 nm mediante el equipo CAMAG TLC Visualizer (García-Rojas et al., 2020)

#### Análisis estadístico

Los datos se analizaron con la prueba *post hoc* con la diferencia mínima significativa después de realizar un análisis de varianza (ANOVA) con el software Statistical Package for the Social Sciences 25.0 (SPSS Inc., Chicago IL, Estados Unidos).

## RESULTADOS

#### Germinación de semillas *in vitro*

Las semillas cultivadas en corteza de mezquite mostraron un porcentaje de germinación del 56% en condiciones de luz solar; en contraste a las semillas que estuvieron en obscuridad, presentaron un porcentaje de germinación del 36%. Por otra parte, el cultivo de semillas realizado en papel filtro mostró un porcentaje de germinación del 72% , el cual es mayor al porcentaje de germinación de las semillas cultivadas en corteza de mezquite; en condiciones de luz natural. Sin embargo, el cultivo en papel filtro realizado en condiciones de obscuridad obtuvo una germinación del 64%.

El comienzo de la germinación de las semillas del muérdago se da al extraer el pericarpio que recubre a la semilla, por lo que una vez extirpado, la germinación continua aun en privación de luz, agua y oxígeno. Se reportó que en el muérdago *Amyema preissii* existe una disminución del porcentaje de germinación en condiciones de obscuridad, sin embargo, en base a los resultados se puede deducir que el factor ambiental que interviene en la germinación de la semilla es el impedimento que genera el pericarpio, ya que impide llevar a cabo la respiración celular. Los resultados obtenidos concuerdan con nuestros resultados, debido a que se pueden identificar condiciones óptimas para la germinación, sin embargo, las especies de muérdago mostraron alta adaptabilidad a las condiciones ambientales (Lamont & Perry, 1977).



### Germinación de Semillas *in vitro*

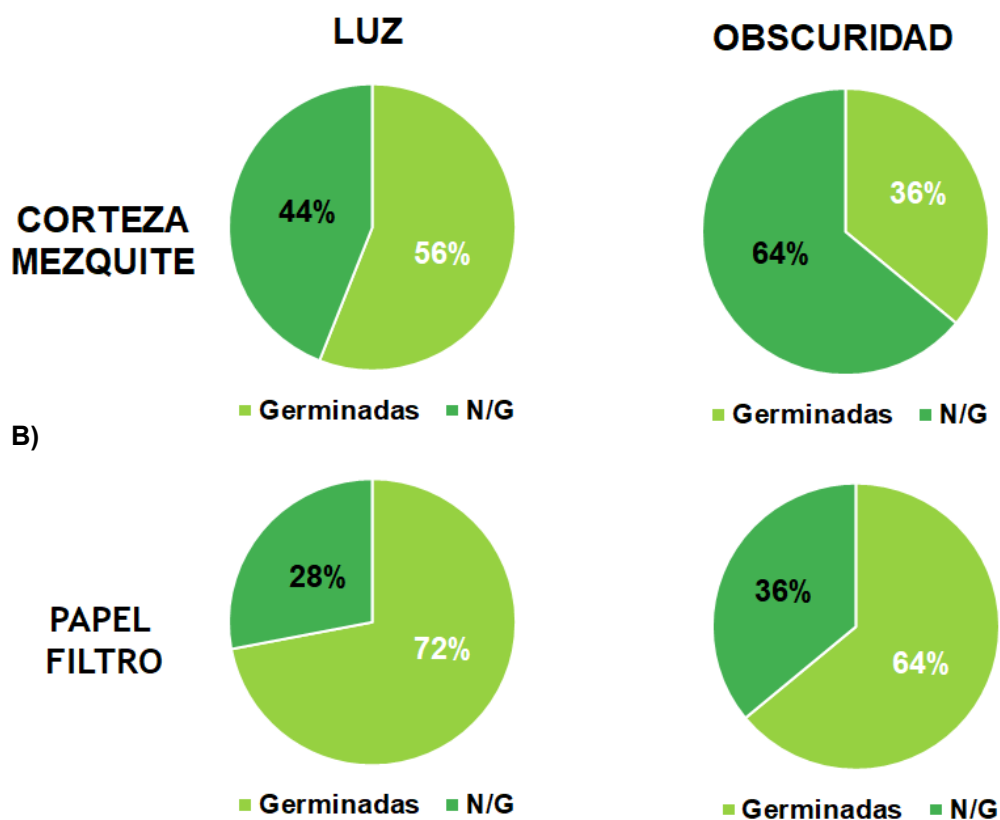


Figura 4. Germinación de semillas y estadios fenológicos obtenidos *in vitro* de *P. calyculatus*. A) Estadios fenológicos, B) Porcentaje de germinación de semillas cultivadas: corteza de mezquite, papel filtro, con luz artificial y oscuridad.

#### Análisis de compuestos orgánicos volátiles

Los resultados obtenidos del análisis de los COVs generados durante el proceso de germinación del muérdago *P. calyculatus* se presentan en la tabla 1, mostrando 10 compuestos identificados siendo  $\alpha$ -Bisabolol, dihidroactinidiolido y la 2,6-Di-*tert*-butilquinona los compuestos mayoritarios identificados.

Tabla 7. COVs identificados los estadios infectivos del muérdago *P. calyculatus*

Nombre	Función	ESTADIO									
		T1		T2		T3		T4		T5	
		CORTEZ A	PAPE L	CORTEZ A	PAPE L	CORTEZ A	PAPE L	CORTEZ A	PAPE L	CORTEZ A	PAPE L
<b><math>\alpha</math>-Bisabolol</b>	Pesticida	15.6 ± 3.8 *	38.2 ± 27.6 <sup>a</sup>	15.1 ± 11.2 <sup>a</sup>	82 ± 66.2 <sup>a</sup>	29.5 ± 25.3 <sup>a</sup>	27.1 ± 13.8 <sup>a</sup>	346.9 ± 350 <sup>a</sup>	300.5 ± 266.6 <sup>a</sup>	84 ± 102.6 <sup>a</sup>	231.5 ± *
<b>Dihidroactinidiolido</b>	Estrés Biológico	33.8 ± 14 <sup>a</sup>	24.9 ± 5.4 <sup>a</sup>	20.4 ± 18.7 <sup>a</sup>	19.8 ± 10 <sup>a</sup>	36.7 ± 24.3 <sup>a</sup>	27.7 ± 1.6 <sup>a</sup>	39 ± 20 <sup>a</sup>	34.5 ± 23.6 <sup>a</sup>	16.1 ± 5.4 <sup>a</sup>	41.9 ± 14.8 <sup>a</sup>
<b><math>\alpha</math>-Bisabolol oxido B</b>		11.4 ± 3.4 <sup>a</sup>	46 ± 17.6 <sup>a</sup>	11.3 ± 10.9 <sup>a</sup>	40 ± 13.6 <sup>a</sup>	16.1 ± 9.9 <sup>a</sup>	24.4 ± 4.6 <sup>a</sup>	76.8 ± 43.1 <sup>a</sup>	269.1 ± 231 <sup>a</sup>	54.3 ± 37.8 <sup>a</sup>	175.1 ± 176.9 <sup>a</sup>
<b>2,6-Di-tert-butylbenzoquinona</b>	Factor inductor de haustorio	33.7 ± 28.8 <sup>ab</sup>	50.2 ± 10 <sup>ab</sup>	10.5 ± 5.2 <sup>b</sup>	64.9 ± 31.3 <sup>a</sup>	36 ± 25.7 <sup>ab</sup>	16.1 ± 8.6 <sup>ab</sup>	37.6 ± 20.5 <sup>ab</sup>	25.4 ± 19.4 <sup>ab</sup>	9.8 ± 3.6 <sup>b</sup>	17.8 ± 4.8 <sup>ab</sup>
<b><math>\alpha</math>-Curcumene</b>	Pesticida	17.8 ± 17.4 <sup>a</sup>	16.1 ± 4.5 <sup>a</sup>	3.6 ± 0.6 <sup>a</sup>	45.1 ± 47.2 <sup>a</sup>	16.8 ± 14.7 <sup>a</sup>	36.8 ± 49.3 <sup>a</sup>	30.2 ± 9 <sup>a</sup>	21.6 ± 11.9 <sup>a</sup>	9.9 ± 5.3 <sup>a</sup>	17.2 ± 9.3 <sup>a</sup>
<b>Nonanal</b>	Resistencia a patógenos	15.7 ± 22.1 <sup>a</sup>	29.7 ± 7.9 <sup>a</sup>	6.7 ± 3 <sup>a</sup>	21.2 ± 11.2 <sup>a</sup>	26.5 ± 17.3 <sup>a</sup>	25.1 ± 13.9 <sup>a</sup>	30.7 ± 11.7 <sup>a</sup>	49.9 ± 54.1 <sup>a</sup>	21.6 ± 15.6 <sup>a</sup>	37.2 ± 7.1 <sup>a</sup>
<b>3-Hidroxi-2,2,4,trimetilpentil éster de butanoico (-)-Alcanfor</b>		27 ± 21 <sup>a</sup>	12.7 ± 2.9 <sup>a</sup>	4.5 ± 1 <sup>a</sup>	12.6 ± 3 <sup>a</sup>	12.5 ± 9.5 <sup>a</sup>	12.2 ± 10.8 <sup>a</sup>	34.8 ± 33.6 <sup>a</sup>	27.2 ± 31.3 <sup>a</sup>	14.5 ± 9.1 <sup>a</sup>	15.4 ± 2.2 <sup>a</sup>
<b>Decanal</b>	Respuesta a patógenos	5.5 ± 5.3 <sup>a</sup>	55.1 ± 77.3 <sup>a</sup>	2.5 ± 0.8 <sup>a</sup>	11.2 ± 4 <sup>a</sup>	15.8 ± 12.2 <sup>a</sup>	19.2 ± 15.1 <sup>a</sup>	21.8 ± 10.7 <sup>a</sup>	10.7 ± 8.5 <sup>a</sup>	5.9 ± 1.1 <sup>a</sup>	11.2 ± 7.5 <sup>a</sup>
		21.6 ± 11.5 <sup>a</sup>	27 ± 5.3 <sup>a</sup>	5.4 ± 1.9 <sup>a</sup>	22.7 ± 7.3 <sup>a</sup>	23 ± 15.5 <sup>a</sup>	17.1 ± 7.6 <sup>a</sup>	23.5 ± 8.9 <sup>a</sup>	28.1 ± 23.5 <sup>a</sup>	9.4 ± 6.6 <sup>a</sup>	27.2 ± 2.5 <sup>a</sup>
<b>1-Undecanol</b>		10.5 ± 10.1 <sup>a</sup>	16.3 ± 5.7 <sup>a</sup>	3 ± 1.3 <sup>a</sup>	11.2 ± 4.6 <sup>a</sup>	9.1 ± 6.2 <sup>a</sup>	6.1 ± 1.8 <sup>a</sup>	12.1 ± 5.6 <sup>a</sup>	12.9 ± 12.2 <sup>a</sup>	11.1 ± 8.6 <sup>a</sup>	16.1 ± 11.5 <sup>a</sup>

Se ha reportado que bisabolol tiene actividad de repelencia contra insectos herbívoros; este compuesto tiene su mayor concentración en el estadio T4 que corresponde con el fin del establecimiento del haustorio y la formación de las primeras hojas, por lo tanto se puede inferir que evitan la herbivoría de la plántula (de Elguea-Culebras et al., 2017; Kamatou & Viljoen, 2010). Los niveles más altos de dihidroactinidiolido fueron identificados en los estadios T3 y T4, lo que puede asociarse con la producción de ROS que intervienen en el proceso de desarrollo de la planta parásita. El dihidroactinidiolido es un terpeno volátil identificado como uno de los compuestos resultantes de la ruptura oxidativa del  $\beta$ -caroteno, debido a esto, se ha identificado a la molécula como una de las responsables de mediar la respuesta al estrés en plantas funcionando como un inductor de los genes involucrados con la producción de compuestos antioxidantes (Lucca et al., 2011; Ramel et al., 2012; Wada et al., 2019). Por su parte, la 2,6-Di-tert-butylbenzoquinona es un compuesto identificado en el proceso de germinación, este, estructuralmente es similar a los FIH reportados, lo que podría llegar a considerarse como una señal capaz de promover la germinación del muérdago debido a que los terpenoides involucrados en la comunicación con volátiles desempeñan funciones desde protección de la especie contra patógenos o herbívoros, hasta la estimulación o inhibición de la germinación de especies (Abbas et al., 2017)

#### Cuantificación de polifenoles totales

La cuantificación de los polifenoles totales mostró un mayor nivel en los estadios iniciales de la germinación (T0-T2), estas altas concentraciones pueden deberse al proceso de la degradación de la corteza del hospedero donde mediante enzimas lignocelulíticas se abre paso para llegar al tejido conectivo del árbol hospedero. Por otra parte, se observó una disminución de la concentración en el estadio T3; este estadio se ha relacionado con el proceso de maduración del haustorio, por lo tanto, se podrían identificar el papel de algunos compuestos fenólicos presentes como precursores de HIF en el proceso de germinación del muérdago (Figura, 6).

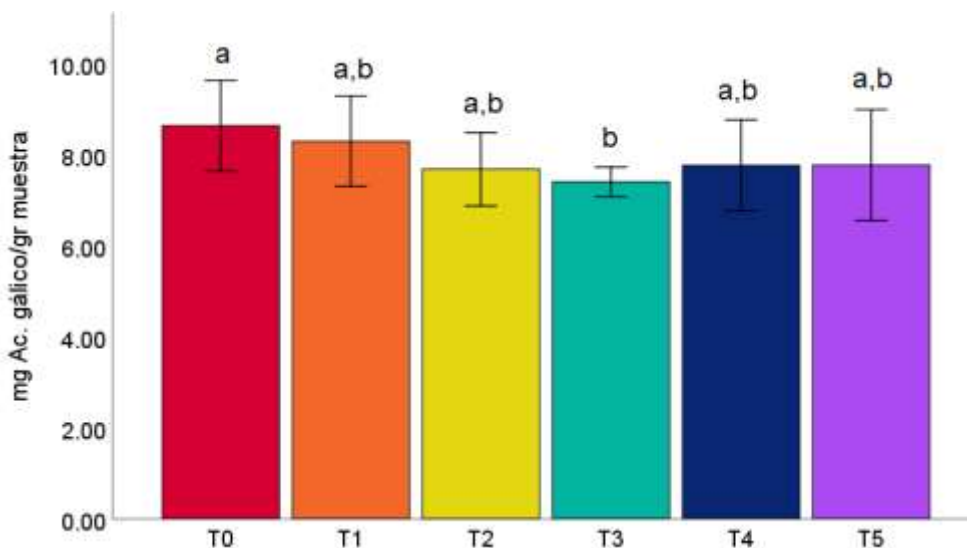


Figura 5. Polifenoles totales de los estadios de germinación de *P. calyculatus*.

La formación del haustorio puede dividirse en dos procesos, la fase de la formación del prehaustorio y la maduración del haustorio. El comienzo de este proceso está desencadenado por los FIH en los cuáles se han identificado quinonas, flavonoides, óxidos de ciclohexanos y citoquininas (Goyet et al., 2019). Los compuestos identificados como FIH contienen un monociclo aromático enlazado a uno o dos grupos metoxilos y un grupo hidroxilo o cetona adyacente. Estas características estructurales pueden ser encontradas en los monómeros estructurales de la lignina. Por ejemplo, las plantas parásitas *Phtheirospermum japonicum* y *Striga hermonthica* mostraron una inducción de la germinación al ser cultivadas en medios con altas concentraciones de lignina, respecto a ensayos realizados con sus unidades monoméricas, además al ser cultivadas con la adición de enzimas lacasa y peroxidasa, las cuales catalizan la degradación de la lignina, se presentó un aumento en el porcentaje de germinación de semillas. Por lo tanto, los altos niveles de compuestos fenólicos presentes en los estadios iniciales de la germinación podrían originarse debido a la degradación enzimática de la lignina, lo que libera compuestos que inducen la germinación del muérdago (Cui et al., 2018).

Por su parte, se ha identificado algunos compuestos fenólicos como moléculas precursoras para síntesis de FIH, específicamente el ácido sirínico el que, mediante la descarboxilación enzimática, lleva a cabo la producción del FIH la dimetil benzoquinona el cual fue identificado en un extracto de raíz de sorgo. El mecanismo de síntesis de los FIH reportado, podría relacionarse con la disminución de la concentración de los compuestos fenólicos encontrados en el estadio T3 (Goyet et al., 2019)

#### Cuantificación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Los resultados obtenidos mostraron un mayor nivel de ROS en los estadios iniciales T1 y T2, un aumento en las ROS podría asociarse a una respuesta específica del hospedero en contra del desarrollo del muérdago intentando ocasionar una muerte celular programada, más sin embargo, unas concentraciones moderadas de ROS podría llevar a cabo la estimulación del desarrollo del parásito (Zhang et al., 2021), específicamente el haustorio.

Además, se tiene una disminución de la concentración de ROS a partir del estadio T3 hasta T5, lo que puede relacionarse a la síntesis de benzoquinonas como FIH a partir de compuestos fenólicos, en el cual, se tiene la participación del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como agente oxidante o cofactor en las reacciones de enzimas oxidorreductasas (Figura 7).



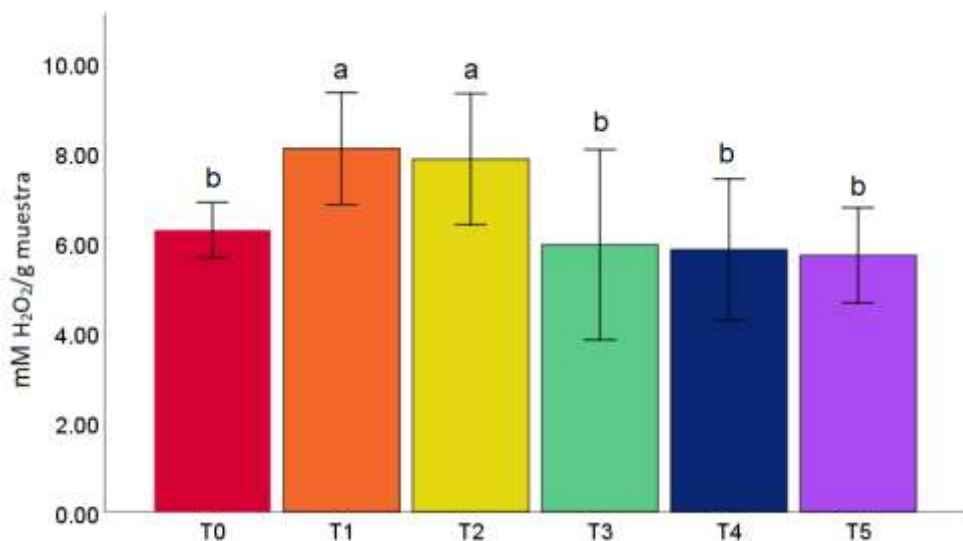


Figura 6. ROS en los estadios fenológicos de *P. calyculatus*.

Se ha reportado en la planta parásita *S. asiática* que la producción de peróxido de hidrógeno está involucrado en la oxidación de diversos compuestos fenólicos, ya que están involucrados en la síntesis de benzoquinonas formadoras de haustorio. Así mismo, se encontró un aumento en el nivel de peroxidasas en el proceso de germinación. La producción endógena de peróxido de hidrógeno, además de ser un cofactor para la síntesis de benzoquinonas, favorece la germinación de semillas de *S. asiática*, por otra parte, también se reportó que las enzimas peroxidasas pueden reaccionar con las benzoquinonas resultantes para formar compuestos con mayor actividad inductiva del haustorio (Wada et al., 2019).

#### Cromatografía de capa fina de alta resolución

Los resultados obtenidos del HPTLC mostraron una gran diferencia en la cantidad de metabolitos secundarios obtenidos de las muestras de muérdago en comparación con el mezquite. Por otra parte, debido a la intensidad de las bandas presentadas en los estadios del muérdago, podemos ver un cambio específico de los compuestos a partir del estadio T4 (Figura 8).

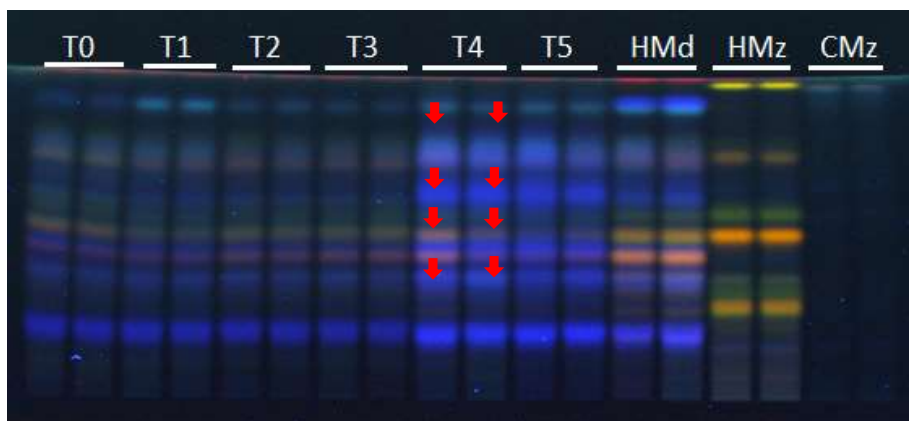


Figura 7. HPTLC de los estadios infectivos de *P. calyculatus*. Estadios infectivos hoja de muérdago (HMd), hoja de mezquite (HMz) y corteza de Mezquite (CMz); las flechas rojas marcan compuestos específicos para el estadio T4.

Las plantas parásitas tienen la capacidad de llevar a cabo un intercambio de metabolitos secundarios con su hospedero, lo que les permite obtener nutrientes como agua, sales y carbohidratos necesarios para su desarrollo, además de poder intercambiar moléculas que les permiten sintetizar promotores de la germinación y suprimir la respuesta al estrés por parte del hospedero (Clarke et al., 2019). Sin embargo, a pesar de poseer una conexión directa de intercambio de metabolitos, al comparar los resultados cromatográficos obtenidos, podemos diferenciar las muestras de *P. calyculatus* por la mayor cantidad de compuestos presentes en comparación con *P. laevigata*, lo que se mantiene en todo su proceso de desarrollo, sugiriéndonos una autonomía en los procesos de síntesis de metabolitos secundarios de la planta parásita (Clermont et al., 2019).

El análisis metabolómico realizado para la planta parásita *Phoradendron perrotteti* mostro la presencia mayoritaria de compuestos fenólicos y que pueden estar relacionados con la nivelación de ROS (Anselmo-Moreira et al., 2019). En el caso del muérdago *P. calyculatus*, la planta parásita aparentemente presenta una mayor diversidad de metabolitos secundarios en comparación con el hospedero.

El proceso de infección de una planta parásita está regulado por una diversidad de moléculas que intervienen, dentro de la formación del haustorio de la especie. Los resultados obtenidos para *P. calyculatus* mostraron una mayor intensidad en las bandas de los cromatogramas de los estadios T4 y T5, lo que pudiera sugerir una mayor producción de metabolitos secundarios debido a que el parásito ya es capaz de robar los recursos al hospedero (Furuhashi et al., 2012).

## CONCLUSIONES

Durante el proceso de germinación del muérdago *P. calyculatus*, intervienen factores ambientales y químicos que favorecen el establecimiento del haustorio, a partir de los resultados obtenidos, podemos identificar una disminución en el porcentaje de germinación del muérdago en condiciones de obscuridad. El análisis de los compuestos orgánicos volátiles mostró una gran diversidad de compuestos emitidos y relacionados con respuestas contra fitopatógenos, antioxidantes y compuestos que podrían promover la germinación del muérdago. La cuantificación de los polifenoles totales y el peróxido de hidrógeno en los estadios fenológicos del muérdago mostraron una relación en la concentración de estas especies con la posible formación del haustorio, lo que podría sugerirse es que estas juegan un papel fundamental para que la especie *P. calyculatus* pueda germinar e infectar a su hospedero. Por último, la separación de los metabolitos secundarios de los extractos de muérdago mostró una mayor diversidad en la planta parásita lo que difiere con el hospedero, además de presentar una mayor producción de estos a partir del estadio T4.

## REFERENCIAS

1. Abbas, F., Ke, Y., Yu, R., Yue, Y., Amanullah, S., Jahangir, M. M., & Fan, Y. (2017). Volatile terpenoids: multiple functions, biosynthesis, modulation and manipulation by genetic engineering. *Planta*, 246(5), 803–816. <https://doi.org/10.1007/s00425-017-2749-x>
2. Aguilar, J. (2019). *La herramienta de uno, puede ser el arma de otro: biomoléculas involucradas en el proceso inicial infectivo del muérdago en árboles de mezquite*.
3. Anselmo-Moreira, F., Teixeira-Costa, L., Ceccantini, G., & Furlan, C. M. (2019). Mistletoe effects on the host tree *Tapirira guianensis*: insights from primary and secondary metabolites. *Chemoecology*, 29(1), 11–24. <https://doi.org/10.1007/s00049-018-0272-6>
4. Bouwmeester, H., Schuurink, R. C., Bleeker, P. M., & Schiestl, F. (2019). The role of volatiles in plant communication. *Plant Journal*, 100(5), 892–907. <https://doi.org/10.1111/tbj.14496>
5. Chen, Q., & Yang, G. (2020). Signal Function Studies of ROS, Especially RBOH-Dependent ROS, in Plant Growth, Development and Environmental Stress. *Journal of Plant Growth Regulation*, 39(1), 157–171. <https://doi.org/10.1007/s00344-019-09971-4>
6. Clarke, C. R., Timko, M. P., Yoder, J. I., Axtell, M. J., & Westwood, J. H. (2019). Molecular Dialog between Parasitic Plants and Their Hosts. *Annual Review of Phytopathology*, 57, 279–299. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082718-100043>

7. Clermont, K., Wang, Y., Liu, S., Yang, Z., dePamphilis, C. W., & Yoder, J. I. (2019). Comparative Metabolomics of Early Development of the Parasitic Plants *Phelipanche aegyptiaca* and *Triphysaria versicolor*. *Metabolites*, 9(6). <https://doi.org/10.3390/metabo9060114>
8. Cui, S., Wada, S., Tobimatsu, Y., Takeda, Y., Saucet, S. B., Takano, T., Umezawa, T., Shirasu, K., & Yoshida, S. (2018). Host lignin composition affects haustorium induction in the parasitic plants *Phtheirospermum japonicum* and *Striga hermonthica*. *New Phytologist*, 710–723. <https://doi.org/10.1111/nph.15033>
9. de Elguea-Culebras, G. O., Sánchez-Vioque, R., Berruga, M. I., Herraiz-Peñalver, D., & Santana-Méridas, O. (2017). Antifeedant effects of common terpenes from mediterranean aromatic plants on *leptinotarsa decemlineata*. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 17(2), 475–485. <https://doi.org/10.4067/S0718-95162017005000034>
10. Furuhashi, T., Fagner, L., Furuhashi, K., Valledor, L., Sun, X., & Weckwerth, W. (2012). Metabolite changes with induction of *Cuscuta* haustorium and translocation from host plants. *Journal of Plant Interactions*, 7(1), 84–93. <https://doi.org/10.1080/17429145.2011.603059>
11. Garcíá-Rojas, N. S., Moreno-Pedraza, A., Rosas-Román, I., Ramírez-Chávez, E., Molina-Torres, J., & Winkler, R. (2020). Mass spectrometry imaging of thin-layer chromatography plates using laser desorption/low-temperature plasma ionisation. *Analyst*, 145(11), 3885–3891. <https://doi.org/10.1039/d0an00446d>
12. Geils, B.; Cibrian, J; Moody, B. (2002). Mistletoes of North American Conifers. In *Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station*.
13. Goyet, V., Wada, S., Cui, S., Wakatake, T., Shirasu, K., Montiel, G., Simier, P., & Yoshida, S. (2019). *Haustorium Inducing Factors for Parasitic Orobanchaceae*. 10(August), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01056>
14. Gutierrez-Villagomez, J. M., Vázquez-Martínez, J., Ramírez-Chávez, E., Molina-Torres, J., & Trudeau, V. L. (2020). Profiling low molecular weight organic compounds from naphthenic acids, acid extractable organic mixtures, and oil sands process-affected water by SPME-GC-EIMS. *Journal of Hazardous Materials*, 390(September 2019), 122186. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122186>
15. Hegenauer, V., Körner, M., & Albert, M. (2017). Plants under stress by parasitic plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 38, 34–41. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2017.04.006>
16. Huang, H., Ullah, F., Zhou, D. X., Yi, M., & Zhao, Y. (2019). Mechanisms of ROS regulation of plant development and stress responses. *Frontiers in Plant Science*, 10(June), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00800>
17. Kamatou, G. P. P., & Viljoen, A. M. (2010). A review of the application and pharmacological properties of  $\alpha$ -bisabolol and  $\alpha$ -bisabolol-rich oils. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87(1), 1–7. <https://doi.org/10.1007/s11746-009-1483-3>
18. Lamont, B., & Perry, M. (1977). The effects of light, osmotic potential and atmospheric gases on germination of the Mistletoe *Amyema preissii*. *Annals of Botany*, 41(1), 203–209. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a085268>
19. Lucca, A. J. D., Pauli, A., Schilcher, H., Sien, T., Bhatnagar, D., & Walsh, T. J. (2011). Fungicidal and bactericidal properties of bisabolol and dragosantol. *Journal of Essential Oil Research*, 23(3), 47–54. <https://doi.org/10.1080/10412905.2011.9700457>
20. Martínez-Cruz, O., & Paredes-López, O. (2014). Phytochemical profile and nutraceutical potential of chia seeds (*Salvia hispanica* L.) by ultra high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1346, 43–48. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.04.007>
21. Quintana-Rodríguez, E., Ramírez-Rodríguez, A. G., Ramírez-Chávez, E., Molina-Torres, J., Camacho-Coronel, X., Esparza-Claudio, J., Heil, M., & Orona-Tamayo, D. (2018). Biochemical traits in the flower lifetime of a mexican mistletoe parasitizing mesquite biomass. *Frontiers in Plant Science*, 9(July), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01031>
22. Raja, V., Majeed, U., Kang, H., Andrabi, K. I., & John, R. (2017). Abiotic stress: Interplay between ROS, hormones and MAPKs. *Environmental and Experimental Botany*, 137(May 2018), 142–157. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.02.010>
23. Ramel, F., Birtic, S., Ginies, C., Soubigou-Taconnat, L., Triantaphylidès, C., & Havaux, M.

- (2012). Carotenoid oxidation products are stress signals that mediate gene responses to singlet oxygen in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(14), 5535–5540. <https://doi.org/10.1073/pnas.1115982109>
24. Randle, C. P., Cannon, B. C., Faust, A. L., Hawkins, A. K., Cabrera, S. E., Lee, S., Lewis, M. L., Perez, A. A., Sopas, J., Verastegui, T. J., & Williams, J. K. (2018). Host Cues Mediate Growth and Establishment of Oak Mistletoe (*Phoradendron leucarpum*, Viscaceae), an Aerial Parasitic Plant. *Castanea*, 83(2), 249–262. <https://doi.org/10.2179/18-173>
25. Runyon, J. B., Mescher, M. C., & De Moraes, C. M. (2006). Volatile chemical cues guide host location and host selection by parasitic plants. *Science*, 313(5795), 1964–1967. <https://doi.org/10.1126/science.1131371>
26. Smith, D., Barkman, T. J., & dePamphilis, C. W. (2001). Hemiparasitism. *Encyclopedia of Biodiversity: Second Edition*, 3, 70–78. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384719-5.00207-0>
27. Wada, S., Cui, S., & Yoshida, S. (2019). Reactive oxygen species (ROS) generation is indispensable for haustorium formation of the root parasitic plant *striga hermonthica*. *Frontiers in Plant Science*, 10(March), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00328>
28. Zhang, Y., Zhang, Y., Xing, J., Li, Y., Yang, Y., Wang, Y., Jiang, L., Zhang, M., & Li, Z. (2021). Efficient carbon recycling and modulation of antioxidants involved in elongation of the parasitic plant dodder (*Cuscuta* spp.) in vitro. *Plant Science*, 303(January 2020), 110770. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110770>

## PLANTAS ENDÉMICAS COMO BIOINDICADORAS DE PLOMO CON POSIBLE POTENCIAL PARA FITOESTABILIZACIÓN

Consuelo Letechipía de León<sup>1</sup>, Rebeca Basurto Gaytan<sup>1</sup> Luis Enrique Silva Aparicio<sup>1</sup>, Dulce María Orozco Corona<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Unidad Académica de Estudios Nucleares, Universidad Autónoma de Zacatecas, Ciprés 10, Peñuela, 98060 Zacatecas, Zac. <sup>2</sup>Universidad Tecnológica de Querétaro, División de Tecnologías de la Automatización e Información.

[crenchelo@gmail.com](mailto:crenchelo@gmail.com)

### RESUMEN

Un gran número de sitios alrededor del mundo se han visto afectados por la presencia de metales pesados, siendo estos el resultado de las actividades antropogénicas incontroladas. Las plantas al ser receptores primarios de metales pesados pueden adoptar distintos mecanismos de tolerancia como el secuestro de metales xenobióticos para hacer frente a su toxicidad. Por esta razón, la remediación con plantas que colonizan espontáneamente los depósitos de relaves se ha adaptado bien a las condiciones particulares resulta ser una propuesta atractiva y eficaz para sitios con esas características. Una de las tecnologías alternativas para el proceso de estabilizar estos lugares es el proceso de la fitoestabilización, con el cual se utiliza una cobertura vegetal para la inmovilización de los metales pesados que pueden estar presentes, además deben de evaluarse los parámetros fisicoquímicos de estos, por su importancia en la biodisponibilidad y la importancia como un recurso natural para la participación y desempeño las funciones de homeóstasis en los ecosistemas. El objetivo fue identificar y caracterizar plantas nativas que tengan potencial para ser utilizadas en fitoestabilización sustentable. El sitio de estudio fue localizado al Noroeste de la capital de Zacatecas, siendo una zona de relaves mineros, se recolectaron 21 muestras de plantas nativas silvestres de mayor abundancia en un cuadrante de 8 puntos, para su identificación taxonómica se colocaron en una prensa botánica por 7 días para su secado, después fueron preparadas para el análisis elemental de la concentración de Pb, las muestras se fraccionaron en la parte aérea y la raíz de la planta, se lavaron con agua corriente y enjuagaron con agua desionizada por 3 veces, fueron secadas a temperatura ambiente por 48 hr, la digestión ácida se realizó tomando el método de referencia de la EPA3050b y se analizó la concentración del analito por EAA-F con un equipo Thermo Scientific™. La especie más abundante de la zona fue *Lupinus campestris*, seguido de *Burdleja scordioides* y *Pennisetum villosum*, *Yucca brevifolia*, *Schinus molle* y *Prosopis leavigata*. La mayor concentración de Pb en raíz se encontró en *Lupinus campestris*. Se analizaron los factores de bioconcentración y se estableció que ninguna especie se consideró hiperacumuladora de Pb, con capacidad de fitoextracción del analito se identificó *Burdleja scordioides* y *Lupinus campestris* el resto de las especies tienen potencial para ser utilizadas en la fitoestabilización. Además, las siete especies son buenas candidatas para la fitorremediación en suelos contaminados con Pb para zonas semiáridas, son útiles en la disminución de la biodisponibilidad de estos elementos y pueden ofrecer una herramienta sustentable, amigable y económica para la revegetación y restauración de relaves mineros.

### INTRODUCCIÓN

Durante la última década, se han realizado numerosos estudios para la remediación de los relaves mineros, actualmente hay distintos métodos para su tratamiento, entre ellos, las técnicas fisicoquímicas, que suelen ser costosas, difíciles de implementar y perturbadoras para el ecosistema. En contraste, la fitorremediación ha resultado ser una tecnología barata, ecológica y que puede realizarse in situ, por lo tanto, reduce el riesgo de exposición de contaminación secundaria para el personal (Sylvain et al., 2016; Wang et al., 2017). Además, las plantas al ser receptores primarios de metales pesados pueden adoptar distintos mecanismos de tolerancia como el secuestro de metales xenobióticos para hacer frente a su toxicidad. Por esta razón, la remediación con plantas resulta ser una propuesta atractiva y eficaz ante tal escenario (Sarwar et al., 2017).

Por lo anterior, se utilizan plantas tolerantes no solo para reducir la movilidad y biodisponibilidad de los metales pesados en el suelo, sino también la disponibilidad para entrar en la cadena alimentaria del hombre, disminuyendo así los riesgos ambientales y de salud pública (Sun et al., 2016; Wang et al., 2017). Además, el dosel vegetal sirve para reducir la dispersión eólica, mientras que las raíces de las plantas evitan la erosión hídrica, inmovilizan los metales pesados y previenen la lixiviación. Por consiguiente, es considerada una técnica eficiente para reducir el riesgo ambiental a través de la estabilización a largo plazo de los relaves mediante la creación de una cubierta vegetal y mejora la calidad de los suelos aumentando la materia orgánica, la concentración de nutrientes y la actividad biológica (Wang et al., 2017).

Dado que las plantas que colonizan espontáneamente los depósitos de relaves se han adaptado bien a las condiciones particulares del sitio, las investigaciones actuales se centran en la vegetación autóctona de estas zonas contaminadas. El conocimiento que generan sobre su fitodiversidad ayuda a comprender las estrategias adaptativas de estas especies, lo cual es útil cuando se pretende establecer un nuevo ecosistema en los lugares con residuos mineros (Sun et al., 2016). Por lo tanto, para adquirir más conocimiento en estrategias de restauración, es esencial estudiar la vegetación de diferentes sitios donde se depositan residuos. Conociendo el potencial de las plantas nativas para acumular metales se puede hacer la selección de plantas tolerantes para desarrollar una cubierta vegetal autosostenible, con bajo costo y capacidad para reducir la toxicidad de los metales pesados y lograr la restauración del suelo mediante una fitoestabilización sostenible (Sun et al., 2016).

Con base en la literatura revisada anteriormente, el estudio de la vegetación nativa en sitios ricos en metales para el estado de Zacatecas es trascendente e importante, por lo que se estudió la zona limítrofe entre los municipios Zacatecas Morelos, para identificar y caracterizar plantas nativas que tengan potencial para ser utilizadas en fitoestabilización y utilizar los hallazgos como referente para un estudio de reforestación.

## TEORÍA

La mayoría de las altas concentraciones de Plomo en el ambiente provienen de las actividades humanas. De manera que desde su uso como un aditivo en la gasolina la concentración en la atmósfera ha aumentado. Siendo a la vez la deposición atmosférica la principal aportación al ciclo biogeoquímico del Plomo. Además, los ecosistemas forestales remotos están sujetos al enriquecimiento de Pb, acumulándose como consecuencia en el horizonte orgánico del suelo (Adriano, 2001; ATSDR, 2015b).

El Plomo se adhiere fuertemente a las partículas del suelo, se acumula en su capa superior o al sedimento en el agua, siendo altamente inmóvil. Incluso el movimiento del Plomo desde el suelo al agua subterránea es improbable a menos que la lluvia que cae sea ácida. Sin embargo, una vez que entra a la atmósfera puede viajar largas distancias, si es que las partículas de Plomo son muy pequeñas. Otros factores que influyen su movimiento son el tipo de compuesto de Pb y la naturaleza física y química del suelo, también la luz solar, el aire y el agua pueden modificar algunos compuestos en otras formas de Plomo, no obstante, el Plomo elemental no se puede descomponer (ATSDR, 2015b). Asimismo, el Plomo puede acumularse en los organismos donde el ambiente está contaminado. Si los animales consumen plantas o animales contaminados, la mayor parte del plomo que comen pasará por sus cuerpos (ATSDR, 2015b).

Específicamente en áreas mineras altamente contaminadas, la vegetación espontánea es el resultado de una fuerte presión ambiental que ha desencadenado la selección de mecanismos de tolerancia que permiten que estas plantas crezcan bajo las condiciones estresantes que prevalecen en estos sitios. Tal adaptación edáfica requiere una fisiología especializada de las plantas colonizadoras, y numerosos estudios han demostrado que las especies y ecotipos de áreas contaminadas tienen resistencia debido a una exclusión más eficiente, o una mayor acumulación y tolerancia a las concentraciones potencialmente nocivas que en las de los sitios no contaminados (Fernández et al., 2017). La exposición excedente de varios metales durante miles de años ha

impulsado la evolución de plantas metalofitas bajo las condiciones ambientales locales. Las metalofitas se consideran como peculiaridades botánicas y se concentran en la familia Brassicaceae. Sin embargo, las actividades mineras han destruido y siguen aumentando los hábitats enriquecidos con metales trayendo como consecuencia cambios en los nichos de las metalofitas (Ali, 2013). A su vez, este tipo de 26 comunidades vegetales nativas representan una fuente valiosa de especies, bancos de semillas y reservas de genes (Sun et al., 2016). Dado que el fenómeno de hiperacumulación de metales en plantas es de considerable interés académico, también puede ser económicamente explotable en la limpieza efectiva de suelos contaminados superficialmente con los mismos (Baker, 1981), por lo tanto, más allá de considerar como pasivo ambiental a los antiguos sitios de minas abandonados y que han sido recolonizados de forma natural, pueden reconocerse como una base de recursos materiales genéticos únicos de especies de plantas adecuadas para la fitoestabilización y fitorremediación (Salas et al., 2009).

### PARTE EXPERIMENTAL

El área de estudio está situada en las siguientes coordenadas 22° 48' 28. 75" Norte y 102° 41' 40. 0" Oeste en el estado de Zacatecas, México. El suelo de esta zona presenta físicamente erosión eólica e hídrica que contiene residuos mineros, posiblemente se acumuló debido a la naturaleza del sitio, por ser una vía de descarga de agua pluvial y residuos de minas cercanas al sitio (Fig. 1). El muestreo de la planta se realizó en un cuadrante de 57,700 m<sup>2</sup> aproximadamente, delimitado por ocho puntos, donde se seleccionaron las plantas con más abundancia. En total, 21 muestras representativas fueron coleccionadas y fraccionadas en tres partes (raíz, tallo y hoja), un estudio anterior evaluó las propiedades fisicoquímicas del suelo y se analizó la concentración de plomo de la muestra representativa de cada sitio de ubicación de la planta (Fig.2).

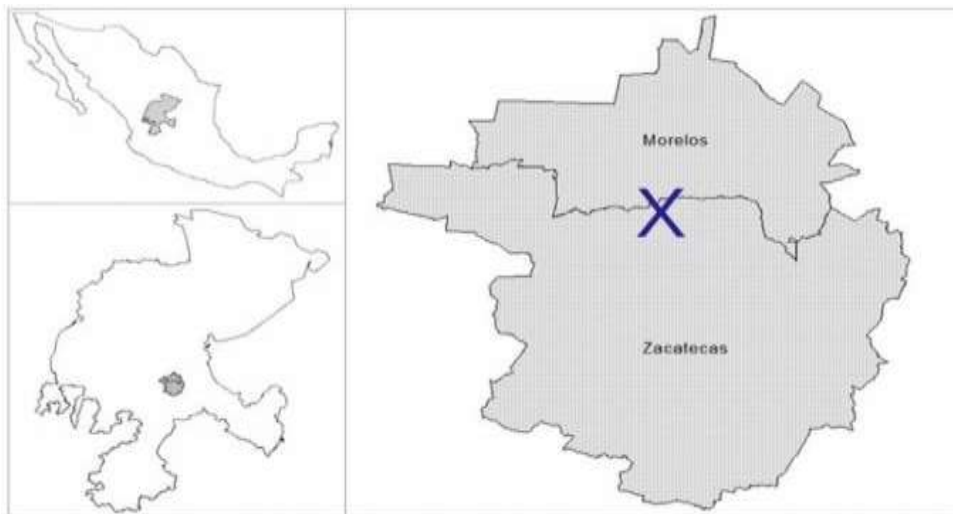


Fig. 1 Ubicación del área de estudio



Fig. 2 Vista satelital del sitio de muestreo

#### Clasificación Taxonómica.

Durante la colección de las muestras botánicas en campo se tomaron las muestras con la técnica de prensa, se anotaron los datos y características físicas más relevantes como: (coordenadas geográficas, fecha, número de muestreo, los nombres comunes entre otras) El secado de las plantas se realizó por medio del aplanado y deshidratado se mantuvieron por 7 días, se pasaron y fijaron a cartulinas blancas, después se clasificaron taxonómicamente mediante fotografías específicas de las especies botánicas (herbario virtual) de la Unidad Académica de Agronomía de la UAZ y de la CONABIO.

#### Análisis de la concentración de Plomo

Las muestras fueron lavadas cuidadosamente con agua potable para eliminar todas las partículas de suelo adheridas y se enjuagaron con agua desionizada por 3 repeticiones, se secaron a temperatura ambiente para eliminar la humedad durante 72 hrs, se separaron los tejidos vegetales en raíz, tallo y hojas y se molieron un triturador eléctrico de acero inoxidable y fueron almacenadas hasta su posterior proceso. Se digirieron 5 gr de cada muestra por triplicado por digestión ácida con agua regia, se tomó de referencia el método USEPA 3050B. Se analizó la concentración de Pb por Espectroscopía de Absorción Atómica en Flama con un equipo Thermo Scientific™ iCE™ 3000, el cálculo de la concentración se analizó como lo indica el método antes mencionado.

#### Determinación del potencial de fitoestabilización.

La eficiencia de las plantas para acumular metales en sus tejidos fue evaluada por el factor de bioconcentración (BCF), y eficiencia de la planta para traslocación del metal acumulado en raíces hasta los brotes se evaluó el factor de translocación (FT). Ambos factores se calcularon utilizando las siguientes ecuaciones y los criterios la consideración para determinar si la planta tiene potencial para absorber, excluir o estabilizar metales fue tomada por la referencia (Volke Sepúlveda et al. 2005).

$$FBC = C \text{ planta} / C \text{ suelo} \quad (1)$$

$$FT = C \text{ parte aérea} / C \text{ raíz} \quad (2)$$



Determinación de las propiedades Físicoquímicas del suelo.

Las muestras de suelo se tomaron en el mismo lugar donde se obtuvieron las muestras de plantas, se evaluaron los parámetros de pH y conductividad eléctrica en una suspensión sobrenadante de suelo en una mezcla de suelo-agua 1:2. Se evaluó la conductividad eléctrica, Materia orgánica utilizando el Método Walkley y Black y la textura del suelo por el método de Boycouse (Rock et al. 2000).

## RESULTADOS

Estudio de identificación florística y taxonómica nativa de especies vegetales

El estudio de la fitodiversidad que coloniza en condiciones adversas, como las que presenta el suelo de este sitio, está representado en la Tabla 1, en un área de 57,700m<sup>2</sup> se representa por una composición florística distribuida en 8 familias, donde sobresalen *Fabacea* y *Solanum*. con dos especies cada una. De acuerdo con la forma de vida la vegetación se compone de tres especies de árboles, tres herbáceos, tres arbustos y un sub-arbusto. En total 10 especies diferentes, se identificaron entre ellas por su abundancia visual en campo *Lupinus campestris* en proporción del 38%, seguido de *Buddleja scordioides* y *Pennisetum villosum* representando el 19% cada uno y en menor medida *Yucca brevifolia*, *Schinus molle l.* y *Prosopis laevigata* el equivalente al 4.76%. como lo muestra Fig 3.

Tabla 1. Identificación taxonómica de las especies vegetales

Forma de vida	Familia	Especies de plantas	Nombre común	Uso
Árbol	Agavaceae	<i>Yucca brevifolia</i>	Yucca, Izote	Ornato
	Anacardiaceae	<i>Schinus molle</i> L.	Pirul	Ornato, medicina tradicional, alimento
	Fabaceae	<i>Prosopis laevigata</i>	Mezquite	Medicina tradicional, alimento, forraje
Herbácea		<i>Lupinus campestris</i>	Lupino, Garbancillo	Forraje
	Poaceae	<i>Pennisetum villosum</i>	Zacate plumoso	Ornato
	Convolvulaceae	<i>Ipomoea longifolia</i>	Alcaparra, Cebolleta	Ornato
Arbusto	Asteraceae	<i>Baccharis salicifolia</i>	Jara	Medicina tradicional
	Escrofulariaceae	<i>Buddleja scordioides</i>	Escobilla	Medicina tradicional
		<i>Nicotiana glauca</i> Gram.	Tabaquillo, Gigante	Medicina tradicional
Sub arbusto	Solanaceae	<i>Solanum elaeagnifolium</i>	Trompillo	Maleza tóxica

Fichas informativas de CONABIO (2009).

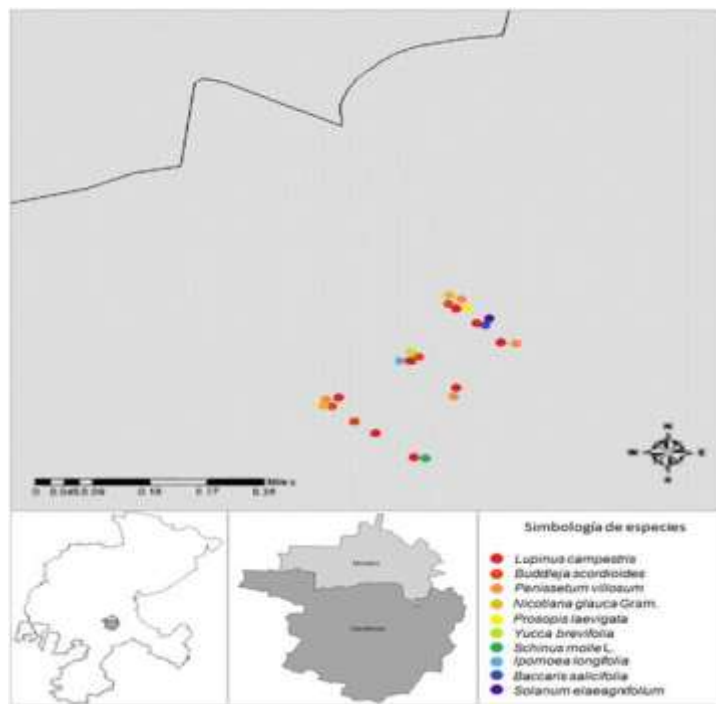


Fig. 3 Mapa de distribución de las especies vegetales

#### Concentración de Plomo

Fue heterogénea en todas las especies, inclusive en sus diferentes tejidos vegetales, tal como se muestra en la Tabla 2, de acuerdo con la concentración por raíz, los valores más altos se presentaron en la muestra 18 y 21 correspondientes a *Lupinus campestris* con 1.046 y 77.073 mg/kg, respectivamente. Asimismo, las concentraciones más bajas en raíz estuvieron en la muestra 16 de *Schinus molle* L. con 2.917 mg/kg, seguido de la M13 de *Buddleja scordioides* que acumuló 3.677 mg/kg.

Las especies que concentraron más el Plomo en las raíces fueron *Pennisetum villosum*, *Schinus molle* L., *Yucca brevifolia* y *Lupinus campestris*, pero la muestra 17 mostró mayor contenido en la hoja. Por otra parte, para determinar la capacidad de las especies en la utilidad de estas para técnicas de fitoremediación sustentable se estableció como lo muestra la Fig. 5 que de acuerdo al factor de bioconcentración ninguna especie se considera hiperacumuladora de Pb. Además, todas las especies actúan como excluidoras de este metal., respecto al factor de translocación *B. scordioides* y *L. campestris* tienen habilidad para fitoextraer Plomo. El resto de las especies tienen potencial para ser utilizadas en fitoestabilización.

Tabla 2. Concentración de Plomo en partes de la planta

Coordenadas	Zona	ID	Especie	Plomo mg/kg				
				Hoja	Tallo	Raíz	Planta	Parte aérea
N 22°48'32.5" W 102°41'10.2"	1	M1	<i>Lupinus campestris</i>	13.741	23.055	27.251	21.349 ± 6.915	18.398 ± 6.587
N 22°48'32.0" W 102°41'08.4"	2	M2	<i>Pennisetum villosum</i>	6.070	ND	19.499	12.784 ± 9.496	6.070
		M3	<i>Lupinus campestris</i>	4.905	7.021	18.554	10.160 ± 7.346	5.963 ± 1.496
		M4	<i>Prosopis laevigata</i>	10.091	2.866	ND	6.478 ± 5.108	6.478 ± 5.108
		M5	<i>Nicotiana glauca</i> Gram.	1.319	8.002	18.282	9.201 ± 8.545	4.661 ± 4.725
N 22°48'33.6" W 102°41'11.5"	3	M6	<i>Lupinus campestris</i>	3.800	20.346	9.704	11.283 ± 8.385	12.073 ± 11.700
		M7	<i>Buddleja scordioides</i>	19.358	28.799	12.814	20.324 ± 8.036	24.078 ± 6.676
		M8	<i>Pennisetum villosum</i>	16.543	ND	71.815	44.179 ± 39.083	16.543
		M9	<i>Yucca brevifolia</i>	1.037	ND	224.370	112.70 ± 157.92	1.037
N 22°48'30.4" W 102°41'14.0"	4	M10	<i>Buddleja scordioides</i>	25.722	31.738	3.018	20.159 ± 15.146	28.730 ± 4.254
		M11	<i>Lupinus campestris</i>	9.597	6.240	30.999	15.612 ± 13.431	7.918 ± 2.374
		M12	<i>Lupinus campestris</i>	15.441	13.159	22.193	16.931 ± 4.697	14.300 ± 1.614
N 22°48'27.59" W 102°41'12.04"	5	M13	<i>Buddleja scordioides</i>	19.555	38.462	3.677	20.565 ± 17.414	29.008 ± 13.369
		M14	<i>Pennisetum villosum</i>	15.761	ND	27.433	21.597 ± 8.254	15.761
N 22°48'22.9" W 102°41'13.8"	6	M15	<i>Lupinus campestris</i>	41.293	28.458	77.073	48.941 ± 25.194	34.876 ± 9.076
		M16	<i>Schinus molle</i> L.	0.108	0.271	2.917	1.099 ± 1.577	0.190 ± 0.115
N 22°48'24.8" W 102°41'16.4"	7	M17	<i>Lupinus campestris</i>	63.317	32.549	46.145	47.337 ± 15.419	47.933 ± 21.756
		M18	<i>Lupinus campestris</i>	22.248	18.246	91.046	43.847 ± 40.925	20.247 ± 2.830
N 22°48'27.5" W 102°41'18.8"	8	M19	<i>Nicotiana glauca</i> Gram.	0.604	17.591	15.779	11.324 ± 9.328	9.097 ± 12.012
		M20	<i>Pennisetum villosum</i>	33.956	ND	66.136	50.046 ± 22.755	33.956
		M21	<i>Buddleja scordioides</i>	64.055	77.434	50.101	63.863 ± 13.668	70.744 ± 9.461

ND: No determinado

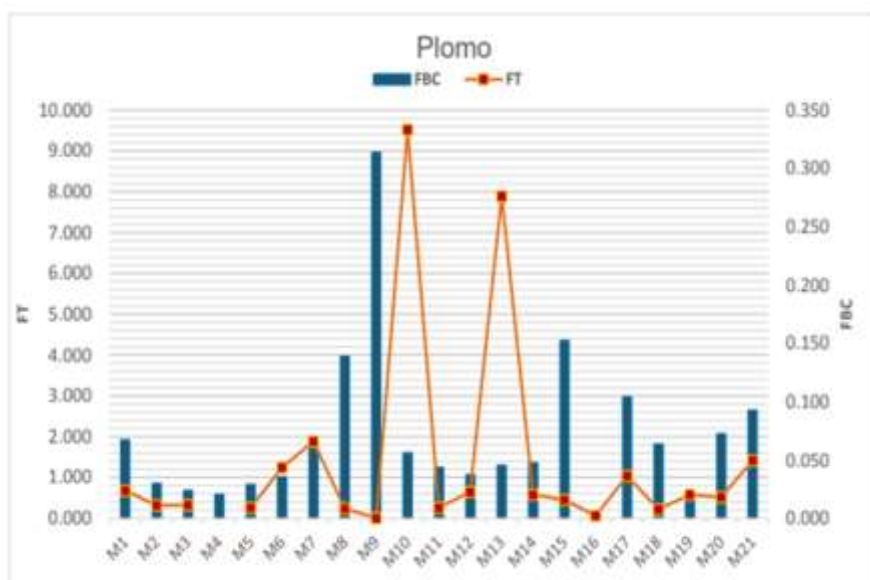


Fig. 4 Factor de bioconcentración y translocación para Pb

## CONCLUSIONES

En general, las siete especies analizadas son buenas candidatas para la fitorremediación de suelos contaminados con Pb en zonas semiáridas. Son útiles en la disminución de la biodisponibilidad de estos elementos y pueden desempeñar un papel importante en la revegetación y restauración de relaves mineros.

La composición florística en la zona limítrofe Zacatecas-Morelos se distribuye en 10 especies pertenecientes a 8 familias, compuestas por herbáceas, arbustos, árboles y un sub-arbusto. Las familias que sobresalen son Fabacea y Solanacea.

Con base en la abundancia, la especie más dominante fue *Lupinus campestris* seguida de *Buddleja scordioides* y *Pennisetum villosum*, mientras que las menos prevalecientes son *Yucca brevifolia*, *Schinus molle* y *Prosopis laevigata*.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Adriano, D. C. (2001). Trace Elements in Terrestrial Environments: Biochemistry, Bioavailability and Risks of Metals (2nd ed. Vol. I). Berlin Heidelberg: Springer-Verlag New York.
2. ATSDR. (2015b). Lead. Retrieved from Atlanta, GA.: [https://www.atsdr.cdc.gov/sites/toxzine/lead\\_toxzine.html](https://www.atsdr.cdc.gov/sites/toxzine/lead_toxzine.html)
3. Baker, A. J. M. (1981). Accumulators and excluders -strategies in the response of plants to heavy metals. *Journal of Plant Nutrition*, 3(1-4), 643-654. doi:10.1080/01904168109362867
4. Fernández, S., Poschenrieder, C., Marcenò, C., Gallego, J. R., Jiménez-Gámez, D., Bueno, A., & Afif, E. (2017). Phytoremediation capability of native plant
5. Salas Luevano, M., Manzanares Acuña, E., Letechipía de León, C., & Vega Carrillo, H. R. (2009). Tolerant and hyperaccumulators autochthonous plant species from mine tailing disposal sites. *Asian Journal of Experimental Sciences*, 23(1), 27-32.
6. Sarwar, N., Imran, M., Shaheen, M. R., Ishaque, W., Kamran, M. A., Matloob, A., Rehim, A., & Hussain, S. (2017). Phytoremediation strategies for soils contaminated with heavy metals: Modifications and future perspectives. *Chemosphere*, 171, 710-721. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.12.116
7. species living on Pb-Zn and Hg-As mining wastes in the Cantabrian range, north of Spain. *Journal of Geochemical Exploration*, 174, 10-20. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.gexplo.2016.05.015
8. species living on Pb-Zn and Hg-As mining wastes in the Cantabrian range, north of Spain. *Journal of Geochemical Exploration*, 174, 10-20. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.gexplo.2016.05.015
9. Sun, Z., Chen, J., Wang, X., & Lv, C. (2016). Heavy metal accumulation in native plants at a metallurgy waste site in rural areas of Northern China. *Ecological Engineering*, 86, 60-68. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2015.10.023
10. Sylvain, B., Mikael, M.-H., Florie, M., Emmanuel, J., Marilyne, S., Sylvain, B., & Domenico, M. (2016). Phytostabilization of As, Sb and Pb by two willow species (*S. viminalis* and *S. purpurea*) on former mine technosols. *CATENA*, 136, 44-52. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.catena.2015.07.008
11. Volke Sepúlveda, T., Velasco Trejo, J. A., & De la Rosa Pérez, D. A. (2005). Suelos contaminados por metales y metaloides: Muestreo y alternativas para su remediación. México, D.F.: Instituto Nacional de Ecología (INESEMARNAT)
12. Wang, L., Ji, B., Hu, Y., Liu, R., & Sun, W. (2017). A review on in situ phytoremediation of mine tailings. *Chemosphere*, 184, 594-600. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.06.025

## EFFECTO DE LA INOCULACIÓN DE RIZOBACTERIAS EN NICOTIANA GLAUCA PARA LA FITOEXTRACCIÓN DE CADMIO EN SUELO

Hernández Carrillo Valeria, Rico Rodríguez Miguel Ángel, Valencia Hernández Juan Antonio, Gracida Rodríguez Jorge Noel.

Universidad Autónoma de Querétaro  
valeriahc@live.com

### RESUMEN

El suelo es un componente ambiental que representa en ecosistemas terrestres, el medio en el que se desarrolla la vida, su condición de interfaz, lo convierte en un medio receptor de una variedad de contaminantes que tienden a acumularse en éste. Entre los principales contaminantes en los suelos están los metales pesados, entre ellos, el cadmio (Cd) que se encuentra entre las 20 sustancias más peligrosas para la salud humana. Un método alternativo económico, ecológico y eficiente para eliminar los contaminantes metálicos tóxicos del suelo y favorecer la estabilización del ecosistema en periodos relativamente cortos es la fitorremediación, esta técnica utiliza plantas metalófitas hiperacumuladoras en asociación con microorganismos rizosféricos autóctonos de sitios contaminados cuya simbiosis incrementa la producción de biomasa y con esto la eficiencia de los mecanismos de remoción, transferencia, estabilización y/o concentración de contaminantes inorgánicos de suelos. *Nicotiana glauca* es una planta perenne que se desarrolla en sitios de eliminación de residuos sólidos industriales, agrícolas y mineros, se ha comprobado que esta misma especie es capaz de almacenar más de 100 mg kg<sup>-1</sup> de Cd proveniente del suelo. Los resultados indicaron que la relación simbiótica planta-bacteria en la fitorremediación, hizo posible mejorar significativamente el rendimiento en la extracción del Cd. En la investigación se inocularon 3 diferentes aislados bacterianos los cuales favorecieron al crecimiento y desarrollo de la planta. El presente estudio permitió llevar a cabo la fitoextracción y bioacumulación del Cd, con perspectivas a seguir aumentando el rendimiento de esta tecnología abarcando diferentes rangos de plantas, bacterias y metales.

### INTRODUCCIÓN

La remediación de suelos es compleja y las estrategias pueden variar ampliamente, ya que dependen, además de los factores específicos del sitio y de las propiedades fisicoquímicas del contaminante, de su disponibilidad, de la fiabilidad demostrada o proyectada, de su estado de desarrollo (laboratorio, escala piloto o gran escala) y de su costo. Actualmente en el Estado de Querétaro en el Municipio de Cadereyta de Montes, en la zona minera de Maconí, las concentraciones de metales pesados en los jales representan un riesgo para el ambiente y la población (Kushwaha *et al.*, 2019).

Existen numerosas tecnologías de remediación de suelos contaminados con metales, y se pueden agrupar en 3 tipos: a) biológicos: en donde las actividades metabólicas de ciertos organismos permiten la degradación, transformación o remoción de los contaminantes a productos metabólicos inocuos; b) fisicoquímicos: mediante las propiedades físicas y químicas de los contaminantes se busca destruir, separar o contener la contaminación; y c) térmicos: en los cuales se utiliza calor para promover la volatilización, quemar, descomponer o inmovilizar los contaminantes en un suelo (Wang *et al.*, 2019).

Dentro de las tecnologías de remediación biológica para metales pesados, se encuentran la fitorremediación en la que se utilizan algunas especies de plantas y puede ser asistida por microorganismos, esto consiste en el aislamiento y la aplicación de poblaciones microbianas para la remediación de iones de metales pesados del suelo. Estos organismos pueden ser autóctonos del sitio contaminado o de otros sitios, es decir, exógenos, también su aplicación puede realizarse in situ o ex situ y en condiciones aerobias (en presencia de oxígeno) o anaerobias (sin oxígeno) (Wang *et al.*, 2019).

Las bacterias pertenecientes al suelo han sido objeto de atención particular, y a pesar de que se ha reportado una serie de cepas bacterianas, existe una creciente necesidad de encontrar nuevos recursos bacterianos que puedan ayudar a mejorar el crecimiento y rendimiento de las plantas en suelos contaminados. De este amplio grupo encontramos las bacterias asociadas con la rizósfera de las plantas, que son capaces de generar varias interacciones entre las cuales, algunas de estas pueden afectar positivamente su crecimiento y desarrollo, capacidad que aún no está estudiada completamente (Sarwar *et al.*, 2017).

Las bacterias capaces de interactuar con las raíces de las plantas, también llamadas rizobacterias, son atraídas por sustancias excretadas por la planta a través de la raíz, que ocasionan el movimiento de la bacteria hacia el rizoplasma de la planta, en los estudios informados, que abarcan un rango de diferentes plantas, metales, suelos y bacterias, el efecto de agregar la bacteria es típicamente para facilitar el crecimiento de las plantas y para aumentar la cantidad de metal tomado por la planta (Sarwar *et al.*, 2017).

Por lo que el objetivo del presente trabajo es aislar rizobacterias con capacidad de fitorremediación en suelos contaminados con metales pesados, así como diferenciar por los componentes estructurales y la morfología bacteriana.

## TEORÍA

La contaminación provoca una pérdida de calidad y aptitud para el uso del suelo y puede llegar a ser inutilizable, afectando la capacidad de autodepuración del mismo por procesos de regeneración biológica normales y los ciclos biogeoquímicos involucrados. La contaminación disminuye cualitativa y cuantitativamente el crecimiento normal de las poblaciones de microorganismos y la fauna del suelo o bien, altera la biodiversidad, lo que aumenta la fragilidad del sistema y genera cambios en la composición de los productos, con riesgo para la salud humana y otros seres vivos, al entrar determinados elementos en la cadena trófica (Mahbub *et al.*, 2017).

Como consecuencia de varios siglos de actividad minera en México y la intensa actividad de otras industrias, junto con accidentes durante el almacenamiento, transporte o trasvase de sustancias (fugas, derrames, incendios) y la disposición clandestina e incontrolada de residuos, contribuyen en gran medida a la contaminación de suelos (Mahar *et al.*, 2016). Dentro de los contaminantes que se consideran prioritarios en México debido a su alta toxicidad y a su persistencia en el ambiente, se encuentran los siguientes: dioxinas, furanos, hexaclorobenceno, bifenilos policlorados (BPCs), plaguicidas organoclorados, mercurio, plomo, cromo, cadmio, compuestos tóxicos atmosféricos e hidrocarburos poliaromáticos (HAPs).

La minería es una de las actividades económicas de mayor tradición en México, contribuye en gran medida con el desarrollo económico del país, suministrando insumos a una serie de industrias (construcción, metalúrgica, siderúrgica, química y electrónica). De acuerdo con información de la Dirección General de Minas, la industria minera nacional es mayoritariamente metálica. Por otro lado, el uso excesivo de agroquímicos, así como el inadecuado manejo y disposición de sus envases, ha sido un problema generalizado en México. Muchos de los plaguicidas empleados en el país hasta la fecha, se han prohibido en otros países por su toxicidad (CICOPLAFEST, 2020).

Actualmente existe una problemática de contaminación por arsénico y metales pesados como el mercurio, el cadmio, entre otros, en el poblado de Maconí, Cadereyta de Montes, Querétaro en donde las concentraciones de metales pesados en los jales pueden representar un riesgo para el ambiente y la población. Debido a las condiciones geográficas no tiene dispersión a lo largo del Río Maconí, y se debe tener en cuenta que un cambio en las condiciones de pH y oxidorreducción en el ambiente puede provocar que los niveles de metales pesados, tales como el plomo puedan rebasar varias veces la concentración permitida por la NOM-147-SEMARNAT. (José E. *et al.*, 2013).

Los metales pesados tales como el plomo o el cromo son altamente tóxicos y pueden causar muchos problemas de salud. En un estudio realizado por Xioayun S. y colaboradores (2019) se observó el

efecto de la emisión de partículas de Plomo (Pb), Cobre (Cu), Zinc (Zn) y Cadmio (Cd) al ambiente y cómo afectaba a los habitantes y al ganado, provenientes de una fundidora de metales localizada en una región del sudeste de China, llamada Wumeng, ellos encontraron que las ovejas, que es el principal ganado de este poblado, tenían anemia, emaciación, anorexia y debilidad y en humanos signos claros de anemia, con respecto al ganado se encontró que cerca del 50% de este, tenía signos de envenenamiento y alcanzaban más de un 70% de mortalidad.

Por esta razón es importante encontrar formas de retirar metales pesados del suelo, sin embargo, el aumento de los costos y la limitada eficacia de los tratamientos que hasta ahora han sido utilizados como los fisicoquímicos y los térmicos han estimulado el desarrollo de nuevas tecnologías, ya que se requieren alternativas que en periodos relativamente cortos reduzcan los niveles de contaminación por metales pesados, dentro de las tecnologías de remediación biológica se encuentra la fitorremediación, en la que se utilizan algunas especies de plantas y se puede emplear de manera asistida, es decir con microorganismos.

La rizósfera es un microsistema complejo ubicado en las raíces de las plantas, conformado por una microflora que incluye: bacterias, hongos y algas, y una micro y mesofauna, es decir, protozoos, nematodos e insectos, que contribuyen significativamente con el catabolismo de sustancias nocivas en la rizósfera, a través de los exudados se pueden establecer diferentes interacciones microorganismo-raíz que afectan positiva o negativamente el crecimiento de las plantas. Estos procesos de detoxificación dependen no sólo del microbiota de la rizósfera, sino también de las características de la planta huésped, propiedades del suelo y condiciones ambientales (Ullah *et al.*, 2015). Las bacterias capaces de interactuar con las raíces de las plantas, también llamadas rizobacterias, son atraídas por sustancias excretadas por la raíz, que ocasionan el movimiento de la bacteria hacia el rizoplano de la planta y de esta forma dar inicio a una relación de beneficio mutuo (Gupta *et al.*, 2016).

Las bacterias asociadas con la rizósfera de las plantas son capaces de generar varios mecanismos por los cuales afectan positivamente su crecimiento y desarrollo, esta capacidad no está estudiada completamente (Ahmed *et al.*, 2014). De acuerdo con varios autores se conocen mecanismos directos e indirectos para la promoción del crecimiento vegetal, los mecanismos directos se relacionan con la producción de fitohormonas de tipo auxinas y giberelinas o la regulación de la producción de hormonas por parte de la planta. Así mismo pueden afectar la disponibilidad de nutrientes por la intervención directa en los ciclos biogeoquímicos. Es el caso de la fijación biológica de nitrógeno y la solubilización de nutrientes tan importantes como el fósforo. Indirectamente las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPr sigla en inglés) pueden contribuir mediante la inducción de la resistencia sistémica a fitopatógenos, el control biológico de enfermedades, la producción de antibióticos y de sideróforos (Bhattacharyya y Jha, 2012; Jing *et al.*, 2014).

Esta clasificación no está completamente diferenciada debido a la gran cantidad de interrelaciones entre los dos mecanismos, lo cual se desarrolla parcialmente en esta revisión, aunque generalmente sean tratados por separado. En los estudios informados, que abarcan un rango de diferentes plantas, metales, suelos y bacterias, el efecto de agregar la bacteria es típicamente para facilitar el crecimiento de las plantas y para aumentar la cantidad de metal tomado por la planta. (Tirry *et al.*, 2018). Podemos encontrar un ejemplo de la utilización de bacterias y plantas para la bioremediación de suelos contaminados, en el trabajo realizado por Simón M.Z. (2019), encontraron que un sistema de Maíz-*Streptomyces* ayudan en el tratamiento de suelos contaminados con Cr(VI) y lindano, con una capacidad de remover el cromo de hasta 65%, el lindano en aproximadamente de 60% y en una co-contaminación se logró remover aproximadamente 65% de lindano y 25% de cromo.

## PARTE EXPERIMENTAL

Muestreo de raíces.

Se realizó el muestreo de la rizosfera de dos plantas de *N. glauca*, una vez seleccionadas, se tomaron 5 muestras de raíz y suelo rizosférico de acuerdo a la NMX-AA-132-SCFI-2006. Se colectaron 5 submuestras por cada planta, a una profundidad de 20 cm para la obtención de las

bacterias. El suelo y la raíz fueron colectados y se almacenaron en bolsas de papel manteniéndolas a 4° C (Franco, 2009), en la zona Minera San Joaquín de la localidad de Maconí en Cadereyta de Montes, Querétaro, ubicada a una latitud 20° 50 ' 5.07" y a una longitud 99° 32' 29.517".

Aislamiento de bacterias en raíces muestreadas.

A partir de la mezcla del suelo rizosférico y raíces de *Nicotiana glauca* se realizaron 7 diluciones seriadas (1, 0.1, 0.001, 0.0001, 0.00001, 0.000001 y 0.0000001 mg mL<sup>-1</sup>) y se realizaron siembras en cajas de Petri siguiendo las metodologías tradicionales propuestas por Clark (1965 a y b) y Parkinson (1982) por la técnica superficial en medio de cultivo LB; se incubaron a 30° C por 3 días para el crecimiento de rizobacterias, con la finalidad de obtener colonias separadas. El aislamiento y purificación consistió en realizar siembras continuas por la técnica de estría cruzada en cajas de Petri (Granados y Villaverde, 1998; Velázquez, 1998).

Identificación de bacterias en raíces muestreadas.

Se realizaron pruebas con KOH al 3% con las cepas aisladas (cantidad de bacteria) según la metodología, la observación de los componentes estructurales y la morfología bacteriana. Este paso se realizó por triplicado. Se observó el tamaño, forma, movimiento y agrupación de las rizobacterias al microscopio. Se determinó el género bacteriano a través de pruebas bioquímicas (Rojas-Triviño, 2011).

## RESULTADOS

Aislamiento de rizobacterias tolerantes a metales pesados

Se aislaron 25 diferentes colonias bacterianas, del suelo muestreado lo cual señaló que existe una diversidad bacteriana presente en suelos contaminados con metales pesados, de estos aislados se seleccionaron 9 que presentaron un mayor crecimiento y fueron sembrados en medio líquido LB con 200 mg Cd L<sup>-1</sup>. Posteriormente se identificaron las colonias bacterianas con mayor tolerancia a Cd a partir de las densidades ópticas de manera cualitativa, destacando el aislado 17, presentando la concentración bacteriana máxima, seguido de este, el aislado 3 y el aislado 18. Las bacterias asociadas con la rizósfera de las plantas son capaces de generar varios mecanismos de interacción (Sarwar et al., 2017), por lo cual se eligieron los aislados antes mencionados y un aislado más de baja tolerancia, el aislado 15, para la siguiente fase experimental.



Identificación de bacterias en raíces muestreadas

Se realizó una caracterización morfológica colonial para la identificación, en el cuadro 1 se describe el aspecto del crecimiento bacteriano en medio de cultivo con base en las características de las colonias bacterianas de acuerdo a la forma, borde, elevación y superficie (Rojas-Triviño, 2011). Características que podrían ser típicas de la morfología de especies pertenecientes al género *Bacillus* acorde con la clasificación del atlas global de las bacterias dominantes que se encuentran en el suelo (Delgado-Baquerizo et al., 2018).



Cuadro 4 Caracterización morfológica de colonias bacterianas aisladas.

Aislado	Forma	Borde	Elevación	Superficie
3	Puntiforme	Filamentoso	plana	seca
15	Circular	Lobulado	elevada	mate
17	Circular	Ondulado	convexa	brillante
18	Irregular	Ondulado	plana	rugosa
21	Circular	Ondulado	convexa	Cremosa

Se realizaron pruebas de Gramm a los aislados previamente seleccionados (3, 15, 17, 18 y 21), tomando como criterio que fueran Gramm (+). Esto para descartar a aquellas colonias que pudieran presentar características fitopatógenas de acuerdo a Rojas-Triviño (2011), el cual indica que las colonias bacterianas pertenecientes al grupo Gramm (-) son, en su mayoría, inductores de enfermedades en plantas. Determinando así que los aislados 3, 15 y 21 pertenecen a Gramm (+), mientras que los aislados 17 y 18 son Gramm (-).

### CONCLUSIONES

La implementación de sistemas de fitorremediación asistida por bacterias es una tecnología casi ha llegado, nos estamos acercando a una comprensión de cómo diversas bacterias contribuyen a la fitorremediación, y la eficacia de esto se ha demostrado en condiciones de laboratorio, en este trabajo se comprueba que existe una amplia diversidad bacteriana presente en suelos contaminados con metales pesados, la cual podría ser empleada para el estudio de mecanismos de fitorremediación. Esto no quiere decir que no queden dificultades técnicas para este tipo de tratamientos biológicos, sin embargo, los problemas parecen ser manejables. Por otro lado, para fitorremediar eficientemente los suelos contaminados con metales, sin embargo, aislar bacterias de sitios contaminados con metales ofrece microbiota bacteriana capaz de tolerar y adaptarse a altas concentraciones de metales pesados, siendo necesario abordar el problema de bacterias que puedan resultar inductoras de enfermedades para las plantas, en este sentido es posible realizar una identificación genética de las colonias bacterianas a utilizar para que se garantice, basándose además de, en una comprensión profunda de los procesos e interacciones entre plantas, contaminantes, suelos y bacterias, que la fitorremediación asistida por bacterias es un proceso altamente reproducible y confiable.

### BIBLIOGRAFÍA

- Ahemad, M.; Kibret, M. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *J. King Saud Univ.-Sci.* 2014, 26, 1–20.
- Bhattacharyya, P.; Jha, D. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Emergence in agriculture. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 28, 1327–1350. 2012.
- COMISIÓN INTERSECRETARIAL PARA EL CONTROL DEL PROCESO Y USO DE PLAGUICIDAS Y SUSTANCIAS TÓXICAS (CICOPLAFEST), Acuerdo que establece la clasificación y codificación de mercancías cuya importación y exportación está sujeta a regulación por parte de las dependencias que integran la Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas, 2020.
- Gupta, A.; Joia, J.; Sood, A.; Sood, R.; Sidhu, C.; Kaur, G. Microbes as potential tool for remediation of heavy metals: A review. *J. Microb. Biochem. Technol.* 8, 364–372. 2016.
- Jing YX, Yan JL, He HD, Yang DJ, Xiao L, Zhong T, Li SB. Characterization of bacteria in the rhizosphere soils of *Polygonum pubescens* and their potential in promoting growth and Cd, Pb, Zn uptake by *Brassica napus*. *Int J*
- José E. et al. Influence of mine waste dams on the Maconí river, Queretaro, and assessment of the natural attenuation process by dispersión. *Scielo*, 2013.
- Kushwaha, B.K., Singh, S., Tripathi, D.K., Sharma, S., Prasad, S.M., Chauhan, D.K., Kumar, V., Singh, V.P. New adventitious root formation and primary root biomass accumulation are

- regulated by nitric oxide and reactive oxygen species in rice seedlings under arsenate stress. *J. Hazard. Mater.* 361. 2019.
8. Mahar, A., Wang, P., Ali, A., Awasthi, M.K., Lahori, A.H., Wang, Q., Li, R., Zhang, Z. Challenges and opportunities in the phytoremediation of heavy metals contaminated soils: a review. *Ecotoxicol. Environ. Safe* 126. 2016.
  9. Mahbub, K.R., Krishnan, K., Andrews, S., Venter, H., Naidu, R., Megharaj, M. Bio-augmentation and nutrient amendment decrease concentration of mercury in contaminated soil. *Sci. Total Environ.* 576, 303e309. 2017.
  10. NMX-AA-132-SCFI-2006
  11. Rojas-triviño, A. 'Conceptos Y Práctica General', 2011.
  12. Sarwar, N. et al. 'Phytoremediation strategies for soils contaminated with heavy metals: Modifications and future perspectives', *Chemosphere. Elsevier Ltd*, 171, pp. 710–721. doi: 10.1016/j.chemosphere, 2017.
  13. Tirry, N. 'Screening of plant growth promoting traits in heavy metals resistant bacteria: Prospects in phytoremediation', *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology. Academy of Scientific Research & Technology*, 16(2), pp. 613–619. doi: 10.1016/j.jgeb.2018.06.004, 2018.
  14. Ullah, A., Heng, S., Munis, M.F.H., Fahad, S., Yang, X. Phytoremediation of heavy metals assisted by plant growth promoting (PGP) bacteria: a review. *Environ. Exp. Bot.* 117, 2015.
  15. Wang, Q. 'Inoculation of plant growth promoting bacteria from hyperaccumulator facilitated non-host root development and provided promising agents for elevated phytoremediation efficiency', *Chemosphere. Elsevier Ltd*, 234, pp. 769–776. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.

## EFFECTO DE LA FERTILIZACIÓN CON DIGESTATO Y FRECUENCIAS DE CORTE EN EL RENDIMIENTO DE BALLICO PERENNE (*LOLIUM PERENNE* L.).

José Agustín Pacheco-Ortiz, Rigoberto Castro-Rivera, María Myrna Solís-Oba, Angelica Romero-Rodríguez, Ana Patricia Juárez-Rangel, Job Jonathan Castro-Ramos, Karim Hassam Montalvo-Aguilar y Ana Rosa Sánchez-Camarillo

Instituto Politécnico Nacional - CIBA  
agustin.pacheco0192@gmail.com

### RESUMEN

El uso de los fertilizantes químicos ha provocado la pérdida de materia orgánica del suelo, por lo que ha aumentado la erosión y la pérdida de nutrientes en los campos agrícolas. Se han utilizado técnicas agronómicas y biotecnológicas como modelo de sustentabilidad incorporando fertilizantes orgánicos al suelo, para incrementar los rendimientos en los cultivos. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la fertilización pasto ballico perenne, como fertilizante se utilizó el digestato proveniente de la digestión anaerobia de residuos de ganado probados al 30 y 50%. Se obtuvieron cosechas cada 4, 5 y 6 semanas en las estaciones verano, otoño e invierno se observó como resultado el incremento de materia fresca (MF) y materia seca (MS) en el pasto a concentraciones elevadas de este fertilizante al 50% de digestato, superando en un 22% al testigo sin fertilizar. Lo mismo ocurre con la MS agregando digestato obteniendo un 25% más respecto al testigo. La cantidad de MS fue mayor a las 6 semanas de corte en un 32% y 16% respecto a mostradas a las 4 y 5 semanas. Se registro un aumento del 10% en la cosecha de MS en la estación verano, respecto a las estaciones otoño e invierno. A mayor concentración de digestato, mayor rendimiento de materia seca, lo que demuestra un mayor dinamismo en la planta. El efecto de las frecuencias corte está determinada por la estación del año y por el fertilizante orgánico aplicado.

### INTRODUCCIÓN

La sobreexplotación del uso fertilizantes químicos o sintéticos ha provocado que los suelos agrícolas pierdan materia orgánica por lo que, como consecuencia, los suelos se erosionan. Otro inconveniente por el uso desmedido de estos fertilizantes es que se pueden eutrofizar además de volatizar y también contaminar el aire ocasionando lluvia acida [1]. También puede haber afectaciones a la salud humana por el contacto prologado a estos productos sintéticos de las enfermedades destaca las crónicas degenerativas [1,3].

Una de las alternativas del uso de los fertilizantes químicos, es sustituir parcial o totalmente su uso con la aplicación de fertilizantes orgánicos, provenientes de residuos obteniendo compostas, vermicompost, extractos, biol o digestato, entre otros [2,4,5]. Los fertilizantes orgánicos son significativos porque aportan materia orgánica, microorganismos que son amigables con el medio ambiente y la salud humana [6,7,8,9]. Durante la revisión de trabajos, se ha observado que al aplicar fertilizantes orgánicos como extractos y digestato aumenta de un 10% a un 40% los rendimientos de los cultivos en pasto Ballico y Ovillo [8,9,10,11, 12, 13].

El fertilizante orgánico empleado fue el digestato proveniente de los residuos de las excretas de animales bovinos, al ser procesadas por microorganismos mediante una digestión anaeróbica se obtiene como producto final una fase líquida que puede ser empleada como fertilizante orgánico [5], algunos autores han reportado Garg et al., (2005); Terhoeven-Urselmans et al., (2009); Dahlin et al., (2015); Pawlett et al., (2018), un aumento en el rendimiento en pasto mayor al 40% en el tratamiento con digestato respecto al testigo sin fertilizar.

Los pastos no solo requieren de una fertilización adecuada, sino que también dentro del manejo se encuentran las frecuencias de corte adecuadas del cual pueden incrementar el rendimiento de un cultivo hasta un 10% las frecuencias de corte que mejor se ajustan a Ballico perenne (*Lolium Perenne* L.) son las de 4 y 6 semanas de corte [4]. El objetivo de este trabajo fue evaluar el rendimiento del

pasto Ballico aplicando digestato con dos concentraciones 30% y 50% a tres frecuencias de corte 4, 5 y 6 semanas en tres estaciones del año verano, otoño e invierno.

### PARTE EXPERIMENTAL

EL experimento se llevó a cabo en (CIBA) IPN unidad Tlaxcala, ubicado en las coordenadas 19°16'50" Norte, 98°16'58" Oeste. El digestato fue obtenido del módulo de leche de la granja experimental de Departamento de Zootecnia de la Universidad Autónoma Chapingo. Las semillas de Ballico perenne (*L. perenne* L.) fueron donadas por el Laboratorio de Forrajes del Posgrado de Ganadería del Colegio de Posgraduados. Al sustrato obtenido de la parcela experimental del CIBA se añadió el 7% de vermicompost comercial, para incrementar la cantidad de materia orgánica, el cultivo se estableció en un invernadero tipo cenital, las unidades experimentales fueron macetas de 3 kg donde se agregó el sustrato en el cual se sembraron 15 semillas de Ballico perenne, en la estación de primavera y posterior a los 60 días del crecimiento del pasto se realizó un corte de homogenización, para reducir el efecto de covariable.

El diseño experimental fue en bloques completamente al azar con un arreglo factorial 3 x 4 x 4 con cuatro repeticiones, las frecuencias de corte fueron cada 4, 5 y 6 semanas, el fertilizante orgánico aplicado de digestato fue del 0%, 30% y 50% en un total de 200 ml con agua corriente.

El rendimiento del pasto se obtuvo a partir del corte de la planta arriba de 5 cm, para ser cosechado y pesado, para obtener la materia fresca/g (MF) posteriormente se secó a una temperatura de 65 °C, hasta obtener un peso constante y con ello se registró la materia seca/g (MS).

Los datos obtenidos en los diferentes tratamientos fueron ordenados por corte y fertilización. Las diferencias de medias entre los tratamientos se obtuvieron con el software estadístico SAS versión 9.0, con el procedimiento factorial ANOVA y el análisis de sensibilidad de Tukey ( $P < 0.05$ ) [14].

### RESULTADOS

En el rendimiento del pasto materia fresca (MF) con la fertilización con digestato orgánico, en verano y otoño es 20% mayor resto de los tratamientos, en la época de invierno fue para el 30% de digestato de un 12% y para el 50% de fertilizante de un 37% ambos respecto al testigo sin fertilizar  $p < 0.05$ . La MF en las frecuencias de corte fue mayor la de 6 semanas en todas las estaciones respecto los cortes de 4 y 5 semanas en verano de un 28% y 14% respectivamente, en otoño a 4 semanas de 30% y a 5 semanas 22% e invierno para 4 semanas fue de un 32% y para las 5 semanas de un 20% ver Tabla 1.

Tabla 1. Efecto de la fertilización y frecuencias de corte en el rendimiento de Ballico perenne en verano, otoño e invierno.

Factores	Materia Fresca			Materia Seca			
	Verano	Otoño	Invierno	Factores	Verano	Otoño	Invierno
Digestato							
0	8.4 Ba	6.5 Bb	4.8 Cc	0	2.0 Ca	1.5 Cb	1.1 Cc
30	8.6 Ba	6.7 Bb	5.4 Bc	30	2.1 Ba	1.7 Bb	1.2 Bc
50	9.9 Aa	8.8 Ab	7.6 Ac	50	2.7 Aa	2.3 Ab	1.7 Ac
Frecuencias de Corte (FC)							
4	8.0 Ca	6.9 Cb	5.6 Cc	4	2.1 Ca	1.4 Cb	1.2 Cc
5	9.6 Ba	7.7 Bb	6.6 Bc	5	2.6 Ba	2.0 Bb	1.5 Bc
6	11.1 Aa	9.8 Ab	8.2 Ac	6	3.1 Aa	2.8 Aab	1.9 Ab
Significancia							
Digestato	***	***	***	Digestato:	***	***	***
FC	***	***	***	FC	***	***	***
D*FC	***	NS	***	D*FC	***	***	***

Medias con literales iguales en columnas no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05). Sig.= Significancia, NS= No significativo ( $P > 0.05$ ), \*=( $P < 0.05$ ); \*\*=( $P < 0.01$ ); \*\*\*=( $P < 0.001$ ).

En el rendimiento de materia seca (MS) con la fertilización con digestato al 50% en verano de un 26%, en otoño e invierno de un 34% contra el 0% y para el 30% de digestato de un 5 a 11% para todas las estaciones comparado con el testigo  $p < 0.05$ . La MS en las frecuencias de corte fue mayor la de 6 semanas en todas las estaciones respecto los cortes de 4 y 5 semanas en verano de un 33% y 17% respectivamente, en otoño a 4 semanas de 50% y a 5 semanas 29% e invierno para 4 semanas fue de un 37% y para las 5 semanas de un 22%. Se encontraron interacciones entre todos los tratamientos  $p < 0.05$ , excepto en la época de otoño de MF donde los resultados no fueron significativos ver Tabla 1.

## CONCLUSIONES

La mayor concentración de digestato 50%, mayor es el rendimiento de la planta por lo que es recomendable aplicar una concentración mayor al 30% de fertilizante orgánico. En cuanto al efecto de las frecuencias corte fue mejor a la semana 6 de corte y está determinada por la estación del año y por la interacción del fertilizante orgánico digestato, por lo que se recomienda cortar a una frecuencia de corte mayor a la de 4 y 5 semanas. Respecto a la época del año con el menor rendimiento es invierno tanto en digestato como en las frecuencias de corte, y mayor en la de verano para ambos factores, para la MF y la MS. Solo se encontraron diferencias al aplicar el 30% de digestato en la MF en la estación de invierno y para la MS hubo diferencia en todas las estaciones respecto a los demás tratamientos. Además de mencionar que hubo interacción entre el digestato y las frecuencias de corte por lo que realizar un manejo adecuado de estos dos factores contribuyen a un mayor rendimiento de la planta.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Chaney R. L, "Food Safety Issues for Mineral and Organic Fertilizers. *Advances in Agronomy*". 2012, pp. 51–116.
2. C. Kenneth Odoh, C. Nwadike Eze, U. Kalu Akpi, V. Unah Unah, "Review Article Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)". A Novel Agent for Sustainable Food Production Department of Microbiology, University of Nigeria, Nsukka, 410001, Enugu, Nigeria. Vol. 14, 2012, pp. 35-54.
3. A.D. Ramos, A.E. Terry, "Generalidades de los Abonos Orgánicos: Importancia del Bocashi como Alternativa Nutricional para Suelos y Plantas. *Cultivos Tropicales*". Vol. 35, 2014, pp. 52-59.
4. J.J. Walsh, D.L. Jones, D.R. Chadwick, A.P. Williams, "Repeated Application of Anaerobic Digestate, Undigested Cattle Slurry and Inorganic Fertilizer N: Impacts on Pasture Yield and Quality". *Grass Forage Sci.*, Vol, 73, 2018, pp. 758-763.
5. A. Głowacka, B. Szostak, R. Klebaniuk, "Effect of Biogas Digestate and Mineral Fertilisation on the Soil Properties and Yield and Nutritional Value of Switchgrass Forage". *Agronomy.*, Vol. 10, 2020.
6. R.N. Garg, H. Pathak, D.K. Das, R.K. Tomar, "Use of Flyash and Biogas Slurry for Improving Wheat Yield and Physical Properties of Soil". *Environ Monit Assess*, Vol. 107, 2005, pp. 1-9.
7. T. Terhoeven-Urselmans, E. Scheller, M. Raubuch, B. Ludwig, R.G. Joergensen, "Evolution and N Mineralization After Biogas Slurry Application in the Field and its Yield Effects on Spring Barley". *Appl Soil Ecol.*, Vol, 42 (2009) 297-302.
8. A.S. Dahlin, A. Ramezani, C.D. Campbell, S. Hillier, I. Osborn, "Waste Recovered By-Products Can Increase Growth of Grass-Clover Mixtures in Low Fertility Soils and Alter Botanical and Mineral Nutrient Composition". *Ann Appl Biol.*, Vol, 166, 2015, pp. 105-117.
9. M. Pawlett, A. Owen, M. Tibbett, "Amenity Grassland Quality Following Anaerobic Digestate Application. *Japanese Society of Grassland Science*". *Grassland Science.*, 2018.
10. G.A. Ciepiela, A. Godlewska, J. Jankowska, "The Effect of Seaweed *Ecklonia Maxima* Extract and Mineral Nitrogen on Fodder Grass Chemical Composition". *Environ Sci Pollut Res.*, Vol. 23, 2016, pp. 2301-2230.
11. M.T. Shah, S.T. Zodape, D.R. Chaudhary, K. Eswaran, J. Chikara, "Seaweed Sap as an alternative Liquid Fertilizer for Yield and Quality Improvement of Wheat". *J. Plant Nutr.*, Vol. 36, 2013, pp. 192–200.

12. M. El Boukhari, M. Barakate, Y. Bouhia, K. Lyamlouli, "Trends in Seaweed Extract Based Biostimulants: Manufacturing Process and Beneficial Effect on Soil-Plant Systems". *Plants (Basel, Switzerland)*., Vol. 9, 2020, pp. 359.
13. M. Begum, B.C. Bordoloi, D.D. Singha, N. Ojha, "Role of Seaweed Extract on Growth, Yield and Quality of Some Agricultural Crops: A Review". *Agricultural Reviews.*, Vol. 39, 2018, pp. 321-326.
14. K.H. Montalvo-Aguilar, R. Castro-Rivera, M.M. Solís-Oba, G.A. Aguilar-Benítez, L.J. García-Barrera, A. Hernández-Garay, "Efecto de la Frecuencia de Defoliación y la Fertilización con Digestato en los Componentes del Rendimiento de Ballico Perenne (*Lolium Perenne L.*)". *Agroproductividad.*, Vol. 11, 2018.

## LA PRUEBA ESTANDAR DE GERMINACIÓN DE SEMILLAS COMO HERRAMIENTA EN LA EVALUACIÓN DE ORGANISMOS PROMOTORES DE CRECIMIENTO VEGETAL

Lily X. Zelaya-Molina<sup>1</sup>, Carlos I. Cruz-Cárdenas<sup>1</sup>, I. Fernando Chávez-Díaz<sup>1</sup>, Juan Ramos-Garza<sup>2</sup>, Gabriela Sandoval-Cancino<sup>1</sup>, Marco A. Aragón-Magadan<sup>1</sup>, Santiago Ruíz-Ramírez<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Centro Nacional de Recursos Genéticos-INIFAP, <sup>2</sup>Universidad del Valle de México-Campus Chapultepec, <sup>3</sup>Campo Experimental Centro Altos de Jalisco-CIRPAC-INIFAP  
e-mail: [lilyzelayam@yahoo.com.mx](mailto:lilyzelayam@yahoo.com.mx)

### RESUMEN

La implementación de bioproductos a partir de microorganismos promotores de crecimiento vegetal es una de las estrategias amigables con el ambiente que se ha desarrollado en los últimos años en todo el mundo, con el propósito de disminuir o evitar el uso de agroquímicos en la producción agrícola, los cuales pueden ser tóxicos al ambiente y a la salud humana. Aunque durante el proceso de selección de estos microorganismos, una de las pruebas necesarias para conocer su potencial de promoción de crecimiento vegetal, es la evaluación de su efecto durante la germinación y desarrollo de plantas de los cultivos agrícolas. Para ello se han empleado diversas pruebas de germinación que durante su establecimiento y evaluación pueden generar inconvenientes en cuanto a tiempo, espacio, materiales e infraestructura. Sin embargo, la prueba estándar de germinación de semillas, que se emplea generalmente para evaluar la calidad fisiológica de lotes de semillas, así como en evaluaciones de programas de mejoramiento genético, producción, cosecha, acondicionamiento y almacenamiento de semillas, entre otras, es una prueba rápida en la que se emplean pocos insumos e infraestructura, y podría implementarse para conocer el efecto de cepas microbianas con potencial de crecimiento vegetal durante la germinación de semillas. Por esta razón, el objetivo del presente trabajo fue estandarizar la prueba de germinación estándar para emplearse como una herramienta en las pruebas de evaluación de microorganismos promotores de crecimiento vegetal. Para ello, suspensiones de cepas de bacterias y levaduras se añadieron a tacos de papel grado alimenticio, elaborados con semillas de maíz, que se colocaron en una cámara de germinación con temperatura, luz y tiempo controlados. Los resultados obtenidos fueron rápidos y confiables, obteniéndose que las cepas evaluadas de *Rhodotorula* y algunas de *Pseudomonas* incrementan el desarrollo de las plántulas de maíz. Por tanto, se considera que la prueba estándar de germinación de semillas es adecuada para realizar evaluaciones de microorganismos promotores de crecimiento vegetal durante la germinación de semillas.

### INTRODUCCIÓN

Los biofertilizantes son productos elaborados con microorganismos de muy diverso origen, desde la rizosfera de cultivos, suelos de diferente tipo y procedencia, endosfera y filosfera de plantas, agua dulce y salada, ecosistemas conservados, ambientes naturales extremos y ambientes alterados generados por actividades humanas; que mejoran la estructura del suelo y subsuelo, la disponibilidad de nutrientes de los minerales del suelo y la penetración del agua en el suelo; además, se ha propuesto que los biofertilizantes también incrementan la biodiversidad microbiana del suelo al romper la dormancia de los “bancos de semillas” microbianos existentes, debido a un refuerzo en la relación funcional biodiversidad-ecosistema (Bhardwaj et al., 2014; Seneviratne y Kulasooriya, 2013), este incremento en la biodiversidad de la comunidad microbiana fortalece la salud del suelo y controlan las enfermedades del cultivo. Los biofertilizantes son una de las mejores opciones para la generación de una agricultura sostenible, que impacte directamente en la seguridad y soberanía alimentaria del mundo.

Dentro de las evaluaciones realizadas en laboratorio, en condiciones *in vitro*, se incluye el empleo de diversos medios y caldos de cultivo para caracterizar fenotípicamente la capacidad de promoción de crecimiento vegetal de cepas microbianas previamente aisladas y purificadas. Esto incluye conocer la producción de metaloformas, fitohormonas, enzimas hidrolíticas, solubilización de nutrientes en estados no absorbibles por las plantas, participación en reacciones clave de los ciclos del nitrógeno y carbono, pruebas de antagonismo con microorganismos fitopatógenos, entre otros. Tomando en consideración que el espectro de pruebas realizadas no llega a cubrir todo el potencial

de promoción de crecimiento vegetal de los microorganismos, se realizan pruebas de germinación o crecimiento de plántulas y plantas, las cuales pueden desarrollarse adecuadamente en semillas/plantas pequeñas, como es el caso de la planta modelo *Arabidopsis thaliana* o plantas de alfalfa (*Medicago sativa*), entre otras. Sin embargo, las evaluaciones en semillas y plantas de mayor tamaño, como son las semillas de maíz (*Zea mays*), no pueden realizarse exitosamente en cajas de Petri o tubos de ensayo, lo que requiere el empleo de otro tipo de material, infraestructura y mayor tiempo. Así la prueba de germinación estándar, que se realiza con papel grado alimenticio, en aproximadamente 1 semana, al realizarse en condiciones de esterilidad puede dar resultados exitosos para corroborar el potencial de crecimiento vegetal de cepas seleccionadas en investigaciones enfocadas a la obtención de cepas para el desarrollo de biofertilizantes.

## TEORÍA

Dentro del concepto general de biofertilizante, hay cabida a otro tipo de productos, como bioinoculante y bioplaguicidas, debido a que son bioproductos de aplicación al campo que contienen una o varias cepas de microorganismos vivos. Estos microorganismos son promotores de crecimiento vegetal, y favorecen el desarrollo y rendimiento de los cultivos a través de mecanismos directos e indirectos que realizan al establecer diferentes tipos de relaciones simbióticas con las plantas hospederas.

Los mecanismos directos mejoran el estado nutricional de la planta al incrementar el volumen de exploración y funcionalidad de las raíces, la captación de agua, la disponibilidad y absorción de nutrientes y la fisiología de toda la planta (Kumar et al., 2015). Esto se lleva a cabo mediante la producción de reguladores de crecimiento, ácidos orgánicos, enzimas, metaloforos, vitaminas, y otros metabolitos secundarios que impactan directamente en el crecimiento de la planta. Dentro de ellos, las características más buscadas y evaluadas en las cepas microbianas son la solubilización de compuestos inorgánicos que contengan P, K y Fe, fijación biológica de N<sub>2</sub>, producción de ácido indol acético, ACC-desaminasa, metaloforos y enzimas hidrolíticas (Gouda et al, 2018; Grageda-Cabrera et al., 2012; Gravel et al., 2007; Lugtenberg y Kamilova, 2009; Moreno-Reséndez et al., 2018; Osman et al., 2010).

Por su parte, los mecanismos indirectos implican la protección contra estrés ocasionado por factores abióticos y bióticos. Dentro de la protección contra estrés biótico, uno de los principales aspectos es el control biológico contra fitopatógenos, el cual involucra la activación de la resistencia sistémica inducida o adquirida, inhibición de producción de biopelículas, interferencia en la señalización “quorum sensing”, activación de mecanismos de detoxificación de factores de virulencia, y la producción de enzimas líticas, antibióticos, compuestos volátiles, lipopéptidos, fenazinas, pirrolnitrina, sideróforos y bactericinas (Moreno-Reséndez et al., 2018; Saraf et al, 2014; Shameer y Prasad, 2018). También se considera la tolerancia sistémica inducida al estrés, esto es hacia: acidez, alcalinidad o salinidad del suelo, sequía, radiación solar, temperaturas extremas, toxicidad de metales pesados, o desequilibrio nutricional, que involucra mecanismos como producción de ACC desaminasa, reducción en la producción de etileno, modificación en el contenido de fitohormonas, inducción de síntesis de enzimas vegetales, antioxidantes y acumulación de osmolitos, producción de polisacáridos extracelulares y biopelículas, disminución en la absorción de exceso de nutrientes y metales pesados, inducción de genes de resistencia al estrés abiótico y alteraciones en la morfología de las raíces (Enebe y Babalola, 2018; Etesamia y Maheshwarib, 2018; Shameer y Prasad; 2018; Vurukonda et al., 2016); específicamente en ambientes áridos se induce la resiliencia y resistencia a sequía, acumulando además de osmolitos, aminoácidos, poliaminas, además de la producción de proteínas “heat-shock”, dehidrinas y compuestos orgánicos volátiles (Kaushal y Wani, 2015).

Las evaluaciones sobre el efecto de microorganismos promotores de crecimiento vegetal, durante la germinación o crecimiento de las primeras fases de crecimiento vegetal, generalmente se desarrollan en cajas de Petri o en sustrato, considerando la inoculación previa de las semillas con los microorganismos de interés, como lo reportan Nezarat y Gholami (2008) con semillas de maíz inoculadas directamente con suspensiones bacterias de cepas de *Azospirillum*, *Azotobacter* y *Pseudomonas*; así también como la inoculación del medio de crecimiento en las que se colocan las semillas del cultivo de interés, como lo reportan Yahaghi et al (2019) para evaluar el efecto de bacterias promotoras de crecimiento vegetal durante la germinación de semillas de alfalfa en



presencia de metales pesados, también la evaluación en medio de cultivo de semillas de *A. thaliana* previamente inoculadas con la cepa *Pseudomonas* sp. PS01 (Chu et al., 2019); así como la evaluación en cajas de Petri cuadradas de semillas de maíz realizado por Noumavo et al. (2013). Sin embargo, las evaluaciones realizadas en cajas de Petri pueden no proporcionar el espacio y tiempo suficiente para observar el efecto de los microorganismos durante la germinación, y muchas veces la inoculación directa de las semillas puede ocasionar la inhibición de la germinación, por efecto de la producción de fitohormonas u otro metabolito por parte de las cepas microbianas.

### PARTE EXPERIMENTAL

Los microorganismos evaluados corresponden a las cepas bacterianas: *Pseudomonas* sp. 14BT34, *Pseudomonas* sp. 6BT24 y *Pseudomonas* sp. 22BT24, aisladas de la rizosfera de maíz raza amarillo zamorano, y las cepas de levaduras *Rhodotorula* sp. YER35 y *Rhodotorula* sp. RYER27, aisladas de la rizosfera de maíz raza elotes cónicos. Las 5 cepas han sido evaluadas previamente y se conocen como potenciales promotores de crecimiento vegetal.

Bajo condiciones de esterilidad, 25 semillas de la variedad de maíz H-377 de INIFAP, se lavaron con jabón, desinfectaron en gas cloro (3.5 ml de HCl 12 N en 100 ml de NaClO 5.25%) por 8 hr, se enjuagaron 6 veces en agua destilada estéril, y se colocaron sobre la mitad de una hoja de papel grado alimenticio estéril de 24x41 cm, en forma de hileras alternadas. Posteriormente, las semillas se cubrieron con la otra mitad de la hoja de papel, y éste se enrolló en forma de "taco", los rollos de papel se colocaron sobre un contenedor de plástico estéril; a cada rollo se le añadieron desde la parte superior 15 ml de una suspensión bacteriana o de levaduras al 0.5 del nefelómetro de McFarland. Los contenedores se cubrieron con bolsas de plástico y se incubaron a 25 °C en una cámara de germinación, bajo un ciclo de 14h de luz/ 10 h de oscuridad. Se consideró como control 4 "tacos" a los que se les adicionó agua estéril; se realizaron 4 repeticiones de cada tratamiento. Después de 1 semana, los parámetros que se registraron de cada tratamiento fueron: largo de planta y raíz, y número de raíces, plantas normales, plantas anormales y semillas muertas. Con los resultados obtenidos se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de separación media de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

### RESULTADOS

Los resultados de la prueba del efecto de cepas de bacterias y levaduras con potencial de crecimiento vegetal sobre la germinación de semillas de maíz se obtuvieron en 1 semana. Los parámetros evaluados fueron suficientes para seleccionar las cepas que promovieron la germinación de semillas de maíz de la variedad H-377 (Figuras 1 y 2); esto es, estimularon la germinación, el desarrollo de las plantas y posiblemente disminuyeron daños ocasionado por fitopatógenos de transmisión vertical o procesos fisiológicos por falta de la producción algún metabolito secundario, como fitohormonas, entre otros.

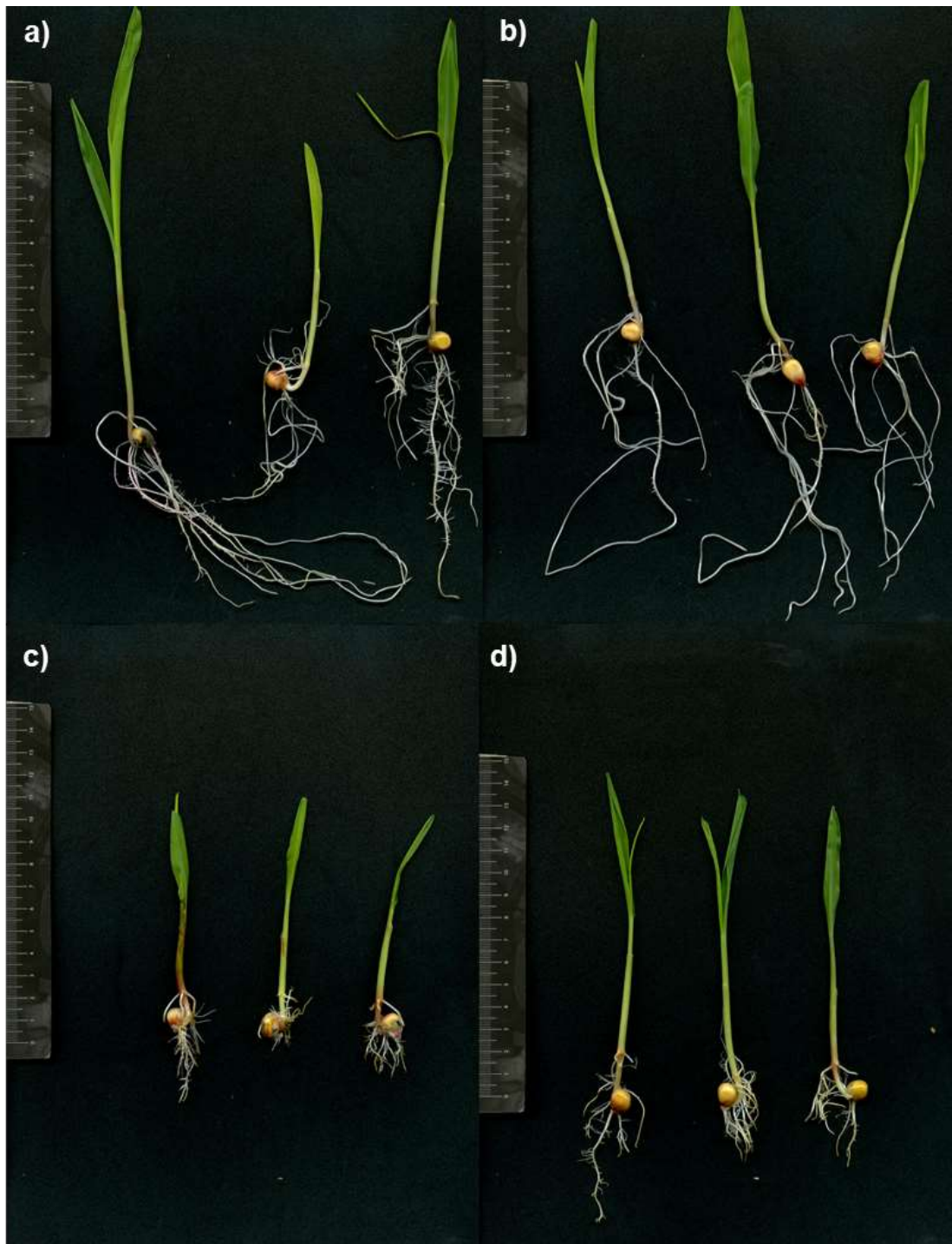


Figura 1. Plántulas de la evaluación de la prueba de germinación de semillas de maíz de la variedad H-377, para conocer el efecto de microorganismos promotores de crecimiento vegetal, a) *Rhodotorula* sp. YER35, b) *Pseudomonas* sp. 22BT24, c) *Pseudomonas* sp. 6BT24, d) control.

Los resultados demuestran que la cepa bacteriana con los mejores resultados obtenidos fue la cepa *Pseudomonas* sp. 22BT24, y entre las levaduras la cepa *Rhodotorula* sp. YER35, ya que correspondieron a las cepas que incrementaron en mayor proporción el largo de planta y raíz, así como el número de raíces, plantas normales, y disminuyeron en mayor medida el número de plantas

anormales y semillas muertas. Es importante señalar que la cepa *Pseudomonas* sp. 6BT24 a pesar de haber incrementado el número de plantas normales y raíces, así como disminuir el número de plantas anormales y semillas muertas, disminuyó considerablemente el largo de la planta y de la raíz, por lo que no se considera una cepa idónea para la promoción del crecimiento vegetal en plantas de maíz (Figuras 1 y 2), por lo que posiblemente corresponda a una cepa fitopatógena. Las cepas *Rhodotorula* sp. RYER27 y *Pseudomonas* sp. 14BT34 obtuvieron buenos resultados en la evaluación, únicamente la cepa *Pseudomonas* sp. 14BT34 disminuyó el largo de la planta.

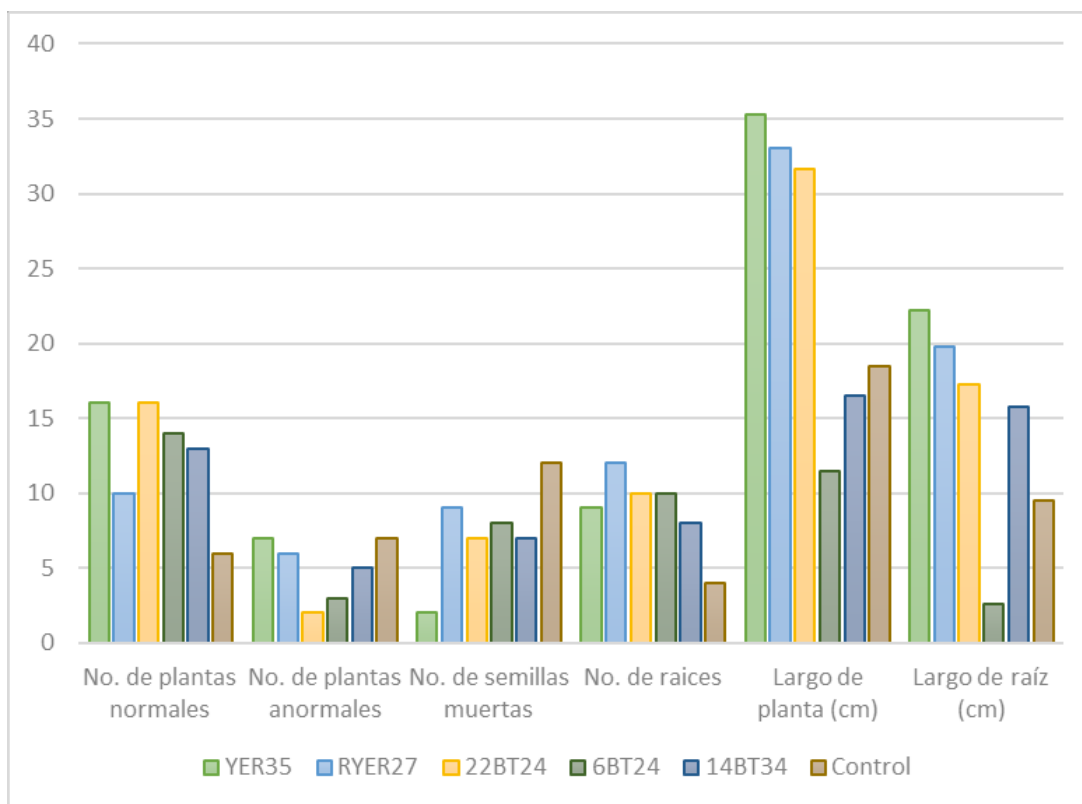


Figura 2. Promedio de los parámetros considerados en la evaluación de la prueba de germinación de semillas de maíz de la variedad H-377, para conocer el efecto de microorganismos promotores de crecimiento vegetal, YER35= *Rhodotorula* sp. YER35, RYER27= *Rhodotorula* sp. RYER27, 22BT24= *Pseudomonas* sp. 22BT24, 6BT24= *Pseudomonas* sp. 6BT24, 14BT34= *Pseudomonas* sp. 14BT34.

## CONCLUSIONES

La prueba estándar de germinación de semillas, realizada en condiciones de esterilidad, es adecuada para realizar evaluaciones de microorganismos promotores de crecimiento vegetal durante la germinación de semillas de maíz. En las evaluaciones realizadas se seleccionaron las cepas *Pseudomonas* sp. 22BT24 y *Rhodotorula* sp. YER35 como las mejores promotoras de crecimiento vegetal para el cultivo de maíz, al ser las que incrementaron en mayor proporción el largo de planta y raíz, así como el número de raíces, plantas normales, y el menor número de plantas anormales y semillas muertas.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Bhardwaj D, Ansari MW, Sahoo RK, Tuteja N. 2014. Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. *Microbial Cell Factories*. 13: 66.

2. Chu TN, Tran BTH, Van-Bui L, Thanh-Hoang MT. 2019. Plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas* PS01 induces salt tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Res Notes* 12:11.
3. Enebe MC, Babalola OO. 2018. The influence of plant growth-promoting rhizobacteria in plant tolerance to abiotic stress: a survival strategy. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 102: 7821-7835.
4. Etesami H., Maheshwari DK. 2018. Use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) with multiple plant growth promoting traits in stress agriculture: action mechanisms and future prospects. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 156: 225-246.
5. Gouda S, Kerry RG, Das G, Paramithiotis S, Shin HS, Patra JK. 2018. Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. *Microbiological Research*. 206: 131-140.
6. Grageda-Cabrera OA, Díaz-Franco A, Peña-Cabriales JJ, Vera-Nuñez JA. 2012. Impacto de los biofertilizantes en la agricultura. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 3: 1261-1274.
7. Gravel V, Antoun H, Tweddell RJ. 2007. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA). *Soil Biology and Biochemistry*. 39: 1968-1977.
8. Kaushal M, Wani SP. 2016. Plant-growth-promoting rhizobacteria: drought stress alleviators to ameliorate crop production in drylands. *Annals of Microbiology*. 66: 5-42.
9. Kumar A, Bahadur I, Maurya BR, Raghuwanshi R, Meena VS, Singh DK, Dixit J. 2015. Does a plant growth-promoting rhizobacteria enhance agricultural sustainability? *Journal of Pure and Applied Microbiology*. 9: 715-724.
10. Lugtenberg B, Kamilova F. 2009. Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology*. 63: 541-556.
11. Moreno-Reséndez A, Carda-Mendoza V, Reyes-Carrillo JL, Vásquez-Arroyo J, Cano-Ríos P. 2018. Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de biofertilización para la agricultura sustentable. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 20: 68-83.
12. Nezarat S, Gholami A. 2009. Screening plant growth promoting rhizobacteria for improving seed germination, seedling growth and yield of maize. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 12: 26.
13. Noumavo PA, Kochoni E, Didagbé YO, Adjanohoun A, Allagbé M, Sikirou R., Gachomo EW, Kotchoni SO, Baba-Moussa, L. 2013. Effect of different plant growth promoting rhizobacteria on maize seed germination and seedling development. *American Journal of Plant Sciences*, 4:1013-1021.
14. Osman MB, Abdulhamid A, Mohammad N, Wan MWY. 2010. Comparison of different delivery system of *Trichoderma* y *Bacillus* as biofertilizer. *Advances in Environmental Biology*. 4: 31-33.
15. Saraf M, Pandya U, Thakkar A. 2014. Role of allelochemicals in plant growth promoting rhizobacteria for biocontrol of phytopathogens. *Microbiological Research*. 169: 18-29.
16. Seneviratne G, Kulasoorya SA. 2013. Reinstating soil microbial diversity in agroecosystems: the need of the hour for sustainability and health. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 164: 181-182.
17. Shameer S, Prasad TNVKV. 2018. Plant growth promoting rhizobacteria for sustainable agricultural practices with special reference to biotic and abiotic stresses. *Plant Growth Regulation*. 84: 603-615.
18. Yahaghi Z, Shirvani M, Nourbakhsh F, Pueyo JJ. 2019. Uptake and effects of lead and zinc on alfalfa (*Medicago sativa* L.) seed germination and seedling growth: Role of plant growth promoting bacteria. *South African Journal of Botany*. 124:573-582.
19. Vurukonda SSKP, Vardharajula S, Shrivastava M, SkZ A. 2016. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiological Research*. 184:13-24.

## RESIDUOS DE INFLORESCENCIAS COMO ALTERNATIVA ANTIMICROBIANA

Silvia A. Pineda-Nieto, Claudia Gutiérrez-Antonio, Ana Angélica Feregrino-Pérez\*,

Universidad Autónoma de Querétaro, Cerro de las Campanas S/N. Col. Las Campanas, Santiago de Querétaro. Qro. CP 76010

\*Correo de correspondencia: feregrino.angge@hotmail.com / geli@uaq.mx

### RESUMEN

El abuso de antibióticos ha generado resistencia microbiana, razón por la cual tanto el sector salud como la industria alimentaria están en búsqueda de alternativas que ayuden en la batalla contra los microorganismos patógenos. El uso de plantas con fines fitoterapéuticos es milenaria; sin embargo, el uso de los residuos de plantas para este fin aún es limitado. En particular, los residuos de inflorescencias pueden ser una alternativa viable y sustentable para la obtención de compuestos con actividad antimicrobiana; estos residuos son una de las principales biomásas no reutilizables a nivel mundial, pese a presentar diversos tipos de bioactividad. Las flores de Jacaranda (*Jacaranda mimosifolia*) son una biomasa rica en antioxidantes, que es utilizada en países de América Latina para tratar diversas enfermedades como la malaria; sin embargo, en México sólo tiene uso ornamental en calles y avenidas de diversas ciudades. Por ello, se propuso la evaluación de la capacidad antimicrobiana de los extractos acuoso y metanólico obtenidos de flores de jacaranda contra *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* y *Staphylococcus aureus*. Los resultados indican que existe una selectividad microbiana inhibitoria dependiente de la naturaleza del extracto; también se observa una relación proporcional entre la inhibición del microorganismo y la concentración evaluada para *E. coli* y *S. aureus* en el extracto metanólico. Por otra parte, para el extracto acuoso esta relación sólo se observó en *S. aureus*. La concentración más elevada (2000 ppm) de ambos extractos no presentó diferencia significativa en el porcentaje obtenido del halo de inhibición de los microorganismos evaluados, con excepción de *E. coli*. Por otra parte, el extracto metanólico presentó una mayor proporción de compuestos polifenólicos en comparación al extracto acuoso. En conclusión, se encontró un efecto inhibitorio sobre los microorganismos evaluados en ambos tipos de extractos; no obstante, las concentraciones evaluadas no son suficientes para atribuírseles la capacidad antimicrobiana.

Palabras clave: *Inflorescencia de Jacaranda*, *Polifenoles*, *Antimicrobianos*

### INTRODUCCIÓN

Se estima que las plantas producen más de 100 mil tipos de compuestos de bajo peso molecular a los cuales se les ha denominado como metabolitos secundarios. Este tipo de metabolitos ayudan a la planta en diversos procesos entre los cuales se encuentran el repeler plagas, animales e insectos, así como mejorar sus defensas contra diversos microorganismos<sup>1</sup>. El uso de plantas para combatir a diversos microorganismos data de hace miles de años, sin embargo, en años recientes las investigaciones sobre este tipo de propiedades biológicas se ha incrementado derivado del uso indiscriminado de los antibióticos y la creciente resistencia microbiana. Si bien las plantas son una fuente importante de nuevos fármacos que luego pueden ser sintetizados o bien utilizarse como fitofármacos<sup>2</sup> aún falta mucho investigación por realizar, aunado a lo anterior, poco es lo que se sabe sobre los residuos generados por las plantas. De manera tradicional los estudios sobre las plantas con propiedades antimicrobinas o cualquier tipo de actividad biológica incluyen prácticamente cualquier parte de la planta, sin embargo, los trabajos sobre los residuos o partes no aprovechables y su aporte biológico de estos son muy escasos.

En los últimos años el aumento poblacional y los cambios en la sociedad han generado que la demanda de productos naturales por parte de los consumidores se incremente, así como se busquen terapias coadyuvantes para tratar la resistencia a microorganismos es por ello que tanto el sector salud como la industria de los alimentos buscan estrategias más naturales que les ayuden a combatir microorganismos patógenos. En este sentido, los extractos vegetales con propiedades antioxidantes y antimicrobianas pueden constituir una fuente de muchas aplicaciones. Dentro de la medicina tradicional las flores son ampliamente utilizadas por presentar un alto contenido de compuestos polifenólicos<sup>3</sup>. Los polifenoles son capaces de reducir los daños oxidativos producidos por las

especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, aumentando la vida útil de los alimentos además de que contribuyen en la actividad antimicrobiana mediante diversos mecanismos como la inhibición de la proliferación de microorganismos patógenos<sup>4,5</sup>.

La Jacaranda es un miembro de la familia *Bignoniaceae* Juss., planta endémica de América del Sur que se distribuye en diversas áreas tropicales del mundo<sup>6</sup>. Se ha reportado que diversas especies de esta familia son utilizadas dentro de la medicina tradicional, y que algunas presentan actividad antimicrobiana<sup>7</sup>.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Obtención del material biológico

El material biológico se obtuvo de diferentes puntos del centro universitario bajo las coordenadas 20° 35'28''N 100° 24'36''O. Los residuos de las inflorescencias presentaron estado de maduración y coloración homogéneo. Los residuos de inflorescencias fueron colectadas, limpiadas lavadas, secadas y congeladas para su posterior liofilización. Una vez liofilizadas fueron molidas y colocadas en bolsas de papel debidamente etiquetadas y resguardadas de la luz hasta su análisis. La figura 1 indica el diagrama general de la parte experimental.

### Extracción acuosa y metanólica

Los extractos de los residuos de las inflorescencias de jacaranda se obtuvieron mediante interaccionaron con los disolventes durante 24 hrs en agitación continua a temperatura ambiente, bajo ausencia de luz para evitar degradación de los compuestos de interés de acuerdo a la metodología establecida por Feregrino-Pérez<sup>8</sup>. Posteriormente, las muestras fueron centrifugadas a 6,000 g por 10 minutos. El sobrenadante fue almacenado a -80° C en oscuridad hasta el momento de las determinaciones.

### Determinación de Polifenoles totales

La determinación de los polifenoles totales en ambos extractos metanólico y acuoso de las inflorescencias de jacaranda, se realizó mediante técnicas colorimétricas acopladas a microplaca, para ello se utilizó un Multiskan Go modelo 51119300; Thermo Scientific, Vantaa, Finland. Los análisis se realizaron por cuadruplicado, calculando los datos a partir una curva de calibración ácido gálico para fenoles totales<sup>9</sup>, (+) Catequina para Taninos condensados<sup>8</sup>, y Rutina<sup>10</sup> para flavonoides totales.

### Actividad Antimicrobiana

Los microorganismos que fueron utilizados para evaluar la actividad antimicrobiana de los extractos metanólico y acuoso de las inflorescencias de jacaranda a concentraciones de 500, 1000 y 2000 ppm respectivamente; por el método modificado de difusión de agar en disco fueron *Escherichia coli* ATCC 28922, *Salmonella typhimurium* ATCC 25923 y *Staphylococcus aureus* ATCC 14028. Se utilizó Gentamicina como control positivo, así como metanol y/o agua destilada como control negativo respectivamente.

### Análisis estadístico

Los resultados fueron presentados como la media de cuatro repeticiones independientes  $\pm$  Error estándar. El análisis estadístico se llevó a cabo por análisis de varianza (ANOVA) con un p-valor menor o igual a 0.05., se utilizó el test de Tukey.

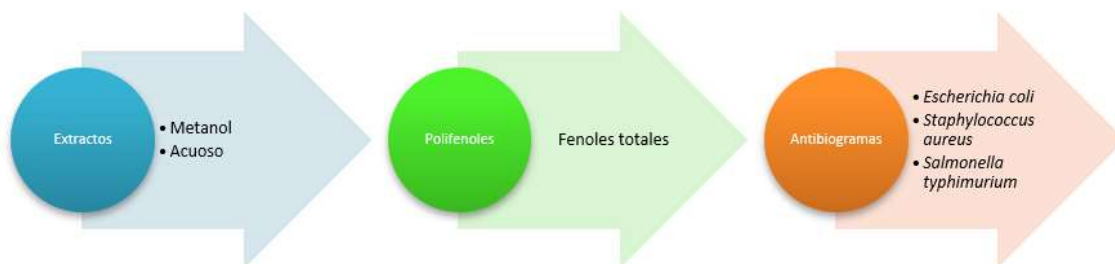


Figura 1. Diagrama general de la parte experimental

**RESULTADOS**

Los resultados indican que el extracto metanólico contiene una mayor cantidad de compuestos de tipo polifenólico y presentan diferencia estadística en comparación al extracto acuoso (Figura 2).

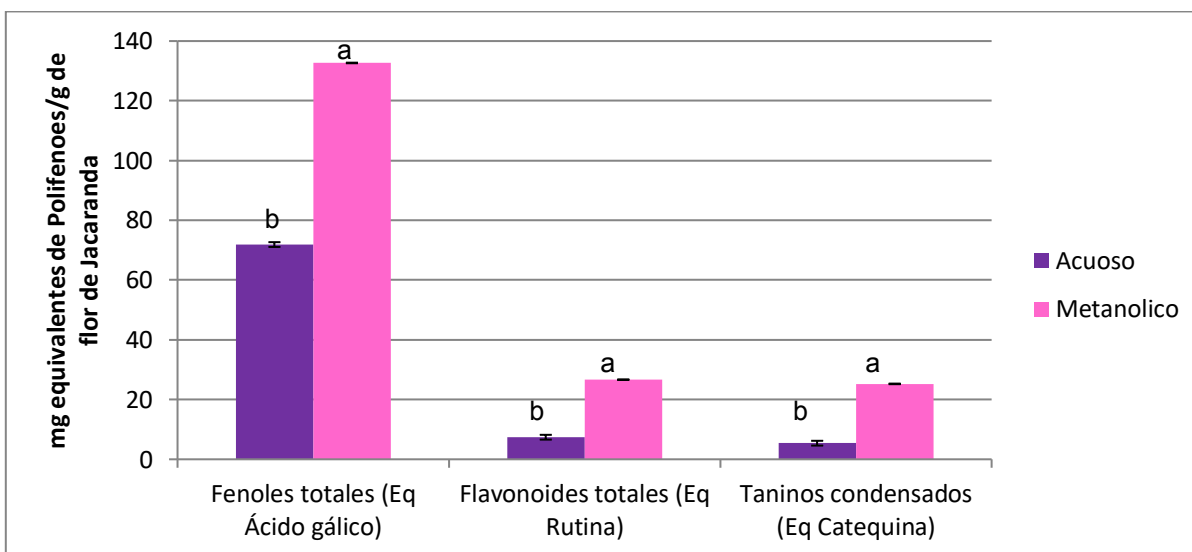


Figura 2. Cuantificación de compuestos polifenólicos en extractos acuoso y metanólico de residuos de flor de jacaranda. Los valores representan la media de cuatro experimentos independientes p-valor menor o igual a 0.05 con test de Tukey.

Por otra parte en la actividad antimicrobiana se observó un mayor porcentaje de inhibición con el extracto metanólico en comparación al extracto acuoso, siendo esta proporcional al incrementar la concentración en ppm evaluadas de cada uno de los extractos como se observa en la Tabla 1.

**Tabla 1. Determinación de la actividad antimicrobiana**

Microorganismo	Extracto Concentración					
	500 ppm		1000 ppm		2000 ppm	
	Acuoso	Metanólico	Acuoso	Metanólico	Acuoso	Metanólico
<i>Escherichia coli</i> ATCC 28922	7.40%	6.40%	4.70%	9.40%	9.50%	17.20%
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 25923	5.30%	4.50%	3.70%	3.20%	13.80%	17.10%
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 14028	10.30%	9.30%	12.03%	12.20%	13.14%	15.50%

El porcentaje representa el promedio de dos experimentos independientes con cuatro repeticiones con un tiempo de contacto de 30 s. no hubo diferencia en los tiempos de contacto de 30 s, 2 y 5 minutos.

### CONCLUSIONES

Se observó una selectividad microbiana inhibitoria dependiente de la naturaleza del extracto; así como una relación proporcional entre la inhibición del microorganismo y la concentración evaluada; no obstante, las concentraciones evaluadas no son suficientes para atribuírseles la capacidad antimicrobiana. Por otra parte, el extracto metanólico presentó una mayor proporción de compuestos polifenólicos en comparación al extracto acuoso lo que posiblemente contribuye a la actividad inhibitoria presentada en los microorganismos evaluados.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Dixon, R.A. Natural products and plant disease resistance. *Nature*. 2001;411: 843-847.
2. Vivot, E., Sánchez, C., Cacik, F., Sequin, C. Actividad antibacteriana en plantas medicinales de la flora de Entre Ríos (Argentina). *Cienc. docencia tecnol.*, 2012;45: 177-189.
3. Li, An-Na., Sha, Li., Hua-Bin, Li., Dong-Ping, Xu., Xiang-Rong, Feng, Xu., Chen. Total phenolic contents and antioxidant capacities of 51 edible and wild flowers. *J. Funtional Foods*. 2014; 6: 319–330
4. Aruoma, I.O. 1998. Free radicals, oxidative stress and antioxidants in human health and disease. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 1998;75:199-212.
5. Delgado-Adámez, J., Gamero, E., Valdés, E. and González-Gómez, D. 2012. In vitro estimation of the antibacterial activity and antioxidant capacity of aqueous extracts from grape-seeds (*Vitis vinifera* L.). *Food Control*. 2012;24:136–141
6. Sanchez, J.L. Arboles ornamentales. Obtenido de Arboles ornamentales. 2011 <http://www.arbolesornamentales.es/Jacaranda%20mimosifolia.pdf>.
7. Khamsan, N.S.L.S., 2012. The isolation of bioactive flavonoids from Jacaranda obtusifolia H. B. K. ssp. rhombifolia (G. F. W. Meijer) Gentry. *Acta Pharm.* 2012;62:181–190.
8. Feregrino-Perez, A.A., Berumen, L.C., García-Alcocer, G., Guevara-Gonzalez, R.G., Ramos-Gomez, M., Reynoso-Camacho, R., Acosta-Gallegos, J.A., Loarca-Piña, G. Composition and chemopreventive effect of polysaccharides from common vean (*Phaseolus vulgaris* L.) on azoxymethane-induced colon cancer. *J. Agric. Food Chem.* 2008;56: 8737–8744.
9. Singleton, V.L., Rossi, J.A. Colorimetry of total phenolic with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 1965;16: 144–158.
10. Oomah, B.A.-M.-P. Phenolics and antioxidative activities in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Sci. Food Agric.* 2005;935–942.



## IDENTIFICACIÓN DE HONGOS OCRATOXIGÉNICOS Y LEVADURAS EN ALIMENTOS EXTRUIDOS PARA CANINOS DOMÉSTICOS (*CANIS LUPUS FAMILIARIS*).

Zaira Vianey Aguado Andrade, Karla Ivonne González Martínez, Gerardo Vázquez Marrufo,  
Virginia Angélica Robinson Fuentes

División de Estudios de Posgrado, Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez”,  
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

1026500d@umich.mx.

Las ocratoxinas son micotoxinas producidas por especies fúngicas del género *Aspergillus* y *Penicillium*, las cuales presentan actividad nefrotóxica e inmunosupresora, siendo la más tóxica y frecuente la ocratoxina A (OTA). Se encuentra comúnmente en granos de cereales almacenados en una gran variedad de climas<sup>1</sup>. Aunque los perros pertenecen al Orden Carnivora, los alimentos extruidos suelen contener cantidades relativamente altas de cereales desde el proceso de extrusión<sup>2</sup>. Durante la fabricación de alimentos concentrados, la materia prima puede estar contaminada con las esporas del hongo, especialmente cuando los granos de cereales son molidos; sin embargo, existe poca información referente a la contaminación fúngica y por micotoxinas en los alimentos para mascotas, especialmente para perros<sup>3</sup>. Los probióticos son organismos vivos que cuando son administrados en cantidades adecuadas confieren un beneficio para la salud del hospedero, no obstante, no deben ser patógenos para los animales y deben ser resistentes a los procesos de elaboración de alimentos y piensos<sup>4</sup>. El objetivo de este estudio es evaluar el grado de contaminación por hongos ocratoxigénicos y levaduras viables presentes en alimentos extruidos para caninos domésticos dentro del estado de Michoacán. Para ello, se recolectaron 25 muestras de diversas marcas de alimentos extruidos en empaque sellado y 25 muestras a granel disponibles en diversos establecimientos de la ciudad de Morelia, Michoacán. Los empaques de alimentos seleccionados fueron mezclados individualmente obteniendo una muestra representativa de 500 g. Las muestras representativas fueron mezcladas nuevamente y se pesaron 200 g de cada muestra para ser sometidas a un proceso de molienda. Se pesaron 250 mg de cada muestra de croquetas molidas para posteriormente ser vertidas y distribuidas respectivamente sobre placas con medio de cultivo de agar papa y dextrosa. Posteriormente, las muestras fueron inoculadas al duplicado para después incubarse a una temperatura de  $28 \pm 2$  °C durante 5 a 7 días. Se encontró una mínima presencia de especies fúngicas y levaduras en algunas de las muestras evaluadas de empaque sellado. Sin embargo, las muestras a granel si contenían una considerable contaminación fúngica. El empleo de altas temperaturas para el procesamiento de estos alimentos ocasiona que los probióticos contenidos sean degradados. Así mismo, la ausencia de especies descritas como toxigénicas en muestras de alimentos, no significa que no se encuentren micotoxinas en las mismas, debido a que las toxinas fúngicas pueden persistir después de la muerte de la forma vegetativa del hongo por procesos industriales en la producción del alimento<sup>3</sup>. Es importante conocer la presencia de OTA mediante métodos analíticos para determinar el grado de exposición a la toxina en perros y, de ser necesario, tomar medidas preventivas que incidan en la protección de la salud de las mascotas.

### INTRODUCCIÓN

La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) estima que una cuarta parte de los alimentos producidos a nivel mundial se encuentran contaminados con micotoxinas, causando pérdidas económicas significativas y que representan una seria amenaza para la salud humana y animal<sup>5</sup>. Los límites regulatorios para las micotoxinas comunes han sido recomendados por organizaciones como la Food and Drug Administración (FDA) de Estados Unidos y por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA).

Las micotoxinas son productos secundarios, altamente tóxicos, del metabolismo de los hongos y se encuentran en alimentos convencionales como los cereales. Están relacionadas con diversos efectos adversos en la salud humana y animal. Las micotoxinas comúnmente implicadas y asociadas con problemas de salud animal incluyen a la aflatoxina (AF), la fumonisinas (FB), la ocratoxina A, los tricotecenos y la zearalenona (ZEA)<sup>6</sup>.

En el mercado de los alimentos para mascotas, los dueños muestran un gran interés en alimentar correctamente a su perro; sin embargo, una buena parte de la mercadotecnia ha manipulado los conceptos de nutrición canina a la conveniencia de sus marcas<sup>7</sup>. En México, existen diversas marcas comerciales de alimentos extruidos que aseguran cumplir los requerimientos nutricionales de las mascotas, con un buen control de calidad. Sin embargo, se desconoce si realmente se emplean ingredientes de calidad para garantizar alimentos libres de micotoxinas.

Durante la fabricación de alimentos concentrados, la materia prima puede estar contaminada con las esporas del hongo, especialmente cuando los granos de cereales son molidos; sin embargo, existe poca información referente a la contaminación fúngica y por micotoxinas en los alimentos para mascotas, especialmente para perros. Los probióticos son organismos vivos que cuando son administrados en cantidades adecuadas confieren un beneficio para la salud del hospedero, no obstante, no deben ser patógenos para los animales y deben ser resistentes a los procesos de elaboración de alimentos y piensos<sup>4</sup>.

En los últimos años, las ocratoxinas y en particular la ocratoxina A, han recibido una especial atención, debido a su elevada toxicidad. Es producida por hongos de los géneros *Penicillium* y *Aspergillus* y se encuentra comúnmente en granos de cereales almacenados en una gran variedad de climas<sup>1</sup>. La ingestión de alimentos contaminados con esta micotoxina da lugar a la aparición de un efecto tóxico renal en todas las especies de mamíferos monogástricos que la consumen<sup>8</sup>. La nefrotoxicidad provocada por el consumo de OTA presenta las siguientes características: poliuria, glucosuria, proteinuria y enzimuria. Se ha relacionado con enfermedades graves, como la "Nefropatía Endémica de los Balcanes" (NEB) o tumores en el tracto urinario en personas y la "Nefropatía Espontánea Porcina" o la "Nefropatía Aviar" en los animales, encontrando una concentración elevada de OTA en alimentos, plasma y orina<sup>1</sup>.

En la presente investigación se pretende evaluar el grado de contaminación por hongos ocratoxigénicos y levaduras viables presentes en alimentos extruidos para caninos domésticos dentro del estado de Michoacán.

## TEORÍA

- Síntesis de la OTA en hongos.

La ocratoxina A es producida por varias especies de hongos de los géneros *Penicillium* y *Aspergillus*. Se consideran *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium verrucosum* y *P. viricatum*, los principales productores de ocratoxina A en alimentos debido a su gran facilidad de dispersión y crecimiento<sup>9</sup>.

Los hongos del género *Aspergillus* son hongos filamentosos saprofitos que causan el deterioro de muchos productos alimenticios, además de que los productos metabólicos de la invasión fúngica suelen ser muy tóxicos y representan un riesgo para la salud. Los hongos de este género se multiplican rápidamente sobre materia vegetal almacenada o en descomposición, sobre todo de interés agro-alimentario (cereales, frutas, semillas, etc.), y en un amplio intervalo de temperatura, humedad y aerobiosis, contaminando así muchos sustratos<sup>10</sup>.

Los hongos del género *Penicillium* están conformados por hifas septadas de amplia distribución por todo el mundo y considerados saprofitos. Dentro del género *Penicillium*, la producción de OTA se detectó inicialmente en *Penicillium viridicatum* y posteriormente en otras especies<sup>11</sup>.

- Condiciones ambientales que favorecen el crecimiento de hongos micotoxigénicos.

Debido a su crecimiento lento y a su baja competitividad, los hongos y levaduras se manifiestan en los alimentos donde el crecimiento bacteriano es menos favorable. Estas condiciones pueden ser bajos niveles de pH, baja humedad, alto contenido en sales o carbohidratos, baja temperatura de almacenamiento, la presencia de antibióticos, o la exposición del alimento a la irradiación. Los hongos y levaduras pueden utilizar ciertos sustratos como pectinas, carbohidratos como polisacáridos, ácidos orgánicos, proteínas y lípidos. También pueden causar problemas a través de: (a) síntesis de metabolitos tóxicos (micotoxinas), (b) resistencia al calor, congelamiento, antibióticos o irradiación y (c) habilidad para alterar sustratos no favorables permitiendo el crecimiento de bacterias patógenas. Pueden también causar malos olores y sabores y la decoloración de las superficies de alimentos<sup>12</sup>.

La distribución de las especies productoras de OTA mencionadas, y la propia producción de la toxina, están influidas por factores climáticos, por el hospedador, por las condiciones ambientales, daños

físicos a las cosechas producidos por golpes, ataques de insectos, roedores, aves, entre otros<sup>11</sup>. Se debe tener en cuenta que la variación del crecimiento fúngico, dependerá de una serie de factores, principalmente de aquellos relacionados con la humedad, presencia de ambientes ventilados, cambios climáticos, integridad de las materias primas y/o daño mecánico antes y después de las cosechas; parámetros que determinan el posible grado de contaminación fúngica en los alimentos concentrados para perros<sup>3</sup>.

- Consumo de alimentos comerciales para caninos.

La mayor parte de los alimentos secos existentes en el mercado son sometidos a un proceso de cocinado denominado "extrusión". Durante este proceso, la mezcla de ingredientes es sometida a una humedad del 15-30% antes de ser introducidos en un circuito giratorio a alta temperatura, en el que la fricción causada por la presión aplicada hace que aumente la temperatura por encima de los 100 °C<sup>10,13</sup>.

Las marcas de alimento para perro agregan, en mayor o menor medida, carbohidratos y, dependiendo de la fórmula, pueden utilizar maíz, trigo, arroz, cebada, sorgo, entre otros ingredientes. En algunos casos también incluyen fibras solubles como la inulina y los oligosacáridos, así como probióticos y prebióticos para ayudar al funcionamiento digestivo<sup>14</sup>. Las levaduras son hongos no filamentosos que son incorporadas a las dietas con el propósito de mejorar la salud y sobre todo el desempeño de los animales, la utilización de las levaduras beneficia al hospedero en que pueden actuar como probióticos o prebióticos<sup>12,15</sup>.

- Contaminación de alimentos extruidos para perros.

Aunque los perros y los gatos pertenecen a la Orden Carnívora, los alimentos extruidos para mascotas suelen contener cantidades relativamente altas de cereales y subproductos de cereales desde el proceso de extrusión<sup>2</sup>. Sin embargo, a pesar de que las condiciones particulares de este procesamiento se caracterizan por emplear altas presiones y temperaturas, reducir la humedad de los alimentos y almacenar herméticamente al pellet para protegerlo de la contaminación y el desarrollo de hongos, no llegan a degradar/inactivar a las micotoxinas que posiblemente contaminan los ingredientes en bruto<sup>13,16</sup>.

Los hongos y las levaduras se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente, pueden encontrarse como flora normal de un alimento, o como contaminantes en equipos mal sanitizados. Ciertas especies de hongos y levaduras son útiles en la elaboración de algunos alimentos; sin embargo, también pueden ser causantes de la descomposición de otros alimentos<sup>12</sup>.

La industria procesadora de alimentos concentrados para animales debe garantizar que sus productos contengan micotoxinas por debajo de los límites toxicológicos establecidos<sup>17</sup>. La mejor manera de evitar problemas de contaminación por las toxinas fúngicas es a través de la prevención. Más allá de las consecuencias perjudiciales para los resultados económicos y la reputación en la industria de los alimentos, la contaminación por micotoxinas plantea graves riesgos para la salud de los animales domésticos y seres humanos, ya que la contaminación de los alimentos para animales puede ser más relevante en las mascotas de compañía debido a que se mantienen y alimentan por períodos de tiempo más largos que los animales de granja y, por lo tanto, son más vulnerables a la exposición crónica a los tóxicos. Aunque el conocimiento actual sobre los efectos toxicológicos en estas especies es limitado, la OTA puede ser un factor ambiental asociado con la enfermedad renal crónica (ERC) en animales y humanos<sup>6,18</sup>.

## PARTE EXPERIMENTAL.

Se recolectaron 25 muestras de diversas marcas de alimentos extruidos en empaque sellado y 25 muestras a granel disponibles en diversos establecimientos de la ciudad de Morelia, Michoacán. Los empaques de alimentos seleccionados fueron abiertos para posteriormente mezclarse individualmente obteniendo una muestra representativa de 500 g, la cual fue tomada de 5 sitios diferentes del mismo empaque (4 de los extremos y uno del centro), considerando que la distribución de hongos ocratoxigénicos y levaduras se encuentra dispersa de manera heterogénea. Las muestras representativas fueron mezcladas nuevamente y se pesaron 200 g de cada muestra para ser sometidas a un proceso de homogenización (trituration) hasta obtener partículas finas usando un mortero de porcelana.

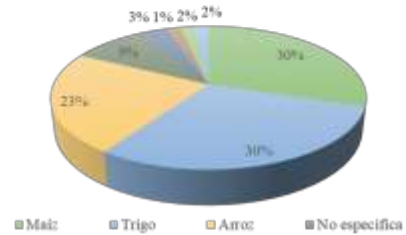
Se pesaron 250 mg de cada muestra de croquetas molidas para posteriormente ser vertidas y distribuidas respectivamente sobre placas con medio de cultivo de agar papa y dextrosa. Posteriormente, las muestras fueron inoculadas al duplicado para después incubarse a una temperatura de  $28 \pm 2$  °C durante 5 a 7 días.

**RESULTADOS.**

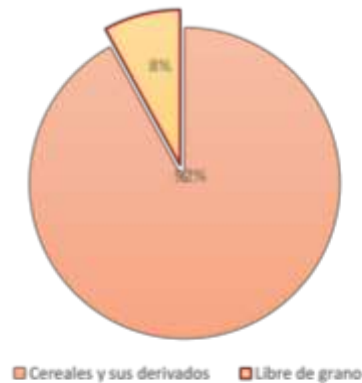
Se analizó la formulación de las muestras de croquetas evaluadas en empaque sellado, el 92% corresponde a una formulación basada en una gran cantidad de cereales y sus derivados (Figura 1 y 2). En cambio, el 8% de las muestras aseguran poseer ingredientes libres de granos para su formulación, los cuales son sustituidos por papas, pulpa de remolacha y cereales menores entre los que destaca el arroz integral, el mijo y el salvado de arroz (Figura 3 y 4). Asimismo, el maíz, el trigo, el arroz son los ingredientes empleados con mayor frecuencia para la producción de alimentos secos de muestras a granel para mascotas analizadas (Figura 5).



**Figura 1.** Porcentaje de muestras de alimento extruido en empaque sellado formuladas con cereales.



**Figura 2.** Ingredientes identificados en muestras de alimento extruido formuladas a base de cereales.



**Figura 3.** Porcentaje de muestras de alimento extruido en empaque sellado formuladas con cereales.



**Figura 4.** Ingredientes identificados en muestras de alimento extruido libres de granos.

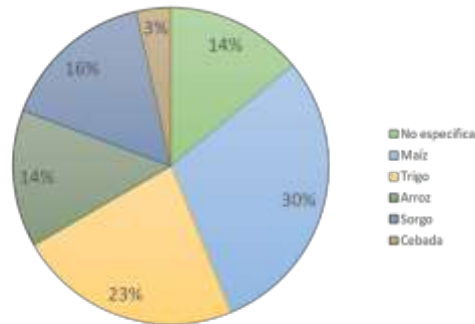


Figura 5. Ingredientes identificados en muestras de alimento extruido a granel

Se evaluó el número de unidades formadoras de colonias de hongos filamentosos de las muestras de alimento comercial en empaque sellado y a granel, las cuales fueron procesadas para inocular 250 mg de muestra de alimento extruido molido en un medio de cultivo de agar papa dextrosa, aprovechando su capacidad de utilizar como nutrientes a los polisacáridos que contiene el medio. Las placas fueron evaluadas visualmente en búsqueda de la formación de colonias fúngicas, tomando en cuenta aspectos como la textura de la superficie, la consistencia del medio, coloración del anverso y reverso de la placa, gotas de exudado, etc.

Se encontró la presencia de especies fúngicas y de levaduras en la mayoría de las muestras evaluadas de empaque sellado. Sin embargo, el número de unidades formadoras de colonias de hongos filamentosos presentes en alimentos extruidos para mascotas a granel se presentaron con mayor frecuencia y crecimiento con respecto a las muestras de empaque sellado (Figura 6 y 7).

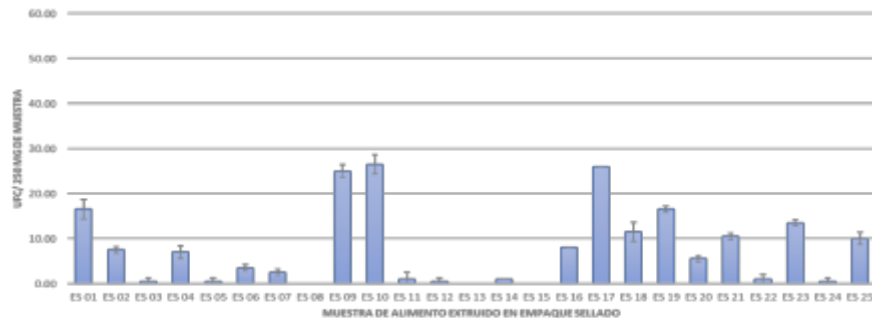


Figura 6. Número de unidades formadoras de colonias de hongos filamentosos presentes en alimentos extruidos para mascotas de empaque sellado.

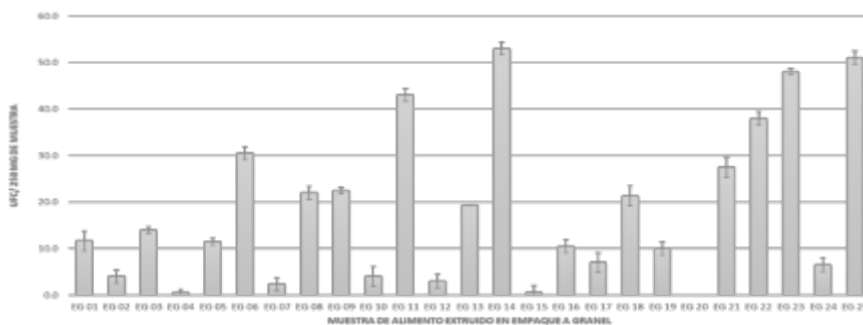
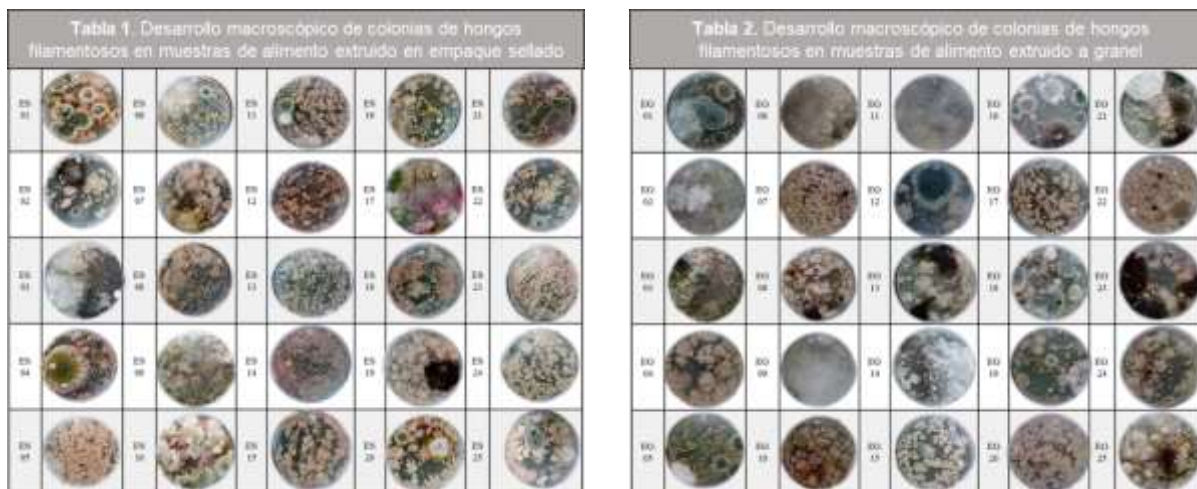


Figura 7. Número de unidades formadoras de colonias de hongos filamentosos presentes en alimentos extruidos para mascotas a granel.

De igual manera, se evaluó el desarrollo macroscópico de colonias de hongos filamentosos en las placas de muestras de alimento extruido en empaque sellado y a granel (Tabla 1 y 2), observándose una abundante presencia de levaduras y bacterias en las muestras analizadas.



## CONCLUSIONES

La ausencia de especies descritas como toxigénicas en algunas de las muestras de alimentos para mascotas analizados, no significa que no se encuentren micotoxinas en las mismas, debido a que las toxinas fúngicas tienen la capacidad de persistir incluso después de la muerte de la forma vegetativa del hongo que las produce, esto a pesar de las elevadas temperaturas empleadas durante los procesos industriales para la elaboración de los alimentos extruidos para mascotas. Considerando que ocratoxina A es altamente nefrotóxica y que la enfermedad renal en perros es común en esta especie, será interesante conocer si alguna de las causas que producen esta enfermedad es el consumo de alimento contaminado con hongos ocratoxigénicos. Por lo tanto, es importante medir la concentración de ocratoxina A en los alimentos extruidos para así el grado de exposición a la toxina en caninos domésticos, y de ser necesario, tomar medidas preventivas que incidan en la protección de la salud de las mascotas.

## BIBLIOGRAFÍA

1. López de Cerain A, Jimenez AM, Ezpeleta O & Bello J. (2000). Efectos tóxicos de la Ocratoxina. *Revista Toxicología*; 17, 61-69.
2. Twomey LN, Pethick DW, Rowe JB, Choct M, Pluske JR, Brown W & Laviste MC. (2002). The use of sorghum and corn as alternatives to rice in dog foods. *Journal of Nutrition*, 132: 1704S-1705S.
3. Muñoz DJ, Rodríguez R, Mota JJ & Suarez LR. (2015). Aislamiento e identificación de hongos filamentosos en alimentos concentrados para mascotas domésticas (perros y gatos). *Revista Científica*, XXV (6): 432-438.
4. Molina A. (2019). Probióticos y su mecanismo de acción en alimentación animal. *Agronomía Mesoamericana* 30(2): .601-611
5. Bryden WL. (2012). Mycotoxin contamination of the feed supply chain: Implications for animal productivity and feed security. *Animal Feed Science and Technology*; 173, 134-158.
6. Boermans HJ & Leung MC. (2007). Mycotoxins and the pet food industry: Toxicological evidence and risk assessment. *International Journal of Food Microbiology*; 119, 95-102.
7. Águila RR. (2015). Nutrición canina básica: Omisiones y Confusiones vs Hechos Científicos. Grupo NUTEC. Universidad Nacional Autónoma de México; 1-10.
8. Kuiper-Goodman T & Scott PM. (1989). Risk assessment of the mycotoxin ochratoxin A. *Biomedical and Environmental Sciences*; 2, 179-248.

9. Ravelo A, Rubio C, Gutiérrez AJ & Hardisson A. (2011). La Ocratoxina A en alimentos de consumo humano. *Nutrición Hospitalaria*; 26 (6), 1215-1226.
10. Gaviria AJ & Duque M. (2016). Tesis: Alimentación general y especializada para mascotas en una empresa productora de alimentos balanceados para animales. Corporación Universitaria Lasallista.
11. González SA, González JM & Patiño AB. (2010) Tesis: Diagnóstico y control de especies de *Aspergillus* productoras de ocratoxina A. Universidad Complutense de Madrid.
12. Camacho A, Giles M, Ortigón A, Palao M, Serrano B & Velázquez O. (2009). Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos. 2ª ed. Facultad de Química, UNAM. México
13. Witaszak N, Stępien T, Bocianowski J & Waśkiewicz A. (2019). Fusarium Species and Mycotoxins Contaminating Veterinary Diets for Dogs and Cats. *Microorganisms*; 7, 26.
14. Procuraduría Federal del Consumidor (POFECO). (2016). Laboratorio PROFECO; Alimentos para perros. Revista del consumidor. Disponible en: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/110359/RC467\\_045-OK.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/110359/RC467_045-OK.pdf). Revisado en abril de 2021.
15. Castro M & Rodríguez F. (2005). Levaduras: probióticos y prebióticos que mejoran la producción animal. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 6(1), 26-38.
16. Kaushik G. (2013). Effect of processing on mycotoxin content in grains. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*; 55, 1672–1683.
17. Requena F, Saume E & León A. (2005). Micotoxinas: riesgos y prevención. *Zootecnia Tropical*, 23(4):393-410. 2005.
18. Meucci V, Luci G, Vanni M, Guidi G, Perondi F& Intorre L. (2017). Serum levels of ochratoxin A in dogs with chronic kidney disease (CKD): a retrospective study. *Journal of Veterinary Medical Science*; 79 (2), 440-447.

## CARACTERIZACIÓN DE BARRA PREENTRENAMIENTO CON ALTO VALOR NUTRIMENTAL ELABORADA CON CAMOTE (*IPOMOEA BATATAS L.*)

Silvia E. Esparza-Arroyo <sup>1</sup>, Ma. Cristina Vázquez-Hernández <sup>1</sup>, Carlos E. Hernández-Navarrete <sup>1</sup>, Luis A. Noriega-González <sup>1</sup>, Carlos A. Flores-Gómez <sup>1</sup>, Ana A. Feregrino-Pérez <sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Tecnológico Nacional de México en Roque, <sup>2</sup>Universidad Autónoma de Querétaro.  
[crvazquez@itroque.edu.mx](mailto:crvazquez@itroque.edu.mx).

### RESUMEN

El camote (*Ipomoea batatas* L.) se cultiva en 22 estados de la República Mexicana, siendo Guanajuato uno de los principales productores a nivel nacional. Este tubérculo se utiliza para su consumo como golosina (cocido, horneado o enmielado) y harina. Contiene una gran cantidad de nutrientes principalmente carbohidratos complejos, vitamina C, vitaminas del complejo B, niacina, ácido fólico y vitamina E, además mineral y oligoelementos (Fe, K y Ca), no contiene gluten y diversos estudios demuestran que contiene proteína, fibra y antioxidantes. Los deportistas de alto rendimiento necesitan consumir alimentos saludables que proporcionen energía de lenta absorción con bajo índice glucémico para sus entrenamientos. Las barras energéticas son alimentos que combinan hidratos de carbono, fibra, proteínas y grasas; estos se conjugan en un solo producto con la finalidad de proporcionar recuperación de energía. El objetivo de este proyecto fue formular, elaborar y caracterizar un alimento preentrenamiento que proporcione a los consumidores un snack (barra energética) fácil de consumir, con características funcionales que además de saciar el hambre proporcione un beneficio a la salud. Como resultado se elaboró un alimento preentrenamiento con base en una pasta de camote cubierta con chocolate amargo sobre una capa crujiente de piloncillo, ajonjolí, amaranto y cacahuete que mejora el rendimiento de los deportistas en sus entrenamientos. A partir de una fórmula base se desarrollaron 4 formulaciones modificando la relación de los ingredientes (camote, cacahuete, amaranto y ajonjolí) y manteniendo la base de piloncillo y la cubierta de chocolate. La fórmula que contenía camote, cacahuete, amaranto y ajonjolí (2:2.5:1:2) obtuvo un porcentaje de aceptación del 64.10%, por lo cual se consideró más aceptada en comparación con las 3 fórmulas restantes. Posteriormente se realizó un análisis bromatológico del producto y se elaboró la tabla nutrimental, en donde se observó que cada 50g del producto aportan 199.39 Kcal, 3.08g de proteína, 32.27g de carbohidratos totales, 7.21g grasas totales, 1.27g de fibra, 10.33mg de vitaminas y minerales, 64.84mg de sodio, no contiene colesterol ni conservadores. El nombre comercial es Superbarra, se realizó una búsqueda en el IMPI sin encontrar coincidencias en el nombre y la descripción del producto. Como conclusión podemos mencionar que el producto Superbarra proporciona un alimento preentrenamiento con características de alimento funcional debido a que contiene magnesio; mineral que combate el estrés, al igual que favorece la salud arterial, sanguínea, ósea, muscular y nerviosa. Además, es una excelente fuente de vitaminas B6, la cual ayuda a descomponer la homocisteína, al contener potasio puede disminuir la presión arterial. La vitamina A, provee propiedades antienvjecimiento, mejora la vista y mantiene la integridad de las membranas mucosas y la piel. Tiene un índice glucémico bajo (5.22), es decir, que libera lentamente el azúcar al torrente sanguíneo, lo que ayuda a los deportistas en retrasar el agotamiento. Además, el chocolate amargo que contiene la barra posee un alto contenido de flavanoles que ejercen efectos antioxidantes al inhibir la oxidación de las LDL, además de producir una disminución de la agregación plaquetaria y de la presión arterial.

### INTRODUCCIÓN

Los alimentos son considerados como la principal fuente energética de nuestro cuerpo ya que proporcionan los nutrimentos para proveer a los organismos de macro y micro moléculas necesarias para su buen funcionamiento. Existe una muy delgada línea entre el consumo de productos para la alimentación y la nutrición. La globalización de los mercados, el costo de los alimentos procesados, la vida sedentaria y el ritmo acelerado de trabajo entre otros factores, se ha incrementado el consumo de productos con bajo aporte nutricional y alto contenido energético lo cual ha propiciado un aumento en la incidencia de enfermedades crónico-degenerativas como la diabetes, hipertensión, obesidad y cáncer (ENSANUT, 2018). Debido a lo anterior, actualmente las tendencias de la industria



alimentaria han cambiado y se están enfocando al desarrollo de alimentos con características funcionales que además de saciar el hambre de los consumidores aporten un alto contenido nutrimental.

México cuenta con una gran diversidad de tierras aptas para todo tipo de cultivos en donde se producen diversas frutas, hortalizas, cereales, semillas, tubérculos, etc., además de plantas aromáticas y medicinales. Estos cultivos, muchos de los cuales nuestro país es centro de origen, poseen un alto contenido de nutrientes y fitoquímicos cuyo consumo de ha demostrado en diversos estudios, puede llegar prevenir o incluso a contrarrestar algunas enfermedades (Díaz-Méndez *et al.*, 2018, González *et al.*, 2015). Uno de los productos agrícolas con alto contenido nutricional es la batata dulce o camote (*Ipomea batatas* L.). Este cultivo únicamente se comercializa en fresco, horneado, cocido en agua y enmielado o en forma de dulce tradicional principalmente en el estado de Puebla.

Los deportistas necesitan consumir alimentos que proporcionen energía de lenta liberación y fácil consumo para potenciar el desempeño durante sus entrenamientos. En el mercado existe un gran número de alimentos como complementos y suplementos alimenticios o barras energéticas elaboradas principalmente con glucosa y semillas, que si bien cumplen con la función de alimentar al deportista también pueden provocar efectos secundarios con su consumo prolongado. La primera barra energética se elaboró por la NASA y Pillsbury Company con el fin de obtener un producto adecuado para la alimentación de los astronautas por lo que se creó un palillo hecho a base de chocolate, caramelo y mantequilla de maní, considerado el inicio de un largo historial de este alimento. Un ejemplo de estos productos es la Powerbar, una barra elaborada con leche y cereales. Esta barra fue desarrollada por Bryan Maxwell que buscaba una alternativa nutricional que evitara los problemas estomacales que se generaban luego de una competencia, este corredor se puso en contacto con un nutricionista con el cual investigó y experimentó durante tres años hasta obtener el resultado deseado (Burgos & Murillo, 2017).

Esta investigación tiene como objetivo el diseño, elaboración y caracterización (sensorial y bromatológica) de un alimento preentrenamiento con base en una pasta de camote cubierta con chocolate amargo sobre una capa crujiente de ajonjolí con miel que puede ser consumido como fuente de energía saludable de lenta absorción, bajo índice glicémico con características funcionales.

## TEORÍA

### Camote

Definición y clasificación botánica. Son plantas perennes y se desarrollan por medio de fragmentos de guía con una longitud de 30 – 40 cm, de los cuales se planta 2/3 partes y se extiende horizontalmente sobre el suelo formando un follaje bajo. Posee una raíz tuberosa la cual se desarrolla en los nudos del tallo que se encuentran enterrados y pueden tener una longitud de 30 cm y un diámetro de 20 cm. El camote *Ipomoea batatas* L., pertenece a la familia de los convolvulaceae, del género *Ipomoea* y el tipo de especie *Ipomea batatas* L.) (Benavides, 2011). El camote contiene características nutricionales importantes que lo convierten en un alimento de alto valor nutritivo y representa una alternativa en países en vías de desarrollo que muestran escasez en alimentos. Como lo mencionó Vidal *et al.*, en 2018, México reporta una producción aproximada de 61,098 toneladas en 2,908 hectáreas. Los estados con mayor superficie cultivada son Guanajuato (27,328 ton) y Michoacán (10,756 ton). En el año 2005, la producción de camote en México alcanzó los valores de producción más altos reportados en los últimos 15 años (68,000 ton), sin embargo, en los últimos años la producción ha caído, lo cual puede estar relacionado con su escaso consumo. Se produce en condiciones de riego y de temporal, con la producción destinada principalmente al mercado nacional o para autoabasto del productor, dependiendo de la región donde se produzca. Asimismo, se tienen dos ciclos de cultivo, en el primero la cosecha abastece la principal temporada de demanda que ocurre en noviembre, mientras que en el segundo se produce la “semilla” que se utilizara para la plantación de verano o de temporal (Vidal *et al.*, 2018).

Requerimientos agroecológicos. Puede cultivarse en todo tipo de suelos, especialmente en los franco-arenosos con buena profundidad y materia orgánica. Una vez que la planta está arraigada, firme y bien establecida en la tierra, puede sobrevivir temporadas de sequía. Se siembra manualmente con esquejes a una profundidad de veinte a treinta centímetros. Los esquejes son las semillas vegetativas o injertos, con un tamaño de veinte a cuarenta centímetros, provenientes de plantas maduras, con o sin hojas. La diversidad de las variedades de camote se identifica principalmente por el color de la epidermis y parte interna de la raíz, que puede ser roja, púrpura, rosada, anaranjada, amarilla, pajiza o blanca, así como de la forma de la hoja, la cual puede ser acorazonada, dentada o trilobulada. El ciclo total es variable según cada uno de los cultivares y se desarrolla entre los 90 y 150 días (González *et al.*, 2020)

Consumo de camote. La planta del camote es consumida de forma distinta de acuerdo a la cultura de y gastronomía de cada país. En china se consume los tallos y hojas en diversos platillos; en los restaurantes se utilizan como guarniciones usualmente hervidas con ajo y aceite vegetal sazonado con sal antes de servir, en África los consumen como verduras y en las islas del pacífico sur, las hojas y tallos tiernos, son consumidos como ensaladas (las hojas son cocinadas en agua con crema de coco, chiles, con ajo y camarones secos y cebolla). Son una excelente opción para sopas y está recomendado para bebés, mujeres embarazadas y durante el periodo de lactancia. La receta “baby’s delight” (el degusto del bebé) está constituido por hojas de la guía del camote, pequeños trozos de calabaza, pescado y crema de coco; es un alimento complementario a la lactancia materna (Vidal *et al.*, 2018). En México el tubérculo es consumido comúnmente como postre, helado, gelatina, flanes, pudines entre otros. Particularmente en la ciudad de México, los camotes son cocidos al vapor acompañados de leche condensada o miel. En el estado de Puebla es conocido como dulce poblano (dulce de camote o camotes) y se prepara como una pasta con azúcar adicionada, así como también se encuentra en forma de dulce cristalizado. En otras partes del país es consumido en forma de puré c/ pasas, almendras, vainilla canela y crema, o como botana (una mezcla de rodajas de camote frito con mantequilla, ajo y orégano), o simplemente como “chips” un sustituto de las papas fritas (Vidal *et al.*, 2018).

Beneficios del consumo de camote. Se ha reportado que el consumo de camote tiene grandes beneficios a la salud de los consumidores, se ha mencionado que posee propiedades cardioprotectoras, hepatoprotectoras, anticancerígenas, antienvjecimiento, antidiabético, antiulcerogénico, entre otros (Barrón-Ávila *et al.*, 2020; Vidal *et al.*, 2018). Por las propiedades antes mencionadas se han desarrollados diversos productos alimenticios como dulces tradicionales en el estado de Puebla y Michoacán, harina para churros, bebidas, tortillas, bocaditos (snacks) entre otros (Pagan *et al.*, 2017; Pérez *et al.*, 2017).

#### Chocolate

Definición y clasificación botánica. El cacao (*Theobroma cacao* L.), que se obtiene de la almendra del árbol del cacao, se ha utilizado durante cientos de años por los indígenas sudamericanos en la preparación de una bebida amarga, que los europeos modificaron en su preparación y composición, hasta originar lo que hoy se conoce como el chocolate, en sus variedades negro (u oscuro), con leche, y blanco (Valenzuela, 2007). El término chocolate deriva de la palabra azteca “xocolatl”, cuyo significado es “agua espumosa”, denominación que era utilizada por los Olmecas (1500- 400 A.C.), por los Aztecas (1400 A.C.), y posteriormente por los Mayas (600 A. C.) (Valenzuela, 2007; Delgado *et al.*, 2018). Tafurt *et al.*, en 2020 publicó que el Icontec define el chocolate de mesa como la masa o pasta o licor de cacao preparado por el molido del cacao fermentado y tostado, desprovisto de sus cubiertas y gérmenes, mezclado o no, con una cantidad variable de azúcares como: sacarosa, dextrosa, maltodextrinas, y otros tipos de edulcorantes y aditivos.

Propiedades. La calidad del chocolate depende de diversos factores y atributos intrínsecos; como características físico-químicas, composición nutricional, características sensoriales y seguridad microbiológica y toxicológica, sin embargo, la materia prima principal que es la cocoa, proveniente de los granos de cacao es la que confiere los componentes fitoquímicos de importancia y esto dependerá de la variedad y las condiciones de cultivo (suelo, clima, riego, etc.). El chocolate oscuro

(bitter o negro), se caracteriza por no contener sólidos de leche en su formulación, es una fuente de flavonoides antioxidantes y antiinflamatorios además de minerales con beneficio potencial para los huesos (Kerimi & Williamson, 2015; Gutierrez, 2017; Seem *et al.*, 2019).

#### Ajonjolí

Definición y clasificación botánica. El ajonjolí es una planta cuya especie botánica es de la familia *Sesamum indicum L.*, su cultivo es anual distribuido por todo el mundo, el ciclo puede variar entre 90–130 días dependiendo de la variedad y las condiciones ecológicas. La producción promedio es entre 12- 14qq por manzana. Se caracteriza por ser una planta herbácea que soporta temperaturas que fluctúan entre 25° y 32° C (Aglave, 2018).

Propiedades. La parte que más comúnmente se consume son las semillas que son consideradas como una fuente de micronutrientes. Son una fuente importante de diferentes minerales como el calcio, que interviene en la formación de huesos y dientes; el zinc, mineral que participa en el metabolismo de los hidratos de carbono, las grasas y las proteínas; y el hierro, poseen una alta cantidad de fibra (4-5%), por lo que su consumo resulta beneficioso para la regulación de la función intestinal (De Merriera Herrera, 2017). Contiene carbohidratos, proteínas, grasas, fibra y minerales. También se obtiene aceite poliinsaturado de las semillas que, junto a la lecitina, convierten a las semillas en un alimento que contribuye a reducir los niveles de colesterol sanguíneo. Los antioxidantes que contienen las semillas de ajonjolí, principalmente tocoferoles y polifenoles, tienen propiedades benéficas para la salud humana, previniendo enfermedades cardiovasculares y cáncer, también previenen la oxidación celular y el deterioro de los lípidos tanto de las semillas como del aceite. Se utiliza en la gastronomía y en la medicina tradicional (Aglave, 2018; Abirached *et al.*, 2020).

#### Amaranto

Definición y clasificación botánica. El amaranto (*Amaranthus spp.*) es una especie anual, herbácea o arbustiva de diversos colores que van del verde al morado o púrpura con distintas coloraciones intermedias. Pertenece al orden Caryophyllales, familia Amaranthaceae, sub-familia Amaranthoideae, incluye cerca de 70 especies diferentes. La raíz es pivotante con abundante ramificación y múltiples raicillas delgadas, que se extienden rápidamente después que el tallo comienza a ramificarse, facilitando la absorción de agua y nutrientes, la raíz principal sirve de sostén a la planta, permitiendo mantener el peso de la panoja. El fruto es una cápsula pequeña que botánicamente corresponde a un pixidio unilocular, la que a la madurez se abre transversalmente, dejando caer la parte superior llamada opérculo, para poner al descubierto la inferior llamada urna, donde se encuentra la semilla (García-Ibarra, 2012; Peter & Gandhi, 2017).

Propiedades. Extractos de amaranto han sido usados desde tiempos ancestrales en la medicina India, Nepal, China y Thai. Se le atribuyen propiedades para tratar enfermedades como: infecciones urinarias, condiciones ginecológicas, diarrea, dolor, desordenes respiratorios, diabetes y también tiene propiedades diuréticas (Kavita & Punnet, 2017). La semilla de amaranto, contiene un alto porcentaje de proteína (15 al 17%) y ha sido considerado como un superalimento por los nutrimentos que proporciona entre ellos la lisina que es un aminoácido esencial (Mapes. 2015; Peter & Gandhi, 2017).

#### Cacahuete

Definición y clasificación botánica. El cacahuete o maní (*Arachis hypogaea L.*) es la semilla comestible de la planta leguminosa *Arachis hypogaea*, perteneciente a la familia de las fabáceas, cuyos frutos contienen semillas apreciadas en gastronomía. La planta es fibrosa y crece hasta 30-50 cm de altura. Originaria de América actualmente se cultiva en diversos países como Estados Unidos, Sudamérica, Portugal entre otros (Bautista-Díaz *et al.*, 2018; INTEF, 2020).

Propiedades. Es una leguminosa con una gran concentración de albúmina y grasa. Casi el 50% de su grasa es monoinsaturada, y el 30% poliinsaturada, siendo esta última mayoritariamente de la serie omega-6. Los efectos hipocolesterolemiantes de los cacahuetes (disminución de la fracción de colesterol LDL o «colesterol malo», sin afectar o aumentando la fracción HDL o «colesterol bueno»)

han sido confirmados tanto en mujeres hipercolesterolémicas (niveles altos de colesterol en sangre) y postmenopáusicas, como en hombres y mujeres normolipidémicos (perfil lipídico normal en sangre). Tiene un aporte significativo de proteína (un 27%) y fibra en cantidades considerables, lo que favorece la movilidad intestinal y combate el estreñimiento. Estos frutos aportan fósforo y magnesio (una ración media de cacahuates equivale al 12 y 10% respectivamente de las ingestas diarias para dichos minerales), y algo inferior de calcio, hierro y potasio. Respecto al contenido en vitaminas, la niacina es la más destacada, seguida de la vitamina E (20 g de cacahuates sin cáscara aportan un 25% de las ingestas recomendadas para la niacina al día, y un 14% respecto a la vitamina E). Además, al efecto antioxidante de la vitamina E, se le añade el de su contenido en selenio y fitoesteroles. (INTEF, 2020)

## PARTE EXPERIMENTAL

**Material biológico.** La materia prima [camote (*Ipomea batatas* L.)] fue proporcionada por los productores locales de la región de Salvatierra, Guanajuato (Sra. Patricia Vera Figueroa). Se utilizaron dos variedades: Camote blanco y camote amarillo, cultivados en 2020. Los materiales fueron seleccionados de acuerdo a tamaño, características morfológicas y libres de plagas.

**Metodología.** Se establecieron las condiciones de cocción de las dos variedades de camote y se procesó en forma de pasta mediante la molienda de la pulpa inhibiendo con el proceso las enzimas que producen el oscurecimiento enzimático.

A partir de una fórmula base, se realizó el diseño de la formulación para la elaboración de una barra preentrenamiento con alto valor nutrimental, a partir de una pasta de camote previamente cocido, chocolate amargo, ajonjolí y miel de piloncillo para la base crocante. Posterior al diseño de la formulación se elaboraron los productos y se evaluaron sensorialmente por medio de una prueba de aceptación con una escala hedónica no estructurada para determinar su aceptación o rechazo por el consumidor. Las pruebas de aceptabilidad se realizaron utilizando la metodología propuesta por Pedrero & Pangborn en 1996, con 76 panelistas no entrenados. Las pruebas fueron codificadas y presentadas de forma aleatoria y fueron aplicadas en los gimnasios Athletics I y II de la ciudad de Celaya, Gto. Se realizó un análisis de estadístico utilizando Ji cuadrada con un 95% de confiabilidad para determinar la formulación con mayor aceptación de los consumidores.

Se analizó el valor nutrimental de la barra, realizando análisis bromatológicos para conocer su composición y elaborar la tabla nutrimental del producto y el porcentaje de valor diario recomendado en una dieta de 2000 Kcal (%VD).

## RESULTADOS

**Diseño de las formulaciones.** Como se menciona en la metodología, a partir de una fórmula base se desarrollaron 4 formulaciones modificando la relación de los ingredientes (camote, cacahuete, amaranto y ajonjolí) y manteniendo la base de piloncillo y la cubierta de chocolate (Tabla 1). La fórmula (F01) que contenía camote, cacahuete, amaranto y ajonjolí (2:2.5:1:2) obtuvo un porcentaje de aceptación del 64.10%, por lo cual se consideró más aceptada en comparación con las 3 fórmulas restantes (Figura 1). Se realizó una búsqueda en la página del Instituto Mexicano de Propiedad Industrial (IMPI) del producto diseñado sin encontrar coincidencias, el nombre de la barra es Superbarra. También se llevó a cabo una búsqueda de la marca (fonética y gramática) sin encontrar coincidencias.

Tabla 1. Formulación base para el diseño de la barra preentrenamiento.

Ingredientes	Cantidad (50 g) para 1 barra	%
Chocolate negro	1.7	3.4
Piloncillo	27.6	55.2
Margarina sin sal	0.4	0.8
Ajonjolí tostado	5.6	11.2
Cacahuete	6.7	13.4
Camote	5.2	10.4
Amaranto	2.9	5.8
Total	50	

Porcentaje de preferencia de jueces no entrenados por la Superbarra

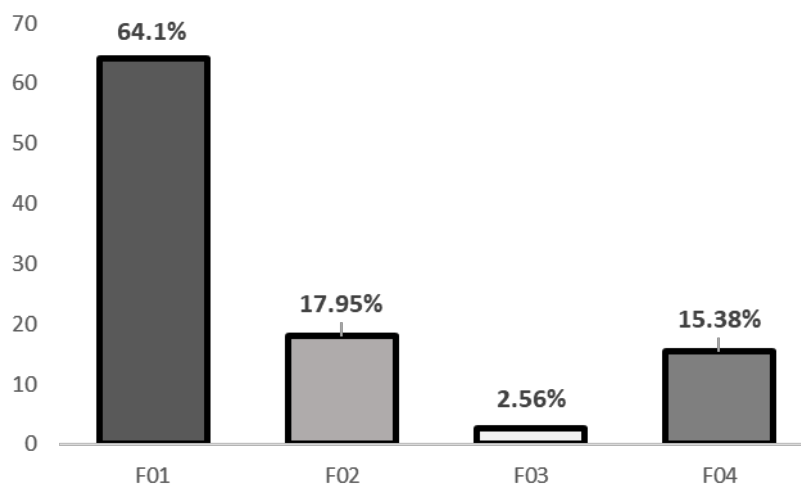


Figura 1. Porcentaje de aceptación de la barra preentrenamiento.

Análisis estadístico de las pruebas de aceptabilidad. En la prueba de aceptabilidad por medio de una escala hedónica estructurada, todos los jueces eligieron la opción “Me gusta muchísimo (9)” de acuerdo con la barra que más prefirieron, siendo así que todas las barras tuvieron un 100% de aceptabilidad, pero defiriendo en la preferencia.

Análisis estadístico de prueba de preferencia

Comparación (prueba de dos colas). Ji-cuadrada ( $\chi^2$ )

Datos:

g.l.=1

x=2

n=76

P=1/2

q= (1-p)

Factor de corrección: 0.5

Formula 1:

$$\chi^2 = \frac{(x_1 - np - 0.5)^2}{np(1-p)}$$

Sustitución de datos:

Sustituyendo en la Formula 1.  $\chi^2 = \frac{(42-38!-0.5)^2}{38(1-0.5)} = 70.11$

Tabla 2. Comparación de datos calculados con datos del libro (Pedrero F. & Pangborn, 1996)

Nivel de significancia de 0.05 (Tabla B. Valores críticos para ji-cuadrada)		
Valor calculado	>	Valor de tablas
70.11		3.841

Nivel de significancia de 0.01 (Tabla B. Valores críticos para ji-cuadrada)		
Valor calculado	>	Valor de tablas
70.11		6.635

Interpretación de resultados estadísticos. El valor calculado es mayor que el de tablas para un nivel de significancia de 0.05 al igual que para un nivel de significancia de 0.01 por lo tanto, si hay diferencia entre las muestras. Se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alternativa que nos dice que si existe una diferencia significativa entre las muestras ya que el juez prefiere la muestra con código 371 que corresponde a la F01 con un 68% de aceptabilidad.

Caracterización bromatológica. Después de realizado el análisis sensorial se procedió a evaluar bromatológicamente el producto y a elaborar la tabla nutricional (Figura 2) en la cual podemos observar que la barra preentrenamiento aporta por cada 50g del producto 199.39 Kcal, 3.08g de proteína, 32.27g de carbohidratos totales, 7.21g grasas total, 1.27g de fibra, 10.33mg de vitaminas y minerales, 64.84mg de sodio, no contiene colesterol. Además, es importante mencionar que este producto no contiene conservadores ni aditivos alimentarios, tampoco contiene glutamato monosódico y en la tabla se incluyo el porcentaje de valor diario aportado con base en una dieta de 2000 Kcal (%VD).

Información Nutricional		
Tamaño de la Porción	50 g	
Porciones por envase	1	
Cantidad por Porción	199.39 kcal	
Contenido energético		%VD
Grasas 7.21 g		4.36%
Grasa saturada 0 g		
Carbohidratos disponibles		43.02%
Azúcares 32.27 g		
Fibra dietética 1.27 g		5.08%
Proteínas 3.08 g		1.26%
Sodio 64.84 mg		2.70%

Figura 2. Tabla nutricional del producto Superbarra por porción de 50g. Elaboración propia (2021).

En la figura 3, se muestra el diseño promocional de la etiqueta del producto y de acuerdo a las modificaciones de la NOM -051 los sellos precautorios que debe de llevar el producto son: Exceso de calorías y exceso de azúcares.



Figura 3. Diseño promocional de la etiqueta del producto y sellos precautorios. Elaboración propia (2021).

### CONCLUSIONES

El producto Superbarra proporciona un alimento preentrenamiento con características funcionales, debido a que contiene minerales como el magnesio que ayudan a combatir el estrés y favorece la salud arterial, sanguínea, ósea, muscular y nerviosa; es una excelente fuente de potasio el cual contribuye a la homeostasis celular. Aporta de vitaminas del complejo B, que ayudan a descomponer la homocisteína, mejoran la vista, proporcionan propiedades antienvjecimiento y mantienen la integridad de las membranas mucosas y la piel.

Esta barra preentrenamiento tiene un bajo índice glicémico (5.22) calculado a partir de los componentes nutrimentales, lo cual indica que libera lentamente la azúcar al torrente sanguíneo, ayudando a los deportistas a retrasar el agotamiento y tener un mejor rendimiento en sus entrenamientos.

Al contener chocolate amargo proporciona un alto contenido de antioxidantes que puede inhibir el colesterol de baja densidad, producir una disminución de la agregación plaquetaria y contribuir a la regulación de la presión arterial, este ingrediente junto con la semilla de ajonjolí, el cacahuete y el amaranto proporcionan un mayor valor agregado y funcionalidad al alimento, pues además de proporcionar energía a los deportistas contribuye con una importante cantidad de proteínas de alto valor biológico por porción de alimento consumido.

### BIBLIOGRAFÍA

1. C. Abirached, C. Bonifacino, E. Dutto, L. Velazco, F. Jorge, & I. Vieitez, "Study of sesame seeds antioxidant and emulsifying properties: Original high-quality research paper". *The Journal of Supercritical Fluids*, 166, 104994, 2020.
2. H. R. Aglave, "Physiochemical characteristics of sesame seeds. *J Med Plants Stud*", 6(1), 2018, pp. 64-66.
3. N. Barrón-Ávila, D Zúñiga Vázquez, P. Jiménez Girón, A. Piña Bernal y E. Alvarado-Bárceñas, F. Chablé-Moreno. "La toxicidad por vitamina A del camote amarillo (*Ipomoea batatas* L.)". Memoria in extenso. VII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología Agropecuaria TNM/Roque, Celaya, Gto., 25-27 marzo 2020 ISSN 2448-6620, 2020.
4. J. Bautista-Díaz, S. A. García-Muñoz, A. N. Leyva-Chávez, F. J. Piña-Ramírez, D. L. Ojeda-Barrios, & A. Ortega-Rodríguez, "Germination of Peanut Seeds (*Arachis hypogaea* L.) with different doses of Gibberellin/ Germinación de semillas de cacahuete (*Arachis hypogaea* L.) utilizando diferentes dosis de giberelina". *AGROProductividad*, 11(11), 2018, 129-135.

5. A. R. Benavides, "El camote, valor nutricional y sus usos en la repostería". (*Tesis de licenciatura*). UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE FACULTAD CIENCIAS DE SALUD, Ibarra, Ecuador, 2011.
6. S. Burgos & A. e. Castro, "Historia y Domesticación de Plantas de Mesoamérica: Historia y Domesticación del Amaranto (*Amaranthus spp.*)". (*Tesis de licenciatura*). CAMPUS DE CIENCIAS BIOLÓGICAS YAGROPECUARIAS, Merida, 2014.
7. E. A. De Merra Herrera, "Análisis Gastronómico de la Semilla Ajonjolí (*Sesamun Indicum*)". (*Tesis de licenciatura*). UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL, Guayaquil, 2017.
8. J. D. Delgado, J. I. Mandujano, Reátegui, D. & E. S. Ordoñez, "Desarrollo de chocolate oscuro con nibs de cacao fermentado y no fermentado: polifenoles totales, antocianinas, capacidad antioxidante y evaluación sensorial". *Scientia Agropecuaria*, 9(4), 2018, 543-550.
9. H. A. Díaz-Méndez, P. Preciado-Rangel, E. Sánchez Chávez, J. R. Esparza Rivera, M. Fortis Hernández & V. D. P. Álvarez-Reyna, "El potasio en la calidad nutraceutica de frutos de pepino hidropónico. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*", 9(SPE20), 2018, 4245-4250.
10. , L. García Ibarra , "Variedades de amaranto y fechas de siembra para rendimiento de grano y forraje en San Luis Potosí". (*Tesis de licenciatura*). UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ, San Luis Potosí, México, 2012.
11. C. A. González, L. I. Giménez & A. M Burgos, "Evaluación del rendimiento potencial de cuatro cultivares de batata (*Ipomoea batatas* (L.) lam.) en Corrientes". *Agrotecnia*, (30), 2020, 89-96.
12. J. J. F. González, S. H. G. Maldonado & M. G. H. Hernández, "Atributo nutricional y nutraceutica de panqué y barritas a base de harina de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.)/Nutritional and Nutraceutical attribute of loaf and bars made of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) flour". *Biotechnia*, 17(3), 2015, 9-14.
13. T. J. Gutiérrez, "State-of-the-art chocolate manufacture: a review". *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(6), 2017, 1313-1344.
14. A. Kerimi & G. Williamson, "The cardiovascular benefits of dark chocolate". *Vascular pharmacology*, 71, 2015, 11-15.
15. E. C. Mapes Sánchez, "El amaranto". *Revista academia mexicana de ciencias*, 2015, pp 12.
16. M. Pagan, M. E. Romero-Bastidas & P. X. Vásquez-Ponce, "Cocción experimental de tortillas de casabe (*Manihot esculenta* Crantz) y de camote (*Ipomoea batatas* [L.] Lam.) en planchas de barro: evaluando sus efectos en la morfometría de los almidones desde una perspectiva paleoetnobotánica". *Americae. European Journal of Americanist Archaeology*, 2, 2017, 27-43.
17. F. Pedrero & R. M. Pangborn, "Evaluación sensorial de los alimentos". *Alhambra Mexicana*. 1996.
18. K. Pérez Ramos, C. Elías Peñafiel & V. Delgado Soriano, "Bocadito con alto contenido proteico: un extruido a partir de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.), tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) y camote (*Ipomoea batatas* L.)". *Scientia Agropecuaria*, 8(4), 2017, 377-388.
19. K. Peter & P. Gandhi, "Rediscovering the therapeutic potential of Amaranthus species: A review". *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, 4(3), 2017, 196-205.
20. S. A. Seem, Y. V. Yuan & J. C, "Chocolate and chocolate constituents influence bone health and osteoporosis risk". *Nutrition*, 65, 2019, 74-84.
21. G. Tafurt, O. Suarez, M. D. C. Lares, C. Álvarez & N. Liconte, "Capacidad antioxidante de un chocolate oscuro de granos cacao orgánico sin fermentar Antioxidant capacity of a dark chocolate from organic and unfermented cocoa beans". *Revista Digital de Postgrado*, 10(1), 2021, 2244-761X.
22. A. Valenzuela, "El chocolate, un placer saludable". *Revista chilena de nutrición*, 34(3), 2007, 180-190.
23. A. R. Vidal, A. L. Zaucedo Zuñiga & E. Al, "Propiedades nutrimentales del camote (*Ipomoea batatas* L.) y sus beneficios en la salud humana". *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 2018, 132-146.
24. INTEF, "El cacahuete". *Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias*, 2020, pp 291-292
25. ENSANUT, 2018, Recuperado de: <https://www.inegi.org.mx/programas/ensanut/2018/default.html>



## EVALUACIÓN DE PARÁMETROS FITOQUÍMICOS DE PLANTAS DE *LIPPIA GRAVEOLENS* SOMETIDAS A DIFERENTES REGÍMENES DE RIEGO

Verónica López-Meza, Osvaldo A. Castellanos-Hernández, Rayn C. Aarland, Gustavo J. Acevedo-Hernández y Araceli Rodríguez-Sahagún

Centro de Investigación en Biología Molecular Vegetal, Centro Universitario de la Ciénega–  
Universidad de Guadalajara  
veronica.lmeza@alumnos.udg.mx

### RESUMEN

El agua ha disminuido en el planeta considerablemente en los últimos años y particularmente en zonas de nuestra región, existen algunas especies vegetales de importancia medicinal que crecen de manera silvestre donde el régimen de precipitaciones es escaso, y el volumen de agua disponible para el aprovechamiento agrícola es muy limitado. Para implementar un cultivo comercial es necesario implementar un sistema de uso racional del agua. La selección de especies es necesario que se realice en función de criterios de la eficiencia hídrica local. En los últimos años ha aumentado considerablemente la demanda de plantas aromáticas y medicinales y los productos derivados de éstas. Cada día se valoran más los extractos naturales sobre los producidos de forma sintética. Las utilidades de estas plantas van en aumento: planta fresca para condimento, plantas endémicas para la conservación del suelo. El orégano mexicano (*Lippia graveolens*) es una planta de crecimiento silvestre que se da en todo el país, aunque particularmente es más de regiones de sequía considerable, esto ha provocado que se abuse su explotación silvestre para uso comercial internacional, ya que su aceite esencial tiene aplicación en la industria farmacéutica y alimentaria de alta importancia. Todo esto ha provocado una deforestación de esta especie hasta llegar a peligro de extinción en su estado silvestre. Que se sabe crece en regiones de escasa precipitación pluvial. En el presente trabajo se estudian diferentes parámetros fisiológicos y productivos, como la producción de fenoles, terpenos, flavonoides y la capacidad antioxidante. Se utilizaron tres diferentes sistemas de riego (R1, R2, R3) en donde R1 riego una vez por semana, R2 una vez cada dos semanas y R3 tres veces por semana; con dos años diferentes de colecta de semilla (2017, 2019) y cada uno con dos tratamientos (T1 y T2) por triplicado. En los resultados de germinación los tratamientos con semilla del año 2019 fueron las que germinaron con mayor rapidez y mayor cantidad de tratamientos. En cantidad de terpenos hubo mayor concentración en R1.17 y R1.19. En fenoles mayor concentración en R1.17 y R1.19. En flavonoides hubo mayor concentración en R1.17 y R1.19. En capacidad antioxidante la mayor concentración fue en R2.17 y R2.19. En conclusión, a menor cantidad de agua se obtuvieron mayor producción de metabolitos secundarios, es decir el estrés hídrico favorece en la producción de los metabolitos de interés a nivel industrial.

### INTRODUCCIÓN

*Lippia graveolens* H.B.K. es una hierba aromática bastante utilizada en la medicina tradicional. *Lippia* es un arbusto perenne, delgado y aromático, que puede llegar a medir hasta tres metros de altura. Tiene tallos en forma cuadrangulares, delgados, vilosos y glandulares. Las ramas principales comúnmente tienen corteza exfoliante, sus hojas son opuestas, ovaladas, con pecíolos delgados, haz rugoso-escabroso, estrigoso-glandular, envés densamente piloso, ápice obtuso y con margen de la hoja con dientes redondeados. Los frutos son de tamaño pequeño y forman una cápsula que no abre de manera espontánea cuando llega a la madurez para liberar sus semillas, las semillas se presentan sin endospermo. Las flores se presentan en espigas casi globosas, corolas blancas, con un solo plano de simetría y presentan cuatro estambres (Bueno, 2014).

Las hojas son ternadas, pecioladas y no tienen estípulas. Los meristemos axilares originan yemas axilares de maduración de menor a mayor. Las yemas son de desarrollo regular y continuo durante todo el año independientemente de los factores externos. Las hojas son anchas de la parte central. Miden entre 2 y 5 cm, según su posición en la rama. Las más grandes están hacia la porción media. Los haces conductores son longitudinales y poco ramificados. Alcanzan los bordes de la hoja en ramificaciones terciarias o cuaternarias delgadas, que terminan en las hendiduras de los bordes.

Las flores tienen brácteas, dispuestas en series. Son de color verde, cóncavas, imbricado-decusadas, enlazadas entre sí y más pequeñas que las flores. Las flores son de tono blanco o ligeramente amarillento y alargadas

Los pétalos son de color blanco o blanco amarillento. El pétalo superior suele ser más largo que los otros; el inferior es más ancho que largo. Los pétalos cubren totalmente las estructuras reproductoras, las cuales se encuentran en la zona del ensanchamiento (Quiroz et al., 2017).

*Lippia graveolens* en México se le conoce con múltiples nombres, entre ellos hierba dulce, orégano del monte, flor de orégano, salvia, hierba dulce, entre otras. (García-Bores et al., 2017). Sin embargo es popularmente conocida como "mejorana", "orégano", "orégano mexicano" y "orégano del monte" (González-Trujano et al., 2017). La familia Verbenaceae se compone de 35 géneros y más de 1000 especies, repartidas en regiones cálidas y templadas, mayormente en América (López-Villafranco et al., 2017)

## PARTE EXPERIMENTAL

Se inició con el proceso de siembra, donde se realizó la preparación de tierra, desinfección de semillas de *Lippia graveolens*, una vez germinadas se expusieron a tres diferentes tratamientos de riego (R1: riego 1 vez cada dos semanas; R2: riego una vez por semana y R3: riego cada tercer día) además de dos diferentes años de colecta (2017 y 2019).

Dos meses después de crecimiento de las plantas se procedió a la defoliación y preparación de extractos, para luego dar inicio con la cuantificación de fenoles, flavonoides, terpenos y actividad antioxidante.

- 1 Determinación de actividad antioxidante
  - 1.1 Método DPPH

Preparación de la curva de calibración. De acuerdo a la metodología descrita por Brand-Williams et al., 1995. Se prepararon diluciones según tabla 1. Se incubó por 15 minutos a temperatura ambiente y se tomó lectura de absorbancia a 515 nm en espectrofotómetro por triplicado.

Tabla 1. Diluciones de trólox para DPPH.

Trólox $\mu\text{L}$ (2500 $\mu\text{M}$ )	Etanol $\mu\text{L}$	Concentración final $\mu\text{M}/\text{mL}$	Volumen final $\mu\text{L}$
80	1920	100	2000
160	1840	200	2000
240	1760	300	2000
320	1680	400	2000
400	1600	500	2000

Preparación del radical DPPH. Se preparó en un frasco de color ámbar 24mg de DPPH en 100 mL de metanol a 4°C. Se agitó y rotuló con los datos correspondientes: fecha de preparación, nombre de la solución y nombre de quién preparó.

Actividad antioxidante. A 50  $\mu\text{L}$  de extracto de cada tratamiento se le adicionaron 950  $\mu\text{L}$  de solución diaria por duplicado, se agitó vigorosamente y se incubó durante 15 minutos a temperatura ambiente. Se registró la absorbancia a 515 nm luego de 15 minutos de incubación utilizando como blanco metanol. Los extractos se diluyeron lo necesario hasta lograr absorbancias dentro de la curva patrón. Los resultados se expresan en  $\mu\text{g}$  equivalentes de trólox por gramo de peso seco (figura 1).

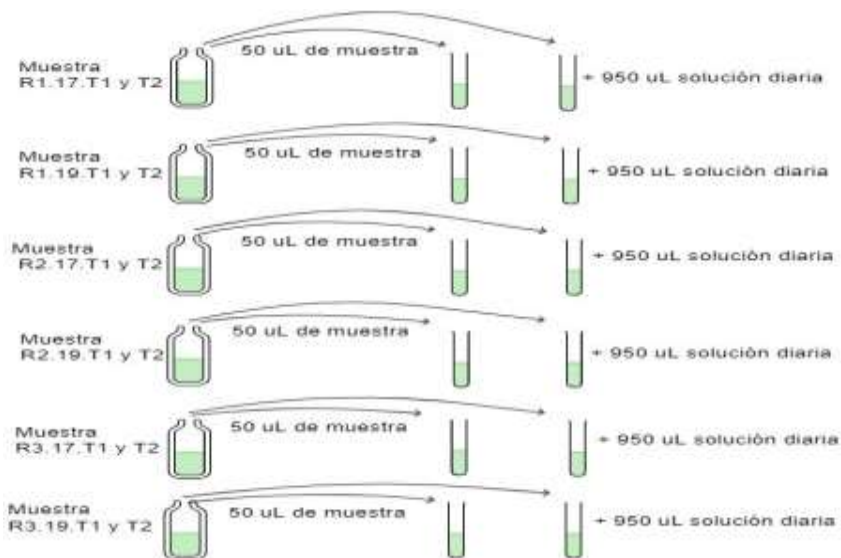


Figura 1. Proceso de preparación de tubos para actividad antioxidante. Imagen elaborada en Chemix.org

2. Técnica para medir Fenoles  
 2.1 Folin-Ciocalteu

Preparación de la curva de calibración: De acuerdo a la metodología descrita por Singleton y Rossi, 1965. Se realizaron diluciones (tabla 2). Se midió la absorbancia a 765 nm por triplicado, utilizando como blanco H<sub>2</sub>O destilada.

Tabla 2. Diluciones de ácido gálico para fenoles.

Stock $\mu\text{L}$ (ácido gálico)	H <sub>2</sub> O $\mu\text{L}$	Concentración final $\mu\text{g/mL}$	Volumen final $\mu\text{L}$
25	975	25	1000
50	950	50	1000
75	925	75	1000
100	900	100	1000
150	850	150	1000
200	800	200	1000

Preparación de carbonato de sodio: La solución se preparó al 7.5% (p/v) se agregaron 2.25g de carbonato de sodio en 30 mL de H<sub>2</sub>O destilada.

Concentración total de fenoles: A 200 $\mu\text{L}$  de extracto de cada tratamiento se le agregó 1ml del reactivo Folin-Ciocalteu e incubo durante 1 minuto. Luego se añadió 0.8 ml de carbonato de sodio, se agito e incubo durante 60 minutos a temperatura ambiente, después se midió la absorbancia a 765 nm por duplicado utilizando como blanco Folin-Ciocalteu y carbonato de sodio. Se realizan las diluciones necesarias a las muestras de cada tratamiento, hasta lograr absorbancias dentro de la curva patrón (figura 2).

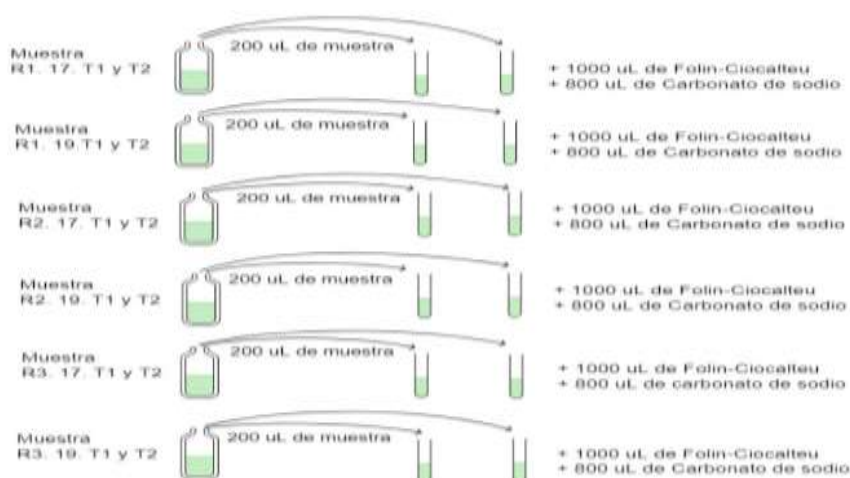


Figura 2. Proceso de preparación de tubos para fenoles. Imagen elaborada en Chemix.org

### 3. Estimación de contenido total de flavonoides

#### 3.1 Método colorimétrico de cloruro de aluminio

Preparación de curva de calibración: De acuerdo a la metodología descrita por Chan et al., 2002. Se preparó una solución stock con Quercetina, se disolvieron 10 mg de quercetina en etanol al 80%. Se realizaron diluciones (tabla 3). Se incubó durante 30 minutos, se midió absorbancia a 415 nm en espectrofotómetro Jenway 6305. Usando como blanco las soluciones anteriores y 500  $\mu$ L de agua destilada.

Tabla 3. Diluciones de Quercetina para flavonoides.

Solución Stock Quercetina $\mu$ g/mL	Etanol al 80% $\mu$ L	Concentración final $\mu$ g/ml	Volumen final $\mu$ L
1600	400	10	2000
1200	800	20	2000
800	1200	40	2000
400	1600	60	2000
200	1800	80	2000

Concentración total de flavonoides: A 0.5 mL de muestra se le añadieron 1.5 mL de etanol al 96%, 0.1 mL de cloruro de aluminio al 10%, 0.1 mL de acetato de potasio 1M y 2.8 mL de agua destilada. Se incubó durante 30 minutos y posteriormente se midió la absorbancia por duplicado a 415 nm en espectrofotómetro Jenway 6305. Se hicieron las diluciones correspondientes a las muestras de cada tratamiento hasta lograr absorbancias dentro de la curva patrón (figura 3).

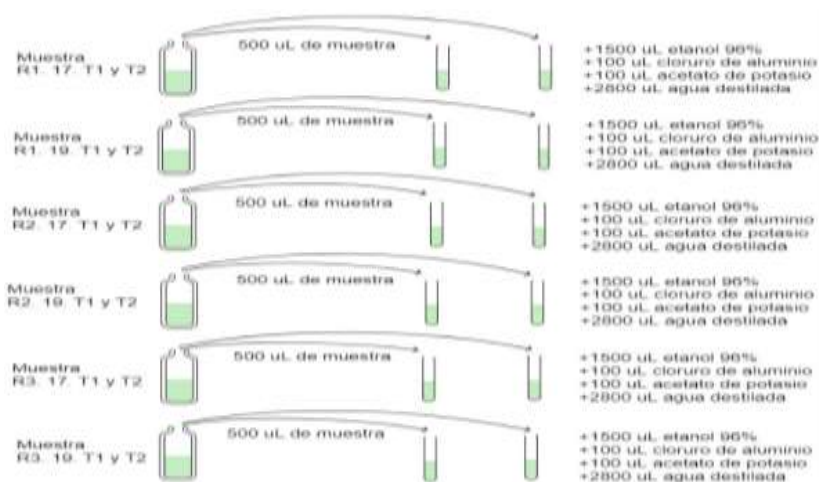


Figura 3. Proceso para determinar flavonoides totales. Imagen elaborada en Chemix.org

#### 4 Cuantificación total de terpenos

##### 4.1 Método ácido-base

Preparación de curva de calibración: Se utilizaron timol y carvacrol puros para obtener curva patrón en nano espectrofotómetro.

Cuantificación de terpenos: De acuerdo a la metodología descrita por Extracción ácido-base. Se agregó x cantidad de materia seca de cada tratamiento en tubos eppendorf de 1.5 mL (luego se ajustaron las diluciones para que todos los tratamientos quedaran a la misma concentración). La fase acuosa fue tomada para su posterior análisis en nano espectrofotómetro. Se tomó una alícuota de 2 µL se cada tratamiento y se midieron las absorbancias a 290 nm.

## RESULTADOS

### Cuantificación de Capacidad Antioxidante

Hubo un efecto positivo en el aumento de los valores en la segunda defoliación (Figura 4), respecto a los datos control referidos en la defoliación 1 (Figura 5) la cual se tomó con las primeras hojas verdaderas. Tratamiento R1.17 y R2.17 forman un grupo homogéneo "a", en donde se interpreta que no hay diferencia significativa en cuanto a la capacidad antioxidante si se utiliza un sistema de riego 1 vez cada dos semanas o 1 vez por semana, esto se puede atribuir a las variaciones de humedad en el cual se vieron afectadas, provocando un estrés abiótico responsable del incremento de los valores, por cuestiones de optimización resulta favorable implementar un sistema de riego R1 (1 vez cada dos semanas) para mejores resultados en actividad antioxidante.

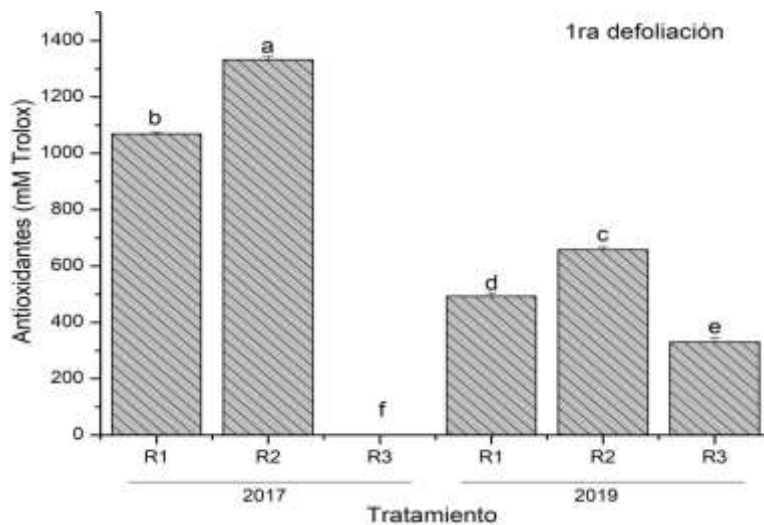


Figura 4. Cuantificación de Capacidad Antioxidante, en mM de Trolox. Primera defoliación.

Aunque los valores de defoliación 2 contra defoliación 1 presentan concordancia en aumento positivo respecto a cada tratamiento de distinto año, resalta el año 2017 puesto que presenta mayor capacidad antioxidante, a diferencia de los tratamientos 2019 que son más recientes; Esto se puede atribuir a una variación fenotípica que es característico de plantas que no han tenido una domesticación, presentando una variabilidad genética responsables de la composición fitoquímica, Linde, G. A. et al., (2016). Sin embargo, a pesar de no tener los valores más altos, R1.19 fue quién presenta mayor incremento de los valores de capacidad antioxidante, esto demuestra que el sistema de riego 1 (una vez cada dos semanas) es el que presenta mejores resultados debido a que provoca un estrés hídrico que favorece a la producción de componentes antioxidantes. Por otro lado Nieto Ramírez, M. et al., (2018) en su estudio de capacidad antioxidante en *Heterotheca inuloides* (árnica) trabajó con cultivos en campo y en invernadero sometidas a distintas condiciones de riego, durante 28 días y regadas en dos ocasiones, en donde sus resultados fueron más favorables en cultivos en campo, regadas con agua y solución nutritiva, esto lo atribuye a las variaciones de temperatura y la humedad relativa a las que estuvieron sometidas en el cultivo en campo, por otra parte Barrientos Ramírez, L. et al., (2019) se contraponen con su estudio de capacidad antioxidante en *Physalis chenopodiifolia*, en donde el mayor porcentaje de bloqueamiento de radicales libres en plantas cultivadas que en plantas silvestres.

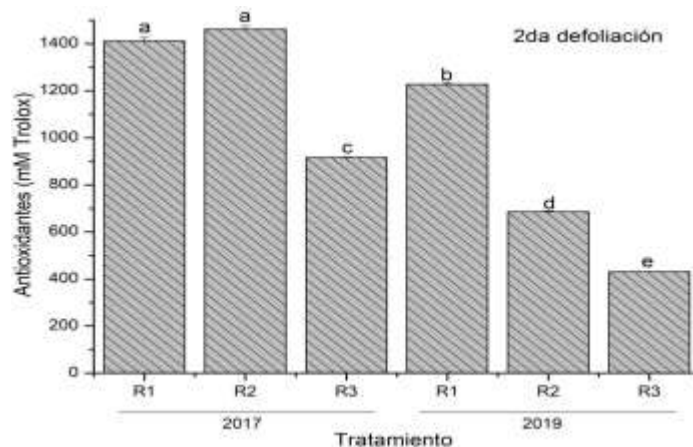


Figura 5. Cuantificación de Capacidad Antioxidante, en mM de Trolox. Segunda defoliación.

### Cuantificación total de Fenoles

Los polifenoles son metabolitos secundarios que desempeñan una gran diversidad de funciones en las plantas, contribuyendo a la defensa frente a plagas y factores de estrés (Martín Romero, J. A. 2017). Estos compuestos participan en la protección de las plantas contra las especies reactivas de oxígeno, que se producen inevitablemente cuando la respiración aeróbica o el metabolismo fotosintético se ven afectados por el estrés ambiental (Valifard, M. et al., 2014).

En el presente estudio se observó que R3.19 presentó mayor efecto en el incremento de fenoles en comparación con R2.17 y R2.19 (Figura 7). A pesar de ello no presentaron incremento positivo respecto a los datos control; los resultados anteriores se contraponen con la reciprocidad entre el contenido de fenoles totales en los extractos y su capacidad antioxidante que expone Espinosa-Leal, C. et al., (2015) en su estudio de *Leucophyllum frutesces*. Sin embargo, solo los tratamientos R1.17, R1.19 y R3.17 (Figura 7) presentaron un efecto positivo en cuanto al incremento de fenoles totales respecto a los valores control (Figura 6). Este resultado sintoniza con lo dicho por Valifard, M. et al., (2014) acerca de que la síntesis y acumulación de polifenoles se estimulan en respuesta a tensiones bióticas/abióticas y que podrían presentar fuentes potenciales de estos compuestos fenólicos.

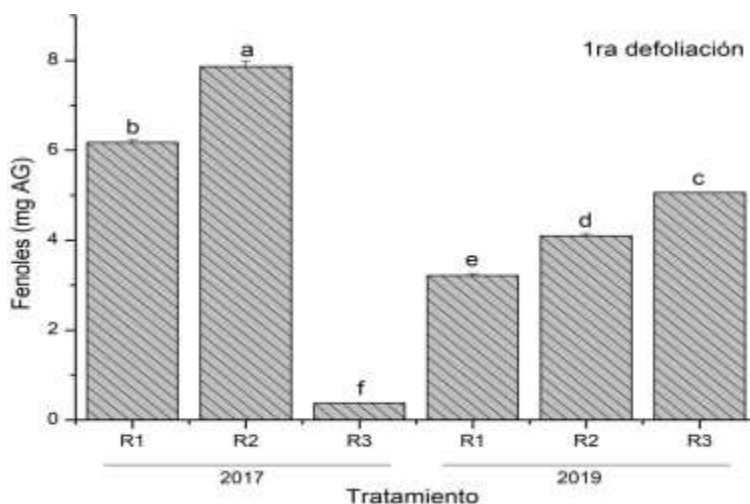


Figura 6. Cuantificación total de fenoles, en mg de ácido gálico. Primera defoliación.

Por otro lado, en un estudio sobre efecto de las condiciones de cultivo en fenoles y otros compuestos en *Heterotheca inuloides* (árnica) obtuvieron mayor concentración de compuestos fenólicos en plantas cultivadas y regadas con agua con solución nutritiva y elicidadas con ácido salicílico a una concentración de 0.05 mM en dos ocasiones, las condiciones aplicadas fueron estrés hídrico (Nieto Ramírez, M. et al., 2018). Tomando en cuenta que solo la mitad de los tratamientos del presente estudio obtuvieron concentraciones positivas respecto al control, se propone mayor tiempo de estrés abiótico ampliando el periodo de sistema de riego, para corroborar o descartar los tres tratamientos no favorables.

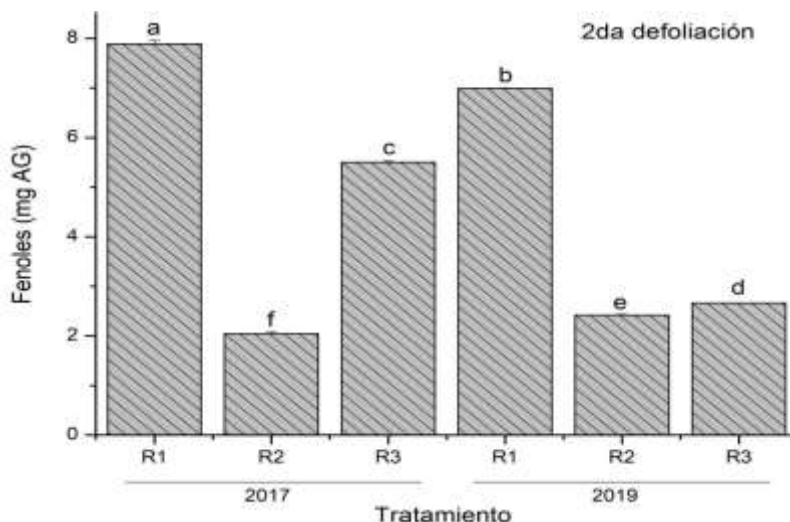


Figura 7. Cuantificación total de fenoles, en mg de ácido gálico. Segunda defoliación.

#### Cuantificación total de Flavonoides

Los flavonoides son los fenoles más ampliamente conocidos y distribuidos de las plantas y los de mayor importancia por su actividad antioxidante (Nieto Ramírez, M. I. 2016). Los resultados de la concentración de flavonoides se observan en las figuras 8 y 9. En donde se muestra que no hubo un incremento positivo en R1.17, R2.17 y R1.19 respecto a los valores control que se muestran en la figura 8. Sin embargo R2.17 fue el mejor tratamiento que R1.17 y R1.19. Para R3.17 no se tiene concentraciones de referencia control debido a la poca cantidad de hojas y por ende poca cantidad de extracto. Sin embargo, los tratamientos R2.19 y R3.19 sí tuvieron un incremento positivo en los valores de concentración de flavonoides, respecto a los valores control (primera defoliación). Las condiciones en las que estuvieron estos tratamientos fueron con poca exposición a la luz, y se mantuvieron en un lugar cerrado; Se ha demostrado que la exposición a la luz o a la temperatura de las plantas o vegetales puede influir en la síntesis positiva de flavonoides (Nieto Ramírez, M. I. 2016). Por lo anterior mencionado, se atribuye ese factor a los tratamientos que no alcanzaron un resultado positivo respecto a los datos control.

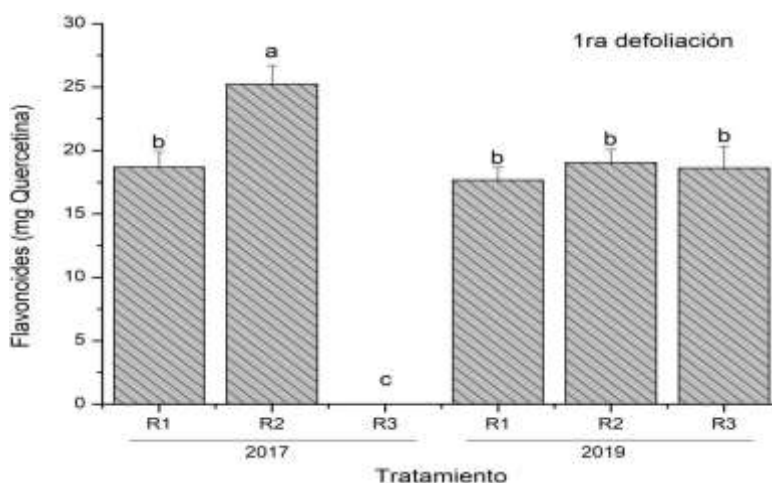


Figura 8. Cuantificación total de Flavonoides, en mg de Quercetina. Primera defoliación.

En un estudio de efecto de condiciones de cultivo de 4 plantas medicinales, en donde una de ellas es *Lippia graveolens*, aplicaron dos tratamientos distintos de riego con ácido salicílico a diferentes



concentraciones, en dos condiciones de cultivo, una en invernadero y otra en campo; después de los resultados concluyeron que el cultivo en campo favorece a la producción de fenoles y flavonoides totales en las diferentes plantas medicinales (Nieto Ramírez, M. I. 2016).

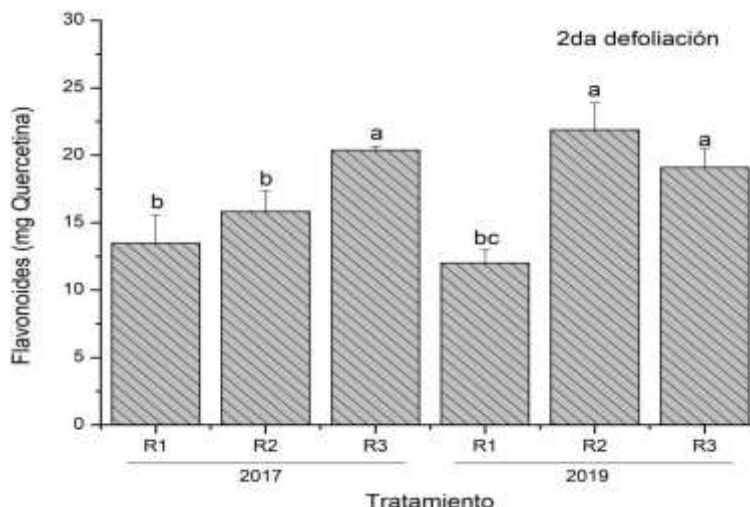


Figura 9. Cuantificación total de Flavonoides, en mg de Quercetina. Segunda defoliación.

Contenido total de Terpenos

Los compuestos químicos principales del orégano son el timol, carvacrol y p- cimeno; los cuales son fáciles de obtener por medio de la extracción del aceite esencial (Quiroz Velásquez et al., 2017). En el presente estudio hubo un efecto positivo (R3.17 y R3.19) en los valores de concentración de terpenos respecto a los tratamientos control (Figura 10). Sin embargo, el incremento de los valores fue más alto en R1.17 y R2.17 respecto a R3.17 que en los tratamientos R1.19 y R2.19 respecto a R3.19. Esta diferencia de composición química se debe a la diversidad genética (Linde, G. A. et al., 2016) que presentan las semillas del año 2017 y 2019, puesto que, es lo único que las hace diferentes ya que los dos años tuvieron los mismos sistemas de riego en las mismas condiciones. En un estudio de estimulación abiótica de la acumulación de compuestos bioactivos en dos especies de *Lippia* en donde evaluaron el contenido de dos de los compuestos más abundantes en el aceite esencial, timol y carvacrol; utilizaron luz azul, roja y blanca. En dicho estudio se obtuvieron resultados positivos, con mayor contenido de timol bajo luz azul y carvacrol en luz roja (Duran, A. Y. B. 2014).

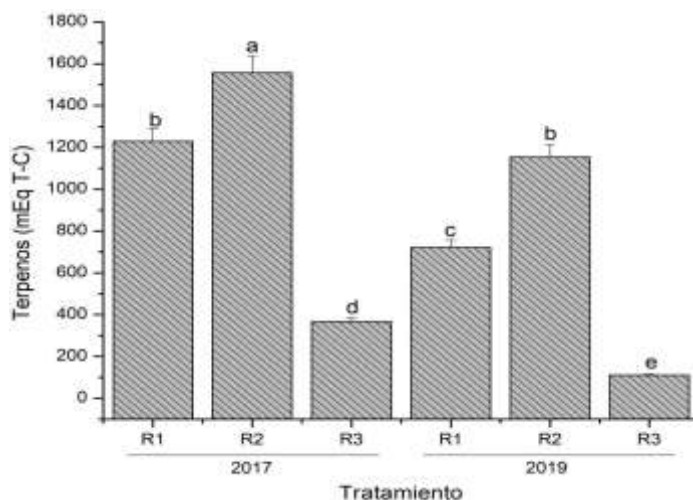


Figura 10. Cuantificación total de terpenos, mEq de Terpenos y Carvacrol.

## CONCLUSIONES

*Lippia graveolens* al ser una planta silvestre de gran interés a nivel industrial se ha vuelto blanco de estudio para lograr obtener mayor producción de los metabolitos de interés que produce. El estrés abiótico son de los principales factores que inducen el crecimiento de la producción de metabolitos secundarios, las plantas al estar expuestas al estrés hídrico desarrollan varias estrategias de adaptación, desencadenando procesos celulares y metabólicos alterando la productividad de sus compuestos químicos. A pesar de ser una planta que crece en tierra secas con poca cantidad de agua, los primeros dos sistemas de riego R1 (riego una vez cada dos semanas) y R2 (riego una vez por semana) mostraron incrementos favorables en algunos de los componentes químicos evaluados como lo son terpenos y capacidad antioxidante.

El estrés hídrico en *Lippia graveolens* si favorece la producción de compuestos fotoquímicos, sin afectar características fisiológicas.

La variabilidad genética de las semillas tiene gran influencia en la concentración de compuestos fotoquímicos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Barrientos Ramírez, L., Arvizu, M. L., Salcedo Pérez, E., Villanueva Rodríguez, S., Vargas Radillo, J. J., Barradas Reyes, B. A., & Ruiz López, M. A. (2019). Contenido de polifenoles y capacidad antioxidante de *Physalis chenopodifolia* Lam. silvestre y cultivo. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 10(51), 182-200.
2. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
3. Bueno, Durán A. (2014). Estimulación abiótica de la acumulación de compuestos bioactivos en dos especies de *Lippia*. (Tesis doctoral). CIATEJ. Jalisco.
4. Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*, 10(3).
5. Duran, A. Y. B. (2014). Estimulación abiótica de la acumulación de compuestos bioactivos en dos especies de *Lippia*.
6. Espinosa-Leal, C., Treviño-Neávez, J. F., Garza-Padrón, R. A., Verde-Star, M. J., Rivas-Morales, C., & Morales-Rubio, M. E. (2015). Contenido de fenoles totales y actividad anti-radical de extractos metanólicos de la planta silvestre y cultivada in vitro de *Leucophyllum frutescens*. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 46(3), 52-56.
7. García-Bores, A. M., Espinosa-González, A. M., Reyna-Campos, A., Cruz-Toscano, S., Benítez-Flores, J. C., Hernández-Delgado, C. T., ... & Ávila-Acevedo, J. G. (2017). *Lippia graveolens* photochemopreventive effect against UVB radiation-induced skin carcinogenesis. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 167, 72-81.
8. González-Trujano, M. E., Hernández-Sánchez, L. Y., Muñoz Ocotero, V., Dorazco-González, A., Guevara Fefer, P., & Aguirre-Hernández, E. (2017). Pharmacological evaluation of the anxiolytic-like effects of *Lippia graveolens* and bioactive compounds. *Pharmaceutical biology*, 55(1), 1569-1576.
9. Linde, GA, Colauto, NB, Albertó, E. y Gazim, ZC (2016). Quimiotipos, extracción, composición y aplicaciones del aceite esencial de *Lippia alba*. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 18, 191-200.
10. López-Villafranco, M., Aguilar-Contreras, A., Aguilar-Rodríguez, S., & Xolalpa-Molina, S. (2017). Las Verbenaceae empleadas como recurso herbolario en México: Una revisión etnobotánica-médica. *Polibotánica*, (44), 195-216
11. Martín Romero, J. A. (2017). Efecto de la combinación patrón-portainjerto, estado de maduración del fruto y condiciones de estrés hídrico o salino sobre el contenido en compuestos bioactivos del pimiento (*Capsicum Annuum*).
12. Moreno-Rodríguez, A., Vázquez-Medrano, J., Hernández-Portilla, L. B., Peñalosa-Castro, I., Canales-Martínez, M., Orozco-Segovia, A. Flores-Ortiz, C. M. (2014). The effect of light and soil moisture on the accumulation of three flavonoids in the leaves of Mexican oregano (*Lippia graveolens* Kunth). *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 12(2), 1272-1279.

13. Nieto Ramírez, M. I. (2016). Efecto de las condiciones de cultivo en la producción de fenoles y flavonoides totales y capacidad antioxidante en cuatro diferentes plantas medicinales (Doctoral dissertation).
14. Nieto Ramírez, M. I., García Trejo, J. F., Caltzontzin Rabell, V., Chávez Jaime, R., & Estrada Sánchez, M. D. L. L. (2018). Efecto de las condiciones de cultivo en la producción de fenoles, flavonoides totales y su capacidad antioxidante en el árnica (*Heterotheca inuloides*). *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 9(SPE21), 4296-4305.
15. Quiroz Velásquez, J. D. C., Sánchez Várela, A., Torres Ortega, J. A., García Olivares, J. G., Salazar Bravo, Á., & Hernández Mendoza, J. L. (2017). Cuantificación por HPLC del contenido de timol y carvacrol en *Lippia Graveolens* HBK sl, nativa de Reynosa, Tamaulipas, México. *Revista Boliviana de Química*, 34(1), 33-39.
16. Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158
17. Stahle, D. W., Cook, E. R., Burnette, D. J., Villanueva, J., Cerano, J., Burns, J. N. & Szejner, P. (2016). The Mexican Drought Atlas: Tree-ring reconstructions of the soil moisture balance during the late pre-Hispanic, colonial, and modern eras. *Quaternary Science Reviews*, 149, 34-60.
18. Valifard, M., Mohsenzadeh, S., Kholdebarin, B., & Rowshan, V. (2014). Effects of salt stress on volatile compounds, total phenolic content and antioxidant activities of *Salvia mirzayanii*. *South African Journal of Botany*, 93, 92-97.

## CONTENIDO DE AZÚCARES REDUCTORES Y TOTALES EN SEMILLA DE CACHICHÍN (*OECOPETALUM MEXICANUM* GREENM. & C.H.THOMPS.).

Alejandro Esli Hernández-Mora<sup>1</sup>, Gabriela Abigail Guzmán-Báez<sup>1</sup>, Aleida Selene Hernández-Cázares<sup>1</sup>, Adriana Contreras-Oliva<sup>1</sup>, Libia Iris Trejo-Téllez<sup>2</sup> y Fernando Carlos Gómez-Merino<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Colegio de Postgraduados Campus Córdoba. Carretera Federal Córdoba Veracruz km 348, Congregación Manuel León, C. P. 94946 Amatlán de los Reyes, Veracruz. <sup>2</sup>Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco km 36.5, C.P. 56230 Montecillo, Texcoco, Estado de México.

E-mail: [hernandez.alejandra@colpos.mx](mailto:hernandez.alejandra@colpos.mx)

### RESUMEN

La semilla cachichín, de la familia Metteniusaceae, es endémica de la sierra de Misantla, Veracruz, México. Es consumida regionalmente como una botana saludable y se comercializa cruda, hervida y tostada. Los tratamientos térmicos como el tostado de la semilla tienen un impacto en la calidad de la semilla, los azúcares reductores y el contenido de aminoácidos generan una diversidad de productos intermediarios y pigmentos marrones (melanoidinas), los cuales contribuyen a la actividad antioxidante, sabor y color de la semilla; por otro lado, el aporte de estos azúcares es de carácter nutritivo en el consumo humano. El objetivo de este estudio fue determinar el contenido de azúcares totales y reductores de la semilla cruda, así como a diferentes tratamientos térmicos, hervido y tostado comercial (adquiridos localmente), y tostado controlado a nivel laboratorio (134 °C por 25 min). La determinación de azúcares totales y reductores se realizó mediante el método de Antrona y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) respectivamente. Los resultados obtenidos de los tratamientos ensayados muestran que el contenido de azúcares totales en la semilla hervida disminuye 25 % con respecto a la semilla cruda, al contrario del resto de tratamientos donde el efecto significativo es nulo. El contenido de azúcares reductores en semillas con un tostado controlado aumenta el contenido de glucosa y fructosa en 69 y 119 %, respectivamente en comparación con la semilla cruda. Esto último demuestra el efecto del tostado a condiciones controladas con un rompimiento de los almidones presentes en el endospermo de la semilla por adición de calor, liberando así los azúcares reductores que serán utilizados en la reacción de oscurecimiento no enzimático y dando así el sabor tostado agradable al consumidor. Los azúcares totales por su parte se ven afectados por el hervor del agua en semillas hervidas, esto se adjudica a la interacción de polaridad entre las estructuras y el agua que penetra la semilla, mermando así el contenido energético.

### INTRODUCCIÓN

La semilla de cachichín del árbol de la familia Metteniusaceae y especie *Oecopetalum mexicanum* Greenm. C.H. & Thomps. (Hernández-Urban *et al.*, 2019), es cultivada en la región de Misantla, Veracruz. La comercialización de la semilla se realiza en forma cruda, hervida o tostada, en la ciudad de Xalapa, Veracruz. Principalmente su consumo se relaciona con un conocimiento empírico de botana saludable (Lascurain *et al.*, 2012).

La semilla de cachichín contiene carbohidratos (41.61 %), proteínas (19.37 %), fibra cruda (7.70 %), cenizas (1.68 %) y lípidos (60.7 %). El contenido lipídico está conformado por 38.09 % de ácidos grasos saturados, de los cuales se encuentran ácido palmítico (25.99 %) y ácido esteárico (12.1%); mientras que el 60 % corresponde a ácidos grasos insaturados y poliinsaturados, especialmente linoleico ( $\Omega$ -6, 48 %), oleico ( $\Omega$ -9, 7.17 %) y linolénico ( $\Omega$ -3, 5.62%) (Hernández *et al.*, 2013).

Los tratamientos térmicos en el procesado de alimentos suelen tener un impacto en su calidad, en las semillas por su contenido de azúcares reductores y aminoácidos, generan una diversidad de productos intermediarios; así como pigmentos marrones (melanoidinas) (Badui, 2006). Las moléculas melanoides contribuyen en la actividad antioxidante, sabor y color de la semilla (Lusani y Van-Wyk, 2016). Por lo tanto, la reacción de Maillard llevada a cabo bajo procesos térmicos en semillas tostadas, ofrece una estabilidad en su contenido lipídico, en específico ácidos grasos insaturados (Augustin *et al.*, 2006).

Por otro lado, el consumo de nueces y semillas se ha visto asociado con la disminución de enfermedades cardiovasculares, diabetes y obesidad. Es por ello que obtener un conocimiento más completo sobre su composición conlleva a utilizar sus propiedades de una manera más óptima en la dieta diaria (De Lira *et al.*, 2012). El objetivo de este estudio fue determinar el contenido de azúcares totales y reductores en semilla de cachichín cruda y a diferentes tratamientos térmicos, hervido y tostado comercial (adquiridos localmente), y tostado controlado a nivel laboratorio (134 °C por 25 min).

## PARTE EXPERIMENTAL

La semilla de cachichín en crudo, así como la hervida y tostada de forma comercial se obtuvo de comerciantes locales del municipio de Misantla, Veracruz. Para comparar un tercer tratamiento se realizó un tostado de la semilla cruda a nivel laboratorio en condiciones controladas de 134 °C a 25 min en una parrilla de calentamiento marca Thermo-Scientific.

### *Determinación de azúcares totales por método Antrona*

La determinación de azúcares reductores y azúcares totales en todos los tratamientos se realizó en semilla de cachichín molida. Una muestra (1 g) del triturado se mezcló con 50 mL de etanol (80 %) y tres perlas de ebullición, se sometió a calentamiento con agitación constante en una parrilla Thermo-Scientific hasta una reducción del alcohol de 20 mL, aproximadamente. Posteriormente, se dejó enfriar (10 min), se filtró en embudo de plástico de tallo corto con algodón en frascos graduados de 20 mL y se dejó reposar por 24 h. Una alícuota de 1 mL se agregó a un matraz de 25 mL, se llevó a evaporación en baño María a 80 °C, se añadieron 20 mL de agua destilada en agitación constante hasta homogenizar bien la mezcla. En un tubo de ensayo con 2 mL de agua destilada y 6 mL de Antrona (MEYER, cat. 0683, Ciudad de México, México.), colocados previamente en un baño de hielo, se agregó 1 mL de la solución anterior. Seguidamente, se coloraron los tubos en baño María a 95 °C durante 3 min, inmediatamente los tubos se colocaron en baño de hielo para detener la reacción y se decantaron en celdas de espectrofotómetro de 1 mL. Las lecturas se realizaron en un espectrofotómetro UV-Visible marca JENWAY modelo 6715-8 a una longitud de onda de 600 nm. Los resultados se expresaron en mg de azúcares totales por semilla de cachichín ( $\text{mg semilla}^{-1}$ ). Para la curva de calibración de sacarosa  $\geq 95$  % (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA) se realizó a diferentes concentraciones (0, 1.11, 2.22, 3.33, 4.44, 5.56, 6.67, 7.78, 8.89, 10, 11.11, 13.33, 15.56, 17.78, 20 y  $22.22 \mu\text{g mL}^{-1}$ ).

### *Cuantificación de azúcares reductores (HPLC)*

La cuantificación de carbohidratos reductores se realizó con una variación de la norma ISO-11292-1195 (Marín-Garza *et al.*, 2018). Se utilizó un HPLC Dionex ICS 3000 equipado con un detector electroquímico, columna CarboPac PA1  $2 \times 250$  mm, marca ThermoFisher (Waltham, MA, USA), con un flujo isocrático de  $0.5 \text{ mL min}^{-1}$ , utilizando agua grado HPLC como fase móvil y NaOH 300 mM para la reacción electroquímica post-columna. Los resultados se expresaron como mg de azúcares reductores por semilla de cachichín ( $\text{mg semilla}^{-1}$ ). Se realizó una curva de calibración con estándares de arabinosa, galactosa, glucosa, xilosa y fructuosa  $\geq 95$  %, marca Sigma-Aldrich (Saint Louis, MO, USA) en nueve diferentes concentraciones (0.1, 0.2, 0.5, 0.8, 1, 2, 3, 4 y 5 %).

### *Análisis estadístico*

Con los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza con prueba de comparación de medias de Tukey ( $P \leq 0.05$ ) por medio del software estadístico R versión 1.2.5033 (RStudio Team 2020).

## RESULTADOS

Los tratamientos térmicos afectaron significativamente ( $P \leq 0.05$ ) el contenido de azúcares totales en la semilla de cachichín (Cuadro 1). La semilla en crudo, el tratamiento tostado controlado y tostado comercial mostraron diferencias significativas respecto a la semilla hervida. La semilla en crudo obtuvo el mayor contenido de azúcares reductores.

En semilla hervida, el contenido de azúcares totales representa el 25 % de la semilla cruda, por lo que los azúcares totales se ven afectados por el hervor del agua, debido posiblemente a la

interacción del agua con la polaridad entre las estructuras glucosídicas, al penetrar el agua por el endospermo de la semilla, mermando así el contenido de carbohidratos totales (Trujillo *et al.*, 2014).

Cuadro 1. Contenido de azúcares totales por cada semilla de cachichín bajo tres tipos de tratamientos.

Tratamiento	Azúcares totales (mg semilla <sup>-1</sup> PBS)
Crudo	9.41 ± 1.00 a
Hervido	2.38 ± 0.35 b
Tostado comercial	8.04 ± 2.67 ab
Tostado controlado	8.74 ± 0.54 a

Medias ± EE con letra distinta en cada columna indican diferencia estadística (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). PBF: Peso de Biomasa Seca.

El contenido de azúcares reductores (glucosa y fructosa) en la semilla de cachichín se observó afectado por los tratamientos térmicos de una manera significativa (Cuadro 2). El contenido de glucosa y fructosa más alto se obtuvo la semilla con tostado controlado y se observan diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) al resto de los tratamientos.

El contenido de azúcares reductores (glucosa y fructosa) en las semillas con un tostado controlado aumenta en un 69 y 119 %, respectivamente, en comparación con la semilla en crudo. Esto demuestra que el efecto del tostado a condiciones controladas permite el rompimiento de los almidones presentes en el endospermo de la semilla por adición de calor, liberando así los azúcares reductores que serán utilizados en la reacción de oscurecimiento no enzimático (Zamora y Hidalgo, 2011). Si el tiempo de tostado es extendido, el contenido de glucosa y fructosa comenzarán a reaccionar con los aminoácidos presente en la semilla y obtener como producto final moléculas melanoides que darán el aroma, color, sabor y tostado característico que el consumidor requiere (Badui, 2006).

La presencia de estos azucares favorecen la reacción de Maillard obtenido sabor y aroma característicos, sin embargo se producen sustancias toxicas si no hay un control del tratamiento térmico. Así mismo, los productos de esta reacción generan moléculas antioxidantes, que en su consumo tendrán una actividad antioxidante previniendo el envejecimiento celular humano (Lusani y Van-Wyk, 2016).

Cuadro 2. Contenido de azúcares reductores (glucosa y fructosa) por cada semilla de cachichín bajo tres tipos de tratamientos.

Tratamiento	Glucosa (mg semilla <sup>-1</sup> PBS)	Fructosa (mg semilla <sup>-1</sup> PBS)
Crudo	1.50 ± 0.16 b	1.09 ± 0.15 b
Hervido	1.43 ± 0.09 b	1.22 ± 0.06 b
Tostado comercial	1.34 ± 0.09 b	1.09 ± 0.09 b
Tostado controlado	2.53 ± 0.15 a	2.39 ± 0.01 a

Medias ± EE con letra distinta en cada columna indican diferencia estadística (Tukey,  $P < 0.05$ ). PBF: Peso de Biomasa Seca.

## CONCLUSIONES

El contenido de azúcares totales en la semilla hervida disminuye 25 % con respecto a la semilla cruda, al contrario del resto de tratamientos donde el efecto significativo es nulo. Sin embargo, en el tostado comercial y controlado se mantienen estables con respecto a la semilla cruda, aportando valor energético en su consumo. El contenido de azúcares reductores en semillas con un tostado controlado aumenta el contenido de glucosa y fructosa en 69 y 119 %, respectivamente en comparación con la semilla cruda.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. B. Hernández, G. Luna, O. García, M. R. Mendoza, E. Azuara, C. I. Beristain, M. Jiménez. "Extraction and characterization of *Oecopetalum mexicanum* seed oil". Ind. Crop. Prod. Vol. 43, 2013, pp. 355–359.

2. C. De Lira-García, M. Bacardí-Gascón, A. Jiménez-Cruz. "Efecto del consumo de nueces, semillas y aceites sobre marcadores bioquímicos y el peso corporal: revisión sistemática". *Nutr Hosp.* Vol. 27, 2012, pp. 964–970.
3. D. S. Badui. "Química de los alimentos". Quintanar D., E. (ed.). Pearson Addison Wesley. 2006, pp. 61–71.
4. D. Trujillo, L. F. Duque, J. S. Arcila, A. Rincón, S. Pacheco, O. F. Herrera. "Remoción de turbiedad en agua de una fuente natural mediante coagulación/floculación usando almidón de plátano". *Rev. ion.* Vol. 27, 2014, pp. 17–34.
5. H. A. Hernández-Urban, D. F. Angulo, M. Lascurain-Rangel, S. Avendaño-Reyes, L. L. Can, G. W. Stull, R. Duno de Stefano. "Systematics and phylogeny of *Oecopetalum* (Metteniusaceae), a genus of trees endemic to North and Central America". *Rev. Biol. Trop.* Vol. 67, 2019, pp. 888–900.
6. M. A. Augustin, L. Sanguansri, O. Bode. "Maillard reaction products as encapsulants for fish oil powders". *Food Engineering and Physical Properties.* Vol. 71, 2006. pp. 25–32.
7. M. Lascurain, S. Avendaño, C. López, J. C. López, M. Covarrubias. "Valores ecológicos, productivos y culturales de cachichín (*Oecopetalum mexicanum*): un fruto salvaje comestible de Veracruz, México". *BGjournal.* Vol. 9, 2012, pp. 13–16.
8. N. V. Lusani, J. Van-Wyk. "Antioxidant activity of Maillard reaction products (MRPs) in a lipid-rich model system". *Food Chem.* Vol. 208, 2016, pp. 301–308.
9. R. Zamora, F. J., Hidalgo. "The Maillard reaction and lipid oxidation". *Lipid Technology.* Vol. 23, 2011, pp. 59–62.
10. T. Marín-Garza, F. C. Gómez-Merino, N. Aguilar-Rivera, J. Murguía-González, L. I. Trejo-Téllez, M. C. Pastelín-Solano, O. Castañeda-Castro. "Composición bioactiva de hojas de café durante un ciclo anual". *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 41, 2018 pp. 365–372.
11. International Organization for Standardization ISO-11292:1195, "Instant Coffee. Determination of Free and Total Carbohydrate Contents. Method Using High-Performance Anion-Exchange Chromatography". 1995. Geneva, Switzerland. <https://www.iso.org/standard/19270.html> (Noviembre 2018).
12. RStudio Team (2020). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, PBC, Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.

## CARACTERIZACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS, ACEITE ESENCIAL Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS DE HOJAS DE *ALOYSIA CITRIODORA*

Héctor Eduardo Martínez Flores<sup>1</sup>, Osvaldo Alvarez Cortés<sup>2</sup>, Ma. Guadalupe Garnica Romo<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Químico Farmacobiología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

<sup>2</sup>Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. <sup>3</sup>Facultad de Ingeniería Civil. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

Autor de correspondencia, Héctor Eduardo Martínez Flores, correo electrónico: hector.martinez.flores@umich.mx

### RESUMEN

Las hojas de *Aloysia citriodora* pueden contener diferentes compuestos bioactivos como son los compuestos fenólicos, útiles como potentes antioxidantes, así como de aceites esenciales. Por lo anterior es necesario realizar una caracterización química para conocer el tipo y cantidad de compuestos fenólicos y de terpenos contenidos en los extractos de hojas de *A. citriodora*. El objetivo del presente estudio fue realizar una extracción de compuestos fenólicos y conocer su capacidad antioxidante *in vitro* en extractos obtenidos por maceración con agua y etanol, así como de terpenos. Los compuestos fenólicos y los flavonoides totales se midieron y se expresaron como equivalentes de ácido gálico y quercetina, respectivamente. También se determinó la cantidad de aceite esencial de *Aloysia citriodora*, que se obtuvo de las hojas mediante el método de hidrodestilación y se analizó mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). La capacidad antioxidante de los compuestos polifenólicos y los terpenos se determinó mediante la inhibición de los radicales 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS) y 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). El contenido de los compuestos fenólicos fue mayor en el extracto acuoso, así como la actividad antioxidante también fue más alta frente a los radicales ABTS y DPPH en la fracción acuosa comparados con la fracción etanólica. Al comparar el aceite esencial con el extracto acuoso, el primero obtuvo una mayor actividad antioxidante frente a los radicales ABTS y DPPH. En éste se identificaron 16 componentes volátiles, siendo los mayoritarios la crisantenona (15.105%), D-limoneno (11.79%),  $\alpha$ -curcumeno (5.01%), espatulenol (5%)  $\alpha$ -gurjunene (4.89%), santolina triene (4.10%),  $\alpha$ -pineno (3.36%), cariofileno (2.95%), óxido de cariofileno (1.38%) y citral (1.2%).

### INTRODUCCIÓN

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, una planta medicinal se define como cualquier especie vegetal silvestre o cultivada que contiene sustancias capaces de ser empleadas para propósitos curativos y cuyos principios activos pueden servir como precursores para la síntesis de nuevos fármacos. Es por ello por lo que los componentes bioactivos han cobrado relevancia en los últimos años, debido a los beneficios que generan a la salud humana, algunos previniendo enfermedades crónico-degenerativas, así como aliviando los síntomas que estas producen. Existe una gran variedad de fitoquímicos bioactivos, entre los que destacan diversos compuestos de tipo: fenólicos, azufrados, fitoesteroles, terpenos, carotenoides e isoflavonas, que se encuentran en frutas, verduras, cereales, leguminosas y planta medicinales (1).

Se estima que en el mundo existen entre 310,000 y 422,000 especies de plantas, de las cuales 20,000 poseen propiedades de gran interés para la investigación y descubrimiento de compuestos que lleven a la elaboración de nuevos fármacos; pese a esto, se calcula que menos del 10% de las plantas han sido evaluadas en la búsqueda de actividad biológica (2).

Entre estas plantas medicinales, *Aloysia citriodora* ha sido estudiada en diversos países con el propósito de conocer el tipo y cantidad de compuestos que contiene, y a las diferentes propiedades que éstos puedan ejercer en los sistemas biológicos. La planta es originaria de América del Sur, se distribuye por Mesoamérica y Centroamérica, es ampliamente cultivada como especie ornamental, por el agradable olor de sus flores y como especie medicinal (3). *A. citriodora* es conocida en México con diversos nombres entre los que destacan "Cedrón" o "Yerba Luisa", es un arbusto perennifolio



aromático que crece entre 3-4 m. Se levanta desde la base corta, gruesa y leñosa. Sus hojas aparecen agrupadas en verticilos trímeros, tienen hasta 7 cm de longitud de color verde claro. Presenta flores blancas dispuestas en pequeñas cabezuelas agrupadas en racimos, ubicadas en las partes terminales de la planta. La infusión de las hojas es usada ampliamente en México y en países Sudamericanos para calmar los dolores, afecciones nerviosas y gastrointestinales, como son: cólicos, diarrea, indigestión, flatulencias, náuseas y vómito. El reumatismo, úlceras y dolores menstruales son otros de los malestares para los que se usa esta infusión (4).

Las hojas del cedrón son ricas en un aceite esencial, cuyo componente principal es el citral, responsable de su aroma y que contiene además limoneno, linalol, cineol, terpineol, cariofileno, espatulenol, y variaciones intrínsecas en la cantidad y calidad del resto de terpenos como  $\alpha$ -tujeno,  $\alpha$ -pineno, camfeno, mirceno, p-cimeno,  $\gamma$ -terpineno, linalol, camferol, dihidrolinalool, citronelol, mentona, isoborneol,  $\alpha$ -terpineol y carvona (5).

Los extractos acuosos de *A. citriodora* contienen antioxidantes en infusión, como, por ejemplo, posee  $51.85 \pm 3.17$  mg de ácido tánico/g material seco (6); por otro lado, se ha reportado que el extracto acetónico de las partes aéreas evidenció significativa actividad contra *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus vulgaris* (7).

Para que los compuestos activos puedan ejercer los efectos antes descritos, las moléculas bioactivas deben llegar al sitio de acción, por lo que, salvo que se ejerzan sus efectos directamente sobre el tracto digestivo, deben ser absorbidos, pasar a la sangre y distribuirse en el organismo humano (1). Por lo cual han surgido técnicas como la encapsulación para proteger los bioactivos al interior del organismo, evitando que estos se degraden antes de cumplir su función.

El objetivo del presente estudio fue realizar una extracción de compuestos fenólicos y conocer su capacidad antioxidante *in vitro* en extractos obtenidos por maceración con agua y etanol, así como de terpenos.

## PARTE EXPERIMENTAL

Se recolectó en Morelia, Michoacán. Se le retiraron ramas y flores, las hojas se secaron bajo sombra a temperatura ambiente.

Para la extracción etanólica y acuosa se molieron las hojas y se tamizaron usando el tamiz con malla de 0.8 mm de diámetro; para la hidrodestilación se ocuparon las hojas enteras.

### Obtención de los extractos

Los extractos se obtuvieron mediante maceración de las hojas en dos solventes distintos, con agua y etanol al 80% por 1 h a temperatura de 75 °C; posteriormente, se recuperó el solvente etanólico utilizando el equipo Rotary Evaporador RE500; para la recuperación del extracto acuoso se utilizó el equipo Nano SprayDryer B-90.

El aceite esencial se obtuvo por hidrodestilación. La obtención del aceite esencial y agua floral se realizó por el método de hidrodestilación directa, a temperatura de 95 °C en una relación de 1:10. El tiempo de hidrodestilación lo define la cantidad de agua evaporada, para este ensayo el tiempo de hidrodestilación fue hasta que se evaporara la mitad de agua.

El agua evaporada se vertió en un embudo para la separación del aceite esencial, el aceite recuperado fue almacenado en refrigeración hasta su uso. Obteniéndose el agua floral y el aceite esencial.

### Determinación de compuestos fenólicos y de pruebas antioxidantes

Se realizaron mediante técnicas espectrofotométricas en el rango visible las siguientes determinaciones: polifenoles totales, flavonoides totales, terpenos, DPPH y ABTS.

**Polifenoles Totales.** Se hizo mediante la metodología de *Taga et al.* (8) a una longitud de onda de 750 nm, donde se utilizó como Equivalente al ácido gálico.

**Flavonoides.** Se utilizó la metodología de *Dewanto et al.* (9) a una longitud de onda de 510 nm, donde se usó como Equivalente a la quercetina.

**Terpenos.** Se realizó con la metodología de *Ghorai et al.* (10) a una longitud de onda de 538 nm, donde se usó como Equivalente a Linalol.

DPPH y ABTS. La capacidad para capturar radicales libres de los extractos se determinó utilizando como referencia la capacidad de atrapar los radicales (DPPH.) y (ABTS.), con la metodología de *Brand-Williams et al.* (11) a una longitud de onda de 515nm y de *Okoh* (12) a 734 nm, respectivamente.

## RESULTADOS

En la Tabla se encuentran los resultados del rendimiento de los cuatro productos obtenidos. Las mayores concentraciones fueron para los extractos etanólico y acuoso con valores de 1.797 g y de 1.779 g por cada 100 g, respectivamente sin tener diferencias significativas entre ambos.

Tabla 1. Rendimiento de los extractos de hojas de *Aloysia citriodora*.

Extracto	Cantidad por 100 g
Acuoso	1.779 ± 0.44 g <sup>a</sup>
Etanólico	1.797 ± 0.23 g <sup>a</sup>
Aceite esencial	0.8772 ± 0.23 ml <sup>b</sup>
Agua floral	0.5 L/100g <sup>c</sup>

En la Tabla se observa que el valor mayor de compuestos flavonoides fue para el extracto acuoso, obteniéndose un valor de 86.0 mg equivalentes de ácido gálico/g de muestra. EL contenido de compuestos fenólicos del extracto etanólico y para el agua floral fueron muy bajos, por lo cual se infiere que la mayor cantidad de compuestos fenólicos son altamente solubles en agua y tienen baja polaridad, por lo cual no se extrajeron en el solvente etanol.

Tabla 2. Contenido de compuestos fenólicos en los diferentes extractos de hojas de *Aloysia citriodora*.

Extracto	Cantidad de compuestos fenólicos (mg equivalentes de ácido gálico/g de extracto)
Acuoso	86.0 <sup>a</sup>
Etanólico	1.328 <sup>b</sup>
Agua floral	0.028 <sup>c</sup>

El mayor contenido de compuestos flavonoides también fue extraído con el extracto acuoso, siendo de 62.38 mg equivalentes de quercetina por gramo de extracto, tal como se observa en la Tabla 3. Los contenidos de flavonoides en el extracto etanólico y en el agua floral fueron significativamente menores.

Tabla 3. Contenido de compuestos flavonoides en los diferentes extractos de hojas de *Aloysia citriodora*.

Extracto	Cantidad de compuestos flavonoides (mg equivalentes de quercetina/g extracto)
Acuoso	62.38 <sup>a</sup>
Etanólico	0.038 <sup>b</sup>
Agua floral	0.008 <sup>c</sup>

Los resultados de actividad antioxidante, medidos como la cantidad en microgramos ( $IC_{50}$ ) necesarios para inhibir el 50% a los radicales DPPH y ABTS se muestran en las Tablas 4 y 5. Para la prueba de DPPH se utilizó el ácido ascórbico como control positivo, el cual obtuvo el mejor rendimiento entre inhibición y concentración utilizada, siendo para este 10.6  $\mu\text{g}$  para inhibir el 50 % del radical DPPH; para el extracto acuoso 24.04  $\mu\text{g}$  y para el extracto etanólico 40  $\mu\text{g}$  (Tabla 4). En el caso del agua floral, no mostro ningún tipo de inhibición frente el radical DPPH. Los extractos con mayor cantidad de polifenoles, ocuparon concentraciones más bajas para llegar  $IC_{50}$ . Los resultados obtenidos en la cuantificación de polifenoles totales y flavonoides tienen una relación, ya que los flavonoides deben de presentarse en menor proporción que los polifenoles totales, dado que los primeros pertenecen a este grupo de compuestos. El aceite esencial ocupa 5.95  $\mu\text{L}$  para inhibir el 50 % del radical DPPH.

Tabla 4. Cantidad requerida de cada extracto para inhibir al radical DPPH ( $IC_{50}$ ).

Extracto	Cantidad ( $\mu\text{g}$ de inhibición 50% del radical DPPH)
Ácido ascórbico	10.6 <sup>c</sup>
Acuoso	24.04 <sup>b</sup>
Etanólico	40.00 <sup>a</sup>
Agua floral	No presento inhibición
Aceite esencial	5.95 $\mu\text{L}^d$

En la Tabla 5 se observa que en el control con ácido gálico se obtuvo una inhibición del 50% del radical ABTS a una concentración de 1.29 g de ácido gálico, mientras que para el extracto acuoso fue de 64.17  $\mu\text{g}$ , para el extracto etanólico fue de 80  $\mu\text{g}$ , para el agua floral de 150  $\mu\text{g}$ , y para el aceite esencial 1.34  $\mu\text{L}$ .

Tabla 5. Cantidad requerida de cada extracto para inhibir al radical DPPH ( $IC_{50}$ ).

Extracto	Cantidad ( $\mu\text{g}$ de inhibición 50% del radical ABTS)
Ácido gálico	1.29 <sup>d</sup>
Acuoso	64.17 <sup>c</sup>
Etanólico	80.00 <sup>b</sup>
Agua floral	150 <sup>a</sup>
Aceite esencial	1.340 $\mu^d$

En ambos casos de la medición de la capacidad antioxidante, el extracto acuoso fue en el que se obtuvieron los mejores resultados, por lo que se establece que la mayor parte de los compuestos extraídos son de carácter altamente polares.

En la Tabla 6 se observa que se detectó la presencia de 16 compuestos por la cromatografía de gases acoplado a masas. La Crisantenona y D-Limoneno, son los componentes mayoritarios del aceite. La crisantenona es importante ya que presenta actividades antibacterianas contra *Salmonella*, *Escherichia* y *Klebsiella*, y antifúngicas contra *Fusarium* y *Aspergillus* (13). Por su parte el D-limoneno presenta interés en el sector alimentario y farmacéutico por su aroma cítrico y por sus propiedades insecticidas. El contenido de cariofileno, citral, espatulenol, óxido de cariofileno,  $\alpha$ -curcumeno y  $\alpha$ -pineno coinciden con los componentes obtenidos Hawary *et al.* (14) en hojas de *Lippia citriodora* cultivadas en Egipto. Otros componentes de interés detectados fueron el alfa-pineno es un anti-inflamatorio a través de PGE1, inhibiendo (COX-2). Cariofileno es capaz de modular los procesos inflamatorios (15).

Tabla 6. Presencia de compuestos terpenoides presentes en el aceite esencial extraído de *Aloysia citriodora*.

Componentes	Tiempo de retención (min)	Abundancia
Canfeno	31.264	1.77
Cariofileno	52.701	2.95
Cis carveol	46.687	1.749
Citral	41.684	1.20
Crisantenona	47.948	15.105
D-limoleno	30.903	11.79
Espatuleno	68.681	5.00
Óxido de cariofileno	68.905	1.388
Santolina triene	31.007	4.10
$\alpha$ -Bergamotene	59.325	1.74
$\alpha$ -curcumeno	58.063	5.01
$\alpha$ -gurgujene	59.89	4.89
$\alpha$ -pineno	31.079	3.36
$\beta$ -cuvebene	58.193	1.35
$\gamma$ -cadineno	68.024	1.263
$\delta$ -cadineno	73.087	1.868

### CONCLUSIONES

Con el extracto acuoso de hojas de *A. citriodora* se obtuvo el contenido mayor de polifenoles, de flavonoides y presentó la actividad antioxidante más alta frente a los radicales ABTS y DPPH. En el aceite esencial se identificaron 16 componentes volátiles, siendo los mayoritarios la crisantenona (15.10%) (actividad antimicrobiana y antifúngica), d-limoneno (interés en industria farmacéutica, alimentaria, uso en formulaciones insecticidas).

### BIBLIOGRAFÍA

1. S. M. E. Drago, L. M. López, E. T. del R. Sainz, "Componentes bioactivos dealimentos funcionales de origen vegetal", Rev. Mex. Ciencias Farmac., Vol. 37, 4, 2006, pp. 58-68.
2. C. Juárez-Rosete, B. J. A. Aguilar-Castillo, M. E. Juárez-Rosete, R. Bugarín-Montoya, P. Juárez-López, C. E. Crespo, "Hierbas aromáticas y medicinales en México: tradición e innovación", Revista Bio Ciencias, Vol. 2, 3, 2013, pp.19-29.
3. C. E. Estrada, B. E. Soto, L. M. Garza, J. A. Villarreal, P. J. Jiménez, M. M. Pando, "Plantas útiles en el centro-sur del Estado de Nuevo León", Botanical Si., Vol. 91, 4, 2012, pp. 1-2.
4. A. Cáceres, O. Cano, B. Samayoa, L. Aguilar, L., "Plants used in Guatemala for treatment of gastrointestinal disorders. 1. Screening of 84 plants against enterobacteria", J Ethnopharmacol., Vol. 30, 1, 1990, pp. 55-73.
5. L. P. Di Leo, C. M. van Baren, D. Retta, A. L. Bandoni, A. Gil, M. Gattuso, S. Gattuso, "Characterization of lemon verbena (*Aloysia citriodora* Palau) from Argentina by the essential oil", J. Essent. Oil Res., Vol. 20, 4, 2008, pp. 350-353.
6. M. F. Wernert, M. L., Wagner, A. A. Gurni, M. A. Carballo, R. A. Ricco, "Estudio de polifenoles de infusiones y cocimientos de hojas de Cedrón", Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, Vol. 8, 4, 2009, pp. 308-311.
7. N. K. Kumar, K. S. Kumar, B. Raman, I. Reddy, M. Ramarao, S. Rajagopal, "Antibacterial activity of *Lippia citriodora* a folklore plant", JPAM, Vol. 2, 1, 2008, pp. 249-52.
8. M. S., Taga, E. E. Miller, D. E. Pratt, "Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants", J. Amer. Oil Chem. Soc., Vol. 61, 5, 1984, pp. 928-931.
9. V., Dewanto, X. Wu, K. K. Adom, R. H. Liu, "Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity", J. Agricult. Food Chem., Vol. 50, 10, 2002, pp. 3010-3014.

10. N. Ghorai, S. Chakraborty, S. Guichait, S. K., Saha, S. Biswas, S., "Estimation of total Terpenoids concentration in plant tissues using a monoterpene, Linalool as standard reagent", Protocol Exchange, 5(10), 2012, pp. 1-6.
11. W. Brand-Williams, M. E., Cuvelier, C. Berset, C., "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity", LWT Food Sci., Vol. 28, 1, 1995, pp. 25-30.
12. S. Okoh, A. Oyewolw, R. O. Ishola, A. D. Odusote, O. Okoh, C. Igwe, G. Elemo, "Antioxidant and Free Radical Scavenging Capacity of Crude and Refined Oil Extracted From *Azadirachta indica* A. Juss. Intern. J. Biol., Vol. 7, 2, 2015, pp. 78-85.
13. F. Díaz-Cedillo, M. A. Serrato-Cruz, M. Arce-Montoya, J. L. León-de la Luz, "Composición del aceite esencial de *Tagetes lacera*, planta endémica de Baja California Sur, México", Revista Mexicana de Biodiversidad, Vol. 83, 2, pp. 543-547.
14. S. E. Hawary, M. Yousif, A. A. Motaal, L. A. E. Hameed, "Composition and bioactivities of the essential oil from Leaves of *Lippia citriodora* kunth cultivated in Egypt" Journal of Biologically Active Products from Nature, Vol. 1, 2, 2011, pp. 112-119.
15. A. M. Zamora-Burbano, D. E. Arturo-Perdomo, "Composición química del aceite esencial de hojas *Hedyosmum translucidum* Cuatrec. Chloranthaceae (Granizo). Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, Vol. 3, 2016, pp. 192-198.

## EFFECTO ANTIMICROBIANO DE *MORINGA OLEIFERA* FRENTE A CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* MULTIRESISTENTES A ANTIBIÓTICOS AISLADAS DE PULPO MAYA.

Jocelyn Gutiérrez Alcántara<sup>2</sup>, Eduardo Jahir Gutiérrez Alcántara<sup>1</sup>, Román Alberto Pérez Balan<sup>1</sup>, Tomas Joel López Gutiérrez<sup>1</sup>, David Tirado Torres<sup>3</sup>, Baldemar Ake Canché<sup>1</sup>, Carlos Alberto Chan Keb<sup>1</sup> y María del Carmen López Ramos<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, Universidad Autónoma de Campeche, Av. Agustín Melgar s/n entre Juan de la Barrera y Calle 20, Col. Buenavista, C.P. 24039, San Francisco de Campeche, Campeche, México. Tel: 981 811 9800. Correo: ejgutier@uacam.mx <sup>2</sup> Facultad de Ecología Marina, Universidad Autónoma de Guerrero. Av Gran Vía Tropical 20, Las Playas, 39390 Acapulco, Gro.

<sup>3</sup> Departamento de Ingeniería Civil, División de Ingenierías, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato, Av. Juárez No 77, Col. Centro, Guanajuato, Gto., México.  
[eduard\\_life@hotmail.com](mailto:eduard_life@hotmail.com)

### RESUMEN

Campeche es uno de los principales estados a nivel nacional en la pesca del pulpo, siendo *Octopus maya* la especie que más se captura. Las aguas negras del municipio de San Francisco de Campeche descargan en el mar produciendo el riesgo de consumir alimentos contaminados con microorganismos patógenos. *Escherichia coli* es uno de los microorganismos patógenos más involucrados en infecciones gastrointestinales en todo el mundo, provocando miles de muertes tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo. La OMS tiene como problema emergente la diseminación de bacterias resistentes y multiresistentes a antibióticos y ante esta problemática surge la necesidad de buscar alternativas naturales. Se tomaron 50 muestras de pulpo en el mercado municipal de San Francisco de Campeche y se procesaron por el método tradicional. El método Kirby-Bauer se empleó para los perfiles de resistencia de las cepas aisladas. Los extractos de *M. oleifera* se obtuvieron siguiendo la metodología de Gutiérrez-Alcántara y col., 2015. Se analizó la actividad antimicrobiana de *M. oleifera* por el método difusión en disco. *Escherichia coli* tuvo una prevalencia de 70% en las muestras analizadas. Ampicilina (AMP) fue el antibiótico menos eficaz con 95.75% de resistencia. Cloranfenicol presentó mayor porcentaje (55.39%) para cepas de sensibilidad intermedia, pero también se encontraron cepas resistentes (16.18%). El extracto etanólico presentó mayor efecto inhibitorio con halos de 19 mm, seguido del acuoso con 17 mm, mientras que penicilina (control) mostró halos de 10 mm. Las muestras de pulpo se encuentran altamente contaminadas por *Escherichia coli*. Se encontraron cepas multiresistentes a antibióticos, todas las cepas fueron resistentes a por lo menos tres antibióticos. *M. oleifera* puede ser una alternativa para el control de las infecciones causadas por *Escherichia coli*.

### INTRODUCCIÓN

La interacción de los mecanismos y las fuentes de contaminación, así como la influencia de los factores ambientales determinan el comportamiento de las bacterias patógenas en el ambiente, estos microorganismos antes de llegar a los alimentos y causar enfermedad en el ser humano utilizan como vehículos diversas fuentes que les permiten su sobrevivencia, sin embargo, unos no tienen la capacidad de poder sobrevivir y mueren por condiciones adversas. Se reconoce el papel de los alimentos como vehículo de microorganismos patógenos resistentes a antibióticos como *Escherichia coli* (*E. coli*). *E. coli* es una bacteria miembro de la familia de las enterobacterias y forma parte de la microbiota del tracto gastrointestinal del ser humano y algunos animales. Algunos tipos de *E. coli* pueden producir enfermedades y causar diarrea. Uno de ellos causa la diarrea del viajero. El peor tipo de *E. coli* causa una diarrea hemorrágica y a veces puede causar insuficiencia renal y hasta la muerte. Su presencia en aguas es indicador de materia fecal.

En México el pulpo es uno de los productos del mar que posee una alta calidad y valor nutricional, además su alta producción y buena comercialización coloca a México como el tercer país productor de este alimento en el mundo. Campeche es uno de los principales estados productores de pulpo, en 2018 se capturaron 14934,10 toneladas. Este molusco se encuentra entre los más consumidos en las costas de México.

De la producción total anual, el 20 % es exportado, mientras que el resto se comercia en el mercado nacional, siendo los principales compradores los estados de Quintana Roo, Tabasco, Veracruz y una parte de la Ciudad de México. Se sabe que las aguas negras del municipio de San Francisco de Campeche descargan en el mar, esto resulta alarmante para la población debido a la falta de infraestructura en plantas de tratamiento de aguas residuales, lo cual incrementa el riesgo de consumir alimentos contaminados con bacterias patógenas y resistentes a antibióticos tanto en la región como en los estados a donde se comercializa.

Actualmente poco se sabe sobre la presencia de cepas de *E. coli* resistentes a antibióticos en alimentos en el Estado de Campeche. La OMS tiene como problema emergente la diseminación de bacterias resistentes y multiresistentes a antibióticos y ante esta problemática surge la necesidad de buscar alternativas naturales como *Moringa oleifera*. Desde hace años, todas las partes de *M. oleifera* han sido utilizadas. Las hojas, las flores, los frutos y las raíces son muy apreciados por su valor nutritivo y pueden ser usados tanto en la alimentación humana como en la animal. De igual manera se ha utilizado esta planta para el control de diversas infecciones provocadas por microorganismos patógenos y en los últimos años se han generado resultados científicos que confirman su actividad antimicrobiana.

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto antimicrobiano de *Moringa oleifera* frente a cepas de *E. coli* resistente a antibióticos aisladas de muestras de pulpo en el estado de Campeche.

## METODOLOGÍA

Se analizaron un total de 50 muestras de pulpo en el mercado municipal de San Francisco de Campeche, Campeche, México. Cada muestra fue colocada en bolsa estéril, se almacenaron y transportaron inmediatamente para su procesamiento.

Se tomaron 25 g de muestra, se colocaron en 225 ml de diluyente de peptona. Posteriormente se realizaron diluciones hasta la  $10^{-3}$ , se transfirió 1 ml de las diluciones a cada uno de los tubos de caldo lactosado con campana durham los cuales se incubaron a 37 °C/24h. Después de esto se transfirió una asada de los tubos positivos a tubos con caldo verde brillante y se incubaron a 44.5°C/24 h. Los tubos positivos se estriaron a cajas con agar EMB, las cepas presuntivas resultantes fueron sometidas a cada uno de los cuatro medios de cultivo en el siguiente orden: citrato de Simons, agua peptonada, y caldo VP-RM.

Para establecer los perfiles de resistencia se utilizó el método de difusión en disco, en donde se utilizaron 16 antibióticos: ampicilina 10 µg/ml, carbenicilina 100 µg/ml, sulfisoxazol 250 µg/ml, cefalotina 30 µg/ml, eritromicina 15 µg/ml, tetraciclina 30 µg/ml, gentamicina 10 µg/ml, cloramfenicol 30 µg/ml, amikacina 30 µg/ml, trimethoprim/sulfamethoxazol 1.25/23.75 µg/ml, ceftriaxone 30 µg/ml, ciprofloxacina 5 µg/ml. Cada cepa fue inoculada en cajas con agar Muller-Hinton, posteriormente se agregaron los discos con 10 µL de antibiótico, se incubaron a 37°C por 24 hrs. Después de este tiempo se procedió a medir los halos de inhibición.

Los extractos (etanolico y acuoso) de *M. oleifera* se obtuvieron siguiendo la metodología de Gutiérrez-Alcántara y col., 2015. El método difusión en disco se utilizó para analizar la actividad antimicrobiana de *M. oleifera*.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Prevalencia de *Salmonella* en las muestras

La prevalencia de *E. coli* en las muestras de pulpo fue de 70%, lo cual resulta más alta en comparación con otra investigación realizada en 2016 donde se encontró una prevalencia de 11.7% 63 (540) en muestras de pulpo, mientras que india una prevalencia de 16.6% fue encontrada [1]. Esta diferencia en prevalencia puede deberse a factores socioeconómicos.

Varias investigaciones han demostrado que *E. coli* en los mariscos provienen de las áreas costera contaminadas o de los alrededores antihigiénicos donde se desembarcan o manipulan estos productos [2]. La alta incidencia de este microorganismo en la bahía de Campeche puede estar asociado con las descargas domesticas de aguas negras que son directamente conectadas al mar. La alta incidencia de este microorganismo es preocupante y representa un riesgo de salud publica

### Antibiogramas

Todas las cepas de *E. coli* aisladas de pulpo fueron resistentes a por lo menos tres clases de antibióticos. Noventa cepas aisladas presentaron una resistencia de 80% a ampicilina (tabla 1). Otros estudios han mostrado resistencia de 100% a este antibiótico [3]. En contraste, en marruecos se encontró una resistencia de 49.1% a ampicilina, lo cual sugiere no prescribir o automedicarse con este antibiótico, ya que solo genera gasto económico con poco o nulo beneficio.

Table 1. Porcentaje (%) de cepas de *Salmonella* aisladas de pulpo mostrando resistencia (R), resistencia intermedia (I) o sensible (S) a 12 antibióticos.

Antibiótico	R (%)	I (%)	S (%)
Ampicilina	95	5	0
Eritromicina	66	25	9
Tetraciclina	60	10	30
Cefalotina	45	25	30
Carbenicilina	15	28	57
Estreptomina	10	50	40
Gentamicina	28	36	36
Trimethoprim/Sulfamethoxazol	48	20	32
Ceftriaxona	40	30	30
Sulfisoxazol	30	15	55
Cloramphenicol	16	55	28
Ciprofloxacina	3	5	92

En un estudio realizado por Ehadi y col. [4], un total de 140 cepas de *E. coli* aisladas de 6 diferentes tipos de pescados mostraron resistencia a tetraciclina (90.7%), lo cual difiere con nuestros resultados, ya que se obtuvo un 60% de resistencia a este antibiótico. En contraste en China aislaron cepas de *E. coli* en mariscos con resistencia de 35.9% a tetraciclina [5]. Los resultados obtenidos para estreptomina (44% de resistencia) coinciden con un estudio en el cual cepas de *E. coli* aisladas de pez gato africano fueron sensibles a este antibiótico (43.5%) [6]. Similarmente en Nigeria se mostraron cepas resistentes (100%) a eritromicina, mientras que en nuestro estudio se obtuvo un 66% de resistencia a eritromicina. Estreptomina no es regularmente usado para el tratamiento de infecciones ocasionadas por *E. coli*, pero se usa comúnmente para promover el crecimiento de algunos animales. Debido a esto, este antibiótico puede servir como marcador de cepas resistentes que se mueven a través de la cadena alimentaria y el ambiente.

Cinco cepas de *Salmonella* mostraron resistencia a ciprofloxacina. Cepas resistentes a ampicilina, pero sensibles a ciprofloxacina han sido aisladas de ensaladas de verduras crudas [7]. De igual manera Hossain y col., [8] observaron cepas de *E. coli* sensibles a ciprofloxacina. En Etiopia y Nigeria cepas de *E. coli* aisladas de heces de animales y de humanos también mostraron sensibilidad a ciprofloxacina, esto podría ser resultado de la ausencia de este antibiótico en estos países [3].

Debido a que su actividad es de amplio espectro, ciprofloxacina el cual es una fluoroquinolona es un buen antibiótico usado para el tratamiento de infecciones de *E. coli*.

Los resultados del presente estudio mostraron que 26 cepas mutiresistentes a antibióticos fueron sensibles a los dos extractos utilizados. El extracto etanólico presentó mayor efecto inhibitorio frente a las cepas aisladas de pulpo con halos de inhibición de 17.76 a 19 mm. Los halos de los extractos acuosos fueron de 16.70. Esto puede ser atribuido a la mejor solubilidad de los fitoquímicos en etanol que en agua, ya que los fotoquímicos con los responsables de la propiedad antimicrobiana de *M. oleífera*.



En India de igual manera unos investigadores reportaron que el extracto etanólico de semillas de moringa tienen más efecto antimicrobiano sobre cepas de *Salmonella* que el extracto acuoso, dichos resultados coinciden con los nuestros.

### CONCLUSIÓN

El presente estudio da una perspectiva clara sobre la presencia de cepas de *E. coli* en muestras de pulpo mostrando una alta prevalencia (70%). También se concluye que el pulpo puede estar participando en la diseminación de cepas resistentes entre la población consumidora, por ello es necesario la implementación de prácticas adecuadas de higiene durante la captura, lavado, almacenamiento y transporte de este alimento, así como también la cocción de este molusco. Se encontraron cepas multiresistentes a antibióticos. Los resultados revelan que *M. oleifera* puede ser una alternativa para el control de las infecciones causadas por *E. coli*.

### REFERENCIAS

1. Nipa, N.M., Mazumdar, R.M., Hasan, M.M., Fakruddin, M.D., Islam, S., Bhuiyan, H.R. and Iqbal, A. (2011) Prevalence of multi drug resistant bacteria on raw salad vegetables sold in major markets of Chittagong City, Bangladesh. MiddleEast J Sci Res 10, 70–77
2. Hossain Md. Siddique, Himel Nahreen Khaleque, Farida Mazumder and Khandaker Rayhan Mahbub, 2013. Prevalence of Multidrug Resistant *Escherichia coli* in Shrimp of Dhaka City. Microbiology Journal, 3: 21-28.
3. Grace Nazareth Diogo Teophilo Regine Helena Silva dos Fernandes Vieira Da'lia dos Prazeres Rodrigues Francisca Gleire R. Menezes. *Escherichia coli* isolated from seafood: toxicity and plasmid profiles. Int Microbiol (2002) 5: 11–14
4. Renata Albuquerque Costa. *Escherichia coli* in seafood: A brief overview. Advances in Bioscience and Biotechnology. Vol.4 No.3A(2013).
5. H. S. Kumar, A. Parvathi, I. Karunasagar & I. Karunasagar. Prevalence and antibiotic resistance of *Escherichia coli* in tropical seafood. World Journal of Microbiology and Biotechnology volume 21, pages619–623 (2005)
6. Seung-Hee Ryu. Antimicrobial resistance and resistance genes in *Escherichia coli* strains isolated from commercial fish and seafood. International Journal of Food Microbiology. Volume 152, Issues 1–2, 3 January 2012, Pages 14-18
7. Uday Narayan Das, Asem Sanjit Singh, Manjusha Lekshmi, Binaya Bhusan Nayak & Sanath Kumar. Characterization of bla<sub>NDM</sub>-harboring, multidrug-resistant Enterobacteriaceae isolated from seafood. Environmental Science and Pollution Research volume 26, pages2455–2463 (2019)
8. RENATE BOSS, GUDRUN OVERESCH, ANDREAS BAUMGARTNER. Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli*, Enterococci, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus aureus* from Raw Fish and Seafood Imported into Switzerland. *J Food Prot* (2016) 79 (7): 1240–1246.

## ESTUDIO DEL EFECTO DE UN CONSORCIO BACTERIANO EN PLANTAS.

Brenda Yanin Azcárraga Salinas, Martha Dolores Bibbins Martínez, Berenice Soley Nava, Diana Verónica Cortés Espinosa

Instituto Politécnico Nacional  
brenda.azcarraga@yahoo.com

### RESUMEN

Actualmente, existe un gran problema de contaminación en suelos agrícolas. Es de interés reducir estos contaminantes y disminuir su uso, por lo que el uso de bacterias promotoras de crecimiento vegetal o PGPB (por sus siglas en inglés: Plant Growth-Promoting Bacteria<sup>1</sup>), constituyen una alternativa para disminuir el uso de fertilizantes químicos y con ello, reducir el impacto ambiental que estos provocan<sup>1</sup>. Las PGPB, se denominan de esta forma, ya que poseen la capacidad de afectar positivamente el crecimiento de las plantas, mediante mecanismos directos o indirectos, pueden sintetizar diferentes metabolitos secundarios llamados hormonas de crecimiento, las cuales intervienen en el desarrollo y crecimiento de la planta, un ejemplo es el ácido indol acético (AIA)<sup>2</sup>. El presente trabajo, tiene como objetivo la evaluación de distintas cepas bacterianas con la finalidad de la obtención de un consorcio bacteriano que pueda estimular el crecimiento vegetal y no ser fitopatógeno. Los resultados de la evaluación de las cepas en la prueba de fitopatogenicidad, demostraron que ninguna cepa es fitopatógena, comparada con el control negativo que es agua destilada estéril, así mismo, esta prueba fue confirmada mediante la prueba de hipersensibilidad en plantas de tabaco, la cual es una planta indicadora, y en dicha planta se demostró que el diámetro de la lesión de los tratamientos inoculados no es estadísticamente significativo, respecto al control negativo, por lo cual es una prueba confirmatoria de que ninguna de las cepas es fitopatógena. Por otro lado, se realizó la evaluación de germinación en semillas de frijol, chile y jitomate, demostrando que las cepas XM10, AM5 y TM5 produjeron mayor longitud de la raíz, así mismo, estas semillas fueron trasplantadas en vermiculita en condiciones de invernadero y fertilizadas, hasta el día de su sacrificio, en el cual se midieron las variables: peso fresco (g) de raíz y planta, altura de la planta, longitud (cm) de la raíz y peso seco (g) de raíz y planta, demostrando que las cepas IM1, TM5, TM2, XM2 y XM10 tuvieron diferencias estadísticamente significativas en distintas variables mencionadas respecto al control negativo. De acuerdo con los resultados obtenidos en el presente trabajo, se propone la utilización de un consorcio bacteriano conformado por las cepas TM5, IM1, XM2, XM10 y AM5 como una alternativa de uso de un biofertilizante que promueva el crecimiento vegetal y contribuya a la disminución del uso de fertilizantes químicos.

### INTRODUCCIÓN

Actualmente, la alta demanda de alimentos, debido al incremento de la población, ha ocasionado un incremento en el uso de fertilizantes químicos para suplir esta demanda, sin embargo, los múltiples efectos negativos que tienen consecuencia debido a su uso indiscriminado, como el impacto ambiental en suelo con la acumulación de compuestos tóxicos, en agua por su lixiviación y posteriormente eutrofización del agua y en aire por la volatilización de estos compuestos tóxicos<sup>3</sup>. Sin mencionar el efecto negativo en seres vivos, ya que pueden dañar plantas, animales y seres humanos, ya que estos compuestos pueden ocasionar daño en el ADN, estrés oxidativo, peroxidación de lípidos y activación de citocinas proinflamatorias, ocasionando en humanos patologías como Alzheimer, diabetes mellitus y cáncer<sup>4</sup>. Una alternativa para evitar o disminuir el uso de fertilizantes químicos, son los bioinoculantes, ya que su uso ofrece múltiples bondades como el ser amigables con el medio ambiente ya que no contienen ningún compuesto sintético, sino son microorganismos que aumentan y reestablecen la cantidad presente en el suelo así como los beneficios que ofrecen al proporcionar nitrógeno y fósforo de forma utilizable a las plantas y con ello mejorar la textura del suelo, su retención de agua, contenido de carbono y resistencia a la erosión<sup>5</sup>. Se realizó la evaluación de nueve cepas bacterianas, *Stenotrophomonas maltophilia* (XM10), *Serratia marcescens* (OM1), *Ochrobactrum* sp. (OM3), *Ochrobactrum* sp. (TM2), *Pseudomonas geniculata* (TM5), *Ochrobactrum pituitosum* (TM10), *Klebsiella* sp. (XM2), *Ochrobactrum* sp. (AM5) y

*Pseudomonas hibiscicola* (IM1) en semillas y a nivel invernadero para comprobar su efectividad para promover el crecimiento vegetal.

## PARTE EXPERIMENTAL

**Prueba de hipersensibilidad en plantas de tabaco.** Se utilizaron 3 plantas de tabaco de 5 meses de edad con 6 a 12 hojas cada una, cada cepa se dejó incubando durante 24 horas para tomarlas de la fase estacionaria, posteriormente, se centrifugaron a 8000 rpm durante 5 minutos y se decantó el sobrenadante. Se obtuvo el paquete celular y se diluyó con agua destilada estéril. Se midió la absorbancia y se igualó a una densidad óptica de 0.5 a 600 nm, se inocularon 200  $\mu$ L de estas suspensiones con jeringas de insulina en una zona internerval de las hojas de tabaco. Se realizaron 7 repeticiones de cada tratamiento y en cada hoja se realizó una repetición de cada cepa. Posterior a 3 días, se midió el área correspondiente a la reacción de hipersensibilidad provocada por cada una de las cepas.

**Prueba de fitopatogenicidad en plantas de frijol y jitomate.** Se realizó una suspensión con una concentración de  $1.5 \times 10^8$  UFC/ mL y se aplicó mediante la técnica de aspersión en plantas sanas de frijol de 2 meses de crecimiento y jitomate de 3 meses de crecimiento, se colocaron las plantas en bolsas de plástico para simular las condiciones ambientales de temperatura y humedad necesarias para las bacterias y se evaluó si las plantas presentaron marchitez, pudriciones suaves, manchas, lesiones o cualquier otro síntoma de enfermedad provocada por las bacterias.

**Evaluación de germinación en semillas de frijol, jitomate y chile.** La prueba de fitopatogenicidad en semillas se llevó a cabo en semillas de frijol, chile y jitomate<sup>6</sup>. Las cuales se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1% durante 3 minutos y posteriormente se lavan 3 veces con agua destilada estéril para quitar el tratamiento añadido y cualquier bacteria patógena que pudiera encontrarse en estas. Finalmente, las semillas desinfectadas, se colocaron en placas con papel filtro estéril y a estas se les añadieron 2 mL de una suspensión bacteriana de cada una de las cepas bacterianas a una densidad óptica de 0.5.

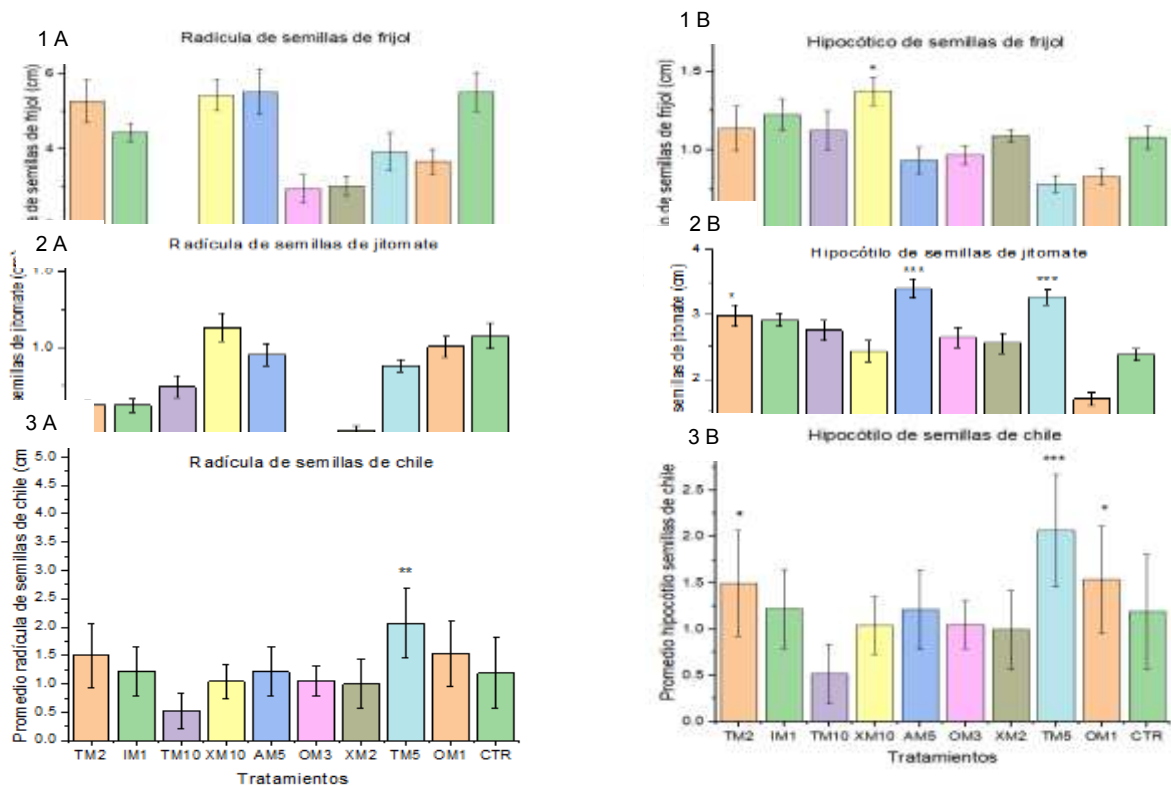
**Bionesayos en invernadero.** Para los ensayos de invernadero se utilizó como sustrato vermiculita (tamaño medio), la cual fue previamente esterilizada a 121 lb por 20 min, por tres periodos, después de la última esterilización se dejó atemperar por un periodo de dos días para posteriormente ser utilizada. Las semillas germinadas de los tratamientos fueron transplantadas en macetas de 2.5 L de capacidad, utilizando vermiculita como sustrato, tres germinados por maceta, después de 20 días fueron sacrificados las plántulas y se cuantificó el tamaño de raíz así como la parte aérea, peso fresco y peso seco.

## RESULTADOS

**Prueba de hipersensibilidad en plantas de tabaco.** Se realizó la medición del área de lesión en hojas de tabaco. El análisis estadístico no mostró diferencias significativas de ninguno de los tratamientos con respecto al control negativo, lo cual indica que ninguna cepa ni el consorcio bacteriano, constituido por todas las cepas evaluadas individualmente, causan una reacción de hipersensibilidad en plantas de tabaco, lo cual indica que las bacterias evaluadas no son fitopatógenas en la mayoría de las plantas, ya que fueron evaluadas en una planta modelo.

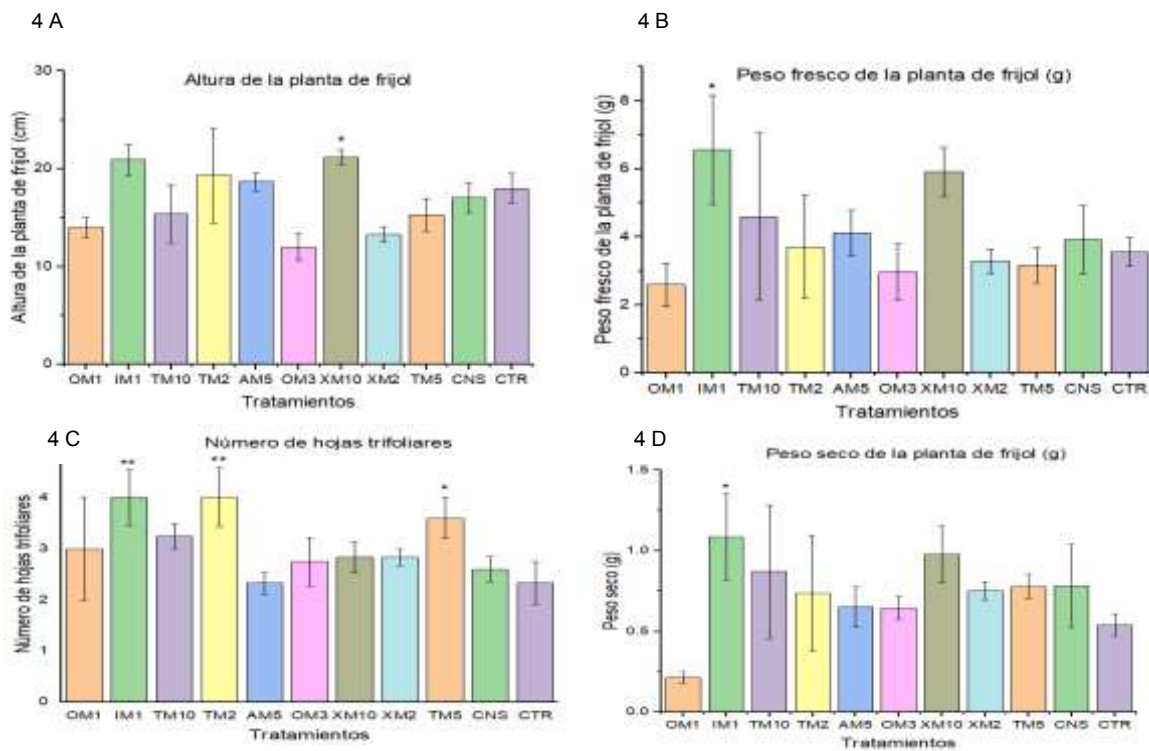
**Prueba de fitopatogenicidad en plantas de frijol y jitomate.** Ninguna de las bacterias evaluadas, provoca algún síntoma asociado a fitopatogenicidad como canchales, marchitez, tizón en hojas, ramas o semillas, machas, podredumbre blanda o parda, tumores, agallas o formación de la "medula" o pardeamiento del tallo, lesiones necróticas o coloración café en plantas de frijol y jitomate aplicadas por aspersión a una concentración de 0.5 (DO 600 nm)<sup>7</sup>.

**Evaluación de promotores de crecimiento en radícula e hipocótilo de semillas de frijol, chile y jitomate.** Al realizar el análisis con 20 repeticiones por tratamiento, el resultado en semillas de frijol no arrojó diferencias estadísticamente significativas respecto al control negativo en radícula, sin embargo, en hipocótilo, la cepa XM10 tuvo diferencias significativas respecto al control negativo. En cuanto a las semillas de jitomate, tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas en radícula, sin embargo, en hipocótilo las cepas AM5 y TM5 fueron benéficas, ya que resultaron significativas respecto al control negativo. Finalmente, en el caso de las semillas de chile, se pudieron observar diferencias en los tratamientos TM5 en la radícula de la semilla y en el caso del hipocótilo en los tratamientos TM5, OM1 y TM2 ( $p < 0.05$ ). Gráficas 1 a 3.



Gráficas 1 a 3. Influencia de las cepas bacterianas en la medición de radícula e hipocótilo de semillas. 1A) Radícula de semillas de frijol. 1B) Hipocótilo de semillas de frijol. 2A) Radícula de semillas de jitomate. 2B) Hipocótilo de semillas de jitomate. 3A) Radícula de semillas de chile. 3B) Hipocótilo de semillas de chile.

**Bioensayos en invernadero.** Los resultados obtenidos del análisis de plantas de frijol, muestran que en la altura de la planta, la cepa XM10 mostró diferencias estadísticamente significativas, en cuanto al peso fresco (g) de la planta, el tratamiento correspondiente a la cepa IM1 tuvo diferencias, así también, en el número de hojas trifoliarias, las cepas IM1, TM2 e IM5 mostraron diferencias, en el peso seco de la planta (g) fue el tratamiento IM1 con respecto al control negativo ( $p < 0.05$ ). Gráfica 4



g

Gráfica 4. Evaluación del crecimiento por las cepas bacterianas en plantas de frijol. A) altura de la planta. B) Peso fresco de la planta. C) Número de hojas trifoliales. D) Peso seco de la planta.

## CONCLUSIONES

El uso de bioinoculantes es una gran alternativa para disminuir el uso de fertilizantes químicos y con esto el impacto ambiental provocado y el daño en la salud de seres vivos.

Se recomienda el uso de las cepas IM1, TM5, XM10 y TM2 para su aplicación en hortalizas a nivel de germinación de semillas en invernadero o de plántula, ya que dichas cepas promueven el crecimiento vegetal al incrementar la altura de la planta, su densidad foliar y su peso fresco y seco.

## REFERENCIAS

1. Leal, J., Gutierrez, M., Castro, L., Lares, F., Cortes, J., De los santos, S. (2018). *Microorganismos promotores de crecimiento vegetal con yeso agrícola en papa*. vol.52, pp. 1149–1159.
2. Gopalakrishnan, S., Srinivas, V., Prakash, B., Sathya, A., & Vijayabharathi, R. (2015). Plant growth-promoting traits of *Pseudomonas geniculata* isolated from chickpea nodules. *3 Biotech*, 5(5), pp. 653–661.
3. Chandini, Kumar, R., Kumar, R., & Prakash, O. (2019). The impact of chemical fertilizers on our environment and ecosystem. *Research Trends in Environmental Sciences*, (february), 69-86.
4. Kisby, G. E., & Spencer, P. S. (2011). Is neurodegenerative disease a long-latency response to early-life genotoxic exposure? *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 8 (10), 3889-3921.
5. Sharma, A. (2017). A Review on the Effect of Organic and Chemical Fertilizers on Plants. *International Journal for Research in Applied Science and Engineering Technology*, V(II), 677-680.
6. Chávez-Ramírez, B., KErber-Díaz, J. C, Acoltzi-Conde, M. C., Ibarra, J.A., Vásquez-Murrieta, M.S., & Estrada de- los Santos, P. (2020), Inhibition of *Rhizoctonia solani* RhCh-14 and *Pythium ultimum* PyFr-14 by *Paenibacillus polymyxa* NMA1017 and *Burkholderia*

- cenopacia CACua-24: A proposal for biocontrol of phytopathogenic fungi. *Microbiological Research*, 230 (September 2019)
7. Denny, T. P. (2006). Plant pathogenic. *Group*, 573–644.

## CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DEL PROPÓLEO ELABORADO POR ABEJAS *APIS MELLIFERA*. DEL ÁRBOL *PINUS GREGGII*

Karla Itzél Alcalá Escamilla<sup>1</sup>, Yolanda Beatriz Moguel Ordoñez<sup>2</sup>, Francisco Javier Ramírez Ramírez<sup>1</sup>, Claudia García Figueroa<sup>1</sup>, Laura Yavarik Alvarado Ávila<sup>1</sup>, Miguel Enrique Arechavaleta Velasco<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INIFAP, Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal.

<sup>2</sup>INIFAP, Campo Experimental Mocochoá.

alcala.karla@inifap.gob.mx

### RESUMEN

El propóleo es una mezcla elaborada por las abejas *Apis mellifera* a partir de resinas segregadas por la corteza y yemas de algunas plantas, combinadas con enzimas y cera; las abejas lo utilizan para sellar y desinfectar la colmena, cubrir las celdas antes de la postura y embalsamar animales que murieron en el interior de la colmena. En el propóleo se han identificado componentes bioactivos con actividad antioxidante, antimicrobiana, antiviral, antiinflamatoria, anticancerígena, entre otras; sin embargo, su composición y actividad biológica varía dependiendo de la planta de donde se obtenga, por tal motivo, propóleos provenientes de diferentes zonas geográficas y plantas, pueden presentar diferente actividad biológica. El objetivo del trabajo fue determinar algunas características fisicoquímicas y actividad biológica del propóleo colectado dentro de una plantación de *Pinus greggii* en el estado de Oaxaca, México. Las muestras se obtuvieron raspando el propóleo de la tapa interna de las colmenas, se tomaron tres lotes (A, B y C) de un total de 20 colmenas cada uno. Los análisis realizados fueron; contenido de cera, contenido de mezclas mecánicas, reacción cualitativa ante compuestos flavonoides, índice de oxidación e índice de yodo, Los parámetros seleccionados y las técnicas analíticas se realizaron de acuerdo a los estándares de calidad establecidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-003-SAG/GAN-2017 y en la Norma Rusa RS-RSFR-317-77. El contenido de cera fue de 8.6%, 10.15 y 9.5% para cada lote, presentando valores debajo de límite (30%). El contenido de mezclas mecánicas fue mayor al 40% en los tres lotes, probablemente debido a que se obtuvo por raspado. La presencia de compuestos flavonoides de todos los lotes fue positiva, lo que indica que puede presentar actividad antioxidante, antiinflamatoria y/o antimicrobiana. El índice de oxidación fue de 4, 2 y 3 segundos respectivamente para cada lote. El valor del índice de yodo no debe ser menor de 35% cumpliéndolo únicamente el propóleo del lote B (35.5%), seguido del A con 31.7% y el C con 25.4%. Los resultados del índice de oxidación indica la capacidad de atrapar radicales libres, causantes de envejecimiento celular y el índice de yodo ayuda a determinar la actividad biológica, por lo que en conjunto proporcionan información de las propiedades terapéuticas de los propóleos. Se debe de disminuir el contenido de impurezas al momento de cosechar el propóleo; realizando un mejor manejo al momento de su recolección, evitando raspar el propóleo; sin embargo, los propóleos obtenidos de *Pinus greggii* presentan actividad biológica, con una posible acción antioxidante y antimicrobiana.

### INTRODUCCIÓN

El propóleo es un producto elaborado por las abejas *Apis mellifera* L. a partir de resinas segregadas por la corteza y yemas de algunas plantas, el cual es mezclado con cera y sustancias enzimáticas.<sup>1</sup> Etimológicamente la palabra deriva de dos vocablos: *pro* –delante de o antes- y *polis* –ciudad-, haciendo referencia a que es una sustancia que se encuentra en la entrada y que está a favor o en defensa de la colmena.<sup>2</sup> Las abejas lo emplean con diversos fines, como fijar partes móviles en la colmena, cubrir las celdas antes de la postura de un huevo, embalsamar animales que murieron en el interior de la colmena que al ser demasiado grandes no es posible retirar y al descomponerse pueden ser una fuente de infección; y en zonas frías, las abejas lo utilizan para reducir su piquera.<sup>3</sup> Los países con mayor producción de propóleo son: China, Argentina, Brasil, Cuba, Chile, Uruguay y Canadá. En México la limitada producción de propóleo se debe principalmente al tipo de apicultura que se practica en el país, la cual se enfoca principalmente a la extracción de miel y a la falta de empresas que demanden la compra de este producto.<sup>4</sup> Actualmente, debido a su composición, el propóleo es usado en la industria farmacéutica,<sup>5</sup> alimenticia<sup>6</sup> y cosmética.<sup>7</sup>

*Pinus greggii* es una especie de pino endémico de México, el árbol posee una gran importancia ecológica ya que es uno de los componentes estructurales clave en las comunidades donde crece, debido a que forma parte del dosel dominante y en muchos casos es la única especie que representa el estrato arbóreo, generando un microambiente que beneficia a diversas plantas y animales. De igual manera, posee importancia económica debido a que se utiliza para la obtención de madera para la industria del aserrío, elaboración de postes para cerca y como leña combustible.<sup>8</sup>

## TEORÍA

El propóleo contiene de manera general 50% de resinas de plantas, 30% de cera, 10% de aceites esenciales y aromáticos, 5% de polen y 5% de otras sustancias orgánicas; entre los componentes químicos que conforman al propóleo sobresalen los compuestos fenólicos.<sup>1</sup> La composición del propóleo le permite tener una actividad biológica amplia, por ejemplo, presenta actividad antibacteriana, antiviral, antifúngica, citotóxica, contra protozoarios, antioxidante, inmunomoduladora, antiinflamatoria, entre otras.<sup>5, 9</sup> Sin embargo, su composición química varía y depende del lugar, la época de colecta y la planta que hayan visitado las abejas, lo que significa que su actividad biológica también varía de una región a otra.<sup>9,10</sup>

La diversidad en los métodos de cosecha y en la composición química del propóleo, además de las opciones de empleo en la industria, origina la necesidad de un control de calidad para su uso, y considerando que su composición varía de una región a otra, es obligatorio tener en cuenta que la actividad biológica no será la misma en todos los propóleos. Es necesario conocer el origen, la calidad del propóleo y su composición antes de utilizarlo en la industria, con el fin de garantizar su calidad, seguridad y eficiencia. Por tal motivo, el objetivo del trabajo fue determinar algunas características fisicoquímicas y actividad biológica del propóleo colectado dentro de una plantación de *Pinus greggii* establecida en el estado de Oaxaca, México.

## PARTE EXPERIMENTAL

Se trabajó en un apiario ubicado en el municipio de Santo Domingo Barrio Bajo en Villa de Etla, Oaxaca, México. El apiario estaba formado por 20 colmenas y se localizaba en el centro de una plantación de árboles de pino *Pinus greggii* los cuales llevaban 17 años de haber sido sembrados. Para obtener las muestras de propóleo en greña se realizó un raspado de la tapa interna de cada colmena con la ayuda de una cuña de apicultor que se utilizó únicamente con ese fin. El raspado obtenido de todas las colmenas se colocó en una bolsa de plástico nueva y limpia. Después de la obtención del propóleo se sellaron las bolsas con el fin de que no entrara ningún contaminante físico externo y se mantuvieron en un lugar limpio y fresco hasta su análisis. Se muestreo tres veces el apiario con diferencia de un mes entre cada muestreo; en total se tomaron tres lotes (A, B y C) de propóleos.

Los análisis de las muestras se realizaron en el laboratorio de Campo Experimental Mococho del INIFAP, localizado en el km 25 de la antigua carretera Mérida-Motul, Yucatán. Los parámetros evaluados y las técnicas analíticas aplicadas se realizaron de acuerdo a algunas de las especificaciones de calidad establecidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-003-SAG/GAN-2017, Propóleos, producción y especificaciones para su procesamiento,<sup>11</sup> y a la Norma Rusa RST-RSFR-317-77<sup>12</sup> para el propóleo. Cada estudio se realizó por triplicado a cada uno de los lotes. Los análisis realizados fueron: Contenido de cera, contenido de mezclas mecánicas, reacción cualitativa ante compuestos flavonoides, índice de oxidación e índice de yodo.

Para determinar el contenido de cera se pesaron 3 gr de muestra a los cuales se les agregó 200 ml de agua destilada. La mezcla se hirvió por 15 minutos y posteriormente se permitió que se enfriara para poder filtrarla con la ayuda de papel filtro. El papel filtro se colocó en la estufa a 80°C hasta obtener un valor constante. Para obtener el porcentaje de cera se utilizó la siguiente fórmula:

$$1.- \% \text{ de cera} = \frac{\text{Peso de la muestra en papel}}{\text{Peso inicial de la muestra}} \times 100$$



Para determinar el porcentaje de impurezas mecánicas se pesó un gramo de muestra al que se le agregaron 15 ml de solución cloroformo:acetona. Posteriormente se dejó reposar a temperatura ambiente por una hora y se filtró con papel filtro, el cual posteriormente se lavó con una solución de cloroformo:acetona y se dejó secar a temperatura ambiente hasta obtener un peso constante. Se utilizó la siguiente fórmula para obtener el porcentaje:

$$2.- \% \text{ de impurezas mecánicas} = \frac{\text{Peso de la muestra en papel}}{\text{Peso inicial de la muestra}} \times 100$$

Con respecto a los compuestos flavonoides, se tomaron 0.2 gr de muestra a los que se les agregaron 5 ml de alcohol etílico, posteriormente se colocó en baño maría por tres minutos, transcurrido el tiempo se permitió que se enfriara para la filtración. A continuación, se tomó 1 ml del filtrado y se colocó en un vaso de precipitado donde se añadió también alcohol etílico. De la solución obtenida se tomó 1 ml al que se le adiciono una gota de hidróxido de sodio (20%). En otro tubo se tomó un ml de la solución y se le agrego 0.5 ml de acetato de plomo al 10%. Se observó y se reportó el cambio de color.

Para determinar el índice de oxidación se utilizaron 0.2 gr de muestra a los que se le agregaron 5 ml de alcohol etílico. La mezcla se dejó reposar aproximadamente por una hora a temperatura ambiente y posteriormente se le agrego 100 ml de agua destilada. Se filtró y del filtrado se tomaron 10 ml que se pasaron a un matraz aforado de 100 ml el cual se completó con agua destilada. De la solución obtenida se tomó 2 ml a los que se les adiciono 1 ml de ácido sulfúrico. Se agitó por un minuto y se agregó una gota de permanganato de potasio y se tomó el tiempo en el que ocurrió el cambio de color.

Respecto al índice de yodo, se tomó una muestra de 50 mg de propóleo y se colocó en un matraz esmerilado al que se le agrego 2.5 ml de cloroformo y 6.25 ml de solución de bromuro de yodo, se tapó el matraz y se dejó reposar por una hora en un lugar oscuro. Transcurrido el tiempo se agregó 5 ml de ioduro de potasio al 10% con 50 ml de agua destilada y 5 gotas de solución de almidón. La mezcla se agitó y tituló a 0.1N de tiosulfato de sodio hasta que se observó decoloración de la solución. El resultado se obtuvo con la siguiente fórmula:

$$3.- \% \text{ de yodo} = \frac{\text{Cantidad de tiosulfato} \times 0.02169}{\text{Cantidad inicial de propóleo}} \times 100$$

## RESULTADOS

Todos los resultados de los análisis realizados a las muestras de propóleo se encuentran en el Cuadro 1. Los parámetros de contenido de cera y contenido de mezclas mecánicas, son indicadores de la pureza del propóleo; la presencia de un exceso de ceras o de impurezas mecánicas deprecia el producto y le resta pureza al propóleo, por lo tanto, cuando el contenido sobrepasa los valores establecidos en las normas se considera un propóleo de mala calidad.<sup>13</sup> Respecto al contenido de cera, las tres muestras salieron muy por debajo del límite establecido, lo que sirve de indicador de la pureza del propóleo. Sin embargo, en cuanto al contenido de mezclas mecánicas los valores en los tres lotes fueron mayores al límite máximo establecido en la norma, por lo que los resultados son un indicador de que probablemente se realizó un mal manejo al momento de tomar la muestra, debido a que se obtuvieron por raspado en la tapa interna, lo cual pudo arrastrar pedazos de madera y abejas muertas.<sup>14</sup>

Cuadro 1.- Resultados de los análisis realizados a las muestras de propóleo

Parámetro	Muestras			Especificaciones	Observaciones
	A	B	C		
Contenido de cera (%)	8.6	10.15	9.5	No más del 30%	Debajo del límite
Contenido de mezclas mecánicas (%)	44.8	45	47.3	No más del 20%	Arriba del límite
Reacción cualitativa ante compuestos flavonoides	Detectable	Detectable	Detectable	Positivo	Positivo
Índice de oxidación (segundos)	4	2	3	No mayor a 22	Debajo del límite
Índice de Yodo (%)	31.7	35.5	25.4	No menor a 35%	Solo B

Todas las muestras presentaron reacciones positivas ante compuestos flavonoides. Los flavonoides tienen propiedades medicinales de tipo antioxidante, anticancerígena antiinflamatoria, antibacteriano, entre otras, por lo que su presencia es un indicador de que el propóleo se puede utilizar con fines terapéuticos.<sup>15</sup> En relación al Índice de oxidación, este es influenciado por el contenido de compuestos fenólicos, lo que indica que a mayor concentración de fenoles totales el tiempo de reacción es más rápido. Los resultados en las muestras fueron inferiores al límite establecido en las Normas, por tal razón, se puede indicar que el propóleo obtenido de *Pinus greggii* presenta una buena cantidad de compuestos oxidables, demostrando sus propiedades antioxidantes y su capacidad de atrapar radicales libres causantes del daño celular.

El índice de yodo es una medida del grado de insaturaciones de los componentes de una grasa, debido a que los aceites vegetales son grasas insaturadas, la prueba permite conocer que tan rico en estos compuestos es el propóleo.<sup>15</sup> La norma indica que el valor no debe ser menor de 35% cumpliendo este requisito únicamente el propóleo del lote B.

## CONCLUSIONES

La recolección del propóleo no significa para el apicultor ninguna disminución en el rendimiento de producción de miel, cera, jalea real o polen, por lo que puede considerarse como un producto más de la colmena para obtener un nuevo ingreso. La producción de propóleos puede contribuir a mejorar la rentabilidad de las explotaciones apícolas debido a su bajo costo de producción y porque existe una demanda creciente en el mercado internacional. Sin embargo, como todos los productos de la colmena también es necesario un manejo adecuado en su recolección y que cumpla los estándares de calidad. Las muestras de propóleo cosechado por las abejas del árbol *Pinus greggii* presentan características que se encuentran dentro de los valores establecidos en la Norma Oficial Mexicana y en la Norma Rusa, exceptuando el contenido de mezclas mecánicas el cual supera el 20% en todos los lotes. Con los resultados obtenidos, se hace un aporte en el proceso de caracterización del propóleo proveniente de *Pinus greggii* en el estado de Oaxaca; no obstante, es necesario realizar más estudios para conocer a mayor profundidad todas sus características sensoriales y fisicoquímicas, así como realizar estudios para conocer a profundidad su actividad biológica.

**BIBLIOGRAFÍA**

1. S. Huang, C.P. Zhang, K. Wang, G.Q. Li, F.L. Hu. "Recent Advances in the Chemical Composition of Propolis" *Molecules*. Vol. 19, 2014, pp. 19610-19632.
2. E.L. Ghisalberti. "Propolis: A review". *Bee World*, Vol. 60:2, 1979, pp. 59-84.
3. V.S. Bankova, de Castro S. I. M.C. Marcucci. "Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*, Vol. 31, 2000, pp.3-15.
4. Claridades agropecuarias. Situación actual de la apicultura en México. Coordinación General de ganadería. Programa Nacional para el control de la abeja africana. 2010. 199.
5. M.C. Marcucci. "Propolis: Chemical composition, biological properties and therapeutic activity". *Apidologie*. Vol 26, 1995, pp. 83-99.
6. J. Figueroa, J. Salcedo, Y. Aguas, R. Olivero, G. Narvaez. Recubrimientos comestibles en la conservación del mango y aguacate y perspectiva al uso del propóleo en su formulación. *Rev. Colombiana Cienc Anima*. Vol. 3,2, 2011, pp. 386-400.
7. L.E. Benavidez. "Actividad antioxidante del extracto de propóleos y su incorporación en una formulación cosmética" *Ciencia e Investigación*. Vol. 20,2, 2017, pp. 3-8.
8. C. Ramírez-Herrera, J.J. Vargas-Hernández, J. López-Upton. "Distribución y conservación de las poblaciones naturales de *Pinus greggii*" *Acta Bot. Mex*. Vol. 72, 2005, pp. 1-16.
9. L. Cornara, M. Biagi, J. Xiao, B. Burlando. "Therapeutic properties of bioactive compounds from different honeybee products." *Front. Pharmacol*. Vol. 8, 2017, p.20
10. V. Bankova, A. Dyulgeroc, S. Popov, L. Evstatieva, L. Kuleva, O. Pureb, Z. Zamjansan. "Propolis produced in Bulgaria and Mongolia: phenolic compounds and plant origin. *Apidologie*. Vol 23, 1992, pp. 79-85.
11. Norma Oficial Mexicana NOM-003-SAG/GAN-2017, Propóleos, producción y especificaciones para su procesamiento.
12. Russian Regional Standards RSFSR Norma Rusa RS-RSFR-317-77.
13. L.R. Palomino G., J.P. Martínez G., C.M. García P., J.H. Gil G., D.L. Durango R., "Caracterización fisicoquímica y actividad antimicrobiana del propóleos en el Municipio de La Unión (Antioquía, Colombia). *Rev. Fac. Nac. Agron. Medellin*. Vol 63,1, 2010, pp. 5373-5383.
14. M.S. Álvarez. "Caracterización organoléptica y físico-química de propóleos del departamento de la libertad, Perú". *The Biologist (Lima)*. Vol 10, 1, 2012, pp. 34-40.
15. M. Silva R., A. Torres, W. Hoffman. "Determinación de propiedades fisicoquímicas de propóleos provenientes de cinco especies de abejas sin aguijón del norte de Santander-Colombia" *Bistua: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas*. Vol 14, 1, 2016, pp. 0.-16.

## DESARROLLO DE UNA FÓRMULA DE JARABE A BASE DE MUCILAGO DE NOPAL

María Antonieta Barajas Mendoza, Germán Serrano Velarde, Stephany Zermeño Zúñiga

Universidad de Guadalajara.  
maestra\_antonieta@yahoo.com.mx

### RESUMEN

El uso del nopal como planta medicinal se remonta a las culturas prehispánicas. A pesar de la gran cantidad de evidencias de usos medicinales del nopal, no fue hasta que se estableció el Instituto Mexicano de Plantas Medicinales que el nopal tenía efecto hipoglucemiante. El consumo del nopal tiene efectos en el metabolismo de lípidos. En México, las estructuras vegetativas y reproductivas de los nopales (*Opuntia* sp.) han sido usadas con fines medicinales desde la época precolombina, éste género contiene grandes cantidades de mucílago (sustancias similares a las gomas) que al ponerse en contacto con el agua forman un retículo donde ésta queda atrapada, originando soluciones de gran viscosidad. Esta capacidad gelificante es la responsable de muchos de los efectos fisiológicos de la fibra como la disminución de la glucemia postprandial y de los niveles plasmáticos de colesterol, laxante y una adicional sensación de plenitud.

Probablemente ante la necesidad de abatir los costos y tener mejores recursos terapéuticos, la población mexicana tanto de zonas rurales como urbanas, utiliza el nopal como tratamiento alternativo o combinado con fármacos, para la diabetes mellitus tipo 2, aunque también en algunos trabajos publicados se han observado efectos en el metabolismo de Colesterol y Triglicéridos (TG). Las piezas de nopal utilizadas fueron seleccionadas de una cactaceae criolla, estas se lavaron y se trataron inmediatamente para ser sometidas a diversos ensayos y decidir cuál es la mejor opción para su manejo que permita obtener y conservar las propiedades del mucílago de nopal.

Se determinó la obtención del mucílago mediante desecación previa de las piezas de nopal en horno de convección a 45°C durante 70 horas y posterior pulverización de éste, logrando así controlar y adquirir el mejor rendimiento y posterior formación del mucílago en el jarabe. Se desarrollaron 5 pruebas piloto para establecer la selección de excipientes en base a su función y comportamiento dentro de la formulación del jarabe, buscando al mismo tiempo la estabilidad del producto a largo plazo, por lo que fue necesario adicionar amortiguadores y antioxidantes así como agentes antimicrobianos para evitar la contaminación del producto, rolendo las concentraciones de éstos para definir la mejor alternativa y al mismo tiempo se fue describiendo el procedimiento de fabricación para la elaboración del jarabe cuya técnica seleccionada fue la de agitación mecánica y disolución con calor.

Se obtuvo un jarabe de administración oral conteniendo el mucílago de nopal, con características organolépticas agradables, de color verde, sabor y olor a manzana, con buena viscosidad, lo que significa que se logró desarrollar una fórmula con excipientes adecuados compatibles con el mucílago de nopal.

Establecer y mantener los rendimientos en cuanto a volumen y viscosidad del mucílago de nopal fue complicado, ya que tratándose de un producto natural se presenta gran variabilidad, el primer reto fue encontrar el equilibrio entre la cantidad de nopal y el mucilago formado en el producto final, por lo que definir las condiciones de trabajo fue primordial para mantener estos dos parámetros constantes durante el desarrollo de la investigación.

### INTRODUCCIÓN

NOPAL: Higo de Indias, nochtli, tenochtli, tzaponochnopalli, tzaponochtli.

*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller

Cactaceae

Desde los tiempos más remotos, el nopal ha tenido gran importancia en Mesoamérica; por los restos encontrados en asentamientos humanos que datan de hace uno 11000 años, se sabe que ya entonces la planta servía de alimento a los grupos de cazadores-recolectores y de incipientes agricultores que habitaban la Altiplanicie Mexicana. Sus jugosos frutos no solo resultan deliciosos crudos, sino que con ellos se preparan dulces como la miel de tuna, la melcocha y el queso de tuna,

y bebidas fermentadas del tipo de colonche y el nochote. Las pencas tiernas, ya sean cocidas, asadas o encurtidas, constituyen una nutritiva verdura; las maduras sirven de forraje, y la baba que mana de ellas se emplea como goma. Varias especies de *Opuntia* son huéspedes de un insecto del grupo de los pulgones llamado cochinilla del nopal (*Coccus cacti*); este parasito produce un tinte rojo que se apreciaba mucho en tiempos prehispánicos y fue objeto de un intenso comercio durante la Colonia y hasta mediados del siglo pasado, cuando fue sustituido por colorantes sintéticos.

La utilidad del nopal alcanza también el campo de la medicina popular. Antiguamente se empleaba para tratar afecciones renales, apresurar el parto, curar quemaduras, combatir la erisipela y hacer cataplasmas pectorales. Hoy se usa, además, para tratar la diabetes. Según los estudios farmacológicos preliminares que efectuó con animales el Instituto Mexicano para los Estudios de las Plantas Medicinales, el extracto de nopal tiene una acción hipoglucemiante similar a la de los fármacos de patente usados para ese fin.

*Hábitat:* se cultiva; si escapa del cultivo, crece como maleza en terrenos alterados.

*Distribución geográfica:* nativo de Mesoamérica, quizá particularmente de México. Se cultiva en casi todo el país. Para algunos especialistas es la forma cultivada de *O. megacantha*, que se extiende desde Texas hasta el Valle de México.

*Identificación:* cactácea arbórea de 3 a 5 m de altura. Tronco definido, ramificado, multiarticulado. Los artículos (pencas) son crasos, aplanados de forma oval u oblonga, verdes, con epidermis glabra y un número variable de espinas; de 1 a 6 areolas con glóquidas (ahuates). Flores amarillas o anaranjadas, de 7.5 a 10 cm de diámetro, sentadas sobre los bordes de los artículos; periantio con numerosos segmentos petaloides; estambres numerosos, más cortos que los pétalos; estilo blanco, más largo que los estambres, con 8 a 12 lóbulos en el estigma. Fruto dulce (tuna), carnoso, de color verde amarillento, naranja, rojo o púrpura.

*Usos:* las pencas asadas se emplean como cataplasmas para tratar afecciones bronquiales, quemaduras e inflamaciones de la piel. El extracto se recomienda a los diabéticos para reducir el nivel de glucosa en la sangre, uso que los estudios preliminares parecen respaldar.

*Opuntia* spp., popularmente conocido en México como nopal, es una planta que pertenece a las cactáceas, que, por sus características, es idónea para el desarrollo de las zonas áridas y semiáridas. Presenta el metabolismo del ácido crusaláceo (MAC) es decir, las estomas captan el CO<sub>2</sub> que va a ser utilizado para la síntesis de carbohidratos durante la noche, permitiendo que la pérdida de agua sea menor debido a que ocurre en las horas más frescas del día. Por otra parte, gracias a su ecofisiología: reproducción asincrónica y adaptaciones estructurales (baja densidad estomatal y cutícula gruesa), la planta es capaz de sobrevivir largos periodos de sequía. *Opuntia* también se utiliza en programas de reforestación, por su capacidad de crecimiento en suelos pobres inapropiados para otros cultivos.

Crece en medios con temperaturas extremas, y presencia de lluvias erráticas, y se adapta a las variaciones en los niveles de CO<sub>2</sub> atmosférico. Además, desempeña un papel importante en el ecosistema puesto que protege la fauna silvestre. Existen alrededor de 300 especies del género; cerca de 100 de ellas existen en México y de ellas, cerca de 40% se localiza en el desierto Chihuahuense (Méndez-Llorente *et al.*, 2008).

El género *Opuntia* se encuentra distribuido desde la provincia de Alberta, en Canadá, hasta la Patagonia en Argentina; se encuentra principalmente en las zonas desérticas del sur de Estados Unidos de América, de México y de América del Sur. El nopal tunero fue llevado por los colonizadores españoles a Europa y de ahí se introdujo a diferentes partes del mundo; ahora se le encuentra en condición cultivada y silvestre en España, Portugal, Italia, Chile, Estados Unidos de América, Brasil, Argentina, Israel, Sudáfrica, Argelia, Jordania, entre otros países (Granados-Sánchez y Castañeda-Pérez, 2003).

El género *Opuntia* comprende plantas bien definidas, que en el caso del nopal pueden ser rastreros o frutescentes cuando son ramificados, o arborescentes cuando los cladodios viejos toman una forma cilíndrica. El género *Opuntia* presenta hojas convertidas en espinas lo cual es un rasgo común en las cactáceas; o bien carece de ellas; pero en brotes tiernos numerosas especies presentan hojas verdaderas de vida muy corta. El nopal es una planta arbustiva con tronco leñoso y ramas que se

forman por cladodios, estos últimos reciben el nombre de nopalitos, si son frescos, y de pencas si son adultos. Las características de las especies de *Opuntia* spp., que se explotan comercialmente, difieren en la forma de los cladodios, presencia o ausencia de espinas, en el tamaño y el color de los frutos por mencionar algunas características botánicas (Sáenz *et al.*, 2006).

La composición química del nopal en base húmeda es de 91% agua, 0.66% proteínas, 0.11% grasas, 5.5% de carbohidratos, 1.15% celulosa y 1.58% cenizas (Aguilar *et al.*, 2008). Se considera a *Opuntia ficus indica* como un alimento que tiene alto valor nutricional, principalmente por su contenido en minerales, proteínas, fibra dietética y fitoquímicos (Feungang *et al.*, 2006; Bensadón *et al.*, 2010). Fernández- López *et al.* (2010) confirman que el contenido y el tipo de flavonoides presentes tanto en la fruta como en el vegetal, puede depender directamente de la especie o de las formas de cultivo.

*Opuntia ficus indica* es un cactus que se adapta a climas extremos y diferentes condiciones edáficas. Las regiones semiáridas del parte central de México poseen la mayor diversidad de esta especie, gracias a que el área cultivada para el consumo humano es de alrededor de 10 000 hectáreas (Bensadón *et al.*, 2010). El nopal es una planta rústica, que por sus características fisiológicas puede cultivarse a bajo costo; quizá por ello, las plantaciones comerciales de nopal para producir fruta y verdura han aumentado considerablemente en los estados de Zacatecas, Aguascalientes, San Luis Potosí, Guanajuato, Jalisco y Estado de México (Blanco *et al.*, 2006).

Las pencas de nopal excretan una sustancia “viscosa” llamada mucílago, este es uno de los componentes más importantes ya que forma parte de la fibra dietética. El mucílago del nopal es un polisacárido fibroso, altamente ramificado, cuyo peso molecular oscila alrededor de  $13 \times 10^6$  g/mol. Contiene aproximadamente de 35 a 40 % de arabinosa, 20 a 25% de galactosa y xilosa cada una, y de 7 a 8% de ramnosa y ácido galacturónico cada uno (1). El mucílago de nopal se considera importante para la industria, debido a sus propiedades de viscosidad (2). Tiene la capacidad de formar redes moleculares y retener fuertemente grandes cantidades de agua (3), así como de modificar propiedades como viscosidad, elasticidad, textura, retención de agua, además de que es un buen gelificante, espesante, y emulsificante (4) en productos farmacéuticos.

## TEORÍA

### Aplicaciones en la farmacia

El incremento en la incidencia de enfermedades crónicas como la Diabetes ha representado en los últimos años, un problema estatal, nacional y mundial. Es por ello que se ve la necesidad de desarrollar y estudiar tratamientos alternativos, que ayuden a disminuir los niveles de glucosa a nivel sanguíneo. Entre estos tratamientos se puede mencionar el uso de plantas medicinales con efecto hipoglucemiante. El nopal (*Opuntia* spp.) es la planta más comúnmente usada para el control de la glucosa, ya que tiene un alto contenido de fibra soluble y pectinas, que pueden afectar favorablemente la absorción de glucosa a nivel intestinal, por lo cual se le considera un hipoglucemiante. En estudios realizados en animales, reportan que decrece la glucosa postprandial en efecto sinérgico con la insulina (Yeh *et al.*, 2003).

Un estudio etnobotánico realizado entrevistando a pacientes diabéticos y vendedores herbolarios de México, confirmaron que la planta *Opuntia* spp., es utilizada tradicionalmente para el tratamiento de la diabetes no insulino dependiente. La parte medicinal son los cladodios tiernitos, a los cuales se le ha retirado las espinas; estos son posteriormente lavados y cortados, para finalmente licuarlos con agua y consumirlos antes del desayuno. El resultado es una disminución de los niveles de glucosa postprandial (Andrade- Cetto y Wiedenfeld, 2011).

El efecto hipoglicemiante de dos extractos de *Opuntia streptacantha* Lem. (el primer extracto consistía en licuar cladodios con agua y en el segundo extracto se utilizó el filtrado del licuado) se probaron en ratas inducidas a la diabetes con estreptozotocina y comparados con glibenclamida (agente hipoglicemiante estándar). Los resultados mostraron que los extractos de *Opuntia* inhibieron la glucosa a los 30 min de la ingesta de carbohidratos, mientras que el estándar tiene efecto a los 60 min. De estos resultados se argumenta que los dos extractos provocan un efecto anti-hiperglicémico, es decir que el filtrado no pierde el efecto hipoglicemiante, que es atribuido por su alto contenido de fibra y pectina, los cuales ayudan a disminuir la absorción de los carbohidratos (Andrade- Cetto y Wiedenfeld, 2011).

Los resultados de un estudio posterior, apoyan el argumento de que el efecto de los extractos de *Opuntia streptacantha* Lem. en la hidrólisis de disacáridos, podía deberse por cualquiera de las dos siguientes hipótesis: una inhibición sobre la actividad enzimática de alfa-glucosidasa o que actúa mecánicamente como una barrera a nivel intestinal. Los resultados demostraron que el efecto de la planta está exento de toda inhibición enzimática; por lo tanto, los extractos forman una barrera entre el complejo enzimático y el sustrato, reflejado en la hidrólisis y absorción (Becerra- Jiménez y Andrade- Cetto, 2012). Zhao *et al.* (2011), evaluaron el efecto antidiabético del extracto etanólico de *Opuntia dillenii* en ratones inducidos a la diabetes con estreptozotocina. El incremento de los niveles de insulina no fueron significativos, por lo que los autores se inclinan a encuadrar el mecanismo de acción dentro de un efecto anti-hiperglicémico.

Por otro lado, la combinación de fibra dietética asociada a los fitoquímicos descritos en el nopal, en conjunto con sus propiedades nutracéuticas, hacen que el nopal pueda usarse como suplemento dietético y/o como ingrediente alimenticio. En años recientes, se inició la comercialización de fibra deshidratada de nopal como auxiliar en trastornos digestivos. La pulpa deshidratada del nopal constituye un material fibroso, cuya función medicinal se basa, como cualquier otra fibra natural, en favorecer el proceso digestivo, reduciendo el riesgo de problemas gastrointestinales y ayudando en los tratamientos contra la obesidad. Adicionalmente, la fibra disminuye el nivel de lipoproteínas de baja densidad, y disminuye el colesterol en la sangre al interferir en la absorción de grasas que realizan los intestinos (Bensadón *et al.*, 2010).

Existen también numerosos reportes sobre la presencia de compuestos fenólicos en el nopal y sus frutos (tuna), que han mostrado tener capacidades antioxidantes, anticarcinogénicas y antivirales, entre otras propiedades. En especial del fruto (tuna), se conocen variedades con una gran diversidad de colores, debido a la presencia de carotenoides y polifenoles, que pueden tener un efecto positivo sobre la salud (Feungang *et al.*, 2006).

*Diabetes mellitus*: La diabetes mellitus es una enfermedad del metabolismo de la glucosa que resulta de una carencia relativa y absoluta (Tipo I) o relativa (Tipo II) de insulina y de complicaciones que incluyen una aceleración de los procesos ateroscleróticos y de la microangiopatía. Las interrelaciones entre la intolerancia a la glucosa y la enfermedad vascular no han sido definidas claramente.

### **La riqueza del nopal para el futuro**

La historia de México está íntimamente ligada al nopal, incluso es parte del escudo nacional; se encuentra presente en la alimentación del mexicano como el frijol y el maíz, y es tan simbólico como el tequila o el pulque. Se conocen múltiples aplicaciones en la medicina tradicional, y dentro de sus múltiples usos se incluye ser aditivo de pinturas, por sus propiedades como aglomerante. Como con otros productos tradicionales, es poco lo que se reporta en la literatura científica en relación a su composición y usos, hasta que en los últimos años, se ha reforzado el interés en productos naturales y sus derivados.

De los usos más importantes que en los últimos años se ha atribuido al nopal, es como suplemento alimentario, para el control de la diabetes o como auxiliar en el control de peso. Sin embargo, debe profundizarse en el estudio de los mecanismos de acción de los componentes del nopal para estas funciones; de la misma manera, debería ser posible estudiar a mayor profundidad los componentes que contiene el nopal. Un estudio integral de los fotoquímicos presentes en la planta, permitiría evaluar el uso del nopal o sus extractos, como complemento en el tratamiento de otros problemas de salud, incluyendo problemas digestivos, infecciones, colesterol alto, incluso cáncer. La identificación de los componentes del nopal que tienen acción sobre estos problemas, así como la determinación de sus mecanismos de acción, es una tarea aún pendiente.

Otra de las aplicaciones con mar futuro es el uso de este cultivo como forraje, que es en especial importante para el ganado en zonas áridas, en donde el nopal puede no sólo proporcionar nutrientes, sino ser una fuente de agua. La búsqueda de variedades que puedan ser de mayor utilidad como forraje, considerando las diferentes regiones climáticas, es también una tarea de mucho interés en el cultivo del nopal

### Jarabes

Los jarabes son preparaciones acuosas de uso oral caracterizadas por su sabor dulce y consistencia viscosa. Pueden contener sacarosa a una concentración de, al menos, el 45% m/m. Su sabor dulce se puede obtener también utilizando polioles o agentes edulcorantes. Los jarabes suelen contener aromatizantes u otros agentes saborizantes. Cada dosis de un envase multidosis se administra por medio de un dispositivo apropiado que permita medir el volumen prescrito.

La viscosidad que se consigue con la disolución de la sacarosa y de otros agentes, unida a la utilización de saborizantes y aromatizantes facilitan el enmascaramiento del sabor desagradable de numerosos principios activos ya que, cuando se ingiere el jarabe, solo una porción de fármaco disuelto entra en contacto con las papilas gustativas; el resto es englobado y arrastrado hacia la garganta por la viscosidad del jarabe. Este tipo de enmascaramiento físico no se manifiesta en soluciones no viscosas. En general los jarabes son de utilización preferente sobre otras formas líquidas, principalmente por su sabor agradable.

Entre los componentes básicos de los jarabes se encuentran:

- **Azúcares:** La sacarosa es el azúcar por excelencia de los jarabes.
- **En algunos casos,** la sacarosa se sustituye, total o parcialmente, por otras sustancias como sorbitol, glicerol y propilenglicol para ser utilizados por personas diabéticas, aunque como las sustancias mencionadas son glucogénicas, con frecuencia se reemplazan por sustancias (no glucogénicas) de conocida capacidad viscozante, como metilcelulosa o hidroxietilcelulosa. Estos dos productos no se hidrolizan ni se absorben y por ello constituyen un excelente vehículo para medicamentos destinados a pacientes en cuya dieta se deba controlar y restringir la ingestión de sustancias glucogénicas. La viscosidad que se consigue con estos derivados de la celulosa es muy parecida a la del jarabe de sacarosa y, añadiendo edulcorantes artificiales, la similitud con los jarabes es notoria.
- **Agua:** como vehículo puede utilizarse agua purificada. Es importante que el contenido de dióxido de carbono se mantenga en niveles mínimos, ya que su presencia favorece la hidrólisis de la sacarosa.
- **Conservantes:** su selección debe basarse en criterios de eficacia antimicrobiana. Los más utilizados en jarabes son ácido benzoico, benzoato de sodio y diversas combinaciones de parahidroxibenzoatos tales como metilparabeno y propilparabeno, entre otros.
- **Correctivos organolépticos:** aunque los jarabes, a consecuencia de su elevada concentración en sacarosa, no requieren la incorporación de edulcorantes adicionales, con frecuencia, el sabor particularmente desagradable de algunos agentes terapéuticos justifica la adición de agentes aromatizantes.

Jarabes especiales:

- En este apartado se recogen las características de jarabes obtenidos con azúcares diferentes a la sacarosa, que suelen utilizarse como vehículos para favorecer la solubilización e integración de determinados agentes terapéuticos a los jarabes elaborados con edulcorantes artificiales. Entre ellos cabe destacar los siguientes:
- **Jarabe de glucosa.** Para su elaboración se utilizan suspensiones acuosas de celulosa. La celulosa en suspensión se somete a una hidrólisis ácida, que genera la glucosa, al añadir ácidos fuertes. En ningún caso se produce la hidrólisis completa (celulosa-glucosa) de la celulosa, permaneciendo en el jarabe fragmentos de las cadenas celulósicas (dextrinas) solubles en agua y que actúan como agentes viscosantes del sistema. Además, como consecuencia del hidrólisis incompleta, no es posible predecir la concentración posthidrólisis de glucosa, que puede ajustarse por simple concentración del jarabe. El jarabe se somete a un proceso de filtración para eliminar el exceso de carbonato y otros productos insolubles.
- **Jarabe de sorbitol.** El jarabe de sorbitol (disolución de sorbitol en agua al 70% p/v) es el de elección para pacientes diabéticos. El poder edulcorante de este poliol es menor (aproximadamente un 50 %) que el de la sacarosa y, aunque experimenta un proceso metabólico que genera glucosa, su índice glucémico es reducido. A pesar de su pequeño poder edulcorante, permite enmascarar eficazmente el sabor amargo de numerosos fármacos, así como el sabor secundario metálico de la sacarina, que se incorpora a sus



formulaciones para reforzar su sabor dulce. Por otra parte, es importante destacar que, actualmente, está limitada la ingestión diaria de sorbitol (en especial en pacientes pediátricos) por los problemas de tipo intestinal (efecto laxante) que ocasiona un consumo excesivo. Desde un punto de vista tecnológico, el jarabe de sorbitol es miscible con glicerina, polietilenglicoles y etanol, lo que ofrece notables posibilidades de solubilización de fármacos. Su adición (en proporción del 30%) a jarabe simple dificulta, al igual que el jarabe de sacarosa invertido, el proceso de cristalización de la sacarosa. Habitualmente, al jarabe de sorbitol se suele incorporar un agente conservante, aunque las disoluciones muy concentradas del poliol no constituyen buenos medios de cultivo para microorganismos. Por último, el jarabe de sorbitol es el de elección para la formulación de fármacos inestables en las disoluciones de sacarosa, como es el caso de la vitamina B12. En este sentido, se ha demostrado la superior estabilidad de algunos preparados polivitamínicos en este jarabe frente a la que exhiben en jarabe simple.

#### *Preparación de los Jarabes*

Los jarabes se preparan de diversas maneras, y la selección del método apropiado depende de las características físicas y químicas de las sustancias que forman parte de la preparación.

*Solución con calor.* Éste es el método habitual para preparar jarabes cuando el componente principal no es volátil ni termolábil y cuando se desee una preparación rápida. La sacarosa por lo común se agrega al agua purificada o a la solución acuosa y se calienta hasta obtener la solución: luego se filtra la solución y se agrega una cantidad suficiente de agua purificada hasta completar el peso o el volumen deseados. Si el jarabe se prepara a partir de una infusión, un extracto obtenido por cocción o una solución acuosa que contiene materiales orgánicos, por lo general es apropiado calentar el jarabe hasta el punto de ebullición para coagular el material albuminoso y separarlo después mediante el filtrado. Si la albumina u otras impurezas permanecen en el jarabe existe el riesgo de fermentación en un ambiente caluroso. Cuando se obtiene una lectura de la densidad del jarabe caliente debe tenerse en cuenta la variación con respecto de la temperatura oficial (en la USP la densidad se toma a 25°C).

El calentamiento excesivo de los jarabes a temperatura de ebullición es indeseable debido a que invariablemente se produce un cierto grado de inversión de la sacarosa, con una mayor tendencia a la fermentación.

*Agitación sin calor.* Este proceso se utiliza en casos en los cuales el calor se asociaría con la pérdida de componentes volátiles importantes. Para la elaboración de jarabes en grandes cantidades se utilizan tanques revestidos de vidrio con agitadores mecánicos especialmente adaptados para la disolución de los componentes.

Este método y el descrito anteriormente se utilizan en la preparación de una amplia cantidad de formulaciones que se designan genéricamente con el nombre de Jarabes.

#### **Conservación.**

Los jarabes deben fabricarse en cantidades que puedan consumirse en el curso de algunos meses, salvo en los casos en los cuales se cuenten con métodos especiales de conservación; el método óptimo es la conservación a baja temperatura. La concentración sin sobresaturación también es una condición de conservación favorable. La USB señala que los jarabes pueden contener conservadores, como glicerina, metilparabeno y ácido benzoico para prevenir el desarrollo de bacterias y hongos. Las combinaciones de ésteres alquílicos del ácido p-hidroxibenzoico son inhibidores eficaces de las levaduras implicadas en la contaminación de jarabes comerciales.

Los jarabes oficiales deben conservarse en frascos bien secos, de preferencia, previamente esterilizados. Estos frascos no deben contener una cantidad mayor que la requerida durante 4 a 6 semanas y deben ser llenados por completo, tapados con sumo cuidado y conservados en un lugar fresco y protegido de la luz.

#### **PARTE EXPERIMENTAL**

Se plantearon diversas fórmulas tentativas de jarabe como base para el desarrollo de las pruebas piloto que permitieron establecer las propiedades y características del producto final para la toma de

decisiones sobre la elección de los excipientes, cosolventes y correctivos organolépticos que presentaron compatibilidad entre ellos además del mejor comportamiento dentro de la formulación a partir de las técnicas de disolución y dispersión con agitación y mezclado mecánico utilizando en algunos casos calor en placa de calentamiento con baño maría a temperatura no mayor a 75°C.

Como parte de la Preformulación se llevó a cabo una investigación bibliográfica con el objetivo de obtener datos útiles sobre la recolección, clasificación y tratamiento de las piezas de nopal, para luego identificar las diferentes posibles formas de obtención y conservación de la baba del nopal, así como su rendimiento e inclusión en un jarabe y su posterior estabilización que garantice la inocuidad y efectividad de su uso.

Durante el desarrollo de este trabajo se llevó a cabo la extracción del mucílago o baba de nopal que es la parte gelatinosa que excretan las pencas de nopal cuando se cortan o lesionan a partir de dos procedimientos:

#### PROCEDIMIENTO 1

- 1.- Limpieza del nopal
- 2.- Pelado y eliminación de espinas de manera manual
- 3.- Cortado en pequeños trozos cuadrados
- 4.- Molienda con agua por 1 min n/veces hasta trituración completa
- 5.- Calentar a 75° C por 2 hrs en baño maría
- 6.- Obtención del sobrenadante
- 7.- Precipitación con etanol al 96 %
- 8.- Obtención del precipitado
- 9.- Deshidratación solar a 60°C por 8 hrs.
- 10.- Molienda
- 11.- Mucílago en polvo

En un recipiente metálico se coloca agua hasta que quedan bien cubiertos los trozos previamente cortados en pequeños cubos y se calienta a una temperatura determinada previamente de 75°C para obtener una solución y, posteriormente se precipitan una o varias veces de acuerdo a las necesidades, esto con etanol al 96%, lo que permite obtener un material concentrado, es decir, otra sustancia gelatinosa que se somete a un secado natural con exposición al sol; se expusieron a diferentes tiempos, se monitorearon hasta obtener un producto totalmente seco el cual se muele, se tritura y se tamiza cíclicamente hasta obtener un polvo fino.

#### PROCEDIMIENTO 2

- 1.- Limpieza del nopal
- 2.- Pelado y eliminación de espinas de manera manual
- 3.- Secado de las pencas en horno de convección a 45°C por 70 hrs.
- 4.- O por exposición al sol durante 70 hrs
- 5.- Trituración del nopal completo seco n/veces
- 6.- Molienda por 1 min., n/veces hasta minimizar a polvo
- 7.- Tamizado n/veces hasta obtención del polvo fino
- 8.- Mucílago en polvo

En una charola metálica se colocan las piezas de nopal completas, se secan expuestas simplemente al sol o en hornos eléctricos por 70 hrs., se trituran en nutrabullet por un minuto n/veces hasta obtener un granulado, posteriormente se pasa por un molino Krups hasta obtener un polvo, tamizar en rot-tap Erweka para homogeneizar el tamaño de partícula hasta obtener un polvo fino.

#### DESARROLLO DE PRUEBAS PILOTO PARA LA ELABORACIÓN DEL JARABE CON EL MUCÍLAGO DE NOPAL

Se elaboró cada una de las fórmulas propuestas las que se compararon entre sí para establecer sus características físicas de acuerdo a la proporción incluida de cada uno de los ingredientes

## FÓRMULAS PROPUESTAS

COMPONENTES	FORMULA 1	FORMULA 2	FORMULA 3
Mucilago de nopal en polvo reconstituido	X	X	X
Polietilenglicol	X	X	X
Ácido cítrico	X	X	-----
Sacarina sódica	X	X	X
Sorbitol		X	X
Metilparabeno	X	X	X
Propilparabeno	X	X	-----
Goma guar		X	-----
Glicerol	X	-----	-----
Grenetina	-----	-----	X
Metabisulfito de sodio	X	-----	-----
Bisulfito de sodio		X	X
Propilenglicol	X	X	X
Concentrado de manzana verde y color verde hoja	-----	-----	X
Concentrado de piña y color amarillo	X	-----	-----
Concentrado de limón y color verde limón	-----	X	-----
Agua	X	X	X

## PRUEBAS PILOTO DE CADA UNA DE LAS FORMULAS

FÓRMULA 1	Pba. Piloto 1	Pba. Piloto 2	Pba. Piloto 3	Pba. Piloto 4	Pba. Piloto 5
Mucilago de nopal reconstituido	27 %	27%	27%	27%	27%
Polietilenglicol	3%	5%	8%	10%	12%
Ácido cítrico	0.5%	0.5%	0.7%	0.7%	1%
Sacarina sódica	0.25%	0.25%	0.5%	0.7%	1%
Metilparabeno	0.15%	0.15%	0.15%	0.18%	0.18%
Propilparabeno	0.005%	0.01%	0.015%	0.018%	0.018%
	15%	15%	18%	18%	20%
Metabisulfito de sodio	0.1 %	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%
Propilenglicol	1%	3%	5%	5%	5%
Concentrado de piña y color amarillo	cbp	cbp	cbp	cbp	cbp
Agua	cbp	cbp	cbp	cbp	cbp

FÓRMULA 2	Pba. Piloto 1	Pba. Piloto 2	Pba. Piloto 3	Pba. Piloto 4	Pba. Piloto 5
Mucilago de nopal reconstituido	30 %	30%	30%	30%	30%
Polietilenglicol	3%	5%	8%	10%	12%
Sacarina sódica	0.25%	0.25%	0.5%	0.7%	1%
Metilparabeno	0.15%	0.15%	0.15%	0.18%	0.18%
Propilparabeno	0.005%	0.01%	0.015%	0.018%	0.018%
Goma guar	0.5%	1%	1.5%	2%	2.5%
Bisulfito de sodio	0.1 %	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%
Propilenglicol	1%	3%	5%	5%	5%
Concentrado de limón y color verde limón	cbp	cbp	cbp	cbp	cbp
Agua	cbp	cbp	cbp	cbp	cbp

FÓRMULA 3	Pba. Piloto 1	Pba. Piloto 2	Pba. Piloto 3	Pba. Piloto 4	Pba. Piloto 5
Mucilago de nopal reconstituido	37 %	37%	37%	37%	37%
Polietilenglicol	3%	5%	8%	10%	12%
Ácido cítrico	0.5%	0.5%	0.7%	0.7%	1%
Sacarina sódica	0.25%	0.25%	0.5%	0.7%	1%
Metilparabeno	0.15%	0.15%	0.15%	0.18%	0.18%
Grenetina	0.5%	1%	1.5%	2%	2.5%
Bisulfito de sodio	0.1 %	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%
Propilenglicol	1%	3%	5%	5%	5%
Concentrado de manzana verde y color verde hoja	cbp	cbp	cbp	cbp	cbp
Agua	cbp	cbp	cbp	cbp	cbp

## RESULTADOS

FÓRMULA FINAL	
Mucilago de nopal reconstituido	37%
Polietilenglicol	8%
Ácido cítrico	0.7%
Sacarina sódica	0.5%
Metilparabeno	0.15%
Grenetina	1.5%
Bisulfito de sodio	0.1%
Propilenglicol	5%
Concentrado de manzana y color verde hoja	Cbp.
Agua	Cbp.

La fórmula final seleccionada resultó al presentar una buena viscosidad de 180 cP, considerando la capacidad de vertido a la toma de una dosis de 15 mL, el pH del producto final fue de 4.7 valor considerado óptimo para conservar las características del nopal, el producto se mantuvo estable por los 3 meses que duró el estudio, presentando aspecto y características organolépticas agradables al gusto. Esta fórmula incluye un conservador, demostrando que no fue necesario incluir 2, pues se pudo comprobar que, cuidando las buenas prácticas de manufactura e higiene durante la obtención del polvo para reconstituir el mucílago de nopal así como en la elaboración del jarabe, este no presentó contaminación ni crecimiento de microorganismos ni hongos durante el ensayo, ya que durante el desarrollo se llevaron a cabo varias pruebas piloto con dos conservadores, sin embargo el resultado no presentó diferencias, lo que nos permitió decidir la inclusión de solo uno. La selección del bisulfito de sodio como antioxidante es relevante pues permitió que la baba de nopal después de su reconstitución en la base del jarabe, permaneciera sin cambios adversos. Después de las diversas pruebas piloto se pudo valorar el comportamiento del sistema obteniendo un producto líquido de buena consistencia al incluir un porcentaje bajo de gnetina permitiendo la incorporación de todos los ingredientes de manera homogénea en especial la dispersión del polvo del mucílago de nopal. El olor y sabor un tanto desagradables se debió corregir a partir de seleccionar diversos concentrados resultando que el de manzana fue el más compatible favoreciendo sus propiedades organolépticas, así como su aceptación, por lo que el color verde hoja fue el de elección al darle un color visualmente muy aceptable.

Lo que permitió obtener un jarabe de administración oral conteniendo el mucílago de nopal, con características organolépticas agradables, de color verde, sabor y olor a manzana, con buena viscosidad, lo que significa que se logró desarrollar una fórmula con excipientes adecuados compatibles con el mucílago de nopal.

## CONCLUSIONES

Se pudo comprobar a partir de la revisión de diversas fuentes bibliográficas, artículos de investigación y Tesis, que existe variada información en la que se ha analizado el mucílago y se reconocen sus propiedades benéficas, sin embargo, son poco los productos farmacéuticos que lo incluyen en sus formulaciones más allá de los productos sólidos orales.

Lograr obtener una fórmula de Jarabe en solución oral con características organolépticas agradables y con estabilidad a largo plazo no fue fácil. Se debieron proponer y desarrollar diversos ensayos a partir de un gran número de pruebas piloto que permitieran definir la mejor selección de excipientes y cosolventes que permitieran obtener un producto funcional, compatible y aceptable por parte de los consumidores.

La selección de un solo conservador en la fórmula final nos permite concluir que no es necesario adicionar 2 conservadores esto debido a que el antioxidante bisulfito de sodio cumple también con la función conservante, por lo que refuerza la preservación microbiológica del producto final.

El pH óptimo para el nopal se logró a partir de la necesidad de ajustarlo con un amortiguador como el ácido cítrico, a la vez de que éste favorece la no oxidación del mucílago de nopal haciendo sinergia con el antioxidante bisulfito de sodio incluido en la fórmula. Los cosolventes como el propilenglicol y el polietilenglicol fueron elegidos, ya que, al mezclar la baba de nopal con humectantes tradicionales como estos, se potencializan los efectos humectantes y suavizantes del mucílago, favoreciendo la inclusión y la dispersión de este, en el jarabe acuoso.

Implementar la técnica de obtención del mucílago de nopal resultó todo un reto ya que se establecieron 2 procedimientos, por lo que la fórmula final seleccionada resultó del uso del mucílago de nopal reconstituido a partir del Procedimiento N° 2, pues no se apreció diferencia significativa en el momento de su reconstitución en la base líquida del jarabe final.

Se puede concluir que se logró el objetivo de este proyecto, ya que siendo los jarabes soluciones orales, se debió considerar el aspecto homogéneo final del sistema así como su aceptación organoléptica por parte de los consumidores, situación que resultó complicada al presentar el mucílago de nopal características desagradables en estos dos aspectos, y que se debieron replantear hasta encontrar el equilibrio entre los componentes seleccionados y el resultado del producto terminado, lo que permite ofrecer un producto que se encuentre al alcance de la mano de los pacientes de una manera práctica y disponible para su administración, apreciándose así, la riqueza y versatilidad del nopal.

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Rodríguez G.S, “Caracterización química del mucílago de seis especies de *Opuntia* colectadas en Morelia Michoacán y municipios aledaños”, U. Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, 2013, pp 29.
2. Martínez P.R., “Tratado de Tecnología Farmacéutica”, Ed. Síntesis, Madrid., Vol III, 2017, pp 138-143.
3. Nevare V., “El nopal: planta del semidesierto con aplicaciones en farmacia, alimentos y nutrición animal”, Rev.Mex.Cienc.Agric., Vol 6 N° 5, Texcoco. Jun/Ago.2015, pp 2-4 y 8.
4. R. Genaro, “Farmacia de Remington” 20° Ed., Tomo I, Ed. Médica Panamericana, Buenos Aires 2003, pp. 849 y 850.
5. Raymond C Rowe, Paul J Sheskey and Marian E Quinn, “Handbook of Pharmaceutical Excipients” 6° Ed., Tomo I y II, Pharmaceutical Press, 2009, pp. 181, 278, 283, 298, 441, 517, 592, 608, 654, 669, 679 y 766.
6. R. Genaro, “Farmacia de Remington” 17° Ed., Tomo I, Ed. Médica Panamericana, Buenos Aires 1987, pp. 957.
7. S.Rodríguez-González, H.E. Martínez-Flores, mJ.L. Órnelas-Nuñez, M.G. Garnica-Romob, “OPTIMIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DEL MUCÍLAGO DE NOPAL (*Opuntia ficus-indica*)”, Univ.Michoacana, XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería.
8. Basurto S.D, Lorenzaja J.M, y Mangos G.G, “Utilidad del nopal para el control de la glucosa en la diabetes mellitus tipo 2”, Monografía Revista Médica, UNAM. 49 (4), 2006, pp. 157–162.
9. D.R. Reader’s Digest México, S.A. de C.V. “Plantas Medicinales: Virtudes insospechadas de plantas conocidas” Ed. Selecciones del Reader’s Digest. México-Nueva York. 1987, pp. 270

## DETERMINACIÓN DE LOS FACTORES DE BIOCONCENTRACIÓN, TRASLOCACIÓN Y RIESGOS POTENCIALES A LA SALUD EN *CAPSICUM ANNUUM L.*

Dulce María Orozco Corona<sup>1</sup>, Consuelo Letechipía de León<sup>2</sup>, Juan Valente Megchún García<sup>3</sup>  
Alejandro Gómez Hernández<sup>1</sup>, Alejandro Gómez Hernández<sup>1</sup>,

<sup>1</sup>Universidad Tecnológica de Querétaro, <sup>2</sup>Unidad Académica de Estudios Nucleares. Universidad Autónoma de Zacatecas. <sup>3</sup>Tecnológico Nacional de México/ Instituto Tecnológico Superior de Jesús Carranza.  
dulce.orozco@uteq.edu.mx

### RESUMEN

La contaminación por metales pesados en productos agrícolas, agua y suelo es considerada como contaminación difusa ya que su origen no está claramente definido y puede tener varios focos contaminantes emisores. Además, la mayoría de los metales pesados tienen efectos tóxicos cuando se encuentran en ciertas concentraciones sobre los organismos y prácticamente son indestructibles. Es prioritario conocer el origen de los contaminantes, su concentración y caracterizar su tipo (orgánicos o inorgánicos), ya que el consumo de los productos agrícolas cultivados en suelos contaminados, en particular en áreas mineras, representa un riesgo para la salud humana. La evaluación de los factores de bioacumulación y traslocación son importantes herramientas para estimar los riesgos que los metales pesados pueden representar para la flora, fauna y seres humanos, así como una medida de reducción de incertidumbre en áreas analizadas ayudando a la evaluación del impacto ambiental. El objetivo de la investigación fue calcular el factor de bioconcentración (FBC) y el Factor de traslocación (FT) tomando como referencia las concentraciones encontradas en el suelo y chile (*Capsicum annuum L.*) en una zona agrícola de aproximadamente 44 hectáreas con historial minero en el municipio de Morelos, Zacatecas, para los metales As, Pb, Hg y Cd, así como estimar los riesgos potenciales hacia la salud y la ingesta de metales pesados en la zona analizada. Para la matriz de chile (*Capsicum annuum L.*) cada chile fue fraccionado en raíz y partes aéreas y digeridos utilizando el método de digestión húmeda ácida para posteriormente determinar la concentración de los distintos analitos (As, Pb, Hg y Cd) los cuales fueron medidos por EAA-F y EAA-HG. Para la matriz de suelo se tomó como referencia la norma NMX-132-SCFI-2006 y de igual forma la concentración se determinó por EAA-F y EAA-HG. De acuerdo con el cálculo del Factor de Bioconcentración (FBC), la especie *Capsicum annuum L.* no es hiperacumuladora de los metales As, Pb, Hg y Cd. Sin embargo, se considera acumuladora para el caso de Pb, Hg y Cd y exclusora para el As. Por lo tanto, se recomienda su uso para estudios de fitoestabilización de este metal. En general, la mayoría de las plantas presentaron un Factor de Traslocación (FT) promedio mayor de 1; esto implica que las plantas de chile son efectivas para traslocar los metales que absorbieron de su raíz a la parte aérea. Finalmente, el Índice de Riesgo para la Salud (HRI) analizando los 4 metales pesados indicó que el consumo del producto agrícola *Capsicum annuum L.* presenta riesgo potencial para la salud de los consumidores.

### INTRODUCCIÓN

Los metales pesados son algunos de los contaminantes ambientales más importantes; esto se debe en gran parte a las actividades antropogénicas derivadas de la industrialización. Aunque existen estrategias de tratamiento físico y químico para eliminar los contaminantes metálicos, estos métodos requieren mucha mano de obra. Además, los métodos de tratamiento químico son costosos y generan otros contaminantes (Usman et al., 2019).

Una de las principales actividades antropogénicas más contaminantes es la minería, la cual genera desechos de metales pesados y a su vez contaminación ambiental, estas actividades producen relaves de desechos que puede ser una fuente importante de contaminación en el ecosistema circundante (Hosseini et al., 2018).

El objetivo de la presente investigación fue calcular el factor de bioconcentración (FBC) y el Factor de traslocación (FT) tomando como referencia las concentraciones encontradas en el suelo y chile

(*Capsicum annum* L.) en una zona agrícola de aproximadamente 44 hectáreas con historial minero en el municipio de Morelos, Zacatecas, para los metales As, Pb, Hg y Cd, así como estimar los riesgos potenciales hacia la salud y la ingesta de metales pesados en la zona analizada.

### TEORÍA

Factor de Bioconcentración (FBC)

El factor de Bioconcentración (FBC) es la relación entre la concentración de metales pesados en la raíz de la planta respecto a la concentración de metales pesados en el suelo, como se muestra en la ecuación (9). El FBC se emplea como una forma de medir la eficiencia de la acumulación de metales en biomasa, su interpretación es que los valores del  $FBC > 1$  que la especie es acumuladora,  $FBC > 10$  la especie es hiperacumuladora, sin embargo, si el  $FBC < 1$  la especie es exclusora (Alderete-Suarez et al., 2019).

$$FBC = \frac{\langle \text{metales en raíz} \rangle}{\langle \text{metales en el suelo} \rangle} \quad (1)$$

Factor de traslocación (FT)

El factor de traslocación (FT) o índice de traslocación, es una medida del transporte interno de un metal y muestra la eficiencia de la planta en la traslocación del metal acumulado desde sus raíces a los brotes (Sun et al., 2016). Como se muestra en la ecuación, el FT es el cociente entre la concentración de metales de la parte aérea de la planta y la raíz. Un  $FT > 1$  indica que la planta se puede usar para fitoextracción,  $FT < 1$  indica que la planta no trasloca de manera efectiva los metales a sus partes aéreas y tiene un potencial para la fitoestabilización.

$$FT = \frac{\langle \text{metales en parte aérea} \rangle}{\langle \text{metales en raíces} \rangle} \quad (2)$$

Riesgo potencial a la salud

Las evaluaciones de riesgos para la salud de los metales pesados en los suelos se usan para estimar los riesgos carcinógenos y no carcinógenos a través de la ingestión, inhalación, vías de exposición dérmica y dietética (USEPA, 2001).

El índice de riesgo (HRI) a la salud por la concentración de metales pesados en Chile se determinó con la ecuación, donde DIM es la ingesta diaria de metales RFD es la dosis de referencia oral (Jan et al., 2010). En la Tabla 1 muestra la dosis de referencia oral para As, Pb, Hg, Cd (USEPA-IRIS, 2011).

$$HRI = \frac{DIM}{RFD} \quad 3)$$

Cuando  $HRI \leq 1$  indica que no hay efectos adversos para la salud y  $HRI > 1$  indica probables efectos adversos para la salud.



Tabla 1. Dosis de referencia oral para metales pesados

Metal Pesado	RFD (mg/kg/day)
As	0.0003
Pb	0.0035
Hg	0.000160
Cd	0.0005

Los índices de riesgo para la salud (HRI) se pueden agregar y generar un índice de peligro (HI) para estimar el riesgo de contaminación por metales mixtos (Du et al., 2013). El HI se calcula mediante la ecuación siguiente:

$$HI = \sum_{i=1}^n HRI \quad (4)$$

HI se refiere a la "suma de los índices de riesgo para la salud para múltiples sustancias y / o múltiples vías de exposición" y se calcula por separado para la exposición crónica, subcrónica y de corta duración si cada vía de exposición contribuye a la exposición del mismo individuo o subpoblación. HI es igual a la suma de HRI y significa el riesgo total de no cancerígeno para un solo elemento. Si el valor de  $HI \leq 1$ , se cree que no existe un riesgo significativo de efectos no cancerígenos. Si  $HI > 1$ , significa que hay una gran posibilidad de efectos no cancerígenos y la probabilidad aumenta con el valor creciente de HI (USEPA, 2001).

#### Ingesta diaria de metales

Los metales pesados tóxicos ingresan al cuerpo humano a través de la ingesta oral (al consumir alimentos), inhalación y / o contacto dérmico (Shahid et al., 2015). El cálculo de la ingesta diaria de metales se hace mediante la ecuación:

$$DIM = \frac{M \times K \times I}{W} \quad (5)$$

En esta ecuación M representa la concentración de metales pesados en el tejido vegetal (mg/kg), I representa la cantidad de ingesta diaria de vegetales, W es el peso corporal promedio y K es el factor de conversión. Para convertir el peso fresco de las verduras en peso seco, se utilizó 0.085 como factor de conversión (Rattam et al., 2015).

## PARTE EXPERIMENTAL

### Área de estudio

La investigación presentada se llevó a cabo en una zona agrícola ubicada en Morelos, en el estado de Zacatecas. El total de parcelas estudiadas fueron 9 para cada uno se tomaron 3 muestras compuestas por triplicado y en cada uno de los puntos de muestreo. Para el número mínimo de puntos de muestreo se tomó de referencia la norma NMX-132-SCFI-2006, (NOM, 2006).

### Toma de muestras agua y determinación de la concentración de metales pesados.

Las normas mexicanas NNX-AA-051-SCFI-2001 y NMX-AA-003-1980 sirvieron de referencia para obtener las muestras de agua. Las concentraciones de metales pesados se obtuvieron por Espectroscopia de Absorción Atómica por Flama y por Generador de Hidruros, cada muestra se tomó por triplicado y se analizó en el laboratorio de Ingeniería Civil en la Universidad Autónoma de Zacatecas, el equipo utilizado fue un espectrofotómetro de absorción atómica (AAS, modelo Analyst 200, serie Thermo iCE 3000, EE. UU.).

### Toma de muestras suelo y chile

Las muestras de suelo fueron tomadas aleatoriamente a 15 cm de profundidad, esto con el fin de identificar el perfil de contaminación de la superficie en términos de captación de metales pesados

en los suelos cultivados de la zona de estudio. Esta profundidad fue seleccionada ya que representa la profundidad normal de labranza agrícola y es la indicada por la norma NMX-132-SCFI-2006 (Santos et al., 2006). Las muestras de chile y suelo se digirieron por digestión cerrada (HCl + HN, 3:1) en el laboratorio de geoquímica del agua con un microondas marca CEM MarsX press en la Universidad Nacional Autónoma de México, para posteriormente analizarse por la técnica analítica de espectrometría de absorción atómica.

Evaluación de riesgos potenciales a la salud por el consumo de *Capsicum annum L.* procedente de Morelos, Zacatecas.

Para estos cálculos se consideró que el peso corporal promedio de adultos es de 50 kg. Para estimar la ingesta promedio de chile en adultos en México se compararon 2 referencias: la primera expuesta por Lopez-Carrillo et al. (1994) que indica es de 200 mg/ persona/ día es decir 0.0002 kg /persona / día y la segunda dada por la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER) que sugiere una ingesta promedio de 18 kg de chile en los adultos al año, es decir, aproximadamente 0.04931 kg por día. Se consideró además la concentración promedio de la zona de estudio para los distintos metales pesados.

## RESULTADOS

El chile en México representa uno de los principales cultivos a nivel nacional, siendo durante más de V siglos el sustento alimenticio de los mexicanos, símbolo de identidad cultural y presente en más de 90% de los platillos en la comida mexicana (Bosland, 2015). El consumo nacional en el año 2000 fue de 1538904 toneladas de chile. Según estudios, el consumo promedio per cápita de chile en México es de aproximadamente 34 gramos por día, es decir, en promedio cada mexicano consume 15 kg de chile al año (Castellon-Martinez et al., 2012).

Después, de haber realizado la caracterización química se realizó el análisis del Factor de Bioconcentración y Factor de Traslocación con el objetivo de evaluar la capacidad de captación de un metal por una planta con relación a su concentración en el suelo.

### Resultados FBC y FT

En las siguientes Tablas (2-5) se muestran los resultados obtenidos de los cálculos del factor de bioconcentración (FBC) y el factor de traslocación (FT), así como la concentración promedio de los metales pesados As, Pb, Hg y Cd expresadas en mg/kg en las distintas partes de la planta:

Tabla 2. Concentración de As y FBC y FT en chile.

Concentración de Arsénico (mg/kg)						
ID	Raíz	Tallo	Chile	Planta	FBC	FT
M1	4.31 ± 0.24	16.50 ± 0.15	13.82 ± 3.51	11.54 ± 1.30	0.09	7.04
M2	23.54 ± 1.46	16.18 ± 0.88	6.53 ± 0.28	15.41 ± 0.87	0.34	0.96
M3	39.78 ± 3.96	14.52 ± 1.23	19.13 ± 1.26	24.47 ± 2.15	0.42	0.85
M4	19.90 ± 3.19	15.86 ± 1.44	3.46 ± 0.31	13.07 ± 1.64	0.36	0.97
M5	32.59 ± 2.65	9.66 ± 0.39	4.13 ± 0.39	15.45 ± 1.14	0.59	0.42
M6	24.09 ± 3.25	5.83 ± 0.06	10.18 ± 0.29	13.36 ± 1.2	1.13	0.66
M7	18.64 ± 0.54	11.77 ± 2.88	7.39 ± 0.14	12.6 ± 1.18	0.85	1.03
M8	20.14 ± 2.23	10.55 ± 0.91	3.81 ± 0.75	11.49 ± 1.3	0.59	0.71
Xmed	22.87 ± 2.19	12.61 ± 0.99	8.56 ± 0.87	14.68 ± 1.35	0.55	1.58

El factor de bioconcentración para la especie *Capsicum annum L.* en el caso del As (Tabla 2) muestra un índice mayor en la muestra M6 de 1.13 y un índice menor en la muestra M1 de 0.09. En cambio, el valor más alto del FT para el As se presentó en la M1 y fue de 7.04 y el menor en la

muestra M5 siendo de 0.42. El As fue el único metal que tuvo un FCB promedio menor a 1 siendo de 0.55 que es considerado un valor bajo, concordando con los resultados de Baker and Brooks (1989); Baker (1981) en donde concluye que la mayoría de las especies que crece sobre suelos contaminados no son acumuladoras sino exclusoras.

Tabla 3. Concentración de Pb, FBC y FT en Chile.

Concentración de Plomo (mg/kg)						
ID	Raíz	Tallo	Chile	Planta	FBC	FT
M1	9.45 ± 0.24	6.56 ± 0.80	9.11 ± 0.64	8.37 ± 0.56	0.86	1.66
M2	14.94 ± 0.77	10.59 ± 0.46	6.30 ± 0.50	10.61 ± 0.57	1.91	1.13
M3	13.01 ± 1.09	11.65 ± 0.79	6.22 ± 0.57	10.29 ± 0.82	1.58	1.37
M4	10.11 ± 0.40	9.09 ± 0.39	6.89 ± 0.57	8.69 ± 0.45	0.77	1.58
M5	2.56 ± 0.42	5.82 ± 0.07	3.11 ± 0.07	3.83 ± 0.19	0.43	3.49
M6	4.45 ± 0.25	6.44 ± 0.47	3.24 ± 0.70	4.71 ± 0.47	0.40	2.18
M7	13.49 ± 0.66	11.77 ± 0.50	9.12 ± 0.29	11.46 ± 0.48	1.40	1.55
M8	10.62 ± 0.55	10.29 ± 0.37	4.94 ± 0.50	8.62 ± 0.47	1.87	1.43
Xmed	9.83 ± 0.548	9.03 ± 0.48	6.11 ± 0.48	8.32 ± 0.50	1.15	1.80
Factor de Bioconcentración (FBC), Factor de translocación (FT)						

En cuanto al FBC para Pb, el valor más alto que se obtuvo fue de 1.91 en la muestra M2 y el valor más bajo que se obtuvo fue de 0.40 en la muestra M6 (Tabla 3). Perez-Vargas et al. (2014) evaluaron la capacidad acumuladora del Chile *Capsicum annuum* L. en suelos contaminados por Hg procedentes de una mina y encontró que las concentraciones en raíces fueron mayores que en tallo y hoja, limitando su traslocación y que el FT de mercurio fue bajo, concluyendo que esta especie limita la traslocación de este metal.

Estudios sobre la concentración de Hg en plantas en Morelos, Zacatecas, concluyeron que la mayor concentración se encontró en la raíz. Este efecto indica que la raíz se comporta como una barrera de defensa ya que limita el paso del metal a otras partes de la planta. El FT promedio fue alto (2.25 mg/kg) que se atribuyó al pH del suelo y a las condiciones climáticas (Duran-Cuevas 2010).

Tabla 4. Concentración de Hg, FBC y FT en Chile.

Concentración de Mercurio (mg/kg)						
ID	Raíz	Tallo	Chile	Planta	FBC	FT
M1	8.46 ± 0.30	5.66 ± 0.06	12.41 ± 2.09	26.53 ± 2.45	2.68	2.14
M2	5.45 ± 0.02	6.90 ± 2.08	ND	ND	0.73	ND
M3	2.34 ± 1.48	8.67 ± 0.39	3.77 ± 0.02	14.77 ± 1.89	0.14	5.32
M4	17.59 ± 2.72	10.39 ± 0.26	11.17 ± 0.89	39.15 ± 3.86	2.05	1.23
M5	6.21 ± 1.35	1.49 ± 0.08	ND	ND	0.71	ND
M6	12.60 ± 0.73	6.43 ± 4.56	0.95 ± 0.29	19.98 ± 5.59	1.22	0.59
M7	1.80 ± 0.94	3.34 ± 0.24	2.49 ± 0.68	7.63 ± 1.86	0.29	3.24
M8	8.19 ± 0.14	7.36 ± 0.27	0.74 ± 0.05	16.28 ± 0.46	2.26	0.99
Xmed	7.83 ± 0.96	6.28 ± 0.99	5.25 ± 0.67	6.45 ± 0.87	1.26	2.25

Tabla 5. Concentración de Cd, FBC y FT en Chile.

Cadmio mg/kg						
ID	Raíz	Tallo	Chile	Planta	FBC	FT
M1	3.27 ± 0.09	2.89 ± 0.22	2.68 ± 0.23	8.84 ± 0.53	ND	1.70
M2	6.21 ± 0.31	3.37 ± 0.33	1.16 ± 0.14	10.74 ± 0.78	1.97	0.73
M3	15.93 ± 0.22	2.92 ± 0.08	ND	ND	0.63	ND
M4	7.35 ± 0.31	7.63 ± 0.17	8.18 ± 0.15	23.15 ± 0.64	2.73	2.15
M5	3.57 ± 0.16	ND	ND	ND	0.85	ND
M6	1.41 ± 0.36	1.37 ± 0.37	1.92 ± 0.22	4.70 ± 0.95	1.77	2.34
M7	7.47 ± 0.12	7.93 ± 0.17	7.18 ± 0.15	22.59 ± 0.44	3.96	2.02
M8	1.44 ± 0.18	2.61 ± 0.21	0.60 ± 0.04	4.65 ± 0.43	0.97	2.23
Xmed	5.83 ± 0.22	4.10 ± 0.22	3.62 ± 0.16	4.52 ± 0.87	1.84	1.86

Respecto al caso del Cd, el índice promedio de bioconcentración fue de 1.84 mg/kg lo que indica que la planta tiende a acumular metales pesados en su raíz. El factor de traslocación promedio fue de 1.86 mg/kg, lo que indica que la planta tiende a traslocar los metales pesados a su parte aérea. Adicionalmente, se puede observar en la Tabla 5, que casi todos los valores del FT en los distintos sitios de muestreo superaron el valor de 1 mg/kg, a excepción de la M2 cuyo valor fue de 0.73 mg/kg.

El Cd, por ser un metal no esencial, definitivamente no es acumulado por el organismo y solamente presenta un impacto en áreas donde por resuspensión o incremento de sólidos incrementen su biodisponibilidad y su acumulación. En suelos establecidos con hortalizas, se han encontrado valores mínimos y máximos 0.24 y 2.1 mg/kg de Cd, de los cuales los niveles superiores a 3.0 mg/kg de Cd, son considerados fitotóxicos (Olivares-Rieumont et al., 2013).

De acuerdo a los criterios de clasificación de Baker (1981) una planta es hiperacumuladora de metales pesados si su FBC es mayor a 10. En este estudio los valores promedio de FBC para los cuatro metales analizados fueron todos menores a 10, por lo que el chile *Capsicum annuum L.* no es hiperacumulador de estos metales. Sin embargo, se observa que el valor promedio de las concentraciones del FBC para el Pb, Hg y Cd superan el valor de 1 mg / kg, siendo: 1.15 mg / kg, 1.26 mg / kg y 1.84 mg / kg respectivamente. Por lo tanto, aunque la especie *Capsicum annuum L.* no es hiperacumuladora, los valores de bioconcentración para estos metales indican que esta planta sí los acumula y puede ser utilizada para fitoextracción.

Por otra parte, el uso de sustratos en hortalizas provoca la contaminación por Cd y Pb. Las Tablas muestran que las concentraciones de metales en *Capsicum annuum L.* en este estudio superan los valores máximos permisibles para hortalizas de hojas (0.2 mg / kg) y para fruto en peso fresco (0.05 mg / kg) (Rodríguez et al., 2012). Esto puede deberse a que el sustrato utilizado para el cultivo de *Capsicum annuum L.* está contaminado y la planta esté translocando estos metales a su interior. Por lo tanto, *Capsicum annuum L.* puede ser utilizada para la fitorremediación de suelos contaminados por metales pesados o como una planta para la fitoextracción. Sin embargo, es necesario continuar estudiando sus procesos de absorción, traslocación, quelación, degradación y volatilización (Delgadillo et al., 2017).

En relación con el FT, las medias de las muestras analizadas para el As, Pb, Hg y Cd fueron de: 1.58, 1.80, 2.25, 1.86 respectivamente. Esto indica que la especie analizada trasloca los metales de las raíces a las partes aéreas de manera efectiva, por lo cual no puede considerarse como potencialmente fitoestabilizadora de estos metales pesados (Baker & Brooks, 1989).

Hallat et al. (2017) reportaron contaminación de Pb en suelo en cultivos agrícolas de lechuga en Piura, presentando variaciones de 292 mg / kg a 15 mg / kg, tales variaciones se están relacionadas a la contaminación por este metal pesado. Además, se observó dispersión de Cu de entre 4.9 mg / kg hasta 525 mg / kg, esto puede deberse a la presencia de sales con Cu que son utilizadas como fungicidas en las principales zonas agrícolas, provocando además manchas azules en cultivos contaminados con este metal.

La presencia de metales no solo ha impactado la producción de hortalizas, sino que también se han visto afectados algunos organismos acuáticos. Por ejemplo, en la costa y lagunas del Golfo de México se han observado concentraciones de metales pesados en *Litopenaeus setiferus* con valores de 0.8, 0.07, 0.1  $\mu\text{g} / \text{g}$  para Pb, Cd y Hg respectivamente; en *Farfantenaes aztecus* se encontraron valores de concentración de 0.1, 0.03 y 18.5  $\mu\text{g}/\text{g}$  para estos metales (Lango et al., 2013).

De acuerdo con Brun et al. (2017) la biodisponibilidad de metales pesados en animales y humanos debido al consumo de vegetales contaminados se debe en gran medida a la acumulación de metales pesados en los tejidos de la planta que inmovilizan los metales pesados a través de la absorción de las raíces o la precipitación en la rizosfera (Santos-Santos et al., 2006).

La Figura 1 muestra la interacción entre los distintos metales pesados analizados y las medias de los intervalos, se puede observar diferencias significativas entre los metales entre ellos para As-Cd, Hg-Pb y para el caso del Cd con los metales Hg y Pb. No se encontró diferencia significativa entre las concentraciones de los distintos metales analizados, sin embargo, el valor del BFC de las muestras de Cd fue mayor a los valores correspondientes a los otros metales.

Con respecto a los resultados del factor de traslocación (Figura 1), los valores son similares con respecto a las medias, pero presentan diferencias significativas entre las interacciones de los metales pesados. Entre los más importantes están Cd con Hg y Pb. En teoría, el Cd tiene mayor capacidad de bioconcentración en planta de *Capsicum annuum L.*, pero menor capacidad de traslocarse en la planta.

En investigaciones relacionadas con las especies de *Verbascum olympicum*, *Paspalum distichum*, *Cynodon dactylon*, *Phragmites australis*, *Vetiveria zizanioides*, los valores del factor de bioconcentración de Pb se encuentran en un rango de 0.2 a 0.67 y los valores del factor de traslocación entre 0.13 y 3.55, en algunos casos superiores para FBC pero inferiores para FT (Medina-Marcos & Montano-Chavez, 2014).

Ruiz and Armienta (2012) reportaron valores del FT para As en plantas de maíz en un rango de 0.32 a 2.29 y para el FBC entre 0.0001 y 0.021; con respecto al Cd los valores del FT se encontraron entre 0.07 y 0.86, en el FBC se reportaron valores entre 0.36 y 1.05; además concluyeron que el As es un elemento transferible en plantas.

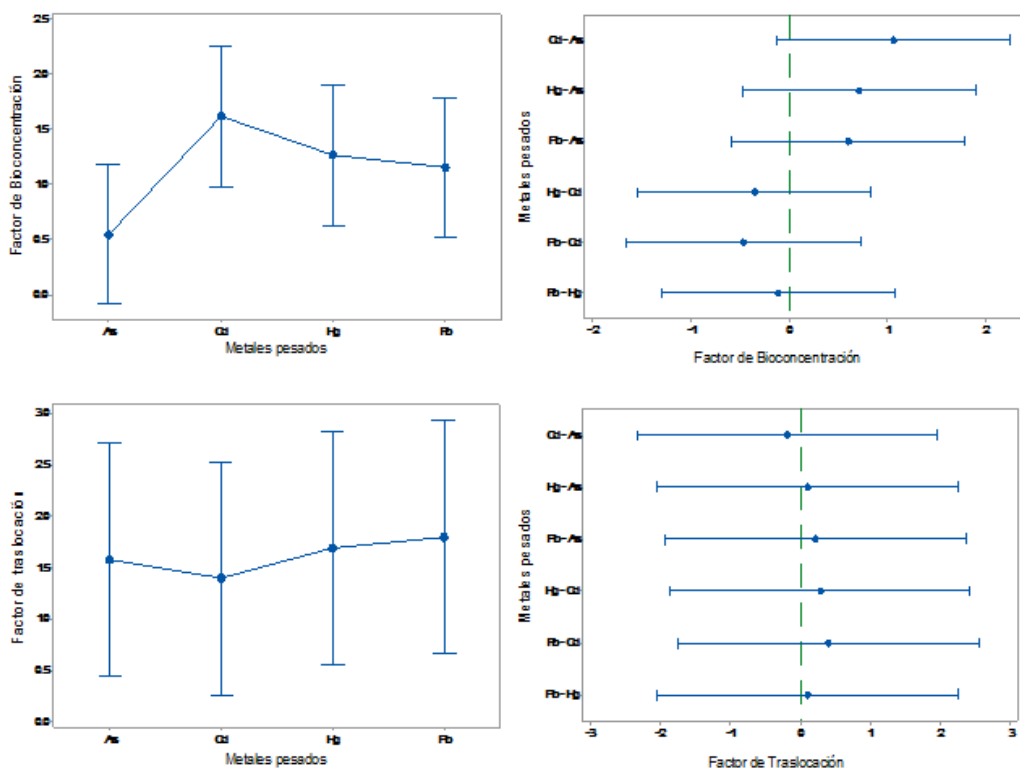


Figura 8. Análisis estadístico del FT y FBC.

De acuerdo al cálculo del FBC, la especie *Capsicum annuum* L. no se considera hiperacumuladora de los metales pesados analizados (As, Pb, Hg y Cd), sin embargo, se considera acumuladora para el caso de Pb, Hg y Cd y exclusiva para el As. Por lo tanto, se recomienda su uso para estudios de fitoestabilización de este metal.

Los valores promedio de la bioconcentraciones de As, Pb, Hg y Cd en las distintas muestras fueron de 0.55, 1.15, 1.26, 1.84 y para el FT fueron de: 1.58, 1.80, 2.25, 1.86, respectivamente. En general, la mayoría de las plantas presentaron un FT promedio arriba de 1, lo cual quiere decir que las plantas son efectivas para traslocar los metales que absorbieron de su raíz a la parte aérea, esto puede representar serios problemas de inocuidad alimenticia en el chile analizado lo que puede generar problemas de salud a largo plazo en los seres humanos y animales que lo consumen.

Finalmente, *Capsicum annuum* L. no puede usarse como fitoacumulador sino como fitoextractor para 3 de los 4 metales analizados. Se deben realizar más estudios para comparar estos resultados con los obtenidos al analizar otras especies comestibles cultivadas en áreas mineras.

Resultados riesgos a la salud y ingesta diaria de metales.

La DIM por el consumo del chile *Capsicum annum L.* se calculó para adultos. Los resultados de DIM se resumen en las siguientes Tablas 6 y 7 tomando como referencia a López-Carrillo et al., (1994):

Tabla 6. Cálculo del DIM, HRI y HI

Metales	M	K	I	W	DIM	RFD	HRI
As	8.56	0.085	0.0002	50	2.91E-06	0.0003	0.0097013
Pb	6.11	0.085	0.0002	50	2.077E-06	0.0035	0.0005935
Hg	5.25	0.085	0.0002	50	1.785E-06	0.00016	0.0111563
Cd	3.62	0.09	0.0002	50	1.231E-06	0.0005	0.0024616
ΣHI							0.0239127

Tabla 7. Cálculo del DIM, HRI y HI tomando como referencia el dato de la SADER.

Metales	M	K	I	W	DIM	RFD	HRI
As	8.56	0.085	0.04931	50	0.0007176	0.0003	2.3918
Pb	6.11	0.085	0.04931	50	0.0005122	0.0035	0.1463
Hg	5.25	0.085	0.04931	50	0.0004401	0.00016	2.7505
Cd	3.62	0.09	0.04931	50	0.0003035	0.0005	0.6069
ΣHI							5.8956

El HRI del chile *Capsicum annum L.* sembrado en una zona agrícola cercana a jales mineros para adultos calculada en la Tabla 7 para los distintos metales As, Pb, Hg y Cd fue menor a 1 lo que no representa riesgos. El índice de riesgo para la salud (HRI) del producto agrícola *Capsicum annum L.* presentado en la zona de estudio y tomando como referencia los datos dados por la SADER fueron superiores para los metales pesados As y Hg siendo de 2.3918 y 2.7505 lo que indica que potencialmente se puede tener riesgos a la salud para los consumidores de este producto.

En general, los valores de HRI disminuyeron en el orden de Hg > As > Cd > Pb si tomamos en cuenta únicamente los valores de HRI los resultados reflejaron que la exposición a los metales pesados Cd y Pb únicamente no causaría impactos graves a la salud en el estudio. Sin embargo, el riesgo calculado se ve afectado por un alto grado de incertidumbre al tomar en cuenta los distintos metales que interactúan entre sí en esta zona de estudio. La evaluación de riesgos para la salud humana ha demostrado ser una herramienta poderosa para distinguir los metales pesados y las rutas de exposición más preocupantes. El programa de evaluación del riesgo de sustancias tóxicas demuestra el valor de un enfoque orientado al riesgo para informar a los residentes y al gobierno sobre los riesgos potenciales asociados con la exposición a metales.

## CONCLUSIONES

El método analítico de absorción atómica se aplicó para conocer la acumulación de metales pesados en 81 muestras de As, Pb y Hg en agua, suelo y chile *Capsicum Annum L.* en parcelas agrícolas del municipio de Morelos Zacatecas.

De acuerdo con el cálculo del FBC, la especie *Capsicum annum L.* no es hiperacumuladora de los metales As, Pb, Hg y Cd. Sin embargo, se considera acumuladora para el caso de Pb, Hg y Cd y exclusora para el As. Por lo tanto, se recomienda su uso para estudios de fitoestabilización de este metal.

Los valores promedio de las bioconcentraciones de As, Pb, Hg y Cd en las distintas muestras fueron de 0.55, 1.15, 1.26, 1.84 y para el FT fueron de: 1.58, 1.80, 2.25, 1.86, respectivamente. En general, la mayoría de las plantas presentaron un FT promedio mayor de 1; esto implica que las de Chile son efectivas para traslocar los metales que absorbieron de su raíz a la parte aérea. Esto, puede representar serios problemas de inocuidad alimenticia en el Chile analizado lo que puede generar problemas de salud a largo plazo en los seres humanos y animales que lo consumen.

Finalmente, *Capsicum annum* L. no puede usarse como fitoacumulador sino como fitoextractor para 3 de los 4 metales analizados.

El valor HI para adultos es de 5.8956, lo que sugiere que se debe prestar especial atención a esta zona de estudio, ya que los adultos enfrentan riesgos potenciales dañinos para la salud. Esta investigación será muy útil tanto para los residentes a la hora de tomar medidas de protección como para el gobierno para aliviar la contaminación por metales pesados del entorno de la zona de Morelos, Zacatecas.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Alderete-Suarez, B. M., Valles-Aragon, M. C., Canales-Reyes, S., Peralta-Perez, M. R., Orrantia-Borunda, E. (2019). Bioconcentración de Pb, Cd y As en biomasa de *Eleocharis macrostachya* (Cyperaceae). *Rev. Int. Contam. Ambient*, 35, 93-101. <https://doi.org/10.20937/RICA.2019.35.esp03.11>
2. Baker, A. J. M., & Brooks, R. (1989). Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements. A review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery*, 1, 81-126. [https://doi.org/0269-7572/89 \\$10](https://doi.org/0269-7572/89 $10)
3. Baker, J. M. (1981). Accumulators and Excluders Strategies in Response of Plants to Heavy Metals. *Journal of Plant Nutrition*. *Journal of Plant Nutrition*, 3, 643-654. <https://doi.org/10.1080/01904168109362867>.
4. Bosland, P. W. (2015). The History, Development, and Importance of the New Mexican Pod-Type Chile Pepper to the United States and World Food Industry. *Plant Breeding Reviews*, 39, 283-324. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9781119107743.ch6>
5. Brun, L. A., Maillet, J., & Hinsinger, P. (2017). Evaluation of copper availability to plants in copper-contaminated vineyard soils. *Environmental Pollution*, 111, 293-302. <https://doi.org/10.2134/jeq2003.0824>.
6. Castellon-Martinez, E., Chavez-Servia, J. L., Carrillo-Rodríguez, J. C., & Vera-Guzman, A. M. (2012). Consumption preferences of pepper (*Capsicum annum* L.) landraces in the central valleys of Oaxaca, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 35(5), 27-35.
7. Du, Y., Gao, B., Zhou, H., Ju, X., Hao, H., & Yin, S. (2013). Health risk assessment of heavy metals in road dusts in urban parks of Beijing, China. *Procedia Environmental Sciences*, 18, 299-309.
8. Delgadillo, L. A. E., Gonzalez, R. C. A., Prieto, G. F., Villagomez, I. J. R., & Acevedo, S. O. (2017). Fitorremediación: una alternativa para eliminar la contaminación. *Tropical and subtropical Agroecosistemas*, 14, 597-612.
9. Hallat, S. J., Castro, P. A., Burgos, D. P., & Lopez, N. R. (2017). Contenido de metales pesados en legumbres y hortalizas procedentes de huertos urbanos. V Jornadas de la Red Española de compostaje, 212-216.
10. Hosseini, S.M.; Kamranjam, M.; Brewer, R.; Rezazadeh, M.; Ghorbanli, M. (2018): Environmental risks posed by heavy metal contamination from mine waste: Case study from northwest Iran. In *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal* 24 (1), 1-18.
11. Lango, R. F., Castañeda, C. M., Landeros, S. C., Galaviz, V. I., Navarrete, R. G., & Soto, E. A. (2013). Cd, Cu, Hg and Pb, and organochlorines pesticides in commercially important benthic organisms' coastal lagoons SW Gulf of México. *Agricultural Sciences*, 1, 63-79. <https://doi.org/10.12735/as.v1i1p63>



12. Lopez-Carrillo, L., Avila, H. M., & Dubrow, R. (1994). Chili pepper consumption and gastric cancer in Mexico: A case-control study. *American Journal of Epidemiology*, 139(3), 263-271.
13. Medina-Marcos, K. D., & Montano-Chavez, Y. N. (2014). Determinación del Factor de Bioconcentración y Traslocación de metales pesados en el *Juncus arcticus* Willd. Y *Cortaderia rudiusscula* Stapf, de áreas contaminadas con el pasivo ambiental minero alianza -ANCASH 2013. Tesis de la Universidad Nacional Santiago Antunez de Mayolo. Huaraz-Ancash, Perú.
14. Olivares-Rieumont, S., Garcia-Cespedes, D., Lima-Cazorla, L., Saborit-Sanchez, I., Llizo-Casals, A., & Perez-Alvares, P. (2013). Cadmium, lead, copper and zinc levels in vegetables grown in a highly urbanized area in La Havana city, Cuba. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 29(4), 285-294.
15. Perez-Vargas, H. M., Vidal-Durango, J. V., & Marrugo-Negrete, J. L. (2014). Evaluation of the mercury accumulating capacity of pepper (*Capsicum annum*). *Revista de Salud Pública*, 16, 897-909.
16. Rattam, R., Datta, S., Chhonkar, P., Suribau, K., & Singh, A. (2015). Long-term impact of irrigation with sewage effluents on heavy metal content in soil, crops and groundwater- a case study. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 109, 310-322.
17. Rodriguez, A. M., Munis, U. O., Calero, M. B., Montero, A. A., Martinez, R. F., Limeres, J. T., Orphee, M. M., & Aguilar, A. M. (2012). Contenido de metales pesados en abonos orgánicos sustratos y plantas cultivadas en organopónicos. *Cultivos Tropicales*, 33, 5-12.
18. Ruiz, A., & Armienta, M. A. (2012). Acumulación de arsénico y metales pesados en maíz en suelos cercanos a Jales o residuos mineros. *Revista Internacional Ambiental*, 28, 103-117.
19. Santos-Santos, E., Yarto-Ramirez, M., Gavilan-Garcia, I., Castro-Díaz, J., Gavilan-Garcia, A., Rosiles, R., Suarez, S., & Lopez-Villegas, T. (2006). Analysis of Arsenic, Lead and Mercury in Farming Areas with Mining Contaminated Soils at Zacatecas, Mexico. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 50(2), 57-63.
20. Shahid, N., Zia, Z., Shahid, M., Faiq-Bakhat, H., Anwar, S., Mustafa-Shan, G., & Rizwan-Ashraf, M. (2015). Assessing Drinking Water Quality in Punjab, Pakistan. *Polish Journal of Environmental Studies*, 24(6), 2597-2606.
21. Sun, Z., Chen, J., Wang, X., & Lv, C. (2016). Heavy metal accumulation in native plants at a metallurgy waste site in rural areas of Northern China. *Ecological Engineering*, 86, 60-68. <https://doi.org/DOI: 10.1016/j.ecoleng.2015.10.023>.
22. USEPA-IRIS. (2011). Integrated Risk Information Service. <http://www.epa.gov/iris/>
23. Usman, K., Al-Ghouti, M. A., Abu-Dieyeh, M. H. (2019). The assessment of cadmium, chromium, copper, and nickel tolerance and bioaccumulation by shrub plant *Tetraena qataranse*. 9(5658), 1-11.

## **EFFECTO EN EL CONTENIDO DE ANTIOXIDANTES Y FLAVONOIDES EN LA LECHUGA (*Lactuca sativa* L. var. *Longifolia*) POR LA FERTILIZACIÓN CON EXTRACTO DE ALGA.**

Ana Patricia Juárez Rangel, María Myrna Solís Oba, José Agustín Pacheco Ortiz, Angelica Rodríguez Romero, Rigoberto Castro Rivera.

Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, Instituto Politécnico Nacional CIBA-IPN.  
[ing.biotec.rangel@outlook.es](mailto:ing.biotec.rangel@outlook.es)

### **RESUMEN**

La aplicación excesiva de fertilizantes a base de nitrógeno ha dado lugar a una cascada de problemas ambientales como el calentamiento global, la contaminación del aire, la degradación de la calidad del agua y la acidificación del suelo; además, la aplicación de fertilizantes inorgánicos sin la adición de enmiendas orgánicas, o el uso de prácticas alternativas puede resultar en el agotamiento de la materia orgánica del suelo, con efectos negativos en muchas propiedades del suelo, importantes para la productividad de los cultivos (Possinger et al., 2019). Una alternativa para mejorar y mantener la calidad del suelo, así como proporcionar una mejor calidad nutricional a los cultivos es la aplicación de fertilizantes orgánicos. Para su elaboración se utilizan residuos orgánicos que, si no se disponen adecuadamente causan problemas ambientales. Un ejemplo es el arribo masivo de algas marinas en las playas mexicanas, lo cual ocasiona varios problemas ambientales, económicos y de salud; la acumulación de estas provoca que ocurra su degradación anaeróbica y la liberación de compuestos no volátiles y volátiles, que pueden perjudicar la salud de las personas. Sin embargo, las algas marinas son plantas que pueden explorarse para su utilización en el sector agrícola. Varios estudios han comprobado los efectos benéficos de los extractos de algas marinas en los cultivos agrícolas (Nabti, et al., 2017). Por otro lado, la lechuga es de los productos más altamente consumidos en el mundo, y representa una fuente rica en antioxidantes y compuestos fenólicos que tienden a hacer frente al estrés oxidativo causado por las adversidades ambientales (Possinger et al., 2019).

En este trabajo se evaluó el efecto en el contenido de antioxidantes y flavonoides en el cultivo de lechuga, con la aplicación de un fertilizante orgánico comercial elaborado a base de extracto de alga. La aplicación se llevó a cabo a concentraciones de 0, 2.5, 5, 7.5, 10 y 20% aplicado semanal y quincenalmente, y se compararon con la aplicación de urea a 80 kg N/ha. El cultivo se mantuvo en invernadero, a los 60 días se midió el contenido de antioxidantes de acuerdo con el método del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH), y flavonoides según la metodología de Solís-Oba et al., (2020). Los resultados muestran que la aplicación de extracto de alga incrementó el contenido de antioxidantes y flavonoides en comparación con la urea. El contenido de antioxidantes medido como DPPH se vio mayormente favorecido a concentraciones del extracto de alga a 2.5, 5 y 7.5%, la frecuencia de aplicación no afectó este parámetro. En el caso de los flavonoides a una concentración de 2.5% de extracto de alga se obtuvo el mayor contenido de flavonoides, seguido de una aplicación de 5 y 7.5%, en este caso la aplicación de extracto de alga quincenalmente tuvo un efecto significativamente mayor que la aplicación semanal en el contenido de flavonoides. El extracto de las algas marinas mejora la calidad nutrimental de la lechuga, promoviendo un mayor contenido de antioxidantes y flavonoides en comparación con la fertilización convencional como es el caso de la urea.

### **INTRODUCCIÓN**

La lechuga es altamente consumida en el mundo y representa una fuente rica en fibra y antioxidantes, una gran variedad de estudios han demostrado que el consumo de lechuga diario favorece la salud humana y reduce el riesgo de padecer enfermedades crónicas, esto gracias a su composición de aminoácidos, carbohidratos, lípidos, nucleótidos, minerales, compuesto fenólicos, terpenoides y un sin número de componentes bioactivos fitoquímicos (Yang et al., 2018), que le brindan propiedades antiinflamatorias y antioxidantes (Adesso et al., 2016). El gran contenido de sustancias bioactivas se ve afectado por varios factores ambientales, como luz excesiva y UV, temperatura extrema, déficit hídrico, composición mineral del suelo, enfermedades y condiciones climáticas; así como prácticas agronómicas, tales como los planes de fertilización, el manejo del

suelo y las técnicas de cultivo, pueden causar cambios cuantitativos y cualitativos en dichos compuestos (Adesso et al., 2016).

Generalmente el cultivo de lechuga se lleva a cabo mediante fertilización mineral, peor se sabe que uno de excesivo de dichos fertilizantes afecta de manera negativa al suelo; por ello, en los últimos años la demanda de productos más ecológicos ha aumentado considerablemente, ya que se sabe que los fertilizantes orgánicos mejoran las propiedades tanto del suelo como de los cultivos (Hirzel et al., 2018). Los fertilizantes orgánicos comprenden una gran variedad de materiales que van desde material vegetal fresco o seco hasta residuos de animales y/o subproductos agrícolas. Otra gran ventaja de los fertilizantes orgánicos que se ha encontrado en estudios realizados los últimos 15 años, es que los alimentos cultivados orgánicamente tienen características nutricionales mejores que los alimentos producidos convencionalmente, como es un incremento en vitamina C, antioxidantes totales y ácidos grasos omega-3 totales (Reganold & Wachter, 2016).

Para elaborar los fertilizantes orgánicos se pueden utilizar residuos agroindustriales, residuos ganaderos e incluso otros materiales cuya acumulación puede ser perjudicial, un ejemplo es el sargazo. En los últimos años, particularmente desde el 2015, a lo largo de las costas de Yucatán han arribado macroalgas del género *Sargassum* (Rosado et al. 2020), esta acumulación excesiva de algas marinas en las playas es causada por el efecto de la eutrofización y trae consecuencias negativas tanto económicas como en los ecosistemas marinos, incluida la estructura cambiante del ecosistema y la disminución de la biodiversidad (Zhang et al. 2019). Sin embargo, el sargazo puede explorarse para su utilización en el sector agrícola. Varios estudios han comprobado los efectos benéficos de los extractos de algas marinas en las plantas, por sus diferentes compuestos bioactivos siendo ricos en minerales, vitaminas, metabolitos secundarios, reguladores de crecimiento, aminoácidos, fenoles, terpenos (Nabti, et al., 2017). La gran cantidad de compuestos sirven como bioestimulantes que influyen tanto en el crecimiento como en las características nutricionales de los cultivos.

## PARTE EXPERIMENTAL

Se utilizaron plántulas de lechuga (*Lactuca sativa L. var. Longifolia*) de 6 a 8 cm de altura, las cuales se trasplantaron en macetas de plástico con 3 kg de suelo mezclado con 7% de vermicomposta comercial. El extracto del alga comercial, con características mostradas en la Tabla 1, se agregó a concentraciones de 0, 2.5, 5, 7.5, 10 y 20%, combinadas con 2 frecuencias de aplicación: semanal y quincenalmente. Los tratamientos se compararon con una fertilización convencional de urea a 80 kg N/ha equivalente a 1.9 g de urea por maceta, única aplicación en la tercera semana después del trasplante. Para la evaluación de los tratamientos de fertilización se consideraron 5 réplicas por tratamiento, con un diseño completamente al azar. El experimento se realizó en los meses Agosto-octubre del 2020, bajo invernadero.

### Extracción de antioxidantes y flavonoides

Para la extracción de los antioxidantes y flavonoides se ocuparon 15mL de metanol al 80%, y se le agregaron 5 g de hoja de lechuga triturada, por tratamiento. La mezcla se dejó una hora en agitación, posteriormente se centrifugo a 15,000 rpm por 15 min.

### Contenido de antioxidantes

Para determinar el contenido de antioxidantes se utilizó el reactivo 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma-Aldrich). En microplaca de 96 pozos, se mezclaron 180  $\mu$ L de 0.06 mM de DPPH con 20  $\mu$ L del extracto diluido 1:1, se agito durante 1 minuto y posteriormente dejo reposar durante 1 hora a temperatura ambiente (Mahlangu, 2016). La absorbancia se midió a 515 nm en un espectrofotómetro digital ultravioleta (Thermo scientific-multiskan go). Se realizo una curva de calibración con una solución (1 mg/mL) de Trolox (Sigma-Aldrich). Los resultados se expresaron en  $\mu$ g de equivalente de Trolox por g de lechuga.

### Contenido de flavonoides

El contenido de flavonoides se determinó siguiendo la metodología de Solís-Oba et al (2020); se mezclaron 100  $\mu\text{L}$  del extracto con 1.25 mL de agua, 75  $\mu\text{L}$  de  $\text{NaNO}_2$  al 5%, la mezcla estuvo durante 6 minutos a temperatura ambiente, y luego se añadieron 150  $\mu\text{L}$  de  $\text{AlCl}_3$  al 10%; después de 5 min se añadieron 500  $\mu\text{L}$  de  $\text{NaOH}$  1M. La reacción fue medida a una longitud de onda de 510 nm en un espectrofotómetro digital ultravioleta (Thermo scientific-multiskan go). Se utilizó una solución de quercetina a una concentración de 1mg/mL para realizar la curva de calibración, los resultados fueron expresados en  $\mu\text{g}$  equivalentes de quercetina por gramo de lechuga.

### Análisis estadístico

Los resultados se analizaron mediante el sistema SAS 9.0 con una prueba de Anova de una vía con una comparación de medias múltiple (Tukey) con un nivel de significancia de  $p < 0.5$ . Las gráficas se realizaron en el programa OriginPro2019.

### RESULTADOS

Las lechugas que fueron sometidas a las concentraciones más bajas de fertilizante orgánico (Nutrkam) lograron una mayor actividad antioxidante y contenido de flavonoides. El contenido de antioxidante mejoró significativamente con la aplicación de extracto de alga en comparación con la fertilización con urea. En los tratamientos con 2.5, 5 y 7.5% de extracto del alga, aplicado quincenalmente se obtuvo el mayor contenido de antioxidantes: 336.60, 334.85 y 336.10  $\mu\text{g/g}$  de peso fresco (FW), equivalentes de Trolox respectivamente, siendo significativamente mayores que el control, sin fertilizar.

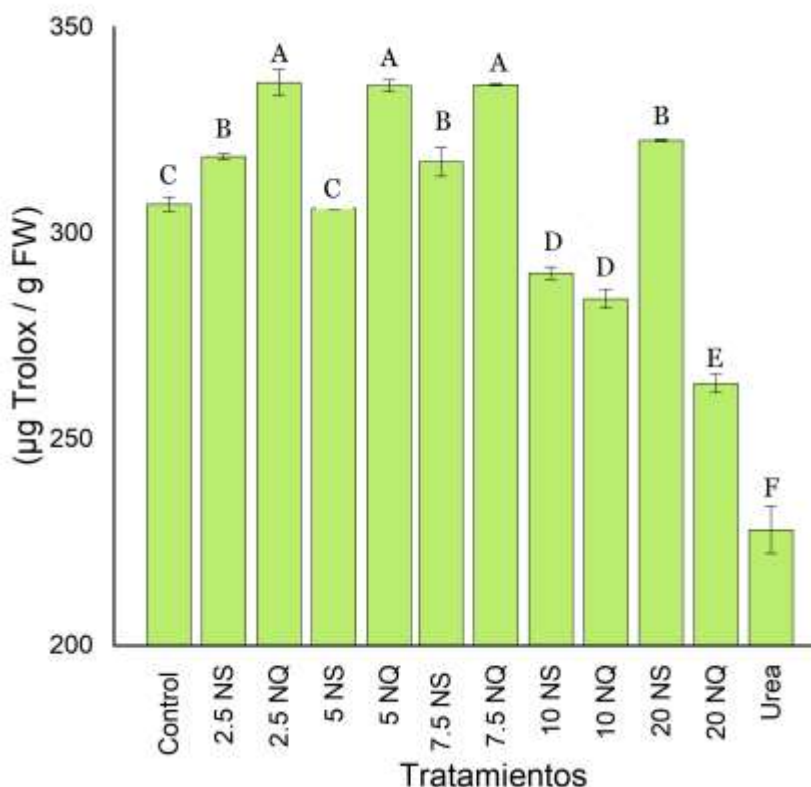


Figura 1. Contenido de antioxidantes, tratamientos aplicados semanalmente (NS) y quincenalmente (NQ). Los valores seguidos de la misma letra indican que no hay diferencias significativas (Tukey,  $p < 0,05$ ).

La aplicación de NutrKam cada 15 días produjo mayores concentraciones de flavonoides que aplicado quincenalmente y en caso del DPPH, no hubo efecto por la frecuencia de fertilización. El extracto de alga también tuvo efecto en el contenido total de flavonoides donde la mayoría de los tratamientos fueron significativamente superiores al tratamiento con urea, a excepción de los tratamientos al 10% y 20% aplicados quincenalmente.

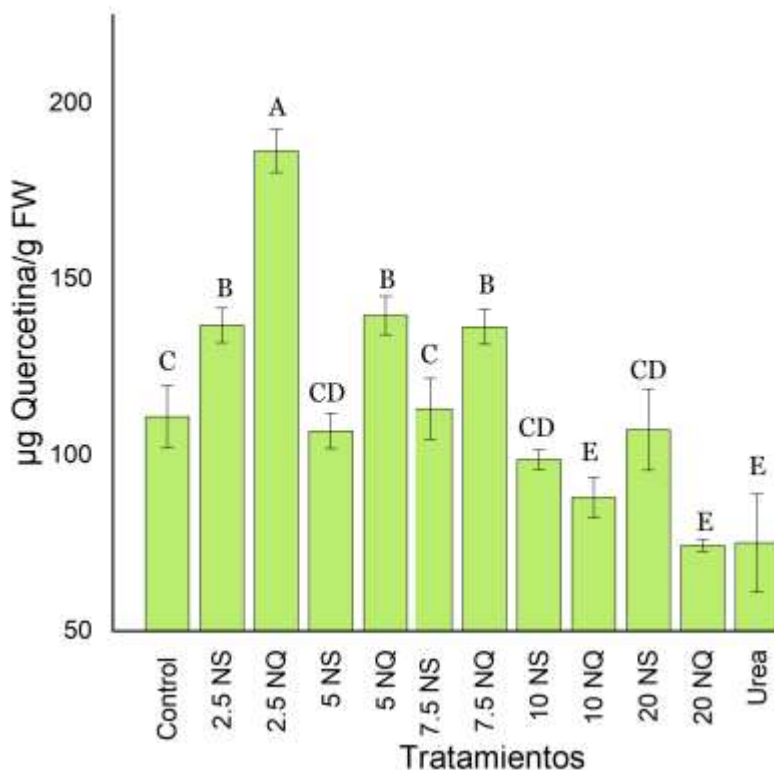


Figura 2. Contenido de flavonoides, tratamientos aplicados semanalmente (NS) y quincenalmente (NQ). Los valores seguidos de la misma letra indican que no hay diferencias significativas (Tukey,  $p < 0,05$ ).

## CONCLUSIONES

El extracto de las algas marinas mejora la calidad nutricional de la lechuga, promoviendo un mayor contenido de antioxidantes y flavonoides en comparación con la fertilización convencional como es el caso de la urea. Una aplicación quincenal, junto con concentraciones bajas entre 2.5 y 7.5% logran un efecto significativo, en comparación al control, sin fertilizar.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Possinger, Angela R., and José A. Amador. 2016. "Preliminary Evaluation of Seaweed Application Effects on Soil Quality and Yield of Sweet Corn (*Zea Mays* L.)." *Communications in Soil Science and Plant Analysis* Vol. 47(1) pp. 121–35
2. Adesso, S., Pepe, G., Sommella, E., Manfra, M., Scopa, A., Sofo, A., Marzocco, S. (2016). Anti-inflammatory and antioxidant activity of polyphenolic extracts from *Lactuca sativa* (var. Maravilla de Verano) under different farming methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(12), 4194–4206. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7622>
3. Hirzel, J., Donnay, D., Fernández, C., Meier, S., Lagos, O., Mejias-Barrera, P., & Rodríguez, F. (2018). Evolution of nutrients and soil chemical properties of seven organic fertilizers in two contrasting soils under controlled conditions. *Chilean Journal of Agricultural and Animal Sciences*, 34(2), 77–88. <https://doi.org/10.4067/S0719-38902018005000301>

4. Nabti, E., Jha, B., & Hartmann, A. (2017). Impact of seaweeds on agricultural crop production as biofertilizer. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 14(5), 1119–1134. <https://doi.org/10.1007/s13762-016-1202-1>
5. Reganold, J. P., & Wachter, J. M. (2016). Organic agriculture in the twenty-first century. *Nature Publishing Group*, 2(February), 1–8. <https://doi.org/10.1038/nplants.2015.221>
6. Rosado-Espinosa, Luis Alberto, Yolanda Freile-Pelegrín, Emanuel Hernández-Nuñez, and Daniel Robledo. 2020. “A Comparative Study of Sargassum Species from the Yucatan Peninsula Coast: Morphological and Chemical Characterisation.” *Phycologia* 59(3): 261–71. <https://doi.org/10.1080/00318884.2020.1738194>
7. Solís-Oba, A., Hernández-Rivadeneira, J. I., Castro-Rivera, R., Manjarrez, N., & Solís-Oba, M. (2020). Effect of composts produced from vegetable waste and/or manure on lettuce crop and their antioxidants content. *Mexican Journal of Biotechnology*, 5(2), 86–105. <https://doi.org/10.29267/mxjb.2020.5.2.86>
8. Yang, X., Wei, S., Liu, B., Guo, D., Zheng, B., Tomás-barberán, F. A., Huang, D. (2018). A novel integrated non-targeted metabolomic analysis reveals significant metabolite variations between different lettuce (*Lactuca sativa* L.) varieties. *Horticulture Research*, 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41438-018-0050->
9. Zhang, Jianheng et al. 2019. “An Increase in New Sargassum (Phaeophyceae) Blooms along the Coast of the East China Sea and Yellow Sea.” *Phycologia* 58(4): 374–81. <https://doi.org/10.1080/00318884.2019.1585722>.

## SUSCEPTIBILIDAD DE *COLLETOTRICHUM SPP.* A QUITOSANO DE BAJO PESO MOLECULAR

Griselda Valenzuela Ortiz<sup>1</sup>, Soila Gaxiola Camacho<sup>1</sup>, Miguel Ángel Martínez Téllez<sup>2</sup>, Eber Addi Quintana Obregón<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma de Sinaloa/Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, <sup>2</sup>Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.,

[griseval1993@gmail.com](mailto:griseval1993@gmail.com)

### RESUMEN

El género *Colletotrichum* es el causante de un grupo de enfermedades conocidas como antracnosis, las cuales pueden manifestarse tanto en la planta como en los frutos. El fruto sufre daños desde su formación y desarrollo (precosecha) y hasta la poscosecha por este fitopatógeno. La principal forma de reducir las pérdidas en pre y poscosecha causadas por este fitopatógeno es el uso de fungicidas. Sin embargo, los productores usan indiscriminadamente los fungicidas teniendo como consecuencias contaminación ambiental, altos costos, abandono total del cultivo, la resistencia de microorganismos patógenos, riesgos a la salud ocasionados por residuos tóxicos, etc. Por ello, existe la necesidad del control de éste tipo de fitopatógeno con alternativas amigables con el medio ambiente, entre ellas el quitosano. El quitosano es un aminopolisacárido de origen natural, no tóxico y biodegradable. El cual, posee propiedades biológicas importantes, entre ellas su actividad como fungicida. El objetivo de esta investigación fue evaluar la susceptibilidad de especies de *Colletotrichum* a quitosano de bajo peso molecular. Las cepas utilizadas en esta investigación son *C. siamense* aislado del cultivar Tommy Atkins en Tepic, Nayarit (334), *C. siamense* aislado del cultivar Tommy Atkins en Nueva Italia, Michoacán (316) y *C. asianum* aislado del cultivar Manila en Tierra Blanca Veracruz (310). La susceptibilidad del quitosano sobre el crecimiento radial del hongo se evaluó en medio PDA y quitosano al 1%, como controles se utilizaron PDA y ácido láctico, se determinó la biomasa en el último día de crecimiento radial de cada especie. El análisis de resultados se llevó a cabo mediante un Análisis de Varianza (ANDEVA) y la prueba de Tukey con el software JMP versión 2005; las cepas mostraron inhibición al quitosano al 1%. La cepa 334 y 310 mostraron diferencias mínimas significativas entre el PDA ( $0.034978 \pm 0.002377$  y  $0.016611 \pm 0.000853$ ) y quitosano al 1% ( $0.008276 \pm 0.000900$  y  $0.008401 \pm 0.000024$ ) en biomasa (mg/mm<sup>2</sup>), en el tiempo (h) 120 y 216, respectivamente, mientras la cepa 316 no mostró diferencias mínimas significativas entre el ácido láctico ( $0.016152 \pm 0.000465$ ) y el quitosano al 1% ( $0.020200 \pm 0.004529$ ), pero sí mostró diferencias mínimas significativas con respecto al PDA ( $0.044084 \pm 0.004617$ ) en biomasa (mg/mm<sup>2</sup>), en el tiempo (h) 168. En base a los resultados obtenidos mediante el análisis estadístico se concluyó que el quitosano inhiben el crecimiento de *Colletotrichum spp.* por lo tanto, existen cepas susceptibles al quitosano, el cual puede ser considerado para evaluarse como una alternativa amigable con el medio ambiente en el control de antracnosis.

### INTRODUCCIÓN

*Colletotrichum* es un fitopatógeno que comprende más de 100 especies responsables de causar antracnosis en regiones tropicales y subtropicales (!!! INVALID CITATION !!!).

Actualmente existen diferentes alternativas para el control de *Colletotrichum spp.* entre las más comunes encontramos los plaguicidas, los cuales, causan resistencia en los hongos patógenos, por este motivo existen diferentes métodos para el control de este tipo de fitopatógenos en pre y poscosecha. Entre los métodos de control se encuentra ozono, luz ultravioleta (Cia et al., 2009), tratamientos hidrotérmico, atmosferas modificadas, aire caliente (Gutiérrez-Alonso, Gutiérrez-Alonso, Nieto-Angel, Téliz-Ortiz, & Zavaleta-Mejía, 2004; Karabulut & Baykal, 2004; Ragazzo-Sánchez et al., 2015), agentes de control biológico (Vos, Yang, Coninck, & Cammue, 2014) y extractos de plantas (Bautista-Baños, Hernández-López, Bosquez-Molina, & Wilson, 2003).

En los últimos años, se ha extendido el uso y aceptación de productos naturales para remplazar materiales que se generan artificial o sintéticamente. Por este motivo ha surgido el interés en la investigación por utilizar polisacáridos, extractos de plantas, aceites esenciales, etc. Como respuesta, una alternativa a la aplicación de productos químicos sintéticos para el control de

microorganismos que perjudican al sector agrícola es la aplicación de biorracionales. Los biorracionales son definidos como productos o sustancias generados por plantas, minerales o microorganismos, que son biodegradables y pueden ser específicos para el control del microorganismo de interés (O'Farrill, 2008).

Respecto al uso de polisacáridos con propiedades antifúngico, Bautista-Baños et al., 2003 encontraron que los extractos de semilla de papaya, solo y mezclado con quitosano para el control de *Colletotrichum* en papaya en poscosecha, el quitosano inhibió el crecimiento micelial a concentraciones entre 2.5 y 3%. Demostrando que a una concentración de 1.5% de quitosano, la severidad fue de 1%. Lo cual demuestra que el quitosano tiene propiedades antifúngica en contra de fitopatógenos que pertenecen al reino fúngico, esta actividad antifúngica es atribuida a las cargas policatiónicas del quitosano las cuales interactúan con las cargas negativas que poseen las paredes celulares de los hongos inhibiendo o desactivando la germinación de esporas (Everett, 2005 #12). La necesidad de controlar las enfermedades pos y precosecha es lo que ha permitido desarrollar nuevas investigaciones que contribuyan al éxito de la agricultura sustentable. El desarrollo de nuevas alternativas tiene como objetivo disminuir la aplicación de productos químicos para el control de fitopatógenos. Además, tiene como finalidad de desarrollar un sistema de producción, que beneficie al productor y obtener productos de calidad para el consumidor, sin impactar de forma perjudicial al medio ambiente (Landeró-Valenzuela, 2017 #38). El objetivo de esta investigación fue evaluar la susceptibilidad de especies de *Colletotrichum* a quitosano de bajo peso molecular.

## TEORÍA

### *Colletotrichum*

*Colletotrichum* es un género de hongos patógenos que ocasiona enfermedades como antracnosis en diferentes hospedantes; se manifiesta en lesiones semicirculares con hundimientos en forma de anillos concéntricos (Hyde, 2009 #67). A nivel mundial se reporta la antracnosis en frutas, hortalizas, cereales, plantas herbáceas, maderables y ornamentales, entre otras; sobre todo en zonas templadas y tropicales (Manamgoda, 2013 #69).

*Colletotrichum* incluye más de 100 especies responsables de antracnosis en casi todos los cultivos, como por ejemplo *C. gloeosporioides*, *C. truncatum*, *C. graminicola*, *C. boninense*, entre otras (Crouch, 2014 #6). Debido a su importancia científica y económica, las especies de *Colletotrichum* ocuparon el octavo lugar en la clasificación mundial de patógenos de plantas (Damm, 2012 #68).

La antracnosis genera pérdidas importantes en pre y poscosecha ya que ocasionan una reducción en la calidad y cantidad de diversos cultivos. Las pérdidas pueden llegar hasta el 100 % dependiendo del patógeno y las condiciones climáticas (Landeró-Valenzuela, 2017 #38); por ejemplo, en el cultivo intensivo de papaya bajo manejo de fungicidas, la prevalencia de antracnosis en campo y en poscosecha ha provocado pérdidas superiores al 50 % (Rojo-Báez, 2017).

### Quitosano

El quitosano es un amino-polisacárido natural, producto de la N-desacetilación termoalcalina de la quitina aislada principalmente de desechos de crustáceos. El quitosano define a una familia de heteropolisacáridos lineales que están formados por 2-amino-2-desoxi- $\beta$ -D-glucopiranosas (unidades D) y 2-acetamida-2-desoxi- $\beta$ -D-glucopiranosas (unidades A) unidos por enlaces  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4). Las unidades A están en menor proporción que las del tipo D. la relación molar que existe entre las unidades A frente al total (A+B), se le conoce como el grado de acetilación (GA), o como una fracción ( $F_A$ ) (Niurka, 2005 #11). El GA determina las propiedades fisicoquímicas y biológicas del quitosano. Este copolímero catiónico se caracteriza por su elevado número de grupos aminos bautista baños 2004. (Bautista-Baños, 2004 #40)

El quitosano es polieléctrolito catiónico con una pKa de 6.5, debido a que este polisacárido tiene en su estructura grupos amino con carga positiva, esto le confiere propiedades particulares. La modificación química del quitosano es facilitada a la presencia de grupos amino e hidroxilo en la estructura de la molécula. La funcionalidad del quitosano depende de sus propiedades fisicoquímicas, y varían dependiendo de la fuente y el método de obtención de la quitina, del método y las condiciones de desacetilación, etc. (Bautista-Baños, 2005 #14) Las propiedades fisicoquímicas del quitosano son el grado de desacetilación, viscosidad, peso molecular y solubilidad, estas propiedades fisicoquímicas están estrechamente relacionadas entre ellas (Bautista-Baños, 2017 #16).



## PARTE EXPERIMENTAL

### Cepas

Las cepas utilizadas en esta investigación (Tabla 1) fueron proporcionadas por el Dr. J. M. Tovar Pedraza del Laboratorio de Fitopatología, Coordinación Culiacán, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Culiacán, 80110 Sinaloa, México. Para la reactivación de los aislados, se preparó una siembra por picadura en el centro de la placa Petri con agar papa dextrosa (PDA) y se incubó durante 10 días a 25°C.

Tabla 1. Información de las cepas de *Colletotrichum*

Clave del aislado	Especie	Origen	Cultivar
310	<i>C. asianum</i>	Tierra Blanca, Veracruz	Manila
316	<i>C. siamense</i>	Nueva Italia, Michoacán	Tommy Atkins
334	<i>C. siamense</i>	Cuajinicuilapa, Guerrero	Tommy Atkins

### Susceptibilidad

Se preparó una solución de quitosano (Fluka BioChemika, Japón) de bajo peso molecular (PM) en ácido láctico 0,05 M con pH 5,6, con agitación a 25°C hasta disolver completamente y se esterilizaron a 121°C durante 15 minutos. Posteriormente, se prepararon medios de cultivo con agar papa dextrosa (PDA) acidificado con ácido láctico 0,05 M estéril mezclado con quitosano y se obtuvo una solución de 1 g/L de quitosano de bajo PM y control acidificado con ácido láctico 0,05 M (medio PDA sin quitosano) y PDA. Se vaciaron 20 mL de medio de cultivo en caja Petri. Con un asa de argolla se realizó una siembra por picadura en el centro de la placa Petri. Se incubó a 25°C y se midió manualmente dos diámetros de la colonia cada 24 horas por placa. Se calculó velocidad de crecimiento radial ( $\mu\text{h}^{-1}$ ) de la fase log. El ensayo se realizó por triplicado (Plascencia-jatomea, 2003 #19).

### Densidad micelial máxima en placa

En vaso de precipitado de vidrio con capacidad de 300 mL, se adicionó 100 mL de agua destilada, la cual se puso en ebullición, posteriormente se adiciono el medio de cultivo con el inculo, el cual fue incubado con anterioridad hasta alcanzar un crecimiento máximo del 85 al 90% de la caja Petri. Se dejó en ebullición por 3 min y se repitió el primer paso tres veces hasta disolver por completo el medio de cultivo, posteriormente se colocó el micelio obtenido en tubos de centrifuga de 50 mL a peso constante previamente pesados. Se centrifugo a 5000 rpm por 5 min, se desechó el sobrenadante, se secó en una estufa a 70°C durante 24 horas posteriormente se registró el peso. Una vez obtenidos estos datos, se estimó la densidad micelial máxima en placa (DMP) (microgramos/mm<sup>2</sup>) para cada uno de los tratamientos utilizando la fórmula:

$$\text{DMP} = ((\text{peso del tubo con el micelio} - \text{peso del tubo sin micelio}) / (\text{Área}))$$

El área se determinó a partir de la última medición que alcanzo la cepa (crecimiento máximo del 85 al 90% de la caja Petri).

### Análisis estadístico

Los datos obtenidos se analizaron a través de un Análisis de Varianza (ANDEVA) y la prueba de Tukey en el software JMP versión 2005.

## RESULTADOS

En la figura 1 se puede observar la fase log señalada con líneas punteadas, para poder identificar la fase log se aplicó el  $\text{Ln}(\text{radio (mm)})$ , esta fase se utilizó para determinar la velocidad de crecimiento radial ( $\mu\text{h}^{-1}$ ), tomando los valores que comprenden esta fase logarítmica en un determinado tiempo. También se puede observar que la fase log es diferente para cada cepa (334, 316 y 310) y para cada control (PDA y ácido láctico) de cada cepa.

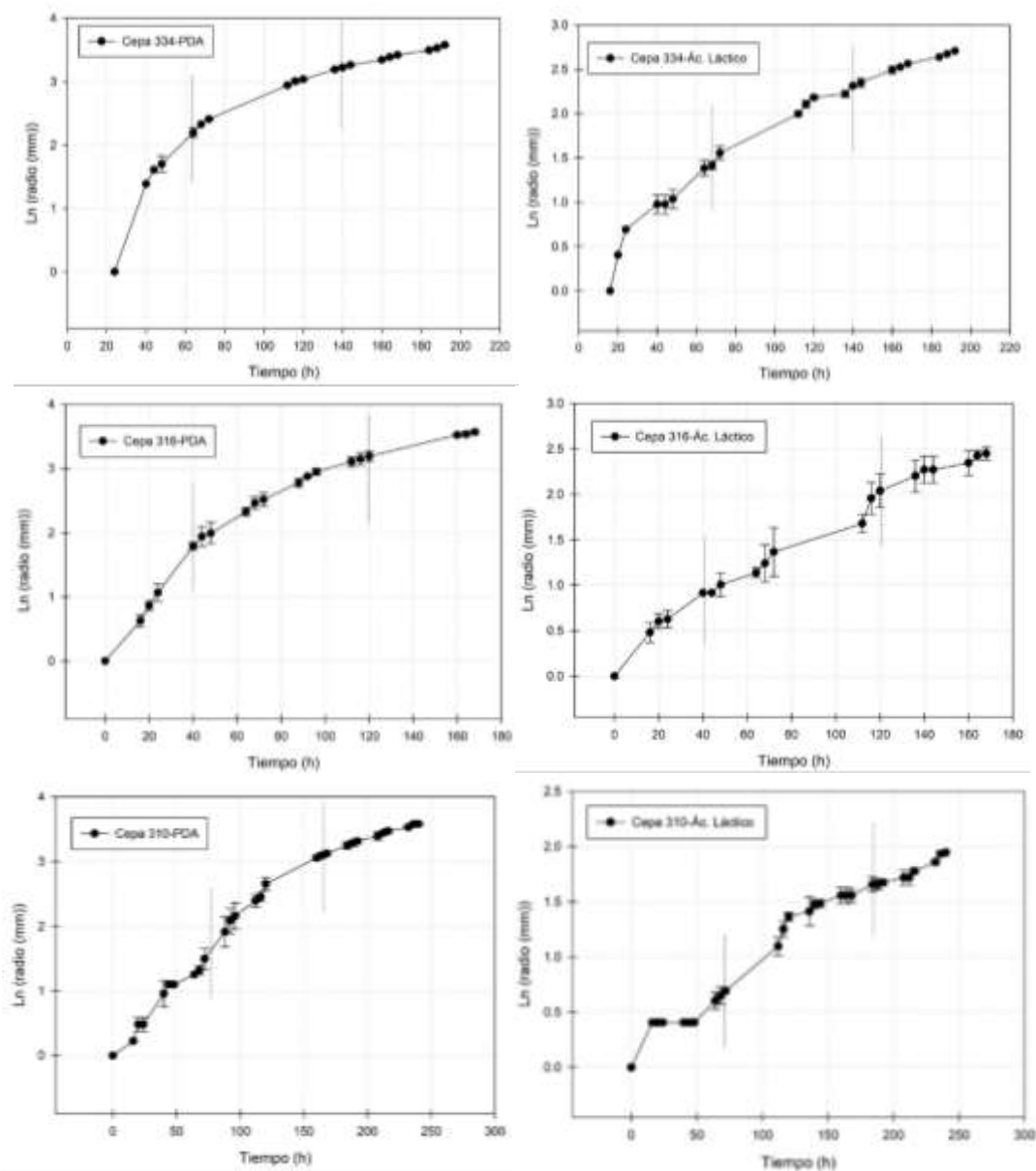


Figura 1. Ln (radio (mm)) con respecto al tiempo (h) para controles PDA y ácido láctico para las cepas 334, 316 y 310 indicando la fase log con líneas punteadas

El crecimiento radial (mm) de las cepas 334, 316 y 310 se puede observar en la figura 2. En la figura 2A se muestran los resultados del crecimiento radial de la cepa de *C. siamense* (334) para quitosano (1 g/L) y sus respectivos controles (PDA y ácido láctico). Se puede observar que el quitosano reduce el crecimiento radial para esta especie (*C. siamense*), comparándolo con el control PDA y ácido láctico. El efecto inhibitorio en el crecimiento radial de la cepa 334 fue mayor en el quitosano que el del ácido láctico, por lo tanto, se puede descartar que el efecto inhibitorio fuese causado por el ácido láctico. Este comportamiento se puede observar en las cepas 310 (Figura 2C) (*C. asianum*). La actividad antifúngica del quitosano es atribuida a su carácter policatiónicas que le permite unirse a moléculas cargadas negativamente tales como ácidos nucleicos, proteínas o fosfolípidos, etc. afectando el crecimiento micelial y provocando daño a nivel de la membrana plasmática afectando

principalmente la germinación de esporas (Pedroso, Jatomea, Baños, Rocha, & Arrebato, 2016; Pérez-Legaspi et al., 2015; Ragazzo-Sánchez et al., 2015). La actividad antifúngica y el mecanismo de acción del quitosano están relacionados con la interacción de sus grupos amino libres que están cargados positivamente en medio ácido, con las macromoléculas expuestas en la pared celular del hongo. Este carácter inhibitorio también se relaciona con la inhibición de algunas síntesis enzimáticas (peroxidasa, quitinasa, poligalacturonasa, etc.), las cuales están presentes en los hongos (Rincón, 2006 #18; Varela, 2015 #17). Algunos autores reportan que el quitosano inhibe el crecimiento micelial en diferentes aislados de *Colletotrichum* obtenidas de diferentes fuentes, pero esto dependerá de la concentración del quitosano (Gutiérrez-Martínez, Bautista-Baños, Berúmen-Varela, Ramos-Guerrero, & Hernández-Ibañez, 2017).

En la figura 2A y 2B que muestran el crecimiento radial de las cepas 334 (*C. siamense*) y 316 (*C. siamense*) se puede observar con claridad que el ácido láctico favorece el crecimiento de *C. siamense* con respecto al PDA. Autores reportan el uso de ácido láctico para inhibir la germinación de esporas durante la incubación *C. gloeosporioides* (Ferreira, Abreu, Pereira, Fernandes, & Pereira, 2009).

En la figura 2B se puede observar el comportamiento de la cepa 316 (*C. siamense*), el crecimiento radial para esta cepa tiene el mismo comportamiento tanto para el control PDA, así como para el quitosano (1 g/L), esto indica que la cepa tiene una capacidad de adaptación de crecimiento mayor con respecto a las otras cepas (334 y 310), siendo más resistente al estrés por compuestos como el quitosano. En estudios previos se ha comprobado que algunas especies como *C. fragariae* y *C. acutatum* han mostrado resistencia a compuestos químicos sintéticos como el benomilo y tiabendazol. Esta resistencia ha sido provocada por el uso continuo de fungicidas para el control de fitopatógenos (Tanaka et al., 2007).

Los resultados de la densidad micelial máxima en placa (microgramos/mm<sup>2</sup>) y velocidad de crecimiento radial ( $\mu\text{h}^{-1}$ ) de la fase log se pueden observar en la tabla 2. Se puede observar que el quitosano inhibió significativamente la velocidad de crecimiento radial para las tres cepas (334, 316 y 310), esta reducción de la velocidad de crecimiento radial en la fase log nos indica que esta reduciendo la tasa de crecimiento como un efecto fungistático (inhibe o impide la actividad del hongo). Por lo tanto, no se observa una defensa del microorganismo. se puede observar que existe una reducción significativa de la densidad micelial máxima en placa para la cepa 334 en el quitosano (1 g/L), de manera que, el quitosano está generando un efecto fungistático en donde está inhibiendo el desarrollo radial que correspondería al micelio vegetativo, así como, también inhibe el micelio aéreo que representa la estructura reproductora del hongo, este efecto es más evidente en la cepa 334 comparada con las cepas 316 y 310, en las cuales, no hay diferencia mínimas significativas entre el control PDA-láctico y el quitosano. Sin embargo, si hay un efecto mínimo significativo entre los controles. De forma que, está produciendo más micelio vegetativo con respecto al control PDA-láctico.

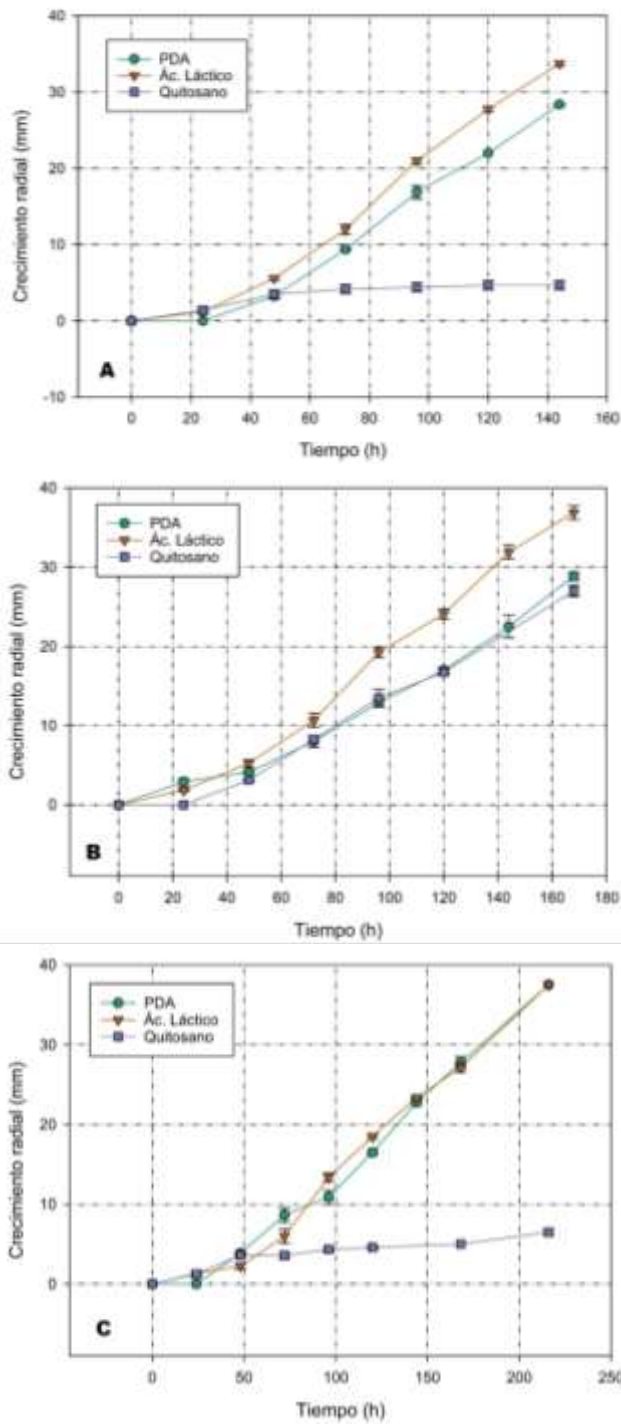


Figura 2. Crecimiento radial (mm): cepa 334 (A); cepa 316 (B); cepa 310 (C)

Tabla 2. Densidad micelial máxima en placa y velocidad de crecimiento radial de la fase log de especies de *Colletotrichum*

Cepa/Tiempo* (h)	Tratamiento	Densidad micelial máxima en placa (microgramos/mm <sup>2</sup> )	Velocidad de crecimiento radial (μh <sup>-1</sup> ) de la fase log
334/120	PDA	34.98±2.38 <sup>A</sup>	236.13±12 <sup>A</sup>
	PDA-LÁCTICO	25.90±1.88 <sup>B</sup>	255±18 <sup>A</sup>
	QUITOSANO	8.28±0.90 <sup>C</sup>	10.4±0 <sup>B</sup>
316/168	PDA	44.08±4.62 <sup>A</sup>	223±4 <sup>A</sup>
	PDA-LÁCTICO	16.15±0.46 <sup>B</sup>	234±25 <sup>A</sup>
	QUITOSANO	20.20±4.53 <sup>B</sup>	14±0 <sup>B</sup>
310/216	PDA	16.61±0.85 <sup>A</sup>	222±5 <sup>A</sup>
	PDA-LÁCTICO	13.97±3.15 <sup>B</sup>	198±2 <sup>B</sup>
	QUITOSANO	10.22±1.99 <sup>B</sup>	14±1 <sup>C</sup>

- Tiempo de cobertura micelial del 90% de la superficie de la placa de Petri.
- Letras superíndices indican grupos estadísticos por Cepa/Tiempo.
- Cepa *C. siamense* (334); *C. siamense* (316); *C. asianum* (310)
- Concentración de quitosano 1g/L

## CONCLUSIONES

El quitosano inhibió el crecimiento radial, la velocidad de crecimiento radial y densidad micelial máxima en placa que corresponden o se pueden relacionarse con el micelio vegetativo y aéreo de *Colletotrichum siamense* y *Colletotrichum asianum* sin observar una respuesta o defensa del microorganismo, por consiguiente, esta inhibición puede atribuirse al efecto fungistático provocado por el quitosano. De forma que, el quitosano puede ser estudiado para el control de fitopatógeno en el control de antracnosis.

### Agradecimientos

Se agradece al CONACYT por la beca otorgada al primer autor MC Griselda Valenzuela Ortiz. Este estudio forma parte del proyecto A1-S-34064-"Respuestas transcriptómicas de complejos de *Colletotrichum* expuestos a nanopartículas de quitosano en un modelo in vitro" del Fondo sectorial SEP-CONACYT de investigación 2017-2018.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Bautista-Baños, S., Hernández-López, M., Bosquez-Molina, E., & Wilson, C. L. (2003). Effects of chitosan and plant extracts on growth of *Colletotrichum gloeosporioides*, anthracnose levels and quality of papaya fruit. *Crop Protection*, 22(9), 1087-1092. doi:10.1016/s0261-2194(03)00117-0
2. Cia, P., Benato, E. A., Regina, S., Valentini, D. E. T., Delgado de Almeida, V., Scolfaro, F., . . . Monteiro, M. (2009). Ultraviolet radiation (UV-C) on the postharvest control of *Colletotrichum gloeosporioides* in 'Niagara rosada' grapes. *Bragantia, Campinas*, 68(4), 1009-1015.
3. Ferreira, J. B., Abreu, M. S. D., Pereira, I. S., Fernandes, K. D., & Pereira, R. B. (2009). Sensibility of *Colletotrichum gloeosporioides* (coffee blister spot) to different fungicide concentrations. *Ciênc. agrotec.*, 33, 2052-2058.
4. Gutiérrez-Alonso, J. G., Gutiérrez-Alonso, O., Nieto-Angel, D., Téliz-Ortiz, D., & Zavaleta-Mejía, E. (2004). Manejo Integrado de la Antracnosis [*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc.] del Mango (*Mangifera indica* L.) durante la Postcosecha. *Fitopatología*, 22(3), 395-402.
5. Gutiérrez-Martínez, P., Bautista-Baños, S., Berúmen-Varela, G., Ramos-Guerrero, A., & Hernández-Ibañez, A. M. (2017). In vitro response of *Colletotrichum* to chitosan. Effect on

- incidence and quality on tropical fruit . Enzymatic expression in mango. *Acta Agronómica*, 66(2), 282-289.
6. Karabulut, O. A., & Baykal, N. (2004). Integrated control of postharvest diseases of peaches with a yeast antagonist , hot water and modified atmosphere packaging. *Crop Protection*, 23(23), 431-435. doi:10.1016/j.cropro.2003.09.012
  7. O'Farrill, N. H. S. A. (2008). Insecticidas biorracionales. 59-65.
  8. Ragazzo-Sánchez, J. A., OrtizBasurto, R. I., Cabanillas-Beltrán, H., Calderon-Santoyo, M. J. A., Coria, T., & Ramírez de, L. (2015). Control of antracnose in mango (*Mangifera indica* L.) var. ataulfo by high hydrostatic pressure combined with moderated temperature and the biocontrol agent candidat famata. *Sylwan*, 159, 448-460.
  9. Tanaka, S., Umemori, T., Hirai, K., Muramatsu, S., Kamimura, Y., & Araki, H. (2007). CDK-dependent phosphorylation of Sld2 and Sld3 initiates DNA replication in budding yeast. *Nature*, 445(7125), 328-332. doi:10.1038/nature05465
  10. Vos, C. M., Yang, Y., Coninck, B. D., & Cammue, B. P. A. (2014). Fungal (-like) biocontrol organisms in tomato disease control. *Biological Control*, 74, 65-81. doi:10.1016/j.biocontrol.2014.04.004

## MEDICIÓN DEL ÁREA FOLIAR DE LECHUGA (*LACTUCA SATIVA L.*) COMO INDICATIVO DE DESARROLLO EN TRATAMIENTOS ORGÁNICOS.

Tarsicio Medina Saavedra, Gabriela Arroyo Figueroa, Carlos Herán Herrera Méndez, Jobana Marleth Maldonado Pacheco, Juan Carlos Centeno Parra y Lilia Mexicano Santoyo

Universidad de Guanajuato.  
tarsicioms@hotmail.com

### RESUMEN

La importancia del cultivo de la lechuga (*Lactuca sativa L.*) se ha incrementado de manera significativa en los últimos años con una diversidad de variedades comerciales y sistemas de producción, destacando un importante incremento en la demanda de alimentos sanos. El propósito de la investigación fue realizar la medición del área foliar de la lechuga como un indicativo de su desarrollo a efecto de tratamientos agroecológicos (estiércol, bocashi y biofertilizante). Se cultivaron lechugas variedad orejona, realizando un diseño experimental de bloques al azar, con 60 lechugas por tratamiento y tres repeticiones en cinco tratamientos: testigo (T0), estiércol solarizado (T1), estiércol solarizado más biofertilizante (T2), bocashi (T3) y bocashi más biofertilizante (T4). El estiércol tubo un proceso de solarización de 45 días y el bocashi fue fermentado durante 15 días, ambos fueron aplicados al suelo antes del trasplante a razón de 3 Kg por m<sup>2</sup> y el biofertilizante formulado con harina de hueso calcinado y carbonato de calcio, se aplicó cada ocho días de manera foliar al cultivo. El área foliar se midió en la 5ª semana de desarrollo mediante el software ImageJ en las imágenes tomadas a las lechugas. Los datos fueron expresados como la media  $\pm$  la desviación estándar, además de un análisis de varianza (ANOVA). En los resultados se destaca que el testigo (T0) resultó con menor área foliar y hubo diferencias significativas ( $< 0.05$ ) con los demás tratamientos. En el caso de los tratamientos con bocashi (T3) y bocashi con biofertilizante (T4) resultaron ser los de mayor área foliar y con diferencias significativas con los tratamientos en los que se usó estiércol (T2) y estiércol con biofertilizante (T3). El bocashi como abono orgánico y su proceso de fermentación ayuda a mejorar las propiedades del suelo, favoreciendo una mejor fertilidad lo que favorece un mejor desarrollo de la lechuga.

**Palabras clave.** Bocashi, biofertilizante, estiércol solarizado, abonos orgánicos.

### INTRODUCCIÓN

De acuerdo con datos de la SADER (2019) México se encuentra en el 9° productor de lechuga a nivel mundial de lechuga (*Lactuca sativa L.*). Es una de las verduras de hoja verde más consumidas en todo el mundo, en México su producción se puede realizar en todo el año, pero hay mayor disponibilidad en primavera y verano, destacando prioritariamente las variedades Romana y la Orejona, aunque también se producen las variedades Baby leaf y Escarola, se cultiva en 22 estados del país, sin embargo, destacan Guanajuato, Zacatecas y Puebla. (SADER, 2019).

La importancia del cultivo de la lechuga se ha incrementado de manera significativa en los últimos años con una diversidad de variedades comerciales y sistemas de producción, destacando un importante incremento en la demanda de alimentos orgánicos.

Para lograr alimentos sanos y además obtener buenos rendimientos, se requiere de una adecuada fertilidad del suelo mediante enmiendas orgánicas, como los compost que aportan una equilibrada aportación de nutrientes al suelo de manera inmediata y constante (Carnicer, Masakichi, Delfino y Leconte, 2021).

Mediante el compostaje se realiza una transformación microbiana de los residuos orgánicos en condiciones controladas buscando un enriquecimiento químico y biológico para satisfacer la demanda de nutrientes de los cultivos, reduciendo significativamente el uso de fertilizantes químicos y mejorando las características del cultivo (Olivares *et al.*, 2021), no obstante que sus características físicas y químicas depende de su procedencia, edad, manejo y contenido de humedad (FAO 1991).

### MATERIAL Y MÉTODOS

El diseño experimental que se realizó fue bloques completamente al azar con cinco repeticiones. Se utilizaron 60 lechugas variedad orejona por tratamiento. Los tratamientos aplicados fueron los

siguientes: T0 representó el testigo, donde al cultivo de lechugas no se le adicionó ninguna enmienda orgánica al suelo; en el tratamiento T1 se aplicó estiércol solarizado en el suelo; en el tratamiento T2 se aplicó estiércol solarizado en el suelo, además de biofertilizante de manera foliar; en el tratamiento T3 se aplicó bocashi en el suelo y en el tratamiento T4 se aplicó bocashi al suelo más un biofertilizante de manera foliar.

El estiércol utilizado pasó previamente por un proceso de solarización de 45 días, el que fue cubierto con plástico transparente de 30 micras de espesor, tapando de tal forma que quedara sellado y en pleno contacto con el estiércol, de acuerdo con Velázquez *et al.* (2011) con algunas modificaciones. El bocashi se elaboró durante 15 días de acuerdo con lo sugerido por Restrepo (2006) con algunas modificaciones, usando para su rápida fermentación aeróbica microorganismos nativos activados con melaza en una mezcla de estiércol, salvado, harina de rocas, carbón triturado y rastrojo molido. El biofertilizante se preparó acuerdo con recomendaciones de Restrepo (2006) con algunas modificaciones en un garrafón de 20 litros y condiciones anaerobia durante 30 días, utilizando los siguientes ingredientes: 5 kg de estiércol fresco de becerros lactantes, 250 ml de melaza, 250 ml de leche, 200 g de harina de rocas, 200 g de harina de hueso calcinado, 200 g de cascarón de huevo molido (carbonato de calcio) y 200 g de harina de hueso calcinado.

Después de su elaboración, el estiércol y el bocashi se incorporaron al suelo antes del trasplante de la lechuga a razón de 3 kg/ m<sup>2</sup> y el biofertilizante se aplicó cada ocho días de manera foliar a una concentración del 5%.

El área foliar se determinó empleando el software ImageJ, utilizando para ello las fotografías tomadas a las lechugas en la 5ª semana de desarrollo. Para el análisis de los datos se realizó un ANOVA utilizando Excel y los datos fueron expresados como la media  $\pm$  la desviación estándar.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para determinar el aré foliar de las lechugas tratadas se tomaron imágenes que posteriormente fueron analizadas con el software ImageJ. Los resultados muestran que la menor área foliar obtenida fue con el tratamiento T0 y la mayor área foliar se obtuvo con los tratamientos T3 y T4 reflejado en un mayor número de hojas como se muestra en la Figura 1.

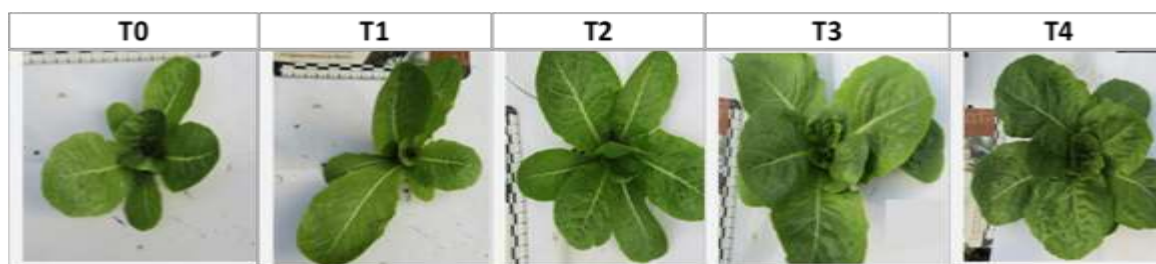


Figura 1. Área foliar de las lechugas variedad orejona después de la aplicación de los tratamientos.

Como se muestra en la Figura 2, los valores mayores de área foliar fueron de  $496.87 \pm 151.64$  cm<sup>2</sup> y  $466.27 \pm 180.68$  cm<sup>2</sup> correspondientes a los tratamientos T3 y T4. Por otra parte, se observaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos T3 y T4 en comparación con T0, T1 y T2 ( $P < 0.05$ ). Con estos resultados se puede observar que la aplicación de bocashi en el suelo únicamente es suficiente para incrementar en el área foliar de las lechugas, ya que no se observaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos T3 y T4 ( $P > 0.05$ ). Abou-El-Hassan y Desoky (2013) reportan que el uso de productos orgánicos, contribuyen a mejorar el crecimiento de lechugas, debido a que los productos orgánicos contienen mayor cantidad de macro y micronutrientes disponibles para la planta y aumentan la retención de agua en el suelo, lo que sugiere que debido al contenido de nutrientes y las características que el bocashi le otorga al suelo, es que



se logró un mejor efecto sobre el crecimiento en las plantas de lechuga reflejado en un incremento en el área foliar.

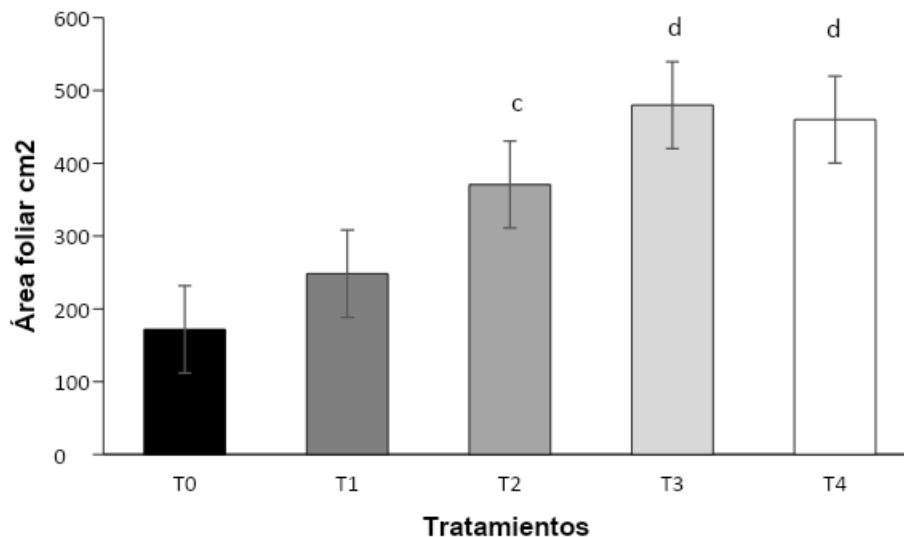


Figura 2. Comparación de las áreas foliares de los diferentes tratamientos aplicados a lechuga variedad orejona.

Además, se puede observar que con la adición de estiércol solarizado (T1) o la aplicación de suelo solarizado más biofertilizante foliar (T2) se logró incrementar el área foliar con respecto al tratamiento testigo (T0), ha demostrado que el rendimiento de las hortalizas depende del balance nutrimental, principalmente N y P (García *et al.*, 2004). En un estudio realizado por Cabilovsky *et al.* (2011) observaron un efecto similar al adicionar estiércol sobre el suelo en la producción de lechuga, ellos observaron un mejor efecto en comparación con lechugas sin fertilizar y aquellas fertilizadas con guano, harina de soja o harina de guisantes, siendo así que el estiércol es una alternativa en la fertilización del suelo. Sin embargo, la aplicación de estiércol más biofertilizante fue mejor que la aplicación únicamente de estiércol, ya que se logró un incremento en el área foliar de  $263.74 \pm 104.73 \text{ cm}^2$  a  $405.09 \pm 128.62 \text{ cm}^2$  respectivamente encontrando diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos T1 y T2 ( $P < 0.05$ ), lo que sugiere que la adición de biofertilizante contribuye de manera significativa sobre el incremento en el área foliar en el cultivo de lechuga cuando no se adiciona bocashi en el suelo.

Probablemente la intensa actividad biológica del Bocashi (Ramos y Terry 2014) sobre todo bacterias y hongos de la fase mesófila, especialmente bacterias del género *Bacillus* sp, (Uribe 2003) y la naturaleza de sus ingredientes junto con el proceso de compostaje que favorecen la descomposición de la materia orgánica (Alfonso 2010) y el adecuado contenido nutricional (Ramos *et al.* 2014) son factores importantes en el desarrollo foliar de la lechuga.

## CONCLUSIÓN

La incorporación de estiércol, bocashi y biofertilizante durante la producción del cultivo de lechuga contribuyen a un incremento en el área foliar, ya que las plantas de lechuga que no fueron adicionadas con ningún producto orgánico tuvieron la menor área foliar durante el experimento. Sin embargo, la aplicación únicamente de bocashi fue suficiente para obtener el mayor incremento de área foliar en el cultivo.

**REFERENCIAS**

1. Abou-El-Hassan, S. and Desoky, A.H.(2013). Effect of Compost and Compost Tea on Organic Production of Head Lettuce. *Journal of Applied Sciences Research*, 9(11): 5650-5655.
2. Alfonso, J. A. (2010). Elaboración de abono orgánico a partir de cascarilla de piñón (*Jatropha cuneata*). Honduras: FHIA. 25 pp.
3. Carnicer, S., Masakichi, M., Delfino, M., y Leconte, C. (2021). Contenido de antioxidantes totales y clorofila en lechuga bajo fertilización orgánica con compost. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.
4. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación) (1991) Manejo del suelo producción y uso del compostaje en ambientes tropicales y subtropicales. *Boletín* 56:180.
5. Olivares-Campos, MA, Hernández-Rodríguez, A, Vences-Contreras, C, Jáquez-Balderrama, JL, & Ojeda-Barrios, D. (2012). Lombricomposta y composta de estiércol de ganado vacuno lechero como fertilizantes y mejoradores de suelo. *Universidad y ciencia*, 28(1), 27-37.
6. Cabilovski, R., Manojlovic, M., Bogdanovic, D., Rodic, v., and Bavec, M. (2011). Fertilization Economy in Organic Lettuce Production. *Journal of Sustainable Agriculture*, 35:745–756.
7. García-Hernández, J. L.; Valdez-Cepeda, R. D.; Murillo-Amador, B.; Nieto-Garibay, A.; Beltrán, L. F.; Magallanes-Quintanar, R.; Troyo-Diéguez, E. 2004. Compositional nutrient diagnosis and main nutrient interactions in yellow pepper grown on desert calcareous soils. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 167:509–515.
8. Ramos Agüero, David y Terry Alfonso, Elein. (2014). Generalidades de los abonos orgánicos: Importancia del Bocashi como alternativa nutricional para suelos y plantas. *Cultivos Tropicales*, 35(4), 52-59.
9. Ramos Agüero, David, Terry Alfonso, Elein, Soto Carreño, Francisco, y Cabrera Rodríguez, Juan A. (2014). Bocashi: abono orgánico elaborado a partir de residuos de la producción de plátanos en Bocas del Toro, Panamá. *Cultivos Tropicales*, 35(2), 90-97.
10. Restrepo, J. (2006). Manual Práctico. el ABC de la agricultura orgánica y panes de piedra. México D F: COAS. ISBN 978-958-44-1261-4
11. SADER. (2019). Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Obtenido de <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/conozcamos-un-poco-mas-sobre-la-lechuga?idiom=es>.
12. Vázquez-Vázquez, Cirilo, García-Hernández, José Luis, Salazar-Sosa, Enrique, López-Martínez, José Dimas, Valdez-Cepeda, Ricardo David, Orona-Castillo, Ignacio, Gallegos-Robles, Miguel Ángel, & Preciado-Rangel, Pablo. (2011). Aplicación de estiércol solarizado al suelo y la producción de chile jalapeño (*Capsicum annum* L.). *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 17(spe1), 69-74.
13. SADER. (2019). *Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural*. Obtenido de <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/conozcamos-un-poco-mas-sobre-la-lechuga?idiom=es>
14. Uribe, L. L. Calidad microbiológica e inocuidad de abonos orgánicos. En: Ed. Meléndez, G. *Abonos orgánicos: principios, aplicaciones e impacto en la agricultura*, San José, Costa Rica: CIA-UCR. 2003. pp. 165-184.

## DISEÑO DE UN HUERTO TRASPATIO CON LA METODOLOGÍA DESIGN THINKING

Nayeli Montalvo Romero<sup>1,2</sup>, Gregorio Fernández Lambert<sup>2</sup>, Aarón Montiel Rosales<sup>1</sup>,  
Luis Enrique García Santamaria<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Tecnológico Nacional de México / ITS de Purísima del Rincón, <sup>2</sup>Tecnológico Nacional de México /  
ITS de Misantla.  
nayelimontalvor@gmail.com

### RESUMEN-

La inseguridad alimentaria y el hambre en América Latina y el Caribe están estrechamente asociados a la pobreza extrema, pero no se confunden con ella; una alimentación insuficiente para el desarrollo de una vida normal e inadecuada desde el punto de vista nutricional afecta no sólo a quienes viven en condiciones de extrema pobreza sino también a estratos más amplios y grupos que residen en determinadas zonas o regiones en cada país. Entre las carencias que enfrenta la población en pobreza extrema, la falta de acceso a alimentos es por sus consecuencias, la más grave y urgente de erradicar<sup>1</sup>. En México, el panorama de la seguridad alimentaria y nutricional se aborda a partir de los cuatro pilares que la componen: disponibilidad, acceso y uso de los alimentos, y estabilidad de la oferta, así como desde las dos caras de la malnutrición en México: obesidad y desnutrición<sup>2</sup>. Por lo que, la seguridad alimentaria considera el acceso suficiente a alimentos inocuos y nutritivos para satisfacer las necesidades alimentarias y preferencias personales, y llevar una vida sana y activa<sup>3</sup>. Ahora bien, para atender esta necesidad el presente proyecto de investigación aborda el diseño de un Huerto Traspatio que permite complementar por medio de la producción de alimentos agrícolas, las necesidades alimentarias de habitantes de zonas marginales mediante la implementación de la herramienta *Design Thinking*. La producción agrícola, mediante Huerto Traspatio es una práctica que representa grandes beneficios, *e.g.*, existe disponibilidad de alimentos sanos y frescos al alcance de la familia, se genera un enfoque de cuidado al medio ambiente —esto asociado a que, según los expertos la práctica de Huerto Traspatio no emplea en sus procesos la incorporación de insumos agresivos, *i.e.*, el enfoque que se emplea es Agricultura Orgánica—. La aplicación de la metodología *Design Thinking* permitió identificar claramente el problema y así, encontrar la mejor solución al problema, *i.e.*, el diseño óptimo que cumple con los deseos del usuario y/o cliente, al mismo tiempo en que se da solución al problema de la mejor manera posible. Con el desarrollo del proyecto de investigación se abona al contribuir en garantizar la seguridad alimentaria de los habitantes ubicados en zonas marginadas, mediante la identificación efectiva de las necesidades alimenticias, esto es, el proyecto propone establecer a partir de las demandas, las ofertas necesarias; y así, determinar la configuración —capacidad de producción— del Huerto Traspatio.

### INTRODUCCIÓN

La producción agrícola permite en primera instancia proveer alimentos vegetales al ser humano, mientras que en segunda instancia son alimento para la producción ganadera, la cual, posteriormente servirá de alimento para el ser humano. La alimentación, según la FAO (*Food and Agriculture Organization*) se define como el proceso que se realiza de manera consciente y de forma voluntaria cuando la persona ingiere alimentos, con el objetivo de satisfacer una de las necesidades primarias<sup>4</sup>. Al 2018 en México, se considera que las actividades agrícolas representan el 92 de cada 100 toneladas de producción agropecuaria y pesquera<sup>5</sup>.

Se considera que en el mundo existen alimentos más que suficientes para alimentar a los 7800 millones de habitantes actuales; sin embargo, al día de hoy existen más de 820 millones de personas que pasan hambre. Ahora bien, se estima que aproximadamente 144 millones de niños menores de 5 años tienen retrasos del crecimiento —más de 1 de cada 5 niños en todo el mundo—; finalmente, los actuales sistemas alimentarios están fallando, y la pandemia de enfermedad por coronavirus está empeorando, la seguridad alimentaria<sup>6</sup>.

La FAO, considera que 811 millones de personas —la décima parte de la población—, padecen subalimentación en el mundo; esto es, del número total de personas desnutridas en 2020, más de la mitad (418 millones) vive en Asia y más de un tercio (282 millones) en África, mientras que en América Latina y el Caribe habita el 8% (60 millones)<sup>7</sup>.

## TEORÍA

En el ciclo del *New Product Development* (NPD, Desarrollo de Nuevos Productos), la primera etapa considera identificar las necesidades, además de identificar la existencia de la tecnología para darle atención; a esta primera fase, se le denomina ideación.

Ahora bien, la metodología *Desing Thinking* es considerada como un enfoque que permite generar ideas. Según Razzouk y Shute (2012), el *Desing Thinking* es un proceso analítico y creativo, que permite mediante un esfuerzo mental experimentar, crear y prototipar modelos, obteniendo retroalimentación y permitiendo el rediseño<sup>8</sup>.

Ahora bien, el diseño prácticamente es un enfoque de resolución de problemas, con un enfoque de solución creativa de problemas y procesos<sup>9</sup>. Entonces, el *Design Thinking* es una metodología que impregna todo el espectro de actividades de innovación con un espíritu de diseño centrado en el hombre<sup>10</sup>.

*Design Thinking* es una forma de pensar y trabajar con la que es posible producir innovaciones orientadas a las necesidades, *i.e.*, es una guía que abre los ojos para entender lo que hace la gente<sup>11</sup>. La metodología *Design Thinking*, se compone de cinco fases, las cuales, se presentan en la Figura 1.



Figura 1. Modelo de la metodología *Design Thinking*<sup>11</sup>.

A partir de lo anterior, es posible establecer que el *Design Thinking*, permite identificar las necesidades del cliente/usuario y así, generar el diseño de un producto/servicio que satisfaga las necesidades de la población bajo estudio.

Ahora bien, el Huerto Traspatio o Familiar es un agroecosistema tradicional, en donde existe una alta agrobiodiversidad —diversidad biológica doméstica y silvestre de relevancia para la alimentación y la agricultura—<sup>12</sup>. El Huerto Traspatio, se compone de recursos genéticos vegetales, animales, micóticos y microbianos<sup>13</sup>.

Entonces, la agricultura familiar o pequeña agricultura, bien se puede considerar como una práctica realizada por pequeños productores agrícolas, pecuarios, silvicultores, pescadores artesanales y acuicultores de recursos limitados que, pese a su heterogeneidad, poseen características distintivas; aunado a esto, se tiene acceso limitado a activos, predominando el trabajo familiar, la administración de la producción la realiza el jefe(a) del hogar, siendo el tamaño de la explotación menor a 5 ha; finalmente, la producción principalmente es destinada al autoconsumo y en menor grado a su comercialización<sup>14-15</sup>.

La agricultura familiar vista desde el punto de vista de Huerto Traspatio permite proveer a los integrantes de la familia de alimentos vegetales frescos y sanos, permitiendo en menor medida la comercialización del excedente.

Por lo que, el Huerto Traspatio es una práctica agrícola que permite garantizar la seguridad alimentaria de la familia en zonas marginadas, al mismo tiempo en que le permite un desarrollo socioeconómico por la comercialización del producto agrario excedente.

### PARTE EXPERIMENTAL

El presente trabajo de investigación aborda el diseño de un huerto traspatio que permita garantizar la seguridad alimentaria de una familia mexicana de clase baja, mediante la implementación de la metodología *Design Thinking*, con la intención de identificar las necesidades y deseos de la población bajo estudio.

La metodología *Design Thinking* permite generar el diseño del huerto traspatio al determinar los tipos de cultivos, de acuerdo con las necesidades alimenticias de la clase baja y las condiciones de la región bajo estudio (véase Figura 2).

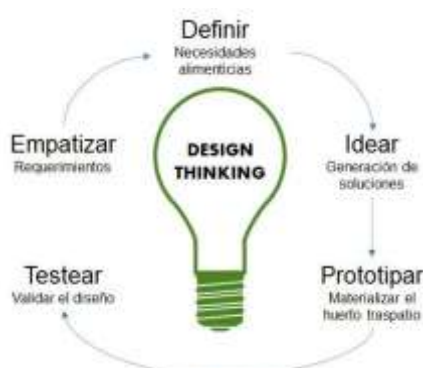


Figura 2. Esquemmatización de las fases de la metodología *Design Thinking*, sobre el caso bajo estudio.

A partir de lo mostrado en la Figura 2, a continuación, se describe la implementación de las fases, al caso bajo estudio:

1. Empatizar: conocer las necesidades alimenticias de los habitantes de la zona de los Pueblos del Rincón, Guanajuato-México; ya que, la dietética regional es determinada por el mejor crecimiento de un alimento con respecto a otro. Para ello, se realizaron entrevistas a 50 personas.
2. Definir: identificadas las necesidades de alimentación se identificaron las principales legumbres y verduras a cultivar, en el Huerto Traspatio; ya que, cada alimento tiene sus propios requerimientos, e.g., hídrico, fertilizante y cuidado. Con ello, se define la configuración que mejor considere las necesidades de crecimiento, y se permita una adecuada disponibilidad del alimento, como apoyo al complemento alimenticio familiar.
3. Idear: mediante esfuerzo mental se generaron diversas alternativas de solución —ideas—, e.g., dimensiones, materiales y sistema de riego.
4. Prototipar: a partir de la determinación de los productos a cultivar, se llevó a cabo el diseño del prototipo del huerto.
5. Testear: el diseño conceptual fue evaluado por las mismas personas a las que se les entrevistó, y así, el mismo cliente/usuario evaluará el producto a emplear.

### RESULTADOS

La aplicación de la metodología *Design Thinking* permitió establecer el diseño conceptual de Huerto Traspatio, para familias de clase baja en Purísima del Rincón. De estudio se desprende, que los cultivos que se definieron para formar parte del huerto son aquellos que tuvieron bajas exigencias de nitrógeno, fósforo, potasio y agua, y al mismo tiempo dispongan de un crecimiento rápido, al mismo tiempo en que poseen la capacidad de mantener la humedad. Ahora bien, como última consideración se consideran aquellos alimentos que aporten antioxidantes, fibra, vitaminas,

minerales y proteínas; obteniéndose entonces, como cultivos deseados en zonas marginadas el jitomate, el frijol, el brócoli y la lechuga.

Entonces, el diseño conceptual obtenido consiste en un huerto traspatio vertical de tres niveles, compuestos de un bancal rectangular, esta morfología es deseada, ya que es útil en lugares de escaso espacio, además se considera que el nivel superior se incorpora una rejilla que sirve de apoyo en el crecimiento de los vegetales trepadores (ver Figura 3). Ahora bien, se considera que en cada bancal se debe colocar una planta de manzanilla, esto debido a que la planta apoya a repeler los insectos. Finalmente, se considera un sistema de riego por goteo, ya que permite una eficiencia del 95% al mantener la humedad y, así evitar escurrimientos que generen al usuario una insatisfacción debido al uso del sistema agroalimentario traspatio. Con esto, se obtiene un Huerto Traspatio orgánico, debido a que no se requiere el uso de fertilizantes o abonos químicos, debido a que las buenas prácticas agrícolas emplean los residuos y desechos como composta.

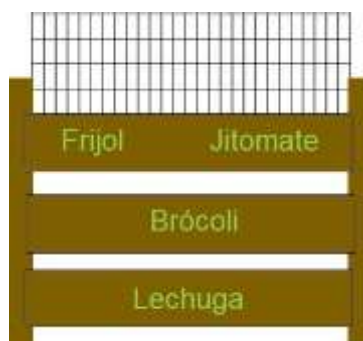


Figura 3. Diseño conceptual del Huerto Traspatio para zonas marginadas.

## CONCLUSIONES

La seguridad alimentaria, puede ser alcanzada en las clases bajas o zonas marginadas mediante la adopción de la agrícola familiar, de manera específica a partir de los hallazgos de la presente investigación el diseño de un Huerto Traspatio capaz de proveer los productos vegetales básicos puede ser establecido mediante el uso de la metodología *Design Thinking*; esto es, el presente estudio demuestra que la determinación del diseño de Huerto Traspatio que satisfaga las necesidades de alimento es alcanzable mediante la implementación de técnicas de apoyo a la innovación, como lo mostrado y evidenciado en este trabajo mediante el *Design Thinking*. A partir de los hallazgos reportados en este trabajo, como trabajo futuro, los investigadores continuaran con la optimización de la configuración del diseño conceptual.

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Tecnológico Nacional de México que por medio de la Convocatoria 2021: PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA; se financia el desarrollo del proyecto de investigación r8hpu7(11371).

## BIBLIOGRAFÍA

1. A. León, R. Martínez, E. Espíndola & A. Schejtman, “Pobreza, hambre y seguridad alimentaria en Centroamérica y Panamá”, 2004, CEPAL.
2. N. U. Fernández, “La seguridad alimentaria en México”, *Salud Pública de México*, 56(1), 92–98, 2014.
3. S. M. Pico & H. Pachón, “Factores asociados con la seguridad alimentaria en un Municipio Rural del norte del Cauca, Colombia”. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 62(3), 227–233, 2012.
4. FAO, “Glosario de Términos”, [29.07.2021], <http://www.fao.org/3/am401s/am401s07.pdf>

5. Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria, "Situación del Sector Agropecuario en México", *Palacio Legislativo de San Lázaro*, Ciudad de México, Julio 2020, [29.07.2021], [http://www.cedrssa.gob.mx/files/b/13/22Situacion\\_Sector\\_Agropecuario\\_Me%CC%81xico.pdf](http://www.cedrssa.gob.mx/files/b/13/22Situacion_Sector_Agropecuario_Me%CC%81xico.pdf).
6. United Nations, "Policy Brief: The Impact of COVID-19 on Food Security and Nutrition", June 2020.
7. Naciones Unidas, "El hambre aumenta a nivel mundial durante la pandemia", Noticias ONU: Mirada global Historias humanas, 12 de julio del 2021, <https://news.un.org/es/story/2021/07/1494232>.
8. S. J. Alapizco & G. Vázquez, "Innovation Methodologies for the Development of New Products: An approach to the consumer", *In Mundo, Arquitectura, Diseño Gráfico y Urbanismo*, 5, July 2020.
9. A. Coskun, "Experimental experience in design education as a resource for innovative thinking: The case of Bruno Munari", *In Procedia - Social and Behavioral Sciences*, 2(2), 5039–5044, 2010, <http://dx.doi.org/10.1016/j.sbspro.2010.03.817>.
10. M. Castillo, A. Alvarez & R. Cabana, "Design thinking: como guiar a estudiantes, emprendedores y empresarios en su aplicación", *In Ingeniería Industrial*, 35(3), 301–311, 2014.
11. C. Meinel & J. Von Thienen, "Design thinking. Informatik-Spektrum", 39(4), 310-314, 2016, <http://dx.doi.org/10.1007/s00287-016-0977-2>.
12. E. J. Cano, "Huertos familiares: un camino hacia la soberanía alimentaria", *In Revista Pueblos y fronteras digital*, 10(20), 70–91, 2015.
13. ADRS-FAO, "Sumario de Política 16. La ADRS y la Agrobiodiversidad. Agricultura y Desarrollo sostenibles (ADRS)", 2017, <https://www.biopasos.com/biblioteca/ADRS%20Y%20LA%20AGROBIODIVERSIDAD.pdf>.
14. De la O. A. P. & Garner E., Defining "Family Farm", *Working Paper*, FAO, pp. 29, 2012.
15. S. Salcedo & L. Guzmán, "Agricultura familiar en América Latina y el Caribe". FAO, Santiago de Chile. pp. 496, 2014.

**CONTENIDO DE MACRONUTRIENTES (N, P y K) EN SEMILLA DE CACHICHÍN (*Oecopetalum mexicanum* Greenm. & C.H.Thomps.), CON UNA PERSPECTIVA NUTRICIONAL FUNCIONAL.**

Alejandro Esli Hernández-Mora<sup>1</sup>, Sara Monserrat Ramírez-olvera<sup>2</sup>, Aleida Selene Hernández-Cázares<sup>1</sup>, Adriana Contreras-Oliva<sup>1</sup>, Libia Iris Trejo-Téllez<sup>2</sup> y Fernando Carlos Gómez-Merino<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Colegio de Postgraduados Campus Córdoba. Carretera Federal Córdoba Veracruz km 348, Congregación Manuel León, C. P. 94946 Amatlán de los Reyes, Veracruz. <sup>2</sup>Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco km 36.5, C.P. 56230 Montecillo, Texcoco, Estado de México.

E-mail: [hernandez.alejandro@colpos.mx](mailto:hernandez.alejandro@colpos.mx)

**RESUMEN**

El árbol de cachichín (*Oecopetalum mexicanum* Greenm. & C.H.Thomps.) endémico de la sierra de Misantla, Veracruz, produce un fruto en forma de nuez. La semilla se consume localmente como botana saludable, cruda, hervida o tostada bajo procesos de preparación muy tradicionales. La semilla de cachichín se caracteriza por su alto contenido en lípidos (39.25 %) en su mayoría ácidos grasos insaturados, proteínas (12.59 %) y carbohidratos (41.61 %). Sin embargo, no se ha reportado el contenido de macronutrientes; importantes para precisar el valor nutricional. El objetivo de la presente investigación fue obtener el contenido de macronutrientes (N, P y K) de la semilla cruda y a diferentes procesos térmicos, hervido y tostado comercial (adquiridos localmente), y tostado controlado a nivel laboratorio (134 °C por 25 min ). La determinación de macronutrientes se realizó mediante una extracción de la muestra molida de semilla de cada tratamiento por digestión húmeda, las lecturas se realizaron por Espectroscopía de emisión óptica de inducción por plasma acoplado (ICP-OES). El nitrógeno total se determinó por método Semimicro-Kjeldahl. De acuerdo con los resultados obtenidos, no se observó diferencias significativas entre tratamientos; lo que indica que el tratamiento térmico empleado no afecta la composición nutrimental de la semilla; sin embargo, la semilla hervida mostró una disminución en el contenido de N, P y K en 15.35, 25.37 y 51.55 %, respectivamente, en comparación con los demás tratamientos. Además, el alto contenido de N en todos los tratamientos se relaciona con un alto contenido proteico. La semilla de cachichín se puede considerar como complemento nutrimental y funcional en la dieta diaria de los consumidores.

**INTRODUCCIÓN**

La función primordial de la dieta diaria es aportar nutrientes esenciales para el desarrollo de nuestras actividades de manera diaria. Es por ello, que además de las tres macromoléculas principales (proteínas, carbohidratos y lípidos) en la alimentación, también son importantes otras sustancias químicas, como son los nutrientes de carácter orgánico e inorgánico; los cuales tienen efectos biológicos benéficos. Por ende, se ha observado que muchos alimentos tradicionales, como son los granos y semillas, contienen componentes que pueden ser positivos para la salud (Cruzado y Cedrón, 2012).

El cachichín (*Oecopetalum mexicanum* Greenm. & C.H. Thomps.) es una especie arbórea que produce una semilla comestible a la que se han atribuido propiedades nutraceuticas importantes para mejorar la salud humana (Lascurain *et al.*, 2012). El cachichín es una especie vegetal nativa de México perteneciente a la familia Metteniusaceae. En su mayoría, la producción del fruto comestible es realizada en el municipio de Misantla, en la región montañosa de la zona centro del estado de Veracruz, México. La composición de la semilla está conformada por proteínas, 12.59%; carbohidratos, 41.61%; lípidos, 39.25 %; fibra cruda, 4.25% y cenizas, 2.30 %. Dentro de su perfil lipídico, contiene ácidos grasos insaturados benéficos para la salud en pacientes con enfermedades cardiovasculares como la diabetes (Hernández *et al.*, 2013).

Las semillas son matrices muy complejas en las que se encuentra una gran variabilidad de compuestos bioactivos, estados físicos, contenido orgánicos e inorgánicos, funcionalidad y características sensoriales. En específico, la semilla de cachichín contiene compuestos bioactivos de importancia en la salud humana (Hernández-Mora *et al.*, 2017). Sin embargo, aún falta hacer perfiles de análisis más precisos y a mayor profundidad para determinar el metaboloma de esta semilla y analizar su funcionalidad nutraceutica.



Es así que el objetivo primordial del presente estudio fue determinar el contenido de macronutrientes (N, P y K) en semilla cruda de cachichín, bajo tres tratamientos térmicos (hervido, tostado comercial y tostado controlado).

### PARTE EXPERIMENTAL

La semilla de cachichín cruda, hervida y tostada de manera comercial fue adquirida por comerciantes locales del municipio de Xalapa, Veracruz. Un cuarto tratamiento de tostado controlado se realizó a nivel laboratorio, a 134 °C por 25 min en una parrilla de calentamiento marca Thermo-Scientific. Las semillas fueron puestas previamente a secado por 72 h a 70 °C en una estufa de aire forzado marca Riossa modelo HCF-125. Posteriormente las muestras fueron trituradas a un tamaño de partícula de 2mm, empleando un molino de material vegetal Wiley.

#### Contenido de macronutrientes (N, P y K)

El contenido de N total se determinó por método Semimicro-Kjeldahl. El análisis de P y K se realizó por digestión húmeda del material seco con una mezcla de ácido perclórico y nítrico, de acuerdo con la metodología descrita por Alcántar y Sandoval (1999). Los extractos obtenidos posterior a la digestión y filtrado fueron determinados en un equipo de espectroscopia de emisión atómica de inducción por plasma acoplado (ICP-OES) marca Varian modelo 725-ES. Los resultados fueron expresados en mg de elemento por mg de semilla ( $\text{mg semilla}^{-1}$ ) en peso de biomasa seca (PBS).

#### Análisis estadístico

Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente mediante un análisis de varianza y pruebas de comparación de medias por Tukey  $P \leq 0.05$ , usando software RStudio versión 1.2.5033.

### RESULTADOS

Los resultados del contenido de macronutrientes en la semilla de cachichín en los diferentes tratamientos se presentan en el Cuadro 1. El contenido de N entre tratamientos de tostado y semillas crudas, presentaron valores estadísticamente similares. Se observó una disminución del 40 % en el tratamiento hervido con respecto a semilla cruda, encontrando valores similares al tostado controlado.

Por otro lado, el tratamiento térmico tuvo un efecto significativo en el contenido de P. En específico, el tostado comercial mostró el contenido más alto y el más bajo fue el proceso de hervido. La semilla cruda y tostada de forma controlada fueron estadísticamente similares a la semilla que fue hervida y tostada comercial. En lo que respecta a contenido de K se observa una disminución del 52 % en la semilla hervida con respecto a cruda. Los tratamientos de tostado comercial y controlado se mantuvieron sin efecto significativo en relación a crudo.

El contenido de N, P y K en semillas hervidas fue afectado por un elevado volumen de agua absorbido por la semilla durante el proceso deteriorando la calidad de estas (Aguirre, 1990). Sin embargo, las mismas variables (N, P y K) presentan efectos estadísticos nulos en tratamiento de tostado comercial y controlado, con respecto a crudo. Por lo tanto, el aporte de N en el consumo de semilla de cachichín, puede beneficiar la absorción de este compuesto para la síntesis de aminoácidos y proteínas, las cuales se encontrarán disponibles en proporciones óptimas para una mayor eficiencia en la formación de nuevos tejidos y reparación de los ya existentes (Ahumada, 2019).

La absorción de P es esencial y cumple múltiples funciones que mantienen la vitalidad celular en humanos. El P es un componente estructural clave del ADN (Ácido Desoxirribonucleico), el ARN (Ácido Ribonucleico), elemento crítico para la obtención de ATP (adenosina-5'-trifosfato) y para los fosfolípidos, y por lo tanto, para las membranas celulares. Además, P es necesario para la formación y mantenimiento de huesos y dientes (Childers *et al.*, 2011). Asimismo, el P mantiene una relación estrecha con el elemento Ca, en conjunto su ingesta en infantes es necesaria para que la masa ósea máxima se pueda alcanzar durante la edad adulta temprana y mantenerse a partir de ese punto del desarrollo hasta el envejecimiento (Anderson, 1996).

El contenido de K en el consumo de la semilla de cachichín, podría beneficiar la asociación inversa entre la ingesta de potasio y la presión arterial, la absorción de potasio contenido en los alimentos ayuda la regulación de la presión arterial. Con ello, el consumo de cachichín tendría un aporte

nutrimental y un efecto biológico complementario en la regulación de la hipertensión (He y MacGregor, 2008).

Cuadro 1. Contenido de macronutrientes (N, P y K) en semilla de cachichín bajo tres tipos de tratamientos térmicos.

Tratamiento	N (mg semilla <sup>-1</sup> PBS)	P (mg semilla <sup>-1</sup> PBS)	K (mg semilla <sup>-1</sup> PBS)
Crudo	20.71± 2.84 a	1.34 ± 0.13 ab	3.53 ± 0.37 a
Hervido	12.42 ± 0.51 b	1.00 ± 0.02 b	1.71 ± 0.02 b
Tostado comercial	20.67 ± 0.90 a	1.50 ± 0.11 a	3.56 ± 0.27 a
Tostado controlado	17.53 ± 1.28 ab	1.23 ± 0.05 ab	3.13 ± 0.02 a

Medias ± EE con letra distinta en cada columna indican diferencia estadística (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). PBS: Peso de Biomasa Seca.

Como se observa resultados del presente estudio, la semilla además de su aporte proteico, lipídico ( $\Omega$ -3 y  $\Omega$ -6) y su contenido de N, P y K, aporta macronutrientes esenciales para el óptimo funcionamiento del organismo. Por lo tanto, el consumo de la semilla de cachichín puede contribuir con los beneficios en la salud durante su consumo.

### CONCLUSIONES

Los tratamientos térmicos del tostado en la semilla de cachichín no mostraron efecto con respecto a semillas crudas. Mientras que el tratamiento de hervido mostro una disminución en el contenido de N, P y K en 15.35, 25.37 y 51.55 %, respectivamente, en comparación con el resto de tratamientos. Además, el alto contenido de N en todos los tratamientos se relaciona con un alto contenido proteico, así como P y K, tendrían un aporte nutrimental. Se concluye que la semilla de cachichín podría ser considerada un complemento nutrimental y funcional en la dieta diaria de los consumidores.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. A. E. Hernández-Mora, M. Castillo-Morales, E. A. García-Montalvo, E. Flores-Andrade. "Prueba preliminar de toxicidad aguda-oral del aceite de la semilla *Oecopetalum mexicanum* en ratones BALB / c". Journal CIM, Vol. 5, 2017, pp. 1043–1050
2. B. Hernández, G. Luna, O. García, M. R. Mendoza, E. Azuara, C. I. Beristain, M. Jiménez. "Extraction and characterization of *Oecopetalum mexicanum* seed oil". Ind Crops Prod. Vol. 43, 2013, pp. 355–359.
3. D. L. Childers, J. Corman, M. Edwards, & J.J. "Elser. Sustainability challenges of phosphorus and food: solutions from closing the human phosphorus cycle". Bioscience, Vol. 61, 2011, pp. 117–124.
4. F. J. He, G. A. MacGregor. "Beneficial effects of potassium on human health". Physiol. Plant. Vol. 133, 20–8, pp. 725–735.
5. G.G. Alcántar, V. M. Sandoval. "Manual de análisis químico de tejido Vegetal: Guía de muestreo, preparación, análisis e interpretación". Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo A.C. Chapingo, México. Publicación 10, 1999, pp. 148.
6. H. A. Hernández-Urban, D. F. Angulo, M. Lascurain-Rangel, S. Avendaño-Reyes, L. L. Can, G. W. Stull, R. Duno de Stefano. "Systematics and phylogeny of *Oecopetalum* (Metteniusaceae), a genus of trees endemic to north and central America". Rev. Biol. Trop. Vol. 67, 2019, pp. 888–900.
7. J. J. Anderson. "Calcium, phosphorus and human bone development". J. Nutr. Vol. 126, 1996, pp. 1153S–1158S.
8. M. G. Apaza Ahumada, "Efecto del consumo de cultivos andinos quinua, cañihua y tarwi sobre el incremento de peso y nitrógeno retenido en ratas Wistar". Rev. investig. altoandin. Vol. 21, 2019. pp.194–204.
9. M. Cruzado, & J. C. Cedrón. "Nutracéuticos, alimentos funcionales y su producción". Revista de Química, Vol. 26, 2012, pp. 33–36.

10. M. Lascurain-Rangel. “Estudio integral de la fruta silvestre comestible *Oecopetalum mexicanum* Greenm. & C.H. Thomps., de la Sierra de Misantla, Veracruz” Universidad Internacional de Andalucía. 2012. <https://dspace.unia.es/handle/10334/2342>
11. R, Aguirre. “Efecto de la humedad en el almacenamiento hermético a corto plazo de semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris*)”. Rev. agron. mesoam. Vol. 1, 1990, pp. 35–44.
12. RStudio Team (2020). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, PBC, Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.

## ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS EXTRACTOS HIDROETANÓLICOS DE PLANTAS CARNÍVORAS DE LOS GÉNEROS *DROSERA* Y *DIONAEA*

Victor José Ramírez Antonio<sup>1</sup>, Sugey Vásquez Hernández<sup>2</sup>, Fernando Carlos Gómez Merino<sup>1</sup>, Libia Iris Trejo-Téllez<sup>2</sup>, Carlos Alberto Cruz Cruz<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Colegio de Postgraduados Campus Córdoba. Carretera Federal Córdoba-Veracruz km 348, Congregación Manuel León, Amatlán de los Reyes 94953, Veracruz, México. <sup>2</sup>Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco 56230, Estado de México, México. <sup>3</sup>Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Veracruzana, Prolongación de Avenida Oriente 6, 1009, Rafael Alvarado, Orizaba 94340, Veracruz, México.  
E-mail autor principal: [victor\\_ramirez\\_97@hotmail.com](mailto:victor_ramirez_97@hotmail.com)

### RESUMEN

Las plantas carnívoras han desarrollado órganos especializados para la atracción, captura, digestión y absorción de presas pequeñas. A diferencia de las plantas comunes, las plantas carnívoras rara vez se ven infectadas por agentes patógenos como bacterias, virus y hongos, lo que sugiere la presencia de mecanismos de defensa, entre ellos la producción de metabolitos secundarios. Se ha reportado que los extractos de los géneros *Drosera* y *Dionaea* presentan propiedades farmacológicamente importantes como actividad anticancerígena, antioxidante, antifúngica y antibacteriana, ésta última especialmente contra *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad antibacteriana de los extractos hidroetanólicos de plántulas de los géneros *Drosera* y *Dionaea in vitro* y aclimatadas contra patógenos modelos de interés farmacéutico: *Escherichia coli* y *Bacillus cereus*. Se propagaron *in vitro* plantas de las especies *Drosera capensis* L. "Alba", *Drosera capensis* L. "All Red", *Drosera spatulata* L. y *Dionaea muscipula* J. Ellis, y se aclimataron durante tres meses. Posteriormente, las plántulas se maceraron con una solución 80:20 etanol:agua (v:v), para obtener extractos hidroetanólicos, mismos que se concentraron y liofilizaron. Se evaluó la actividad antibacteriana de los extractos hidroetanólicos contra *E. coli* y *B. cereus* mediante el bioensayo del medio envenenado, se realizaron cinéticas microbianas de 12 h por triplicado. Se evaluaron dos concentraciones diferentes de cada extracto, al 1% (0.03 mg mL<sup>-1</sup>) y 2% (0.06 mg mL<sup>-1</sup>). Se utilizó como testigo positivo el medio de cultivo con 150 µL de antibiótico comercial de amplio espectro (Ceftriaxona), para el testigo negativo se empleó la bacteria en el medio sin ningún tratamiento y como blanco se utilizaron 150 µL del extracto hidroetanólico. Se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento tomando como 100% el promedio de las absorbancias de los testigos negativos (bacteria sin ningún tratamiento), con el promedio de las absorbancias de los diferentes tratamientos. Todos los ensayos se realizaron por triplicado. Los datos fueron procesados utilizando el software MINITAB 18 STATISTICAL y el análisis estadístico se llevó a cabo mediante un análisis de varianza (ANDEVA) y una comparación de medias utilizando la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ). Los extractos hidroetanólicos de *D. spatulata* y *D. muscipula* presentaron un porcentaje de inhibición entre el 60 y 70% contra *E. coli* (Gram negativa), mostrando con ello actividad bacteriostática. Por otro lado, contra *B. cereus* (Gram positiva) los extractos hidroetanólicos del *D. spatulata* y *D. muscipula* ocasionaron un porcentaje de inhibición entre el 90 y 95% mostrando actividad bactericida. Se concluye que los extractos hidroetanólicos de las plantas carnívoras *D. spatulata* y *D. muscipula* inhiben el crecimiento las bacterias *Escherichia coli* y *Bacillus cereus*.

### INTRODUCCIÓN

Las plantas insectívoras o carnívoras, son especies muy populares gracias a su carácter exótico. Estas plantas crecen en sitios fangosos y con un alto nivel de humedad, en suelos ácidos y con déficit de nutrientes, por lo que, para poder sobrevivir, ingieren insectos y pequeños vertebrados (Lecoufle, 2006). Se denominan "carnívoras" ya que son capaces de degradar a sus presas a través de la actividad de diferentes enzimas degradativas como mecanismo adaptativo a la carencia de nutrientes en el medio (Schaefer y Ruxton, 2008).

Dentro de las modificaciones adaptativas de las plantas carnívoras para abastecerse de nutrimentos y sustancias para su crecimiento y desarrollo se encuentran hojas contráctiles y abundantes tricomas (Alvarado *et al.*, 2010). En específico, las plantas carnívoras del género *Drosera* son especies capaces de atraer y capturar a sus presas excretando sustancias adherentes tipo “mucílago”, conformado por xilosa, manosa, galactosa y ácido glucorúnicico, además de enzimas digestivas (Egan y van der Kooy, 2012). Dentro del género *Dionaea*, solo existe una especie, *Dionaea muscipula* Ellis, una de las especies más populares por la morfología de sus hojas cuchillas; cuentan con pelos sensitivos que al ser activados por su presa, éstos se cierran y la presa cae en la trampa, para posteriormente cerrarse y empezar el proceso de digestión (Volkov *et al.*, 2008).

Las plantas carnívoras pueden ser atacadas por patógenos debido la abundancia de éstos en los ambientes donde prosperan, lo que han evitado a través del desarrollo de mecanismos de defensa que incluyen barreras físicas, fisiológicas y bioquímicas (Cruz-Cruz *et al.*, 2015). Dentro de las respuestas bioquímicas se encuentran la estimulación de la síntesis y actividad de metabolitos secundarios, compuestos de bajo peso molecular implicados en funciones ecológicas, ya que pueden ser producidos en respuesta a infecciones o a algún tipo de estrés (Martínez, 2007). Se han reportado más de 50,000 metabolitos secundarios biológicamente activos provenientes de las plantas, incluyendo plantas carnívoras. Dentro de estos metabolitos se encuentran los flavonoides y las naftoquinonas, los cuales presentan actividad bacteriana, antifúngica y antioxidante (Kovacic *et al.*, 2012). Se ha demostrado que extractos de plantas carnívoras cuentan con actividad antibacteriana, por tal motivo, la presente investigación tuvo como objetivo evaluar la actividad antibacteriana de los extractos hidroetanólicos de plantas carnívoras de los géneros *Drosera* y *Dionaea* ante bacterias de interés farmacéutico.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Obtención del material biológico vegetal y bacteriano

Se utilizaron plantas de la especie *Drosera capensis* L. “Alba”, *Drosera capensis* L. “All Red”, *Drosera espatulata* L. y *Dionaea muscipula* Ellis, cultivadas *in vitro* y aclimatadas. Se obtuvieron cepas bacterianas de *Bacillus cereus* (bacteria Gram positiva) y *Escherichia coli* (bacteria Gram negativa).

### Propagación del material vegetal

Las plantas carnívoras se subcultivaron *in vitro* con un medio MS (Murashie y Skoog, 1962) con modificaciones a 1/3 de su composición para *Dionaea muscipula* Ellis y a 1/2 para las especies del género *Drosera*. Se ajustó el pH a 5.8 y se adicionaron 3.7 g L<sup>-1</sup> de Phytigel. El medio se esterilizó en una autoclave durante 15 min, a 121 °C con una presión de 1.05 kg cm<sup>-2</sup>. Las plantas carnívoras se sembraron en condiciones asépticas en una campana de flujo laminar vertical. Las plántulas se incubaron a una temperatura de 22 ± 2 °C, con un fotoperiodo de 16 h luz y 8 h de oscuridad. Las plántulas *in vitro* de *Dionaea muscipula* Ellis y *Drosera espatulata* L. de 8 semanas de edad se llevaron a aclimatar en invernadero a una temperatura de 28 ± 2 °C, con una humedad del 80%, con un periodo de 16 h luz y 8 h de oscuridad.

### Obtención del extracto

Se tomaron plántulas *in vitro* y aclimatadas de tres meses de edad, se lavaron con agua estéril, posteriormente se colocaron en papel filtro para eliminar el exceso de humedad y pesadas en una balanza analítica para obtener su peso fresco. En seguida fueron maceradas en un mortero con ayuda de un pistón estéril y nitrógeno líquido. El material macerado se llevó a una solución de EtOH:H<sub>2</sub>O (80:20, v:v), la solución se filtró en un matraz Erlenmeyer forrado con papel aluminio para evitar la fotooxidación. La solución se almacenó en un refrigerador a una temperatura de 4 ± 2 °C.

### Liofilización

Los extractos fueron llevados a un rotovapor marca IKA® para ser concentrados hasta aproximadamente una décima parte del volumen original. El extracto se vertió en frascos de 20 mL estériles forrados con papel aluminio y llevados a congelación a -6 ± 2 °C por 24 h. Se agregó nitrógeno líquido a los frascos con el extracto concentrado para asegurar su congelación y

posteriormente llevados a una liofilizadora marca LABCONCO® por tres días para obtener su peso seco.

#### **Filtración por membrana del extracto**

El extracto utilizado en los ensayos se realizó una solución stock con una concentración al 1% P/V (10 mg de peso seco y 1 mL de agua destilada estéril). La solución se realizó en una campana de flujo laminar en condiciones asépticas. Se recolectó agua estéril diluida con el extracto y con la ayuda de una jeringa de 5 mL, se pasó a un frasco de 20 mL, y posteriormente de pasó por un filtro de membrana para eliminar residuos y microorganismos contaminantes.

#### **Preparación de los medios de cultivo bacterianos**

Se utilizó el medio líquido Caldo Soya Trypticaseína para cultivar *E. coli*. Para ello se pesaron 22.5 g en 750 mL para cada bioensayo, se calentó a ebullición con agitación constante para disolver completamente, se ajustó el pH a  $7.3 \pm 0.2$ . Se vertieron 50 mL del medio en matraces Erlenmeyer de 125 mL y se esterilizaron en autoclave a  $121^\circ\text{C}$  con una presión de  $1.05\text{ kg cm}^{-2}$ . Para cultivar *B. cereus*, se utilizó el medio líquido Caldo nutritivo, se pesaron 6 g por 750 mL de agua para cada bioensayo, se calentó hasta ebullición con agitación constante, posteriormente se ajustó el pH a  $6.9 \pm 0.2$ . Se vertieron 50 mL en matraces Erlenmeyer de 125 mL para posteriormente esterilizarse en autoclave a  $121^\circ\text{C}$  con una presión de  $1.05\text{ kg cm}^{-2}$ .

#### **Bioensayo “Medio envenenado”**

Se realizaron cinéticas de crecimiento bacteriano de 12 h por cada extracto para las dos bacterias. Las cepas de *E. coli* y *B. cereus* se activaron agregando 50  $\mu\text{L}$  del criobial a los 50 mL del medio específico para cada bacteria. Se esperaron 18 h para empezar con la medición de cinética, ya que este tiempo es el necesario para que las bacterias se multipliquen y se encuentren en su estado exponencial de crecimiento. Posteriormente se inocularon 5 mL del medio de crecimiento a 45 mL de medio a cada matraz que se ocupará para la cinética de crecimiento. Para el bioensayo se realizaron tres réplicas por tratamiento, en tres matraces se agregaron 150  $\mu\text{L}$  del extracto con el medio correspondiente, equivalentes a  $0.03\text{ mg mL}^{-1}$ . En otros tres matraces se agregaron 300  $\mu\text{L}$  del extracto, equivalente a  $0.06\text{ mg mL}^{-1}$ . Se realizaron réplicas del control positivo agregando 150  $\mu\text{L}$  del antibiótico comercial (Ceftriaxona) de amplio espectro. Para el blanco, a cada réplica se le agregó 150  $\mu\text{L}$  de extracto y el medio correspondiente. El control negativo se utilizó para obtener el crecimiento exponencial de la bacteria sin ningún tratamiento. Los matraces se inocularon con el medio correspondiente.

Por cada hora se tomó una muestra de 1000  $\mu\text{L}$  en una campana de flujo laminar en condiciones asépticas para posteriormente llevarse al espectrofotómetro (JENWAY 6305) para medir la absorbancia a una longitud de onda de 620 nm. Con la absorbancia del control negativo se obtuvo del crecimiento bacteriano. Se realizaron cuadros ocupando el promedio de las absorbancias de cada réplica, donde se utilizó la absorbancia contra el tiempo y así observar el crecimiento en los tratamientos.

#### **Análisis estadístico**

El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando el software MINITAB 18 STATISTICAL. Los resultados fueron procesados y presentados como medias y error estándar ( $\pm\text{EE}$ ). Para comparar la efectividad del tratamiento, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y una comparación de medias utilizando la prueba de Tukey con un valor de  $P \leq 0.05$  para determinar las diferencias significativas entre los tratamientos.

## **RESULTADOS**

Al exponer las cepas de *Escherichia coli* con los extractos de *D. capensis* L. “All Red” *in vitro*, se observó un porcentaje de inhibición entre 66.34 con  $0.03\text{ mg mL}^{-1}$  y 65.17% con  $0.06\text{ mg mL}^{-1}$ , presentándose una diferencia significativa con el control negativo (**Cuadro 1**).

Cuadro 1. Porcentaje de inhibición de *E. coli* ante los diferentes tratamientos del extracto *D. capensis* L. "All Red" *in vitro*

Tratamiento	Inhibición (%)
Blanco	98.76 ± 0.55 a
Control positivo	97.90 ± 0.83 a
Control negativo	00.00 ± 0.00 c
Extracto 0.03 mg mL <sup>-1</sup>	66.34 ± 0.76 b
Extracto 0.06 mg mL <sup>-1</sup>	65.17 ± 0.67 b

Los valores representan la media ± error estándar. Medidas con diferente letra dentro de la columna son significativamente diferentes (Tukey, P≤0.05) a las 12 horas del ensayo.

Al exponer las cepas de *Escherichia coli* a los extractos de *D. capensis* L. "Alba" *in vitro*, se observó un porcentaje de inhibición del extracto 0.03 mg mL<sup>-1</sup> del 64.98% y el extracto 0.06 mg mL<sup>-1</sup> del 70.10%, ambos con diferencias estadísticas significativas respecto al control negativo (**Cuadro 2**).

Cuadro 2. Porcentaje de inhibición de *E. coli* ante los diferentes tratamientos del extracto *D. capensis* L. "Alba" *in vitro*.

Tratamiento	Inhibición (%)
Blanco	99.55 ± 0.11 a
Control positivo	97.39 ± 0.33 a
Control negativo	00.00 ± 0.00 c
Extracto 0.03 mg mL <sup>-1</sup>	64.98 ± 2.35 b
Extracto 0.06 mg mL <sup>-1</sup>	70.10 ± 4.97 b

Los valores representan la media ± error estándar. Medidas con diferente letra dentro de la columna son significativamente diferentes (Tukey, P≤0.05) a las 12 horas del ensayo.

En las cepas de *Escherichia coli* expuestas al extracto de *D. muscipula* E. *in vitro* se observó un porcentaje de inhibición de 65.20% al aplicar 0.03 mg mL<sup>-1</sup> y de 66.25% con el extracto 0.06 mg mL<sup>-1</sup>. Ambos extractos presentando una diferencia significativa con el control negativo (**Cuadro 3**).

Cuadro 3. Porcentaje de inhibición de *E. coli* ante los diferentes tratamientos del extracto *D. muscipula* E. *in vitro*.

Tratamiento	Inhibición (%)
Blanco	98.09 ± 0.75 a
Control positivo	97.90 ± 0.84 a
Control negativo	00.00 ± 0.00 c
Extracto 0.03 mg mL <sup>-1</sup>	65.20 ± 0.52 b
Extracto 0.06 mg mL <sup>-1</sup>	66.25 ± 0.64 b

Los valores representan la media ± error estándar. Medidas con diferente letra dentro de la columna son significativamente diferentes (Tukey, P≤0.05) a las 12 horas del ensayo.

Al exponer las cepas de *E. coli* a los extractos de *D. espatulata* L. *in vitro* se observó un porcentaje de inhibición del 71.30% al aplicar 0.03 mg mL<sup>-1</sup> y de 76.30% con el extracto a 0.06 mg mL<sup>-1</sup>. En ambos casos se aprecian diferencias estadísticas significativas respecto al control negativo (**Cuadro 4**).

Cuadro 4. Porcentaje de inhibición de *E. coli* ante los diferentes tratamientos del extracto *D. espatulata* L. *in vitro*

Tratamiento	Inhibición (%)
Blanco	98.09 ± 0.75 a
Control positivo	97.90 ± 0.84 a
Control negativo	00.00 ± 0.00 d
Extracto 0.03 mg mL <sup>-1</sup>	71.30 ± 0.39 c
Extracto 0.06 mg mL <sup>-1</sup>	76.30 ± 0.94 b

Los valores representan la media ± error estándar. Medidas con diferente letra dentro de la columna son significativamente diferentes (Tukey, P≤0.05) a las 12 horas del ensayo.

Al emplear extractos de plantas de la especie *D. espatulata* L. ya aclimatadas en condiciones de invernaderos, la aplicación de 0.03 mg mL<sup>-1</sup> del extracto inhibió 74.32% el crecimiento de las cepas de *E. coli*, en tanto que al aplicar 0.06 mg mL<sup>-1</sup> de este mismo extracto la inhibición de las bacterias fue de 74.47%. Ambos extractos presentan diferencias significativas con el control negativo (**Cuadro 5**).

Cuadro 5. Porcentaje de inhibición de *E. coli* ante los diferentes tratamientos del extracto *D. espatulata* L. aclimatada.

Tratamiento	Inhibición (%)
Blanco	98.09 ± 0.75 a
Control positivo	97.90 ± 0.84 a
Control negativo	00.00 ± 0.00 c
Extracto 0.03 mg mL <sup>-1</sup>	74.32 ± 0.41 b
Extracto 0.06 mg mL <sup>-1</sup>	74.47 ± 0.89 b

Los valores representan la media ± error estándar. Medidas con diferente letra dentro de la columna son significativamente diferentes (Tukey, P≤0.05) a las 12 horas del ensayo.

Al emplear extractor de plantas de la especie *D. muscipula* Ellis ya aclimatadas, el porcentaje de *E. coli* al aplicar 0.03 mg mL<sup>-1</sup> fue de 69.78%, mientras que al aplicar 0.06 mg mL<sup>-1</sup> este porcentaje fue de 70.49%. Se observa una diferencia significativa con el control negativo (**Cuadro 6**).

Cuadro 6. Porcentaje de inhibición de *E. coli* ante los diferentes tratamientos del extracto *D. muscipula* E. aclimatada.

Tratamiento	Inhibición (%)
Blanco	99.36 ± 0.24 a
Control positivo	96.25 ± 0.62 a
Control negativo	00.00 ± 0.00 c
Extracto 0.03 mg mL <sup>-1</sup>	69.78 ± 0.72 b
Extracto 0.06 mg mL <sup>-1</sup>	70.49 ± 0.52 b

Los valores representan la media ± error estándar. Medidas con diferente letra dentro de la columna son significativamente diferentes (Tukey, P≤0.05) a las 12 horas del ensayo.

En resumen, se pudo observar un porcentaje de inhibición de *Escherichia coli* que fluctuó entre 64-74% al aplicar las diferentes concentraciones de los extractos de las plantas carnívoras ya sea crecidas *in vitro* o aclimatadas. Al ser *E. coli* una bacteria Gram negativa, presentan mecanismos de defensa ante antibióticos y cambios en la permeabilidad de membrana, lo que ocasiona que los extractos muestran actividad bacteriostática más que bactericida (Tafur *et al.*, 2008).



Respecto a las respuestas de la bacteria *Bacillus cereus* a los extractos de *D. capensis* L. "All Red" *in vitro*, se observó que al aplicar 0.03 mg mL<sup>-1</sup> la inhibición fue de 91.95%, mientras que al aplicar 0.06 mg mL<sup>-1</sup> la reducción fue del 91.36%, y ambos tratamientos presentaron diferencias significativas respecto al control negativo (**Cuadro 7**).

Cuadro 7. Porcentaje de inhibición de *Bacillus cereus* ante los diferentes tratamientos del extracto *D. capensis* L. "All Red" *in vitro*.

Tratamiento	Inhibición (%)
Blanco	98.42 ± 0.39 a
Control positivo	97.92 ± 2.70 a
Control negativo	00.00 ± 0.00 c
Extracto 0.03 mg mL <sup>-1</sup>	91.95 ± 0.69 b
Extracto 0.06 mg mL <sup>-1</sup>	91.36 ± 0.29 b

Los valores representan la media ± error estándar. Medidas con diferente letra dentro de la columna son significativamente diferentes (Tukey, P≤0.05) a las 12 horas del ensayo.

Al tratar las cepas de *Bacillus cereus* con 0.03 mg mL<sup>-1</sup> del extracto de *D. capensis* L. "Alba" cultivada *in vitro*, la inhibición fue del 92.66% y de 92.27% al tratarlas con 0.06 mg mL<sup>-1</sup>. Se observó diferencia significativa de ambos extractos con el control negativo (**Cuadro 8**).

Cuadro 8. Porcentaje de inhibición de *B. cereus* ante los diferentes tratamientos del extracto *D. capensis* L. "alba" *in vitro*.

Tratamiento	Inhibición (%)
Blanco	99.34 ± 0.89 a
Control positivo	99.20 ± 0.57 a
Control negativo	00.00 ± 0.00 c
Extracto 0.03 mg mL <sup>-1</sup>	92.66 ± 0.55 b
Extracto 0.06 mg mL <sup>-1</sup>	92.27 ± 0.12 b

Los valores representan la media ± error estándar. Medidas con diferente letra dentro de la columna son significativamente diferentes (Tukey, P≤0.05) a las 12 horas del ensayo.

De los extractos de *D. muscipula* E. cultivada *in vitro*, se puede observar que el porcentaje de inhibición de *B. cereus* fue de 91.75% al aplicar 0.03 mg mL<sup>-1</sup>, y de 91.16% al aplicar 0.06 mg mL<sup>-1</sup> (**Cuadro 9**).

Cuadro 9. Porcentaje de inhibición de *Bacillus cereus* ante los diferentes tratamientos del extracto *D. muscipula* E. *in vitro*.

Tratamiento	Inhibición (%)
Blanco	98.30 ± 0.69 a
Control positivo	97.57 ± 2.71 a
Control negativo	00.00 ± 0.00 c
Extracto 0.03 mg mL <sup>-1</sup>	91.75 ± 0.11 b
Extracto 0.06 mg mL <sup>-1</sup>	91.16 ± 0.40 b

Los valores representan la media ± error estándar. Medidas con diferente letra dentro de la columna son significativamente diferentes (Tukey, P≤0.05) a las 12 horas del ensayo.

Al utilizar extractos de *D. espatulata* L. crecida in vitro, se pudo observar un porcentaje de inhibición de 94.99% de *B. cereus* al tratarse con 0.03 mg mL<sup>-1</sup>, y de 95.36% de inhibición al exponerse a 0.06 mg mL<sup>-1</sup> del extracto. Importante destacar que en ambos casos hubo diferencias significativas con el control negativo (**Cuadro 10**).

Cuadro 10. Porcentaje de inhibición de *B. cereus* ante los diferentes tratamientos del extracto *D. espatulata* L. in vitro.

Tratamiento	Inhibición (%)
Blanco	98.29 ± 0.69 a
Control positivo	99.19 ± 0.56 a
Control negativo	00.00 ± 0.00 c
Extracto 0.03 mg mL <sup>-1</sup>	94.99 ± 0.26 b
Extracto 0.06 mg mL <sup>-1</sup>	95.36 ± 0.15 b

Los valores representan la media ± error estándar. Medidas con diferente letra dentro de la columna son significativamente diferentes (Tukey, P≤0.05) a las 12 horas del ensayo.

En las cepas de *Bacillus cereus* expuestas a 0.03 mg mL<sup>-1</sup> del extracto de *D. muscipula* E. aclimatada, la inhibición del crecimiento fue de 92.61%, en tanto que al aplicar 0.06 mg mL<sup>-1</sup> esta inhibición fue del 91.66%. En ambos se observaron diferencias significativas con el control negativo (**Cuadro 11**).

Cuadro 11. Porcentaje de inhibición de *Bacillus cereus* ante los diferentes tratamientos del extracto *D. muscipula* E. aclimatada.

Tratamiento	Inhibición (%)
Blanco	99.43 ± 0.22 a
Control positivo	99.20 ± 0.57 a
Control negativo	00.00 ± 0.00 c
Extracto 0.03 mg mL <sup>-1</sup>	92.61 ± 0.34 b
Extracto 0.06 mg mL <sup>-1</sup>	91.66 ± 0.21 b

Los valores representan la media ± error estándar. Medidas con diferente letra dentro de la columna son significativamente diferentes (Tukey, P≤0.05) a las 12 horas del ensayo.

En el **Cuadro 12** se observa que la inhibición de *Bacillus cereus* con los extractos de *D. espatulata* L. aclimatada fue de 98.37% al aplicar 0.03 mg mL<sup>-1</sup> y de 98.45% al aplicar 0.06 mg mL<sup>-1</sup> del extracto de esta carnívora.

Cuadro 12. Porcentaje de inhibición de *Bacillus cereus* ante los diferentes tratamientos del extracto *D. espatulata* L. aclimatada.

Tratamiento	Inhibición (%)
Blanco	98.30 ± 0.69 a
Control positivo	99.19 ± 0.56 a
Control negativo	00.00 ± 0.00 c
Extracto 0.03 mg mL <sup>-1</sup>	98.37 ± 0.17 b
Extracto 0.06 mg mL <sup>-1</sup>	98.45 ± 0.23 b

Los valores representan la media ± error estándar. Medidas con diferente letra dentro de la columna son significativamente diferentes (Tukey, P≤0.05) a las 12 horas del ensayo.

En resumen, los porcentajes de inhibición de *Bacillus cereus* oscilaron entre 91 y 98% al exponer a esta bacteria Gram positivo a los extractos de las plantas carnívoras descritas. Este porcentaje es mucho más alto, y puede ser atribuido a la propia naturaleza de la bacteria Gram positivo, cuya membrana plasmática es más permeable a las moléculas contenidas en los extractos, lo que le hace más susceptible a compuestos con actividad antibacteriana. Por lo tanto, los extractos aquí probados tienen actividad bactericida (Krolicka *et al.*, 2009).

## CONCLUSIÓN

Con los resultados anteriores, podemos concluir que los extractos hidroetánicos de plantas carnívoras de los géneros *Drosera* y *Dionaea*, presentan una actividad bacteriostática ante *Escherichia coli* y una actividad bactericida contra *Bacillus cereus*. Los extractos de plantas cultivadas *in vitro* y plantas aclimatadas no presentaron diferencias estadísticas significativas y el aumento de la concentración del extracto no mostró efecto sobre el porcentaje de inhibición.

## BIBLIOGRAFÍA

1. A. G. Volkov, T. Adesina, V. S. Markin, E. Jovanov. Kinetics and mechanism of *Dionaea muscipula* trap closing. *Plant Physiology*. 2008, pp. 694-702.
2. A. Krolicka, A. Szpitter, M. Maciag, E. Biskup, E. Gilgenast, G. Romanik, E. Lojkowska. Antibacterial and antioxidant activity of the secondary metabolites from *in vitro* cultures of the Alice sundew (*Drosera aliciae*). *Biotechnology and Applied Biochemistry*. 2009, pp. 175-184.
3. C. Cruz-Cruz. Los metabolitos secundarios en la interacción planta-patógeno: fitoprotectores y fitotoxinas. *Temas selectos de Química de Productos Naturales*. 2015, pp. 475-492.
4. E. C. Martínez. *Manual de fitoterapia*. Barcelona: Elsevier. 2007.
5. H. P. Eilenberg, Y. S. Rahamim. Induced production of antifungal naphthoquinones in the pitchers of the carnivorous plant *Nepenthes khasiana*. *Journal of Experimental Botany*. 2010, pp. 22-39.
6. J. Alvarado, H. Vasquez, G. E. Delgado, D. Trevisan, O. Horna, J. Pereira, C. Rojas. Inhibitory activity of *in vitro* plants from *Drosera capillaris* against *Mycobacterium tuberculosis*. *Revista Biología*. 2010, pp. 353-358.
7. J. D. Tafur, J. A. Torres, M. V. Villegas. Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. *Asociación Colombiana de Infectología*. 2008, pp. 217-226.
8. J. Kovacik, B. Klejdus, K. Repečakova. Phenolic metabolites in carnivorous plants: inter specific comparison and physiological studies. *Plant physiology*. 2012, pp. 7-12.
9. M. H. Schaefer, G. D. Ruxton. Fatal attraction: carnivorous plants roll out the red carpet to capture insects. *Biology Letters*. 2008, pp. 153-155.
10. M. Lecoufle. *Plantes Carnivores*. Chamalières: Losange. 2006.
11. P. A. Egan, F. van der Kooy. Coproduction and ecological significance of naphthoquinones in carnivorous sundews (*Drosera*). *Chemistry & Biodiversity*. 2012, pp. 1033-1044.
12. R. Banasiuk, A. Kawlak, A. Królicka. *In vitro* cultures of carnivorous plants from the *Drosera* and *Dionaea* genus for the production of biologically active secondary metabolites. *Biotechnologia Journal of Biotechnology, Computational Biology and Bionanotechnology*. 2012, pp. 87-96.

## PARÁMETROS DE CRECIMIENTO Y CALIDAD EN ALCATRAZ CULTIVAR GOLD FEVER EN RESPUESTA A LA APLICACIÓN DE FOSFITO

Nadia Issaí Torres Flores, Fernando Carlos Gómez Merino, María Guadalupe Peralta Sánchez, Olga Tejeda Sartorius, Gabriela Abigail Guzmán Báez y Libia Iris Trejo Téllez.

COLEGIO DE POSTGRADUADOS.  
[nadia-ceaz@hotmail.com](mailto:nadia-ceaz@hotmail.com)

### RESUMEN

En esta investigación se evaluaron los efectos de tres concentraciones de Phi (0, 0.075 y 0.150 mM) en parámetros de crecimiento y calidad (altura de planta, número de hojas, número de espatas, diámetro apical, medio y basal de tallos, longitud de tallo, longitud de espata, diámetro de espata y longitud de raíz) de plantas de alcatraz variedad Gold Fever medidos en la fase de plena floración. Cada tratamiento tuvo cinco repeticiones. La unidad experimental fue un rizoma en una bolsa de polietileno negro con tezontle y agrolita como sustrato. El Phi fue adicionado a la solución nutritiva Steiner al 50%. Los tratamientos iniciaron 15 días después de la plantación y se mantuvieron durante el ciclo del cultivo, realizándose tres riegos por semana de 200 mL por unidad experimental. Los tratamientos no tuvieron efecto en los diámetros apical, medio y basal, así como en la longitud de la raíz. Por el contrario, la dosis 0.150 mM Phi incrementó en 15.7% la altura de planta, en 28.9% el número de hojas, en 21.1% la longitud del tallo y en 76.8% el diámetro de espata, en todos los casos respecto al testigo. Sin embargo, se observó que el Phi, en ambas dosis evaluadas, redujo significativamente el número de espatas. Se concluye que la aplicación de Phi durante el ciclo del cultivo de alcatraz cv. Gold Fever favorece con la dosis de 0.150 mM, los parámetros de crecimiento y calidad, pero reduce el número de espatas; lo cual indica que probablemente dosis menores a ésta, pero superiores a 0.075 mM pudieran tener efectos positivos en crecimiento y calidad, sin reducir el número de espatas.

### INTRODUCCIÓN

A través de los años, la floricultura se ha convertido en una de las actividades más rentables en el sector agrícola, ya que permite obtener una importante derrama económica gracias a la demanda que se genera en el mercado tanto nacional como internacional (SAGARPA, 2018).

Por otra parte, el uso de fosfito, en la agricultura ha crecido por los múltiples beneficios que se han conseguido con su aplicación en diferentes cultivos (Carmona, 2011). Los compuestos conocidos como "fosfitos", son aniones derivados del ácido fosforoso; son una forma reducida de fosfato (Pi) y son considerados como bioestimulantes en la horticultura. Estos aniones se combinan con distintos elementos como calcio, cobre, manganeso, magnesio, potasio o zinc y pueden ser utilizados como fertilizantes foliares específicos, también se ha demostrado que promueven el crecimiento y estimulan en la planta la activación de mecanismos de defensa contra enfermedades y otros factores de estrés, lo que ha llevado al incremento en el rendimiento y en la calidad de los cultivos (Estrada-Ortiz *et al.*, 2011; Rivera, 2012; Estrada-Ortiz *et al.*, 2013; Estrada-Ortiz, 2014; Gómez-Merino y Trejo-Téllez, 2015).

Si bien el Phi ha mostrado diversas bondades en la producción de cultivos, no se han documentado sus efectos en especies ornamentales. En este contexto, este trabajo tuvo como objetivo la evaluación de los efectos que el Phi tiene en el crecimiento y calidad del alcatraz variedad Gold Fever, cuando se suministra durante todo el ciclo productivo junto con la solución nutritiva.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron rizomas de alcatraz de la variedad Golden Fever, la cual presenta hojas verdes moteadas y espatas amarillas. Los rizomas fueron comprados a la empresa Floraplant, S. A. de C. V.

La investigación se desarrolló bajo condiciones de invernadero en el Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. El sustrato utilizado fue una mezcla de tezontle (tamaño de partícula entre 5 y 8 mm) + Agrolita® en proporciones 70/30 (v/v). El sustrato fue colocado en bolsas de polietileno negro

de 30 x 30 cm, donde se plantó un rizoma por bolsa. Cada bolsa fue considerada como una unidad experimental.

Los tratamientos consistieron en tres concentraciones de Phi: 0, 0.075 y 0.15 mM empleando como fuente  $H_3BO_3$ . Las dosis de Phi fueron suministradas durante el desarrollo del cultivo a través de la solución nutritiva de Steiner al 50% (Steiner, 1984). Las dosis de Phi corresponden al 0, 15 y 30% del P como fosfato contenido en la solución nutritiva. Estas concentraciones permiten garantizar la suficiencia de fósforo como fosfato.

El diseño experimental utilizado fue completamente al azar con cinco repeticiones por tratamiento. La aplicación de los tratamientos se inició 15 días después de la plantación, aplicando 200 mL por bolsa tres veces por semana.

Las variables de crecimiento y calidad evaluadas fueron: altura de planta, número de hojas, número de espatas, diámetro apical, medio y basal de tallos, longitud de tallo, longitud de espata, diámetro de espata y longitud de raíz. Dichas variables se determinaron cuando se alcanzó la plena floración como se observa en la **Figura 1**.

Con los resultados obtenidos se realizó un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias (LSD,  $P \leq 0.05$  %) empleando el software Statistical Analysis System (SAS, 2002).



Figura 1. Plantas de alcatraz variedad Golden Fever en plena floración, cuando se realizaron evaluaciones de rendimiento y calidad por efecto del suministro de fosfito.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de los parámetros de crecimiento son presentados en el **Cuadro 1**. Se observa que, la dosis 0.15 mM Phi incrementó en 15.7% la altura de planta, en 21% la longitud del tallo y en 28.9% el número de hojas; en todos los casos respecto al testigo. Por el contrario, ambas dosis de Phi evaluadas redujeron de manera significativa el número de espatas respecto al testigo. Por otra parte, el Phi no tuvo efectos en la longitud de raíz.

Cuadro 1. Efecto del Phi en la solución nutritiva de Steiner al 50%, en alcatraz variedad Gold Fever, en parámetros de crecimiento.

Phi (mM)	Altura de planta (cm)	Longitud de tallo (cm)	Número de hojas	Número de espatas	Longitud de raíz (cm)
0.000	38.3 b	26.9 b	7.6 b	1.6 a	13.4 a
0.075	43.0 ab	29.1 b	7.4 b	0.8 b	13.9 a
0.150	44.4 a	32.6 a	9.8 a	0.6 b	12.7 a

Medias con letras distintas en cada columna por factor de estudio, son diferentes estadísticamente (LSD,  $P \leq 0.05$ ).

Si bien el Phi redujo el número de espatas, se observó que la dosis 0.150 mM Phi incrementa la longitud de éstas con aumentos del orden de 13.6%, respecto al testigo (Cuadro 2).

Cuadro 2. Efecto del Phi en la solución nutritiva de Steiner al 50%, en alcatraz variedad Gold Fever, en parámetros de calidad.

Phi (mM)	Longitud de espata (cm)	Diámetro de espata (cm)	Diámetro de tallo apical (cm)	Diámetro de tallo medio (cm)	Diámetro de tallo basal (cm)
0.000	6.6 ab	3.7 b	0.480 a	0.548 a	0.593 a
0.075	6.5 b	6.1 a	0.515 a	0.523 a	0.578 a
0.150	7.5 a	6.5 a	0.502 a	0.550 a	0.623 a

Medias con letras distintas en cada columna por factor de estudio, son diferentes estadísticamente (LSD,  $P \leq 0.05$ ).

De la misma manera, el diámetro de espata fue incrementado en los tratamientos con Phi; destacando un incremento del 75.6% con la dosis 0.150 mM Phi, respecto al testigo. Por otra parte, los diámetros de tallo evaluados en las tres posiciones no presentaron diferencias estadísticas significativas (**Cuadro 2**).

En ornamentales, no existen reportes sobre los efectos de Phi en rendimiento y calidad. Por el contrario, en otras especies como fresa se ha documentado que el Phi incrementa la calidad, donde la adición de 20% del P total como Phi en la solución nutritiva mejoró ligeramente el rendimiento y el tamaño de la fruta; asimismo, las concentraciones más altas de pH, CE y antocianinas se identificaron en el fruto de las plantas tratadas con 30% del P total como Phi en la solución nutritiva (Estrada-Ortiz *et al.*, 2013).

## CONCLUSIÓN

Se concluye que la aplicación de 0.150 mM Phi durante el ciclo del cultivo de alcatraz variedad Gold Fever favorece los parámetros calidad; no obstante, se observa reducción en el número de espatas. Por tanto, es recomendable que en futuros estudios se evalúen otras dosis de Phi para encontrar los rangos exactos de efectos horméticos que permitan favorecer tanto el rendimiento como la calidad de alcatraz.

## BIBLIOGRAFÍA

1. A. Steiner, "The universal nutrient solution", *in*: ISOSC Proceedings 6th International Congress on Soilless Culture. The Netherlands. 1984. pp. 633-649.
2. E. Estrada Ortiz, 2014. "Fosfito en el metabolismo de hortalizas de hoja". Tesis de Doctorado en Ciencias. Postgrado en Edafología. Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados.
3. E. Estrada-Ortiz, O., L. I. Trejo-Téllez, F. C. Gómez-Merino, R. Núñez-Escobar, M. Sandoval-Villa, "Respuestas bioquímicas en fresa al suministro de fósforo en forma de fosfito", *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 2011, Vol. 17, 3, pp. 129-138.

4. E. Estrada-Ortíz, O., L. I. Trejo-Téllez, F. C. Gómez-Merino, R. Núñez-Escobar, M. Sandoval-Villa, "The effects of phosphite on strawberry yield and fruit quality", *Revista Chapingo Serie Horticultura* 2011, Vol. 17, 3, pp. 129-138.
5. F. C. Gómez-Merino, L. I. Trejo-Téllez, "Biostimulant activity of phosphite in horticulture". *Scientia Horticulturae*, 2015, Vol. 196, pp. 82-90.
6. M. Carmona, F. Sautua, "Impacto de la Nutrición y de Fosfitos en el Manejo de Enfermedades en Cultivos Extensivos de la Región Pampeana", IPNI y Fertilizar. Rosario, Argentina. 2011, pp. 73-82.
7. P. Rivera, "El uso de los fosfitos en las plantas" ([revistatierraadentro.com](http://revistatierraadentro.com)), 2012, Documento consultado en línea el 13 de julio 2021.
8. SAGARPA, "Floricultura, cultivando belleza y ganancias", *Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Gobierno | gob.mx (www.gob.mx)*, 2018, Documento consultado en línea el 13 de julio 2021.
9. SAS. SAS High-Performance Forecasting 2.2: User's Guide. (Vol. 1 & 2). Cary, NC: SAS Institute Inc. Ver. 9), 2002, 652 p.

## EL NEODIMIO AFECTA EL DIÁMETRO DE TALLO DE PLANTAS DE CAÑA DE AZÚCAR

Víctor José Ramírez-Antonio<sup>1</sup>, Fernando Carlos Gómez-Merino<sup>1</sup>, Libia Iris Trejo-Téllez<sup>2</sup>, Sara Monzerrat Ramírez-Olvera<sup>2</sup>, Josafhat Salinas Ruiz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Colegio de Postgraduados Campus Córdoba. Carretera Federal Córdoba-Veracruz km 348, Congregación Manuel León, Amatlán de los Reyes 94953, Veracruz, México. <sup>2</sup>Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco 56230, Estado de México, México.

E-mail autor principal: [victor\\_ramirez\\_97@hotmail.com](mailto:victor_ramirez_97@hotmail.com)

### RESUMEN

El neodimio (Nd) es un metal de transición que pertenece al grupo de los lantánidos, y se ha empleado para distintos propósitos en las industrias química y tecnológica. Los lantánidos han sido utilizados también en la agricultura en distintos cultivos, observándose mejoras en la fisiología y metabolismo de diversas especies. Dentro de los lantánidos, el Nd ha sido de los menos estudiados en el contexto de producción de cultivos. La caña de azúcar es un cultivo de importancia económica debido a sus distintos usos y su área de siembra, no obstante, durante sus etapas iniciales de crecimiento es vulnerable a diferentes factores que causan estrés, por lo que se requiere implementar estrategias para mejorar su desarrollo. El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto en la adición de  $\text{NdCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  en el diámetro del tallo de plántulas de caña de azúcar var. Mex 69-290. Yemas de tallos maduros de 4 meses de edad se sembraron en sustrato conformado por tezontle:turba (relación 1:1; v:v) dentro de macetas de plástico de 10 cm de altura. Los tratamientos se adicionaron un día después de la siembra, los cuáles fueron 0, 50, 100 y 150  $\mu\text{M}$  Nd, y después cada siete días durante 21 d. Se tomaron lecturas del diámetro del tallo con un vernier digital (Trupper; CALDI-6MP) de plantas de cada tratamiento, a los 15, 17, 19 y 21 d después del inicio de las aplicaciones (ddia). A los 15 ddia ninguna concentración ocasionó diferencias significativas en el diámetro del tallo. A los 17 ddia la concentración 150  $\mu\text{M}$  Nd redujo significativamente el diámetro del tallo en comparación con el tratamiento testigo. A los 19 y 21 ddia no se mostró ningún efecto significativo en los tratamientos respecto al testigo, aunque el tratamiento 100  $\mu\text{M}$  Nd presentó mayor diámetro que el tratamiento 150  $\mu\text{M}$  Nd. Se concluye que la aplicación de 150  $\mu\text{M}$  Nd reduce el diámetro de tallo en los primeros días de aplicación, posteriormente no presentan efectos significativos.

### INTRODUCCIÓN

Los elementos tierras raras (REE), incluyen a los lantánidos, los cuales son metales de transición con número atómico del 57-71 en la tabla periódica. Están presentes en forma de óxido en la corteza terrestre y pueden estar presentes en cantidades traza en fertilizantes. Estos elementos han demostrado ser muy importantes en la agricultura, debido a que presentan beneficios en el metabolismo vegetal (Hu *et al.*, 2004). Entre estos elementos se encuentra el neodimio (Nd) uno de los REE mas abundantes en la corteza terrestre junto con el lantano (La) y el cerio (Ce) (Sánchez-Puche, 2000). El Nd ha sido utilizado para realizar imanes de alta intensidad, discos duros para computadoras y teléfonos y partes de motores; aunque se ha utilizado en la agronomía, existen pocas investigaciones en cultivos de interés económico (Martínez Cortés y del Valle Giles, 2014).

Uno de los cultivos mas importantes económicamente a nivel internacional es la caña de azúcar, ya la cadena de valor genera millones de empleos tanto de forma directa como indirecta, y es un cultivo capaz de producir distintos insumos útiles en el área azucarera, bioenergética y química (Gómez-Merino *et al.*, 2017). Con una producción de 5,278,320 t, y una superficie sembrada de cerca de 800 mil hectáreas, México es uno de los principales productores de azúcar de caña del mundo (FAO, 2019; CONADESUC, 2020), lo que arroja un rendimiento promedio de 66.74 t ha<sup>-1</sup>, el cual es bajo respecto a otros países.

El bajo rendimiento y producción de la caña de azúcar en México es debido a distintos factores bióticos y abióticos que lo afectan, entre ellas se encuentran los aspectos climatológicos, las plagas,



la deficiencia de nutrimentos en el suelo y un mal manejo en la fertilización del cultivo, pese a que se buscan inversiones para mejorar la infraestructura de los ingenios, sistemas de riego y el manejo de nuevas variedades, se siguen presentando bajos niveles de producción y rendimiento, por lo que es necesario buscar nuevas estrategias para mejorar estos aspectos (Figueroa *et al.*, 2015). Por tal motivo el objetivo de esta investigación fue determinar el efecto en la adición de  $\text{NdCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  en el diámetro del tallo de plántulas de caña de azúcar var. Mex 69-290.

### MATERIALES Y MÉTODOS

En macetas de polietileno de 10 cm, se sembraron 144 yemas de caña de azúcar de la variedad Mex 69-290, con una edad de 10 meses ciclo planta. Las yemas fueron sembradas en un sustrato con una composición de turba:tezontle (1:1; v:v), las yemas fueron regadas un día después de sus siembra y posteriormente cada 7 días con los siguientes tratamientos: 0, 50, 100 y 150  $\mu\text{M}$   $\text{NdCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , cada tratamiento constó de 3 réplicas. Con la ayuda de un vernier digital (Trupper; Caldi-6MP) se midió el diámetro del tallo a los 15, 17, 19 y 21 días después del inicio del tratamiento (ddit). Los datos obtenidos se analizaron a través de una prueba de comparación de medias Tukey ( $p < 0.05$ ) por medio del software estadístico SAS versión 9.

### RESULTADOS

A los 15 ddit, el testigo, el tratamiento 50 y 100  $\mu\text{M}$  Nd no presentaron diferencias significativas entre ellas, sin embargo, podemos notar por medio de las medias registradas, que el tratamiento 100  $\mu\text{M}$  Nd fue un poco superior a los demás tratamientos. El tratamiento 150  $\mu\text{M}$  Nd no presentó datos debido a que en ese momento no se presentó alguna emergencia de parte de las yemas (**Figura 1**).

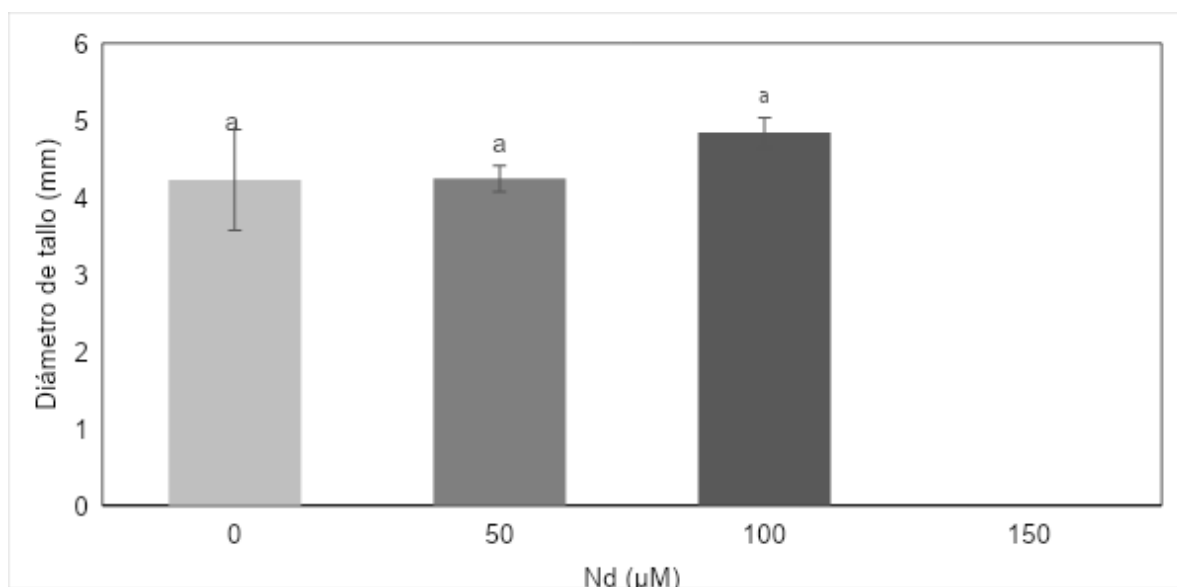


Figura 1. Diámetro de plantas de caña de azúcar tratadas con neodimio a los 15 días después del inicio del tratamiento.

Posteriormente, a los 17 ddit nuevamente se observa que el testigo junto a los tratamientos 50 y 100  $\mu\text{M}$  Nd no presentan diferencias significativas entre ellos, lo que nos indica que la adición de los tratamientos 50 y 100  $\mu\text{M}$  no causan un efecto significativo al testigo. Sin embargo, si se observa una diferencia significativa con el tratamiento 150  $\mu\text{M}$ , donde se observa una disminución en el diámetro de la planta de caña (**Figura 2**).

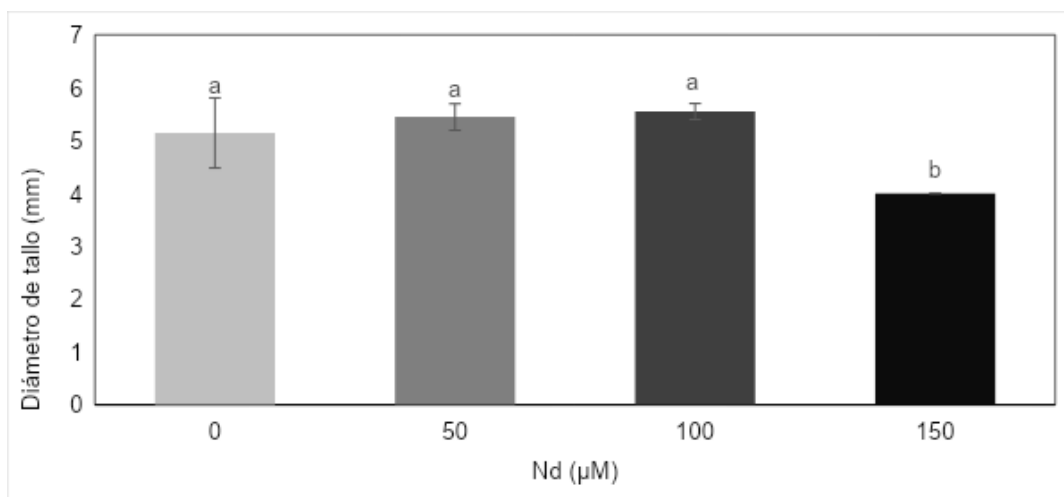


Figura 2. Diámetro de plantas de caña de azúcar tratadas con neodimio a los 17 días después del inicio del tratamiento.

A los 19 ddit la adición de los tratamientos 50 y 100 µM Nd no presentan diferencias significativas con respecto al testigo. Sin embargo, los tratamientos 50 y 100 µM Nd cuentan con diferencias significativas con el tratamiento 150 µM Nd, presentándose una disminución en el diámetro de la planta, aunque estadísticamente no presenta diferencia con el testigo (**Figura 3**).

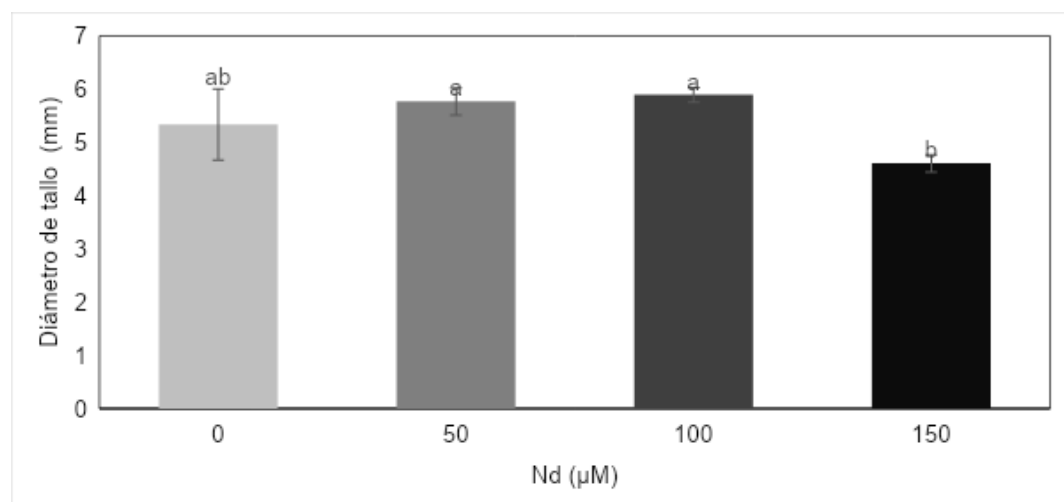


Figura 3. Diámetro de plantas de caña de azúcar tratadas con neodimio a los 19 días después del inicio del tratamiento.

Para finalizar, los datos obtenidos a los 21 ddit, el tratamiento 100 µM Nd presenta una diferencia significativa con el tratamiento 150 µM, observándose una disminución en el diámetro de la planta, aunque el testigo y el tratamiento 50 µM Nd no se observan diferencias significativas con respecto a los tratamientos 100 y 150 µM Nd al adicionarse a la planta (**Figura 4**). Respecto a los mencionado por *Basu et al.*, (2016), una adición moderada de Nd incrementa el desarrollo de la planta, sin embargo, una concentración mayor puede presentar efectos tóxicos.

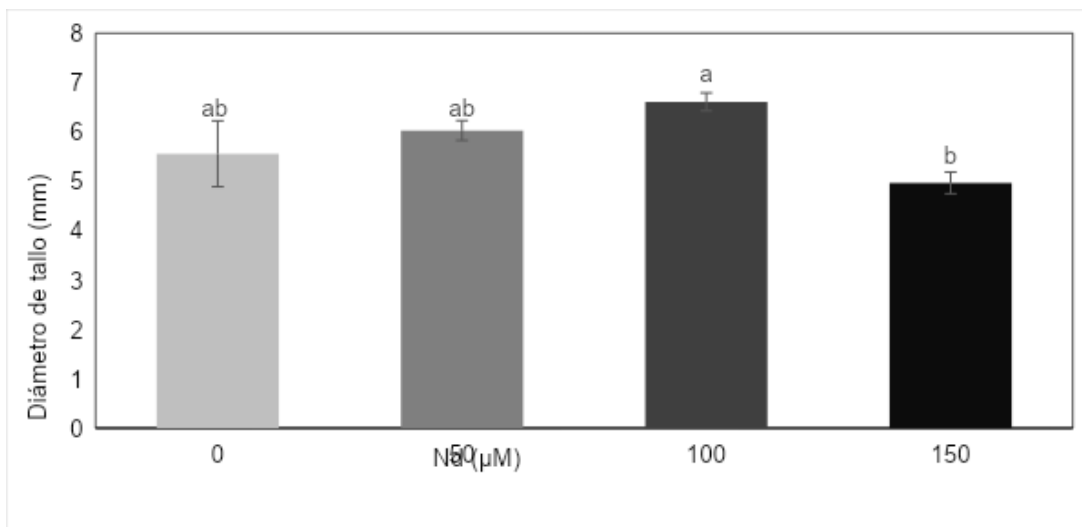


Figura 4. Diámetro de plantas de caña azúcar tratadas con neodimio a los 21 días después del inicio del tratamiento.

### CONCLUSIÓN

Se puede concluir, que una moderada dosis de  $\text{NdCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  aumenta el diámetro de plantas de caña de azúcar var. Mex 69-290, sin embargo, a los primeros días de tratamiento, la dosis más alta de Nd reduce el diámetro de la caña de azúcar, al transcurrir el tiempo no se observan diferencias significativas.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Basu, S. S. Kar, S. S. Panda, N. K. Dhal. Bioaccumulation of neodymium oxide (REE) and its effects on the growth and physiological changes of wheat and rice seedlings: A hydroponics study under plant growth chamber. *e-planet*. Vol. 14, 2016, pp. 33-40.
2. CONADESUCA. Concluye la zafra 2019/2020. Comité Nacional para el Desarrollo Sustentable de la Caña de Azúcar. 2020. [www.gob.mx](http://www.gob.mx).
3. F. C. Gómez- Merino, L. I. Trejo-Téllez, J. Salazar-Ortíz, J. A. Pérez-Sato, H. E. Sentfies-Herrera, J. J. Bello-Bello, N. Aguilar-Rivera. La diversificación de la agroindustria azucarera como estrategia para México. *Agroproductividad*. Vol. 1, 2017, pp. 1-950.
4. FAOSTAT. Datos. Producción. Cultivos. Caña de Azúcar. 2019. <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>.
5. K. A. Figueroa Rodríguez, A. M. T. García García, Y. Mayett Moreno, F. Hernández Rosas, B. Figueroa Sandoval. Factors that explain the yield of sugar cane at municipal level in Mexico. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. Vol. 6, 2015, pp. 1345-1358.
6. R. Sánchez Puche, C. Cáscales, P. Porcher, P. Maestro. Tierras raras: materiales avanzados. *Investigaciones Químicas*. 2000, pp. 11-26.
7. Z. Hu, H. Richter, G. Sparovek, E. Schnug. Physiological and biochemical effects of rare earth elements on plants and their agricultural significance: a review. *Journal of Plant Nutrition*. Vol. 27, 2004, pp. 183-220.

## LOS CONTENIDOS FOLIARES DE N, P Y K EN TOMATE CV. VENGADOR DISMINUYEN CON LA APLICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA

Gabriela Abigail Guzmán-Báez<sup>1</sup>, Fernando Carlos Gómez-Merino<sup>1</sup>, Libia Iris Trejo-Téllez<sup>2</sup>, Jericó Jabín Bello-Bello<sup>1</sup>, Juan Valente Hidalgo-Contreras<sup>1</sup>, María Guadalupe Peralta-Sánchez<sup>2</sup>, Esli Alejandro Hernández-Mora<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Colegio de Postgraduados Campus Córdoba. Carretera Federal Córdoba Veracruz km 348, Congregación Manuel León, Amatlán de los Reyes, Veracruz. C. P. 94946. <sup>2</sup>Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Estado de México. C. P. 56230

E-mail: [guzman.gabriela@colpos.mx](mailto:guzman.gabriela@colpos.mx).

### RESUMEN

Las nanopartículas de plata (NPAGs), intervienen en procesos biológicos, incluyendo cambios estructurales de la membrana lo cual modifica sus roles; así mismo, pueden también funcionar como bactericidas y bioestimulantes en plantas superiores. Entre los diversos efectos de los bioestimulantes se encuentra la mejora de la absorción de nutrimentos. En este contexto, este estudio tuvo como objetivo evaluar la influencia de las NPAGs en el contenido de los nutrimentos N, P y K en hojas de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*) cv. Vengador y la acumulación de biomasa seca foliar. Para lo anterior se instaló un experimento en invernadero en un sistema hidropónico de raíz flotante con sistema automatizado de oxigenación. Las dosis de NPAGs evaluadas fueron: 0, 5, y 10 mg L<sup>-1</sup>, las cuales se adicionaron a la solución nutritiva de Steiner. Después de 7 d de tratamiento, las plántulas se seccionaron por órganos. Se pesó la biomasa fresca de hojas; posteriormente éstas fueron secadas a 72 °C por 48 h en una estufa de aire forzado y se tomaron los pesos de biomasa seca. En el material seco y molido determinaron las concentraciones de N, P, y K. Con los resultados de concentración y los pesos de biomasa seca se estimaron los contenidos en hojas de los nutrimentos referidos. Los resultados obtenidos se sometieron a análisis estadísticos. Los resultados mostraron que las NPAGs no ocasionaron efectos significativos en las biomásas fresca y seca de hojas. Por otra parte, la dosis de NPAGs de 10 mg L<sup>-1</sup> redujo un 28.1% el contenido foliar de N, en 54.8% el contenido de P y en 37.2% el contenido de K; en todos los casos con respecto al testigo. Dado que no hubo afectación en la acumulación de la materia seca, estos resultados podrían indicar, que existen interacciones negativas entre los nutrimentos y las NPAGs en la solución nutritiva; en específico para fosfato, algunos autores han reportado reacciones de precipitación de éste con NPAGs. Se concluye que, bajo las condiciones experimentales de esta investigación, la adición de NPAGs a la solución nutritiva limitan la acumulación foliar de N, P y K en tomate cv. Vengador sin comprometer el crecimiento.

### INTRODUCCIÓN

México se encuentra en el noveno lugar de producción de tomate, teniendo 5 millones de hectáreas de superficie cultivada; sin embargo, es aún necesario aumentar su producción y rendimiento y encontrar una alternativa para mejorar sus características. El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es un cultivo de importancia en el mundo, por las propiedades nutraceuticas y nutritivas que tiene por sus contenidos de vitamina C, minerales, potasio, carotenos, ácido fólico como también compuestos antioxidantes y ácidos orgánicos (Perveen *et al.*, 2015; FAO, 2020).

En la actualidad, se ha iniciado de manera creciente el uso de la nanopartículas de plata (NPAGs) en la agricultura; y se han obtenido una gran variedad de resultados y enfoques. Debido a el tamaño y forma de las NPAGs, sus efectos serán dependientes de la forma de aplicación, de la especie vegetal, entre otros factores. En el sector agrícola se utilizan como fertilizantes, productos herbicidas y para prolongar la durabilidad de flores cortadas, adicionalmente se ha visto también como un bioestimulante potencial encaminado a mejorar la propagación y el crecimiento de las plantas (Thangavelu *et al.*, 2016; Saha y Gupta, 2018). A pesar de los efectos positivos antes mencionados, se ha mostrado también la fitotoxicidad que causan las NPAGs, manifestada ésta en una germinación limitada, reducción del crecimiento de plántulas, retraso en el tiempo de floración e inhibición de la fotosíntesis.

En el contexto anterior, el objetivo de esta investigación fue evaluar los efectos de la aplicación de las nanopartículas de plata en los contenidos de los tres principales elementos esenciales, nitrógeno, fósforo y potasio en hojas de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) cv. Vengador y la acumulación de biomasa seca foliar.

### PARTE EXPERIMENTAL

El presente trabajo se realizó en el Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, ubicado en Texcoco, Estado de México. Se utilizaron plántulas de la siembra de semillas del cultivar Vengador (Syngenta) en un semillero de polietileno usando como sustrato agrolita.

Plántulas de tomate de 30 días de edad se instalaron en un sistema hidropónico de raíz flotante con sistema automatizado de oxigenación. Ahí se adicionaron dosis de 0, 5, y 10 mg NPAs  $L^{-1}$  (AgROVIT) en una solución Steiner (Steiner, 1984). La duración de tratamientos fue de 7 días. Posteriormente se realizó el corte de las plantas, el material vegetal fresco de hojas se pesó y se secó en una estufa de aire forzado a 72 °C por 48 h y se tomaron los pesos de biomasa seca. En tejido seco y molido se realizó un análisis químico para determinar las concentraciones foliares de N, P, y K. La concentración de N se determinó por el método micro-Kjeldhal (Bremner, 1965). Para cuantificar P y K, se realizó digestión ácida con  $HNO_3:HClO_4$  (2:1,v:v), el extracto resultante fue analizado en un equipo de espectrometría de emisión óptica de plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES). Con los resultados de concentración y los pesos de biomasa seca se estimaron los contenidos de los nutrimentos referidos en las hojas.

Los datos obtenidos se analizaron usando el software SAS (SAS, 2002) con análisis de varianza y prueba de comparación de medias (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

### RESULTADOS

Se puede observar que con la aplicación de 5 y 10 mg NPAs  $L^{-1}$  no afectó de forma significativamente los pesos de biomasa seca y fresca de hojas de plántulas de tomate cv. Vengador (Figura 1). Contrario a los resultados aquí obtenidos, en stevia (*Stevia rebaudiana*) y trigo (*Triticum aestivum*) se ha registrado aumento en la biomasa seca con el suministro de NPAs a concentraciones de 25 y 50 mg  $L^{-1}$  como resultado del incremento significativo en la altura de la planta, atribuido a las NPAs (Castro-González *et al.*, 2019). Por el contrario, en lenteja de agua (*Lemna gibba*), la aplicación de NPAs reduce el peso de biomasa, disminuye el contenido de clorofila, altera transferencia de electrones y la eficiencia del fotosistema II (Dewez *et al.*, 2018).

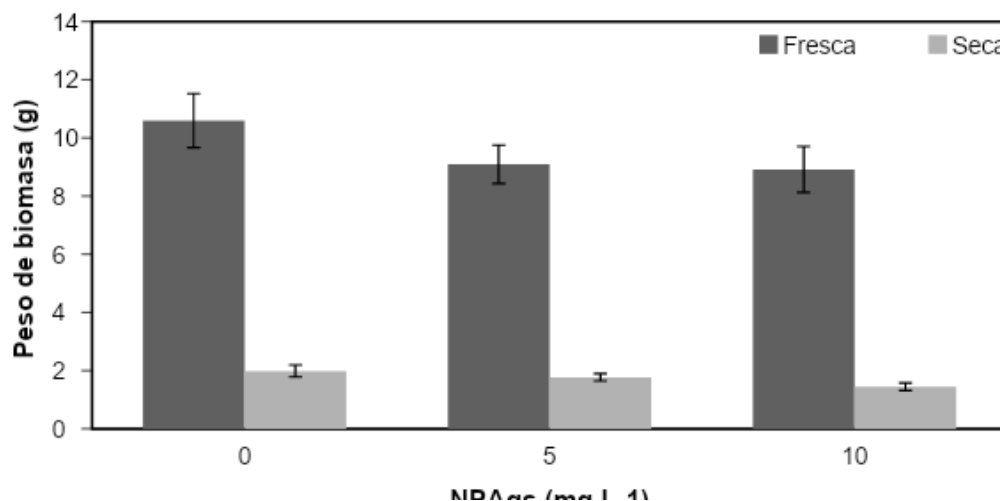


Figura 1. Efecto de las nanopartículas de plata en el peso de biomasa fresca y seca de hojas de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) cv. Vengador.

Medias  $\pm$  EE con letras distintas en cada variable, indican diferencias estadísticas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

Por otra parte, se observó que la adición de 10 mg NPAGs L<sup>-1</sup> redujo en 28.1% el contenido foliar de N; en 54.8% el contenido de P en hojas; y en 37.2% el contenido foliar de K; en todos los casos en comparación con el testigo (**Cuadro 1**).

Cuadro 1. Efecto del tratamiento con nanopartículas de plata por 7 días en los contenidos de N, P y K en hojas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.).

NPAGs (mg L <sup>-1</sup> )	N	P	K
	(g kg <sup>-1</sup> de biomasa seca)		
0	47.17 ± 4.29 a	3.30 ± 0.35 a	16.04 ± 1.81 a
5	43.30 ± 2.27 ab	2.82 ± 0.12 a	12.50 ± 0.83 ab
10	33.92 ± 2.22 b	1.49 ± 0.11 b	10.08 ± 0.82 b

Medias ± EE con letras distintas en cada variable, indican diferencias estadísticas (Tukey  $P \leq 0.05$ ).

Dado que no se mostró afectación en la acumulación de la materia seca, estos resultados podrían indicar, que existen interacciones negativas entre los nutrimentos y las NPAGs en la solución nutritiva; en específico para fosfato, ya que algunos autores han reportado reacciones de precipitación de éste con NPAGs. También se ha documentado que la plata causa el daño significativo a las membranas celulares de las raíces, lo cual podría alterar la capacidad de la planta para absorber y transportar algunos nutrimentos a la parte aérea, lo que también puede relacionarse con una deficiente tasa fotosintética (Vannini *et al.*, 2013).

## CONCLUSIONES

Se concluye que, si bien las NPAGs no tienen influencia en el peso de biomasa fresca y seca de hojas bajo las condiciones experimentales de este estudio, su aplicación a la solución nutritiva limita la absorción y la acumulación foliar de N, P y K en plántulas de tomate cv. Vengador, probablemente debido a las alteraciones a nivel membrana ocasionadas por la plata.

## BIBLIOGRAFÍA

1. A. Steiner, "The universal nutrient solution", *in*: ISOSC Proceedings 6th International Congress on Soilless Culture. The Netherlands. 1984. pp. 633-649.
2. C. G. Castro-González, L. Sánchez-Segura, F. C. Gómez-Merino, J. J. Bello-Bello, "Exposure of stevia (*Stevia rebaudiana* B.) to silver nanoparticles *in vitro*: transport and accumulation", *Sci Rep.* Vol. 9, 2019, 10372. doi: 10.1038/s41598-019-46828-y
3. C. Vannini, G. Domingo, E. Onelli, B. Prinsi, M. Marsoni, L. Espen, M. Bracale, "Morphological and proteomic responses of *Eruca sativa* exposed to silver nanoparticles or silver nitrate", *PloS one.* Vol. 8,7, 2013, e68752. doi: 10.1371/journal.pone.0068752
4. D. Dewez, V. Goltsev, H. M. Kalaji, A. Oukarroum, "Inhibitory effects of silver nanoparticles on photosystem II performance in *Lemna gibba* probed by chlorophyll fluorescence", *Curr. Plant Biol.* Vol. 16, 2018, pp. 15-21. doi: 10.1016/j.cpb.2018.11.006
5. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). *Crops. Tomato* <http://www.fao.org/faostat/en>. Published 2020. Acceso julio 2021.
6. J. M. Bremner, "Total Nitrogen", *In*: Norman AG, ed. *Methods of soil analysis*. Wisconsin, USA: American Society of Agronomy. 1965, pp. 1049-1178. doi: 10.2134/agronmonogr9.2.c32
7. N. Saha, S. D. Gupta, "Promotion of shoot regeneration of *Swertia chirata* by biosynthesized silver nanoparticles and their involvement in ethylene interceptions and activation of antioxidant activity", *Plant Cell Tiss. Org.* Vol. 134, 2018, pp. 289-300. doi: 10.1007/s11240-018-1423-8

8. R. M. Thangavelu, D. Gunasekaran, M. I. Jesse, M. R. Su, D. Sundarajan, K. Krishnan, "Nanobiotechnology approach using plant rooting hormone synthesized silver nanoparticle as "nanobullets" for the dynamic applications in horticulture—An in vitro and ex vitro study", Arab. J. Chem. Vol. 11, 2016, pp. 48-61. doi: 10.1016/j.arabjc.2016.09.022
9. R. Perveen, H. A. R. Suleria, F. M. Anjum, M. S. Butt, I. Pasha, S. Ahmad, "Tomato (*Solanum lycopersicum*) carotenoids and lycopenes chemistry; metabolism, absorption, nutrition, and allied health claims—A comprehensive review", Crit. Rev. Food Sci. Vol. 55, 7, 2015, pp. 919-929. doi: 10.1080/10408398.2012.657809
10. SAS. 2002. SAS High-Performance Forecasting 2.2: User's Guide. (Vol. 1 & 2). Cary, NC: SAS Institute Inc. Ver. 9). 652 p.

## CERIO EN EL CONTENIDO DE AGUA Y CONCENTRACIÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO EN PLÁNTULAS DE ARROZ CV. MORELOS A-98

Sara M. Ramírez-Olvera<sup>1</sup>, Fernando C. Gómez-Merino<sup>2</sup>, Libia I. Trejo-Téllez<sup>3</sup>, Gabriel Alcántar González<sup>4</sup>, Leonardo Hernández-Aragón<sup>5</sup>, Leticia Tavitas-Fuentes<sup>6</sup>

<sup>1-4</sup>Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco km 36.5, 56230 Montecillo, Texcoco, Estado de México. <sup>5,6</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Zacatepec. Carretera Zacatepec Galeana, 62780, Zacatepec de Hidalgo, Morelos.  
Correo-e: [ramirez.sara@colpos.mx](mailto:ramirez.sara@colpos.mx)

### RESUMEN

El cerio (Ce) es un elemento del grupo de las tierras raras, su aplicación a plantas mejora el crecimiento; sin embargo, son pocos los estudios en cultivares mexicanos de arroz. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la aplicación de 0, 4, 8 y 12  $\mu\text{M}$  CeCl<sub>3</sub> en el contenido de agua, y la concentración de ácido ascórbico en plántulas de arroz cv. Morelos A98. Semillas de arroz se colocaron en charolas de plástico de 12 x 11 cm, sobre papel filtro previamente humedecido con 15 mL de cada tratamiento, y se colocaron en oscuridad durante tres días y a luz natural cuatro días. Después, se registró el peso de biomasa fresca y seca de vástago y raíz, y se calculó el contenido total de agua. En tanto, que la concentración de ácido ascórbico en vástago y raíz se cuantificó por cromatografía de alta eficiencia en vástago y raíz. La adición de 12  $\mu\text{M}$  Ce aumentó significativamente el contenido de agua en vástago en 73.37%. Mientras que la adición de 4  $\mu\text{M}$  Ce incrementó el contenido de agua en raíz en 81.77%. En vástago el tratamiento 8  $\mu\text{M}$  Ce incrementó en 53.94% la concentración de ácido ascórbico, y la aplicación de 12  $\mu\text{M}$  Ce redujo en 49.98% la concentración. Ninguna dosis evaluada de Ce modificó la concentración de ácido ascórbico en raíz, sin modificar la concentración en raíz. El Ce modifica la concentración de ácido ascórbico en vástago, y el contenido de agua en plántulas de arroz cv. Morelos A-98.

### INTRODUCCIÓN

El arroz (*Oryza sativa*) es un cultivo de suma importancia para la población mundial. Es considerado un producto importante en la seguridad alimentaria, además de ser un alimento estratégico contra la desnutrición (Beyer, 2010). Actualmente, es el tercer cereal más producido en el mundo, precedido por el maíz y el trigo (FAOSTAT, 2021).

México se encuentra dentro de los veinte países con mayor consumo de arroz en el mundo, ubicado en el número veinte (AMIS, 2021). La producción de arroz para el año 2018 fue de 0.20 millones de toneladas (MMt) con un rendimiento de 6.51 Mg ha<sup>-1</sup>. Sin embargo, del año 2007 al año 2018 la superficie sembrada en México disminuyó en 53.90% (FAOSTAT, 2020). Aunado a esto México se encuentra en la posición número 10, de los países con mayor importación de arroz (AMIS, 2020). En el año 2017, se importaron 1182.22 Mt, las cuales superaron en 4.45 veces la producción nacional (FAOSTAT, 2020).

Aunado a esto, la producción mundial de alimentos se enfrenta a los efectos del cambio climático, como la sequía, y el aumento de la población mundial. En los últimos años, la frecuencia e intensidad de la sequía ha incrementado, lo que afecta a la producción y seguridad alimentaria (Madadgar *et al.*, 2017). En este contexto, es necesaria la búsqueda de alternativas que permitan dar solución a estos problemas. La nutrición vegetal, en específico los elementos benéficos han mostrado mejorar el crecimiento de plantas en condiciones de estrés.

Por tanto, es de suma importancia la búsqueda de alternativas que mejoren el crecimiento de este cultivo. En este contexto el uso de elementos benéficos con el Ce ha mostrado mejorar el crecimiento. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la aplicación de 0, 4, 8 y 12  $\mu\text{M}$  Ce en el contenido de agua y concentración de ácido ascórbico en plántulas de arroz Morelos A-98.



## PARTE EXPERIMENTAL

Semillas de arroz Morelos A-98, se obtuvieron banco de germoplasma del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Para su desinfección las semillas se colocaron en etanol al 70% durante, después en inmersión con NaClO al 5 % con Tween® 20 durante 30 min. Enseguida, se depositaron en contenedores de plástico sobre papel filtro, al cual previamente se le adicionaron 15 mL de cada tratamiento, los cuales consistieron en 0, 4, 8 y 12  $\mu\text{M}$  Ce. Se utilizó como fuente de cerio, cloruro de cerio heptahidratado  $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . A los 7 días después del inicio de tratamientos, las plantas se retiraron de los contenedores y se registró el peso de biomasa fresca y seca de vástago y raíz, después con los datos obtenidos se calculó el contenido de agua.

La concentración de ácido ascórbico se determinó por cromatografía líquida de alta eficiencia, para lo cual 100 mg de tejido fresco previamente macerado con nitrógeno líquido, el tejido se mezcló con 500  $\mu\text{L}$  de la solución de extracción, la cual contenía 2-propanol, agua HPLC, ácido clorhídrico concentrado (2:1:0.002). Inmediatamente después, las muestras se sonicaron durante 30 min. Después, a cada muestra se adicionaron 1000  $\mu\text{L}$  de diclorometano grado HPLC, y se centrifugó a 8000 rpm durante 10 min. Se tomó la fase orgánica y se evaporó totalmente el disolvente. Finalmente, se adicionaron 500  $\mu\text{L}$  de metanol filtrado, el resultante se filtró en membranas de politetrafluoroetileno de 0.45  $\mu\text{m}$  y se analizó en el cromatógrafo.

Se utilizó el cromatógrafo Agilent 1200, con detector UV y la columna C8. La fase móvil consistió en acetonitrilo grado HPLC al 20%, y agua grado HPLC al 80% acidificada con ácido trifluoroacético 0.1%. Se inyectaron 20  $\mu\text{L}$  de cada muestra, con flujo de 2  $\text{mL min}^{-1}$ . Se utilizó el estándar ácido ascórbico de alta pureza como referencia.

## RESULTADOS

El contenido de agua es una característica importante en la tolerancia a la sequía (Shivakrishna *et al.*, 2018). La adición de 4  $\mu\text{M}$  Ce redujo significativamente en el contenido de agua en vástago en 40.93% (Figura 1). En contraparte, que el contenido de agua en raíz (Figura 2), incrementó significativamente en 39.80% con el tratamiento 4  $\mu\text{M}$  Ce.

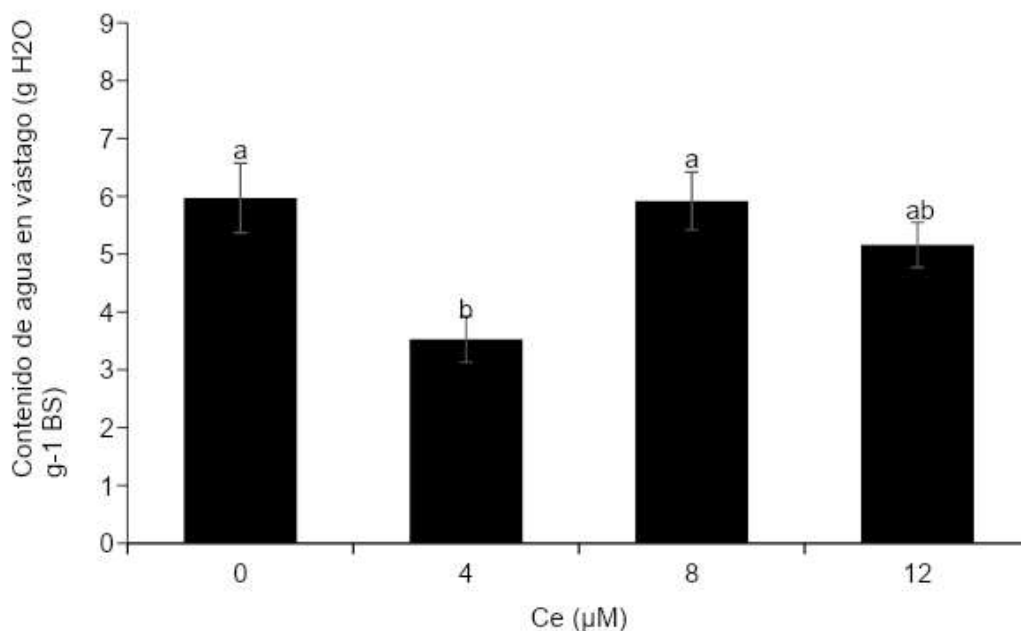


Figura 1. Contenido de agua en vástago de plantas de arroz cv. Morelos A-98 tratadas con **cerio**. BS: Biomasa seca. Medias  $\pm$  DE con letras diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos (Duncan,  $P \leq 0.05$ ).

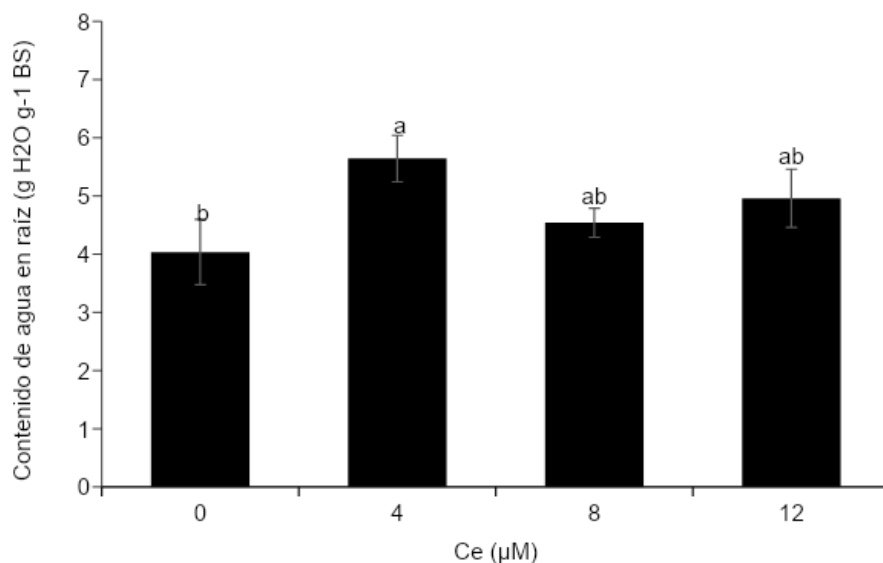


Figura 2. Contenido de agua en vástago de plantas de arroz cv. Morelos A-98 tratadas con cerio. BS: Biomasa seca. Medias  $\pm$  DE con letras diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos (Duncan,  $P \leq 0.05$ ).

Respecto a la concentración de ácido ascórbico en vástago (Figura 3), la adición de 8  $\mu\text{M}$  Ce aumentó la concentración en 39.18%, respecto al tratamiento testigo. El tratamiento 12  $\mu\text{M}$  Ce redujo la concentración en 54.78%, en relación al tratamiento testigo.

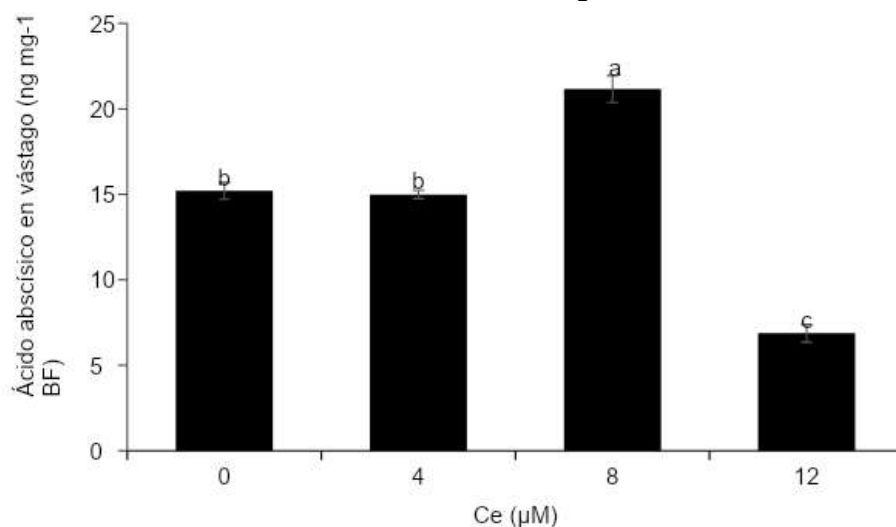


Figura 3. Concentración de ácido abscísico en vástago de plantas de arroz cv. Morelos A-98 tratadas con cerio. BF: Biomasa fresca. Medias  $\pm$  DE con letras diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos (Duncan,  $P \leq 0.05$ ).

Por otra parte, la concentración de abscísico en raíz, no se modificó bajo ningún tratamiento de cerio evaluado (Figura 4).

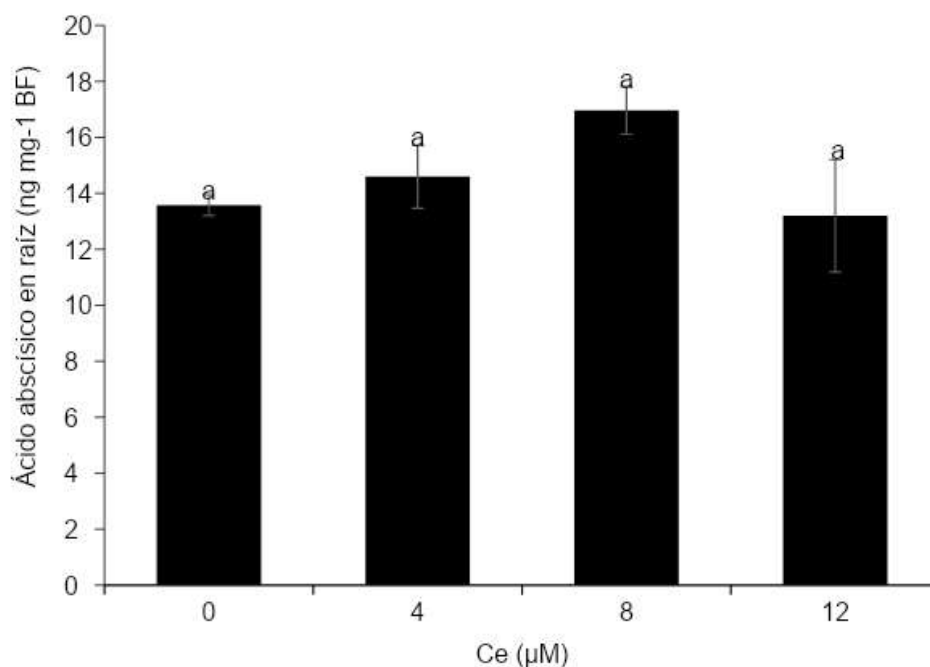


Figura 4. Concentración de ácido abscísico en raíz de plantas de arroz cv. Morelos A-98 tratadas con cerio. BF: Biomasa fresca. Medias  $\pm$  DE con letras diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos (Duncan,  $P \leq 0.05$ ).

## CONCLUSIONES

La adición de Ce a plantas de arroz Morelos A-98, a la concentración 4  $\mu\text{M}$  Ce reduce el contenido de agua en vástago, e incrementa la concentración en raíz. Mientras que 8  $\mu\text{M}$  Ce aumenta la concentración de ácido ascórbico en vástago y ninguna dosis evaluada modifica la concentración en raíz.

## BIBLIOGRAFÍA

1. AMIS. 2020. The Agricultural Market Information System (AMIS). Disponible en <http://www.amis-outlook.org/>. Consultado agosto 2021.
2. P. Beyer, "Golden Rice and 'Golden' crops for human nutrition" N. Biotechnol. Vol. 27, 5, 2010, pp. 478-481.
3. FAOST. 2020. Food and agriculture organization corporate statistical database. Disponible en <http://www.fao.org/faostat/en/#home>. Consultado agosto 2021.
4. Hassan, M.U., Ali, S., Hussain, R., Rashid, M.F. (2015). Influence of seedling age and nitrogen rates on productivity of rice (*Oryza sativa* L.): A review. Am. J. Plant Sci. Vol. 6, 2015, 1361.
5. S. Madadgar, A. AghaKouchak, A. Farahmand, A. S.J. Davis, "Probabilistic estimates of drought impacts on agricultural production" Geophys. Res. Lett. Vol. 44, 2017, pp. 7799-7807.
6. P. Shivakrishna, K. A. Reddy, D. M. Rao, "Effect of PEG-6000 imposed drought stress on RNA content, relative water content (RWC), and chlorophyll content in peanut leaves and roots" Saudi J. Biol. Sci. Vol. 25, 2, 2018, pp. 285-289.

## BENCILADENINA MODIFICA LA CONCENTRACIÓN DE ANTOCIANINAS EN FLORES DE *LAELIA ANCEPS*.

Olga Tejeda-Sartorius, Rubén San Miguel-Chávez, Ramón Marcos Soto-Hernández, Libia Iris Trejo-Téllez, Yasbet Ríos-Barreto, María Guadalupe Peralta-Sánchez

Colegio de postgraduados, Campus Montecillo, Carretera México-Texcoco km 36.5, 56230 Montecillo, Estado de México.

Correo-electrónico: [olgats@colpos.mx](mailto:olgats@colpos.mx)

### RESUMEN

Se investigó el efecto del tratamiento con 0.5, 1 y 1.5 mL benciladenina L<sup>-1</sup> (BA), y un testigo sin BA, en la concentración de antocianinas en las flores de *Laelia anceps* cultivadas en invernadero. Se seleccionaron plantas adultas en edad reproductiva, con un brote vegetativo de 8 a 10 cm de longitud, sin apertura foliar, y los tratamientos inductivos con BA se hicieron con aspersiones foliares de 20 a 25 mL, humedeciendo toda la planta. Las flores se cosecharon el primer día de la antesis de cada flor de la inflorescencia, y se secaron en estufa a 60 °C. Las muestras se molieron y se cuantificaron mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC). Se usaron estándares para cianidina, petunidina y malvidina. Los resultados mostraron que la dosis 0.5 mL BA L<sup>-1</sup> disminuye la concentración de cianidina, y todas las dosis de BA empleadas disminuyeron la concentración de malvidina y la concentración de total de antocianinas, en relación con el testigo. Se concluye que las concentraciones de BA usadas afectaron negativamente la concentración de antocianinas determinadas, y se sugiere valorar si existe un umbral de dosis de BA, inferior o mayor al utilizado en este trabajo, para promover su incremento.

### INTRODUCCIÓN

Desde el punto de vista ornamental, el color de las flores es una de las características de mayor atractivo visual y de las más determinantes en su valor comercial, y las hormonas de las plantas están ampliamente relacionadas con éste (Zhao y Tao, 2015), lo cual, en orquídeas, es sujeto de gran estudio en los programas de mejoramiento genético (Zhang *et al.*, 2016). La aplicación de Reguladores de Crecimiento Vegetal (RCV), ha mostrado su efectividad en la modificación del color. Las antocianinas son los pigmentos más importantes de las plantas vasculares y sus rutas biosintéticas son reguladas por hormonas (Loreti *et al.*, 2008). En Orquidaceae, las antocianinas, carotenoides y clorofilas son los mayores pigmentos, y las antocianinas tienen la más amplia distribución (Hsiao *et al.*, 2011). A partir de especies de los géneros *Cattleya*, *Cymbidium*, *Dendrobium*, *Oncidium* y *Phalaenopsis*, se han generado los cultivares comerciales más importantes (Davies *et al.*, 2007), con amplia gama de colores, por ejemplo: rosa, amarillo, blanco y verde en cultivares de *Cymbidium* (Wang *et al.*, 2014); y los blancos a rojo-púrpuras de *Dendrobium* (Teixeira da Silva *et al.*, 2014). En cuanto a especies mexicanas, en el complejo de *Laelia anceps* las especies se han usado en amplios programas de hibridación. Pero poco se ha reportado de sus contenidos de pigmentos o tipos de compuestos que confieren sus colores violetas y púrpuras.

Con base en lo anterior, se investigó el efecto de 0.5, 1 y 1.5 mL L<sup>-1</sup> de (benciladenina (BA) en el contenido de antocianinas en las flores de *Laelia anceps* cultivadas en invernadero.

### MATERIALES Y MÉTODOS

En contenedores traslúcidos con sustrato 60% corteza de pino, 20% zeolita y 20% peat moss, se establecieron plantas adultas en edad reproductiva, con 8 pseudobulbos y con un brote vegetativo de 8 a 10 cm de longitud, sin apertura foliar. Los tratamientos inductivos a flor consistieron en diferentes dosis de benciladenina (6BA; CyStar®): 0.5, 1 y 1.5 mL L<sup>-1</sup>, los cuales se aplicaron en tres ocasiones, realizando aspersiones foliares de 20 a 25 mL, humedeciendo toda la planta. Se usó un testigo en el que no se aplicaron las dosis de BA. Desde el inicio de tratamientos inductivos transcurrieron tres meses para el inicio de la antesis. Entonces, las flores se cosecharon el primer día de la antesis de cada flor de la inflorescencia, usando la primera flor de cada inflorescencia para las determinaciones de antocianinas. Se secaron en estufa a 60°C. Los extractos de las muestras se analizaron en un cromatógrafo de líquidos, HPLC, con una columna Hypersil ODS 5, y la detección

de antocianinas se hizo a 530 nm. Se usaron estándares para cianidina, petunidina y malvidina. Se diseñó un experimento completamente al azar, cada planta en una maceta se consideró como la unidad experimental y se consideraron tres repeticiones por cada tratamiento. A los datos se les realizó análisis de varianza y prueba de comparación de medias por Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las dosis más baja de BA disminuyó significativamente el contenido de cianidina en relación con el testigo por 66% (Figura 1). Las antocianinas reportadas para flores de *Laelia* son del tipo cianidinas aciladas. Para laelias con floraciones púrpura profundo se han reportado antocianinas en la epidermis. Para flores rojo púrpuras de *Laeliocattleya* cv. Mini Purple, diez cianidinas aciladas 3,7, Y-triglicósidos fueron aislados como las mayores antocianinas. La ocurrencia de esos pigmentos fue examinada en las flores de sus especies parientes: *Laelia pumila* y *Cattleya walkeriana*, por HPLC (Tatsuzawa *et al.*, 1996).

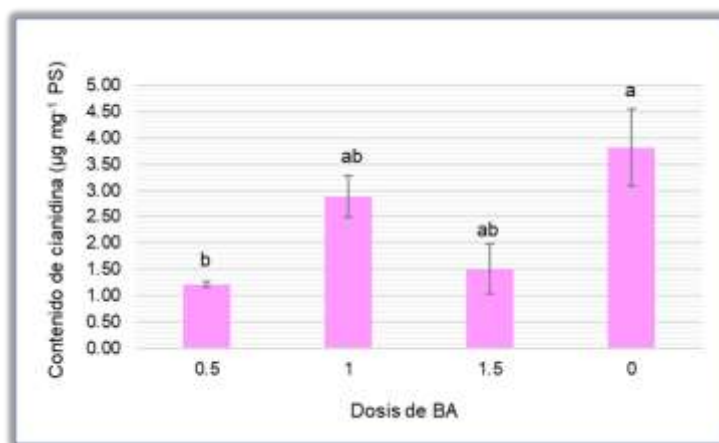


Figura 1. Contenido de cianidina en flores de *Laelia anceps*, por efecto de diferentes dosis de benciladenina.

Las dosis de BA no promovieron diferencias significativas entre tratamientos para petunidina (Figura 2).

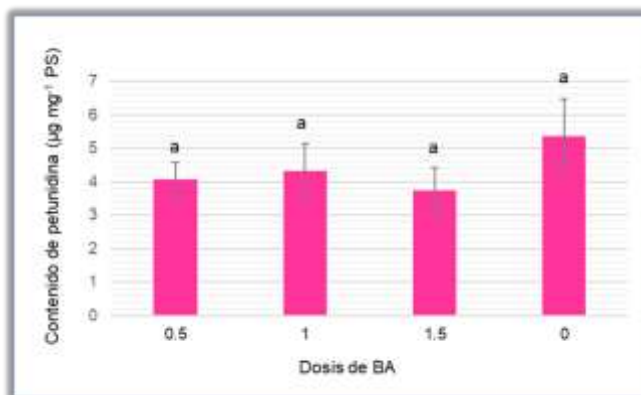


Figura 2. Contenido de petunidina en flores de *Laelia anceps*, por efecto de diferentes dosis de benciladenina.

Las dosis de BA empleadas disminuyeron significativamente el contenido de malvidina en comparación con el testigo, en 83%, promedio de las tres concentraciones (Figura 3).

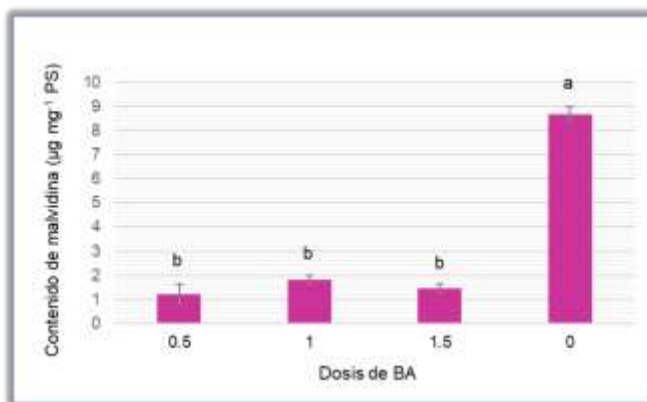


Figura 3. Contenido de malvidina en flores de *Laelia anceps*, por efecto de diferentes dosis de benciladenina.

Al igual que en el caso de malvidina, las dosis de BA disminuyeron significativamente el contenido total de antocianinas en relación con el testigo (Figura 4). Malvidina fue la antocianina con mayor contenido de las antocianinas analizadas ( $8.7 \mu\text{g mg}^{-1} \text{PS}$ ), la cual quizá fue otorgada por el color púrpura intenso del labelo en las flores de *Laelia anceps*.

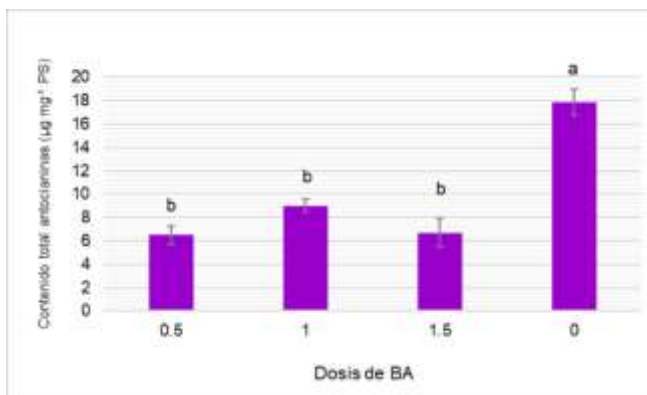


Figura 4. Contenido total de antocianinas en flores de *Laelia anceps*, por efecto de diferentes dosis de benciladenina.

Ling y Subramaniam (2007) reportaron de mayor a menor contenido de antocianidinas en plantas de *Phalaenopsis violacea*, en el siguiente orden: petunidina > peonidina > delphinidina > cianidina > pelargonidina > malvidina. Aunque no hubo diferencias significativas en todos los tipos de antocianinas, los resultados mostraron que las tres concentraciones de BA disminuyeron el contenido de estas, en relación con el testigo, en los siguientes porcentajes: 51% el contenido de cianidina (Figura 1), 25% el de petunidina (Figura 2), 83% el de malvidina (Figura 3) y 59% el contenido total (Figura 4).

A pesar de las muchas aplicaciones de las antocianinas, su uso se ve limitado por su relativa baja inestabilidad y bajos porcentajes de extracción, purificación e identificación (Castañeda- Ovando et al., 2009, Giusti y Wrolstad, 2003). Al observar los resultados obtenidos con las dosis de BA en comparación con el testigo, se infiere que la técnica de extracción no afectó el contenido de antocianinas, sino más bien, BA afectó negativamente su contenido, probablemente la ruta biosintética de antocianinas. Deikman y Hammer (1995) señalaron que la inducción de la biosíntesis de antocianinas por parte de citoquininas podría ser una valiosa herramienta para estudiar el mecanismo de acción de las citoquininas, porque es una respuesta fácilmente observable, mientras que se sabe más sobre la biología molecular y la genética de la biosíntesis de antocianinas.

## CONCLUSIONES

Con base en los resultados, se concluye que la dosis 0.5 mL L<sup>-1</sup> disminuye el contenido de cianidina, y todas las dosis de BA empleadas disminuyeron el contenido de malvidina y el contenido total de anocianinas, en relación con el testigo. Es probable que las dosis usadas de BA afectaron la ruta biosintética de antocianinas, y se sugiere valorar si existe un umbral de dosis de BA, inferior o mayor al utilizado en este trabajo, para promover su incremento.

## BIBLIOGRAFÍA

1. A. Castaneda-Ovando, M. L. Pacheco-Hernández, M.E. Páez-Hernández, J.A. Rodríguez, C.A. Galan-Vidal. "Chemical studies of anthocyanins: A review". 2009. *Food Chemistry*. 113:859–871.
2. D. Zhao, J. Tao. "Recent advances on the development and regulation of flower color in ornamental plants". *Front. Plant Sci*. 2015. 6:261. doi: 10.3389/fpls. 2015.00261.
3. E. Loreti, G. Povero, G. Novi, C. Solfanelli, A. Alpi and P. Perata. "Gibberellins, jasmonate and abscisic acid modulate the sucrose-induced expression of anthocyanin biosynthetic genes in *Arabidopsis*". *New Phytologist*. 2008. 179: 1004–1016.
4. Tatsuzawa, N. Saito, M. Yokoi, A. Shigihara, T. Honda. "Acylated cyanidin 3,7,3' triglucosides in flowers of × *laeliocattleya* cv. mini purple and its relatives". *Phytochemistry*. 1996. 41, (2): 635-642.
5. J. Deikman, P. E. Hammer. "Induction of anthocyanin accumulation by cytokinins in *Arabidopsis thaliana*". *Plant physiology*. 1995. 108 (1), 47-57.
6. J.A. Teixeira da Silva, S. Aceto, W. Liu, H. Yu, A. Kanno. "Genetic control of flower development, color and senescence of *Dendrobium* orchids". *Scientia Horticulturae*. 2014. 175:74-86.
7. K. M. Davies, D. H. Lewis, M. R. Boase, H. Zhang, S. C. Deroles, K. E. Schwinn. "Biotechnological Approaches for modifying flower colour in *Cymbidium* orchid". *Acta Horticulturae*. 2007. 755, 171-180.
8. L. F. Ling, S. Subramaniam. Biochemical analyses of *Phalaenopsis violacea* orchids. *Asian Journal of Biochemistry*. 2007. 2(4), 237-246.
9. L. Wang, N. W. Albert, H. Zhang, S. Arathoon, M. R. Boase, H. Ngo, D. H. Lewis. "Temporal and spatial regulation of anthocyanin biosynthesis provide diverse flower colour intensities and patterning in *Cymbidium* orchid". *Planta*. 2014. 240(5), 983-1002.
10. M. M. Giusti, R. E. Wrolstad. "Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems". *Biochemical Engineering Journal*. 2003.14: 217–225.
11. S. Zhang, D. Zhang, S. Fan, L. Du, Y. Shen, L. Xing, Y. Li, J. Ma, M. Han. "Effect of exogenous GA<sub>3</sub> and its inhibitor paclobutrazol on floral formation, endogenous hormones, and flowering-associated genes in 'Fuji' apple (*Malus domestica* Borkh.)". *Plant Physiology and Biochemistry*. 2016. 107: 178-186.
12. Y. Y. Hsiao, Z. J. Pan, C. C. Hsu, Y. P. Yang, Y. C. Hsu, Y. C. Chuang, H. H. Chen. "Research on orchid biology and biotechnology". *Plant and Cell Physiology*. 2011. 52(9), 1467-1486.

## CONTENIDO DE MACRONUTRIENTES (N, P Y K) EN SEMILLA DE CACHICHÍN (*OECOPETALUM MEXICANUM* GREENM. & C.H.THOMPS.), CON UNA PERSPECTIVA NUTRICIONAL FUNCIONAL

Alejandro Esli Hernández-Mora<sup>1</sup>, Sara Monserrat Ramírez-olvera<sup>2</sup>, Aleida Selene Hernández-Cázares<sup>1</sup>, Adriana Contreras-Oliva<sup>1</sup>, Libia Iris Trejo-Téllez<sup>2</sup> y Fernando Carlos Gómez-Merino<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Colegio de Postgraduados Campus Córdoba. Carretera Federal Córdoba Veracruz km 348, Congregación Manuel León, C. P. 94946 Amatlán de los Reyes, Veracruz. <sup>2</sup>Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco km 36.5, C.P. 56230 Montecillo, Texcoco, Estado de México.

E-mail: [hernandez.alejandro@colpos.mx](mailto:hernandez.alejandro@colpos.mx)

### RESUMEN

El árbol de cachichín (*Oecopetalum mexicanum* Greenm. & C.H.Thomps.) endémico de la sierra de Misantla, Veracruz, produce un fruto en forma de nuez. La semilla se consume localmente como botana saludable, cruda, hervida o tostada bajo procesos de preparación muy tradicionales. La semilla de cachichín se caracteriza por su alto contenido en lípidos (39.25 %) en su mayoría ácidos grasos insaturados, proteínas (12.59 %) y carbohidratos (41.61 %). Sin embargo, no se ha reportado el contenido de macronutrientes; importantes para precisar el valor nutricional. El objetivo de la presente investigación fue obtener el contenido de macronutrientes (N, P y K) de la semilla cruda y a diferentes procesos térmicos, hervido y tostado comercial (adquiridos localmente), y tostado controlado a nivel laboratorio (134 °C por 25 min ). La determinación de macronutrientes se realizó mediante una extracción de la muestra molida de semilla de cada tratamiento por digestión húmeda, las lecturas se realizaron por Espectroscopía de emisión óptica de inducción por plasma acoplado (ICP-OES). El nitrógeno total se determinó por método Semimicro-Kjeldahl. De acuerdo con los resultados obtenidos, no se observó diferencias significativas entre tratamientos; lo que indica que el tratamiento térmico empleado no afecta la composición nutrimental de la semilla; sin embargo, la semilla hervida mostró una disminución en el contenido de N, P y K en 15.35, 25.37 y 51.55 %, respectivamente, en comparación con los demás tratamientos. Además, el alto contenido de N en todos los tratamientos se relaciona con un alto contenido proteico. La semilla de cachichín se puede considerar como complemento nutrimental y funcional en la dieta diaria de los consumidores.

### INTRODUCCIÓN

La función primordial de la dieta diaria es aportar nutrientes esenciales para el desarrollo de nuestras actividades de manera diaria. Es por ello, que además de las tres macromoléculas principales (proteínas, carbohidratos y lípidos) en la alimentación, también son importantes otras sustancias químicas, como son los nutrientes de carácter orgánico e inorgánico; los cuales tienen efectos biológicos benéficos. Por ende, se ha observado que muchos alimentos tradicionales, como son los granos y semillas, contienen componentes que pueden ser positivos para la salud (Cruzado y Cedrón, 2012).

El cachichín (*Oecopetalum mexicanum* Greenm. & C.H. Thomps.) es una especie arbórea que produce una semilla comestible a la que se han atribuido propiedades nutraceuticas importantes para mejorar la salud humana (Lascurain *et al.*, 2012). El cachichín es una especie vegetal nativa de México perteneciente a la familia Metteniusaceae. En su mayoría, la producción del fruto comestible es realizada en el municipio de Misantla, en la región montañosa de la zona centro del estado de Veracruz, México. La composición de la semilla está conformada por proteínas, 12.59%; carbohidratos, 41.61%; lípidos, 39.25 %; fibra cruda, 4.25% y cenizas, 2.30 %. Dentro de su perfil lipídico, contiene ácidos grasos insaturados benéficos para la salud en pacientes con enfermedades cardiovasculares como la diabetes (Hernández *et al.*, 2013).

Las semillas son matrices muy complejas en las que se encuentra una gran variabilidad de compuestos bioactivos, estados físicos, contenido orgánicos e inorgánicos, funcionalidad y características sensoriales. En específico, la semilla de cachichín contiene compuestos bioactivos de importancia en la salud humana (Hernández-Mora *et al.*, 2017). Sin embargo, aún falta hacer



perfiles de análisis más precisos y a mayor profundidad para determinar el metaboloma de esta semilla y analizar su funcionalidad nutracéutica.

Es así que el objetivo primordial del presente estudio fue determinar el contenido de macronutrientes (N, P y K) en semilla cruda de cachichín, bajo tres tratamientos térmicos (hervido, tostado comercial y tostado controlado).

## PARTE EXPERIMENTAL

La semilla de cachichín cruda, hervida y tostada de manera comercial fue adquirida por comerciantes locales del municipio de Xalapa, Veracruz. Un cuarto tratamiento de tostado controlado se realizó a nivel laboratorio, a 134 °C por 25 min en una parrilla de calentamiento marca Thermo-Scientific. Las semillas fueron puestas previamente a secado por 72 h a 70 °C en una estufa de aire forzado marca Riossa modelo HCF-125. Posteriormente las muestras fueron trituradas a un tamaño de partícula de 2mm, empleando un molino de material vegetal Wiley.

### *Contenido de macronutrientes (N, P y K)*

El contenido de N total se determinó por método Semimicro-Kjeldahl. El análisis de P y K se realizó por digestión húmeda del material seco con una mezcla de ácido perclórico y nítrico, de acuerdo con la metodología descrita por Alcántar y Sandoval (1999). Los extractos obtenidos posterior a la digestión y filtrado fueron determinados en un equipo de espectroscopia de emisión atómica de inducción por plasma acoplado (ICP-OES) marca Varian modelo 725-ES. Los resultados fueron expresados en mg de elemento por mg de semilla ( $\text{mg semilla}^{-1}$ ) en peso de biomasa seca (PBS).

### *Análisis estadístico*

Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente mediante un análisis de varianza y pruebas de comparación de medias por Tukey  $P \leq 0.05$ , usando software RStudio versión 1.2.5033.

## RESULTADOS

Los resultados del contenido de macronutrientes en la semilla de cachichín en los diferentes tratamientos se presentan en el Cuadro 1. El contenido de N entre tratamientos de tostado y semillas crudas, presentaron valores estadísticamente similares. Se observó una disminución del 40 % en el tratamiento hervido con respecto a semilla cruda, encontrando valores similares al tostado controlado.

Por otro lado, el tratamiento térmico tuvo un efecto significativo en el contenido de P. En específico, el tostado comercial mostró el contenido más alto y el más bajo fue el proceso de hervido. La semilla cruda y tostada de forma controlada fueron estadísticamente similares a la semilla que fue hervida y tostada comercial. En lo que respecta a contenido de K se observa una disminución del 52 % en la semilla hervida con respecto a cruda. Los tratamientos de tostado comercial y controlado se mantuvieron sin efecto significativo en relación a crudo.

El contenido de N, P y K en semillas hervidas fue afectado por un elevado volumen de agua absorbido por la semilla durante el proceso deteriorando la calidad de estas (Aguirre, 1990). Sin embargo, las mismas variables (N, P y K) presentan efectos estadísticos nulos en tratamiento de tostado comercial y controlado, con respecto a crudo. Por lo tanto, el aporte de N en el consumo de semilla de cachichín, puede beneficiar la absorción de este compuesto para la síntesis de aminoácidos y proteínas, las cuales se encontrarán disponibles en proporciones óptimas para una mayor eficiencia en la formación de nuevos tejidos y reparación de los ya existentes (Ahumada, 2019).

La absorción de P es esencial y cumple múltiples funciones que mantienen la vitalidad celular en humanos. El P es un componente estructural clave del ADN (Ácido Desoxirribonucleico), el ARN (Ácido Ribonucleico), elemento crítico para la obtención de ATP (adenosina-5'-trifosfato) y para los fosfolípidos, y por lo tanto, para las membranas celulares. Además, P es necesario para la formación y mantenimiento de huesos y dientes (Childers *et al.*, 2011). Asimismo, el P mantiene una relación estrecha con el elemento Ca, en conjunto su ingesta en infantes es necesaria para que la masa ósea máxima se pueda alcanzar durante la edad adulta temprana y mantenerse a partir de ese punto del desarrollo hasta el envejecimiento (Anderson, 1996).

El contenido de K en el consumo de la semilla de cachichín, podría beneficiar la asociación inversa entre la ingesta de potasio y la presión arterial, la absorción de potasio contenido en los alimentos ayuda a la regulación de la presión arterial. Con ello, el consumo de cachichín tendría un aporte

nutrimental y un efecto biológico complementario en la regulación de la hipertensión (He y MacGregor, 2008).

Cuadro 1. Contenido de macronutrientes (N, P y K) en semilla de cachichín bajo tres tipos de tratamientos térmicos.

Tratamiento	N (mg semilla <sup>-1</sup> PBS)	P (mg semilla <sup>-1</sup> PBS)	K (mg semilla <sup>-1</sup> PBS)
Crudo	20.71 ± 2.84 a	1.34 ± 0.13 ab	3.53 ± 0.37 a
Hervido	12.42 ± 0.51 b	1.00 ± 0.02 b	1.71 ± 0.02 b
Tostado comercial	20.67 ± 0.90 a	1.50 ± 0.11 a	3.56 ± 0.27 a
Tostado controlado	17.53 ± 1.28 ab	1.23 ± 0.05 ab	3.13 ± 0.02 a

Medias ± EE con letra distinta en cada columna indican diferencia estadística (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). PBS: Peso de Biomasa Seca.

Como se observa resultados del presente estudio, la semilla además de su aporte proteico, lipídico ( $\Omega$ -3 y  $\Omega$ -6) y su contenido de N, P y K, aporta macronutrientes esenciales para el óptimo funcionamiento del organismo. Por lo tanto, el consumo de la semilla de cachichín puede contribuir con los beneficios en la salud durante su consumo.

### CONCLUSIONES

Los tratamientos térmicos del tostado en la semilla de cachichín no mostraron efecto con respecto a semillas crudas. Mientras que el tratamiento de hervido mostro una disminución en el contenido de N, P y K en 15.35, 25.37 y 51.55 %, respectivamente, en comparación con el resto de tratamientos. Además, el alto contenido de N en todos los tratamientos se relaciona con un alto contenido proteico, así como P y K, tendrían un aporte nutrimental. Se concluye que la semilla de cachichín podría ser considerada un complemento nutrimental y funcional en la dieta diaria de los consumidores.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. E. Hernández-Mora, M. Castillo-Morales, E. A. García-Montalvo, E. Flores-Andrade. "Prueba preliminar de toxicidad aguda-oral del aceite de la semilla *Oecopetalum mexicanum* en ratones BALB / c". Journal CIM, Vol. 5, 2017, pp. 1043–1050
2. Hernández, G. Luna, O. García, M. R. Mendoza, E. Azuara, C. I. Beristain, M. Jiménez. "Extraction and characterization of *Oecopetalum mexicanum* seed oil". Ind Crops Prod. Vol. 43, 2013, pp. 355–359.
3. L. Childers, J. Corman, M. Edwards, & J.J. "Elser. Sustainability challenges of phosphorus and food: solutions from closing the human phosphorus cycle". Bioscience, Vol. 61, 2011, pp. 117–124.
4. F. J. He, G. A. MacGregor. "Beneficial effects of potassium on human health". Physiol. Plant. Vol. 133, 20–8, pp. 725–735.
5. G.G. Alcántar, V. M. Sandoval. "Manual de análisis químico de tejido Vegetal: Guía de muestreo, preparación, análisis e interpretación". Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo A.C. Chapingo, México. Publicación 10, 1999, pp. 148.
6. H. A. Hernández-Urban, D. F. Angulo, M. Lascurain-Rangel, S. Avendaño-Reyes, L. L. Can, G. W. Stull, R. Duno de Stefano. "Systematics and phylogeny of *Oecopetalum* (Metteniusaceae), a genus of trees endemic to north and central America". Rev. Biol. Trop. Vol. 67, 2019, pp. 888–900.
7. J. J. Anderson. "Calcium, phosphorus and human bone development". J. Nutr. Vol. 126, 1996, pp. 1153S–1158S.
8. M. G. Apaza Ahumada, "Efecto del consumo de cultivos andinos quinua, cañihua y tarwi sobre el incremento de peso y nitrógeno retenido en ratas Wistar". Rev. investig. altoandin. Vol. 21, 2019. pp.194–204.

9. M. Cruzado, & J. C. Cedrón. "Nutracéuticos, alimentos funcionales y su producción". Revista de Química, Vol. 26, 2012, pp. 33–36.
10. M. Lascurain-Rangel. "Estudio integral de la fruta silvestre comestible *Oecopetalum mexicanum* Greenm. & C.H. Thomps., de la Sierra de Misantla, Veracruz" Universidad Internacional de Andalucía. 2012. <https://dspace.unia.es/handle/10334/2342>
11. R, Aguirre. "Efecto de la humedad en el almacenamiento hermético a corto plazo de semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris*)". Rev. agron. mesoam. Vol. 1, 1990, pp. 35–44.
12. RStudio Team (2020). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, PBC, Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.

## CALIDAD OLEOSA EN ACEITE DE SEMILLA DE CACHICHÍN (*OECOPETALUM MEXICANUM* GREENM. & C.H.THOMPS.) A PARTIR DE UN TOSTADO CONTROLADO

Alejandro Esli Hernández-Mora<sup>1</sup>, Sara Monserrat Ramírez-Olvera<sup>1</sup>, Aleida Selene Hernández-Cázares<sup>1</sup>, Adriana Contreras-Oliva<sup>1</sup>, Libia Iris Trejo-Téllez<sup>2</sup>, Fernando Carlos Gómez-Merino<sup>1</sup> y Marisol Castillo-Morales<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Colegio de Postgraduados Campus Córdoba. Carretera Federal Córdoba Veracruz km 348, Congregación Manuel León, C. P. 94946 Amatlán de los Reyes, Veracruz. <sup>2</sup>Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco km 36.5, C.P. 56230 Montecillo, Texcoco, Estado de México. <sup>3</sup>Universidad Veracruzana, Facultad de Ciencias Químicas, Oriente 6 No. 1009, Rafael Alvarado, C.P. 94340 Orizaba, Veracruz  
E-mail: [hernandez.alejandro@colpos.mx](mailto:hernandez.alejandro@colpos.mx)

### RESUMEN

La semilla cachichín, perteneciente a la familia Matteniaceae, se recolecta del árbol *Oecopetalum mexicanum* Greenm. & C.H.Thomps. de la sierra de Misantla, Veracruz. Esta semilla se comercializa y consume por locatarios de la región, en su mayoría de forma tostada y se considera una botana nutritiva por su alto contenido de ácidos grasos insaturados. Se ha reportado que las insaturaciones presentes en las estructuras lipídicas de los aceites vegetales son benéficas durante su consumo, apoyando en el control de enfermedades cardiovasculares. El objetivo de este estudio fue cuantificar las insaturaciones presentes en el aceite cachichín, evaluando diferentes temperaturas y tiempos de tostado, bajo dos tipos de extracción lipídica (método mecánico y soxhlet). La semilla cruda fue tostada en un tostador casero, simulando el método empírico comercial a tres niveles de temperatura (115, 134 y 148 °C) y dos tiempos (25 y 45 min) de tostado. El aceite se extrajo mediante un proceso de prensado mecánico y químico en un equipo soxhlet con hexano como solvente; la cuantificación de insaturaciones se efectuó por el método de índice de yodo. De acuerdo con los tostados propuestos, los índices de insaturaciones en el aceite por el método de extracción soxhlet, muestran un incremento del 84% a condiciones de 45 minutos y 115 °C de tostado, en relación con el método mecánico. Se concluye que el tratamiento de tostado a condiciones de 45 min y 115 °C, utilizando solvente hexano (70 °C), mantiene un mejor índice de insaturaciones debido a la temperatura, evita la saturación de las estructuras lipídicas contenidas en el aceite cachichín y mantuvo la calidad oleosa.

### INTRODUCCIÓN

El cachichín (*Oecopetalum mexicanum* Greenm. & C.H. Thomps.) es una especie arbórea que produce una semilla comestible a la que se le atribuyen propiedades nutracéuticas importantes para mejorar la salud humana (Lascurain *et al.*, 2012). El contenido bioquímico de la semilla de cachichín es un 12.59 % de proteína, 41.61 % de carbohidratos (de los cuales el 0.66 % son azúcares reductores), cerca de 40.00 % de lípidos, 4.25 % de fibra cruda, y 2.30 % de cenizas (Ovando-Chacón *et al.*, 2018). Su perfil lipídico se encuentra conformado en su mayoría por ácidos grasos insaturados, como el ácido 9-octadecenoico (ácido oleico) y su isómero, el ácido 9,12-octadecadienoico (ácido linoleico), y el ácido 9,12,15-octadecatrienoico (ácido  $\alpha$ -linolénico) (Hernández *et al.*, 2013). La comercialización de la semilla de cachichín se realiza en crudo y tostado principalmente. El proceso de tostado se realiza en un cilindro rotatorio de acero inoxidable con manivela acoplada y calentado a fuego directo (Lascurain *et al.*, 2012), aunque los productores y comerciantes tienen poco control técnico sobre temperatura de tostado y humedad final de la semilla. El conocimiento del aspecto biológico de los ácidos grasos insaturados ha crecido gracias a la perfección de métodos analíticos para su identificación y cuantificación. Con ello, se ha percibido mejor la calidad de aceites vegetales en la industria alimentaria (Bello-Gutiérrez, 2000). Los ácidos grasos insaturados se encuentran principalmente en semillas oleaginosas como nueces, cacahuete, almendra y avellana. Son líquidos a temperatura ambiente, pero llegan a solidificarse de una manera parcial al bajar la temperatura de almacenamiento. Este tipo de lípidos se han considerado como ácidos grasos benéficos para el organismo, ya que se ha observado que elevan las lipoproteínas de alta densidad (HDL), las cuales son cardioprotectores, y reducen las

concentraciones de lipoproteínas de baja densidad (LDL), macromoléculas que desarrollan síndromes metabólicos (hipertensión, exceso de grasa corporal y niveles anormales de colesterol). En una dieta saludable se recomienda que los ácidos grasos insaturados aporten 10 % o más de la energía de la dieta (Ascencio-Peralta, 2012).

En este sentido, el objetivo del presente estudio se enfocó en cuantificar las insaturaciones de los ácidos grasos contenidos en aceite de la semilla de cachichín, bajo diferentes temperaturas, tiempos de tostado y dos tipos de extracción oleosa (prensado mecánico y extracción química), a fin de encontrar un tostado óptimo y método de extracción oleosa que conserve la calidad del aceite cachichín.

## PARTE EXPERIMENTAL

La semilla de cachichín cruda se obtuvo de comercios locales del municipio de Misantla, Veracruz. Se realizó un diseño factorial fraccionado para tostados controlados, utilizando dos factores (tiempo, y temperatura de tostado), tiempo de tostado (25 y 45 min) y temperatura a tres niveles (115, 134 y 148 °C). El tostado se realizó simulando el tostado comercial en una parrilla de calentamiento marca Thermo-Scientific, la medición de la temperatura se realizó utilizando un termómetro infrarrojo marca E&N, modelo DT8380AH.

Cuadro 1. Diseño experimental de tostados propuestos

Tiempo de tostado (min)	Temperatura de tostado (°C)		
25	115	134	148
45	115	134	148

### *Extracción de aceite por método de prensado*

La extracción del aceite de la semilla se realizó en un extractor mecánico marca Preenex.; el cual se precalentó a 250 °C. Posteriormente se introdujeron las muestras al embudo acoplado e inició la extracción. El proceso consistió en el prensado de la semilla mediante un tornillo sin fin calentado por una resistencia. La recolección de aceite se realizó por la parte inferior del equipo. El aceite obtenido se resguardo a obscuridad y bajo refrigeración para evitar su degradación.

### *Extracción de aceite por método Soxhlet*

La extracción por método químico se realizó por el método Soxhlet (Hernández *et al.*, 2017), para ello la semilla se trituro previamente en una licuadora marca Oster modelo 450-10. La muestra (4 g) se introdujo en un dedal de celulosa de 25 x 80 milímetros, marca HACH, modelo 2966500. La parte superior se cubrió con algodón para evitar el contacto directo con el solvente, el dedal se insertó en el equipo de extracción soxhlet y se utilizó hexano como solvente. El solvente se calentó a ebullición (70 °C) y la extracción se realizó a 12 ciclos continuos a 1 gota s<sup>-1</sup>. El hexano se separó del aceite por evaporación utilizando un rota-vapor marca IKA HB10 Basic, a 70 °C, posteriormente el aceite obtenido se colocó en una estufa de secado a 100 °C para eliminar cualquier residuo del solvente.

### *Determinación de índice de yodo*

La determinación del índice de yodo se realizó según la NMX-F-152-SCFI-2011. Una muestra de aceite (1 mg), se mezcló con 20 mL de ciclohexano y 25 mL de solución Wijs, la mezcla se mantuvo en la obscuridad por una hora a temperatura ambiente. Posteriormente se adicionaron 20 mL de solución saturada de yoduro de potasio y 100 mL de agua destilada. La titulación de las muestras se llevó a cabo utilizando tiosulfato 0.1 M, hasta su viraje a un color amarillo pálido, seguidamente se agregó 1 mL de solución de almidón al 1 % y se continuó titulando hasta obtener una solución incolora. Los resultados se expresaron en g de yodo por 100 g de muestra (gI<sub>2</sub> 100 g<sup>-1</sup>).

Cálculo de resultados:

$$\text{Índice de yodo} = \frac{(B - S) * M * 12.69}{\text{g muestra}}$$

Donde:

B: volumen de solución tituladora utilizado en blanco (mL).

S: volumen de solución tituladora utilizado en muestra (mL)

M: Molaridad de la solución del Tiosulfato de Sodio.

#### *Análisis estadístico*

Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente mediante un análisis de varianza y pruebas de comparación de medias por Tukey  $P \leq 0.05$ , usando software RStudio versión 1.2.5033.

### RESULTADOS

Los métodos de extracción de aceite de semilla de cachichín afectaron significativamente ( $P \leq 0.05$ ) el índice de yodo (Cuadro 2). Se observa un aumento del 84 % de insaturaciones del aceite extraído por el método Soxhlet. La extracción química por solvente es un método típico de operación de transferencia de masa, donde el solvente penetra en el sólido y el aceite contenido se hace miscible con el solvente, evitando la degradación de lípidos y manteniendo estable la calidad oleosa. Además que la trituración semilla permite optimizar la extracción de estructuras lipídicas (De Castro y Priego, 2010), ya que a diferencia del prensado la semilla es compactada en lugar de ser triturada, disminuyendo la disponibilidad de ácidos grasos insaturados (Banquero-Franco, 1988).

Cuadro 2. Índice de insaturaciones presentes en aceite de semilla de cachichín bajo dos diferentes métodos de extracción.

Método de extracción	Índice de yodo ( $\text{gl}_2 \text{ 100g}^{-1} \text{ PBS}$ )
Prensado	$15.39 \pm 1.55 \text{ b}$
Soxhlet	$93.82 \pm 4.37 \text{ a}$

Medias  $\pm$  EE con letra distinta en cada columna indican diferencia estadística (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). PBS: Peso de Biomasa Seca.

El tiempo de tostado de la semilla de cachichín propuestos presentan un efecto significativo en los tipos de extracción utilizados (Cuadro 3). Específicamente el método soxhlet muestra un índice de yodo mayor a un tiempo de tostado de 45 min; mientras que un índice menor se observa en un tiempo de 25 min. Por otro lado, en el método de prensado se revelan valores en el índice estadísticamente similares en ambos tiempos.

El método de extracción por prensado mecánico en combinación con dos tiempos de tostado, no afectaron el índice de yodo. En cambio, el método soxhlet a un tiempo de 45 min de tostado incremento los valores de insaturaciones en un 18 % con respecto a 25 min. Por lo tanto, a mayor tiempo de tostado, los ácidos grasos se encuentran en mayor disponibilidad para su extracción (De Castro y Priego, 2010).

Cuadro 3. Índice de insaturaciones presentes en aceite extraído por método soxhlet y prensado de la semilla de cachichín bajo dos tiempos de tostado.

Tiempo de tostado (min)	Índice de yodo ( $\text{gl}_2 \text{ 100g}^{-1} \text{ PBS}$ )	
	Soxhlet	Prensado
25 min	$84.30 \pm 3.33 \text{ b}$	$18.67 \pm 2.33 \text{ a}$
45 min	$103.34 \pm 6.05 \text{ a}$	$12.11 \pm 0.89 \text{ a}$

Medias  $\pm$  EE con letra distinta en cada columna indican diferencia estadística (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). PBS: Peso de Biomasa Seca.

El tostado a 25 min en combinación con tres temperaturas de calentamiento (115, 134 y 148 °C), mostró valores de índice de yodo estadísticamente similares con la extracción soxhlet (Cuadro 4). Mientras que, el método de prensado muestra un efecto significativo a la temperatura de 134 °C respecto al resto de la temperaturas ensayadas. Esto nos indica que a 134 °C fue la temperatura óptima de tostado para liberar los ácidos grasos instaurados del endospermo de la semilla (De Castro y Priego-Capote, 2010).

Cuadro 4. Índice de insaturaciones presentes en aceite extraído por método soxhlet y prensado de la semilla de cachichín tostada a un tiempo de 25 min y bajo tres temperaturas diferentes.

Temperatura de tostado (°C)	Índice de yodo ( $\text{gl}_2 \text{ 100g}^{-1}$ PBS)	
	Soxhlet	Prensado
115	85.53 $\pm$ 5.51 a	14.21 $\pm$ 0.01 b
134	87.43 $\pm$ 2.59 a	25.78 $\pm$ 0.76 a
148	79.95 $\pm$ 9.93 a	16.02 $\pm$ 1.87 b

Medias  $\pm$  EE con letra distinta en cada columna indican diferencia estadística (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).  
PBS: Peso de Biomasa Seca.

La extracción de aceite por método Soxhlet a un tiempo de tostado de 45 min bajo temperaturas propuestas, presenta efecto significativo (Cuadro 5). Los valores de índice de yodo fueron más altos a 115 °C; mientras que a 134 °C presenta los valores más bajos. La temperatura de tostado de 148 °C es estadísticamente similar a 134 °C. El método prensado, aunque con valores más bajos con respecto a método Soxhlet, presenta efecto significativo a 134 °C con respecto al resto de las temperaturas de tostado ensayadas.

Cuadro 5. Índice de insaturaciones presentes en el aceite extraído por método Soxhlet y prensado mecánico de la semilla de cachichín tostada a un tiempo de 45 min bajo tres temperaturas diferentes.

Temperatura de tostado (°C)	Índice de yodo ( $\text{gl}_2 \text{ 100g}^{-1}$ PBS)	
	Soxhlet	Prensado
115	121.88 $\pm$ 0.94 a	13.03 $\pm$ 0.53 a
134	91.66 $\pm$ 0.15 b	9.40 $\pm$ 0.30 b
148	96.47 $\pm$ 4.52 b	13.90 $\pm$ 0.37 a

Medias  $\pm$  EE con letra distinta en cada columna indican diferencia estadística (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).  
PBS: Peso de Biomasa Seca.

Método Soxhlet como se ha observado en resultados anteriores muestra las medias más altas de acuerdo a temperatura y tiempo de tostado, así como en tipo de extracción. En cuadro 5 se visualiza a 45 min y 115 °C (media más alta) un incremento del 28 % de las insaturaciones con respecto al tostado con temperatura de 134 °C a 25 min del mismo método (Cuadro 4).

De acuerdo con los tratamientos evaluados, se observa que el aceite obtenido por el tostado de semilla a una temperatura de 115 °C a 45 min, acompañado de una extracción Soxhlet, muestra un valor de insaturaciones mayor al reportado en cachichín crudo ( $48.56 \text{ gl}_2 \text{ 100g}^{-1}$ ) por Hernández *et al.* (2013). Lo anterior indica que el tratamiento térmico favorece la presencia de ácidos grasos insaturados, añadiendo valor nutrimental a la semilla (De Castro y Priego-Capote, 2010). Sin embargo, el método por prensado en combinación con un tratamiento de tostado de 134 °C a 25 min muestra un valor de insaturaciones 78 % por debajo del mejor tratamiento por Soxhlet. Esto indica que la saturación del aceite se debe a la adición de calor (250 °C) extra por parte de la resistencia del equipo al realizar el precalentado (Hernández-Mora *et al.*, 2017).

En este caso, la determinación de índice de yodo al ser un parámetro de calidad del aceite (Banquero-Franco, 1988) permitió conocer la calidad de aceite en la semilla de cachichín y ser adquirida por los consumidores que buscan un alimento o botana saludable. Los valores de insaturaciones observados en combinación con los factores evaluados (tiempo de tostado, temperatura de tostado y tipo de extracción), destacan tratamientos óptimos para obtener un aceite de semilla de cachichín con una calidad comparable a lo regulado por la norma internacional CXS 210-1999 (norma para aceites vegetales especificados).

La semilla cachichín muestra una calidad nutricional importante. A pesar de no haber estudios profundos y completos sobre la composición metabólica, los resultados presentados en este estudio muestran que la semilla es benéfica como alimento para el consumo humano. En específico, el alto contenido de ácidos grasos insaturados podría resultar benéfico para pacientes diabéticos (Campos-Mondragón *et al.*, 2013).

### CONCLUSIONES

Los tratamientos térmicos en la semilla de cachichín afectan las insaturaciones en ácidos grasos contenidos en el aceite extraído. Se observó que el tipo de extracción del aceite es un factor determinante para la conservación de los ácidos grasos insaturados contenidos en la semilla. Se concluye que un tostado controlado a un rango de temperatura de 115 – 134 °C, por un tiempo de 45 min, por método de extracción Soxhlet y 134 °C a 25 min por método de prensado, mantendrá la calidad oleosa en el aceite de semilla de cachichín.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. A. E. Hernández-Mora, M. Castillo-Morales, E. A. García-Montalvo, E. Flores-Andrade. “Prueba preliminar de toxicidad aguda-oral del aceite de la semilla *Oecopetalum mexicanum* en ratones BALB / c”. Journal CIM, Vol. 5, 2017, pp. 1043–1050
2. B. Hernández, G. Luna, O. García, M. R. Mendoza, E. Azuara, C. I. Beristain, M. Jiménez. “Extraction and characterization of *Oecopetalum mexicanum* seed oil”. Ind Crops Prod. Vol. 43, 2013, pp. 355–359.
3. C. Ascencio-Peralta, “Fisiología de la nutrición”. (Edit. McGraw-Hill Companies Inc., México, 2012).
4. J. Bello-Gutiérrez, “Ciencia bromatológica: Principios generales de los alimentos”, Universidad de Navarra (Edit. Díaz de Santos, Madrid, España, 2000), Vol. 1, pp. 233–234.
5. J. Banquero-Franco, “Extracción de aceite de semillas oleaginosas”, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (Edit. Alhambra, España, 1988), Vol. 88, 3, pp. 8–18.
6. M. G. Campos-Mondragón, R. M. Oliart-Ros, A. Martínez-Martínez, G. F. Méndez-Machado, J. O. Angulo-Guerrero, “Reversión del síndrome metabólico por el consumo de ácidos grasos poliinsaturados”, Med. Cli., Vol. 141, 2013, pp. 513–518.
7. M. L. De Castro, F. Priego-Capote, “Soxhlet extraction: Past and present panacea”, J. Chroma. A, Vol. 1217, 2010, pp. 2383–2389
8. M. Lascurain-Rangel, “Estudio integral de la fruta silvestre comestible *Oecopetalum mexicanum* Greenm. & C.H. Thomps., de la Sierra de Misantla, Veracruz”, Universidad Internacional de Andalucía, 2012. <https://dspace.unia.es/handle/10334/2342>
9. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, “Normas internacionales de los alimentos. CXS 210-1999. Norma para aceites vegetales especificados.” Adoptada en 1999, pp. 12–13.
10. RStudio Team (2020). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, PBC, Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.
11. Secretaría de Economía, “Norma Oficial Mexicana. NMX-F-152-SCFI-2011, Alimentos – aceites y grasas vegetales o animales– determinación del índice de yodo por el método de ciclohexano – Método de prueba (cancela a la NMX-F-152-SCFI-2005)”, D. Of la Fed. 2011.



## **PRUEBAS DE ANTIBIOSIS DE RIZOBACTERIAS Y HONGOS FITOPATÓGENOS PARA CONTROLAR ENFERMEDADES DE LAS PLANTAS COMO UNA ECO-TECNIA**

Ana Guadalupe Vázquez Rivera, Blanca Estela Gómez Luna, César Díaz Pérez, Juan Carlos Ramírez Granados, José Ramón Gasca Tirado.

Universidad de Guanajuato, Departamento de Ingeniería Agroindustrial  
be.gomez@ugto.mx

### **RESUMEN**

Actualmente existen diversas estrategias para disminuir el uso excesivo de agroquímicos, el uso de inoculantes biológicos y las buenas prácticas agrícolas pueden a largo plazo, contribuir a la recuperación del suelo, reducir el impacto ambiental y favorecer la producción de cultivos. Se han incrementado los esfuerzos para la introducción de organismos y componentes biorreguladores del suelo y las plantas. Las bacterias promotoras de crecimiento de plantas o rizobacterias han sido ampliamente estudiadas en las últimas décadas al mismo que la llegada de la agricultura sustentable. Los mecanismos empleados por estas bacterias, son muy diversos, se pueden clasificar en dos procesos esenciales: el primero consiste en la producción de compuestos que presentan un efecto directo en la planta, mejora en toma de nutrientes, fitohormonas y crecimiento, enzimas, entre otros y el segundo los compuestos que se producen tienen un efecto indirecto en la planta como antibióticos, quelatos y otros que detienen el ataque por otros microorganismos dañinos de las plantas. Los mecanismos de biocontrol que han sido reconocidos por las bacterias promotoras de crecimiento son la competencia por un nicho ecológico o sustrato, la síntesis de compuestos químicos inhibitorios como los sideróforos, los antibióticos, las enzimas líticas la inducción de resistencia sistémica en la planta, son los que se prueban en este trabajo. Las Áreas Naturales Protegidas (ANP) se definen como espacios naturales estratégicos para la conservación de la biodiversidad que generan servicios ambientales, permiten el hábitat para cientos de especies, mitigan el cambio climático y brindan bienestar para las poblaciones cercanas, en el estado de Guanajuato se tienen 23 ANP y se tomó suelo de estas regiones para obtener los aislados de las rizobacterias.

Se probaron 20 rizobacterias y 6 hongos fitopatógenos en placas Petri con medio de cultivo PDA. Cada caja con micelio del hongo en el centro y 4 rizobacterias en las orillas se incubaron a 28 °C por 5 días, cada día se realizó revisión del crecimiento e interacción de los microorganismos en la confrontación y se determinó que combinación presenta antibiosis y así cual rizobacteria podría ser utilizada como agente de control biológico.

En conclusión, los aislados de rizobacterias de Áreas Naturales Protegidas tienen el potencial biotecnológico de ser utilizadas en el control de enfermedades de plantas de las áreas naturales protegidas y de importancia alimenticia.

### **INTRODUCCIÓN**

Desde el comienzo de la revolución verde, la necesidad de reducir tiempos y capital para incrementar la producción de los alimentos, repuntó el uso de formulaciones comerciales agrícolas. Los aditivos agroindustriales más usados son los fertilizantes y los plaguicidas, ambos son explotados sin medida, se recurren a ellos para obtener cosechas más valiosas y mayor ganancia, su uso desmedido a nivel mundial ha causado graves daños a la salud y al medio ambiente. La Organización Mundial de la Salud (OMS) afirmó que los plaguicidas en países en desarrollo, causan un millón de casos de intoxicación y cerca de 20,000 muertes anualmente (Martínez & Arroyo, 2007). La fácil diseminación de estos químicos es lo que provoca que se adhieran a los alimentos que consumimos diariamente y se dispersen al medio ambiente. Los ecosistemas naturales han sido gravemente afectados, incluyendo la calidad del agua, aire y la fertilidad de la tierra (Roa & López, 2016).

Actualmente existen diversas estrategias para disminuir el uso excesivo de agroquímicos, el uso de inoculantes biológicos y las buenas prácticas agrícolas pueden a largo plazo contribuir a la recuperación del suelo, reducir el impacto ambiental y favorecer la producción de cultivos. Las grandes empresas agrícolas del país han ido adoptando estas formulaciones en sus productos, se han incrementado los esfuerzos para la introducción de organismos y componentes biorreguladores

del suelo y las plantas, la adición de materia orgánica puede ser empleada con éxito en la agricultura actual (Terry et al., 2002).

Las bacterias promotoras de crecimiento han sido ampliamente estudiadas en las últimas décadas al mismo que la llegada de la agricultura sustentable. Los mecanismos empleados por estas bacterias, son muy diversos, se pueden clasificar en dos procesos esenciales: el primero consiste en la producción de sustancias orgánicas capaces de promover respuestas fisiológicas específicas y el segundo mecanismo consiste en la intervención directa de los microorganismos en los cuales pueden hacer disponibles compuestos orgánicos e inorgánicos que son aprovechados por las plantas (Ahn et al., 2007). Diversos géneros bacterianos se han aislado del suelo rizosférico, como *Azospirillum*, *Herbaspirillum*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Azotobacter* y *Bacillus* (Rives et al., 2007). Los mecanismos de biocontrol que han sido reconocidos por las bacterias promotoras de crecimiento son la competencia por un nicho ecológico o sustrato, la síntesis de compuestos químicos inhibitorios como los sideróforos, los antibióticos, las enzimas líticas la inducción de resistencia sistémica en la planta (Matiru & Dakora, 2004). Las bacterias encontradas en la rizósfera son diversas, en cuanto a locaciones, y especies de plantas, por eso es importante medir y estudiar las diferencias entre los métodos de acción de las bacterias promotoras de crecimiento de diferentes nichos ecológicos. Los estudios generados pueden ayudar a la futura fabricación de fertilizantes insecticidas y fungicidas que puedan sustituir a los químicos que se usan en la agricultura actual, igualando su eficacia, pero generando menos impacto ambiental.

## TEORÍA

Los hongos son organismos eucariontes y heterótrofos que se reproducen por medio de propágulos, las células de estos organismos se agrupan en diferentes estructuras que los ayudan a reproducirse, infectar y diseminarse en un patosistema, sus condiciones ideales de crecimiento suelen ser zonas húmedas y con poca luz. producen esporas para sobrevivir en ambientes adversos. Son los patógenos que más dañan a las plantas en comparación con las bacterias y virus y nematodos, ya que atacan cualquier especie causando daños en raíz, fruto y semilla.

Los síntomas a consecuencia de la invasión por los hongos fitopatógenos pueden ser externos, internos y fisiológicos. Los síntomas visuales más comunes son clorosis, necrosis, marchitez, pudriciones secas o húmedas, disolución de tejido y crecimiento anormal, existen también aquellos relacionadas con alteraciones en el tejido como vacuolisis, plasmólisis, citolisis, hipertrofia e hiperplasia, estos solo pueden ser evidenciados en microscopios electrónicos, por último están las sintomatologías asociadas a desbalances fisiológicos como reducción o aumento en la fotosíntesis o respiración, incremento en la transpiración, inmovilización de nutrientes, hormonas o precursores de vías metabólicas (Granados., 2018). La diversidad de hongos fitopatógenos es amplia y también los cultivos afectados y partes vegetativas, figura 1.

Actualmente el estado de Guanajuato es líder productor de cultivos como zarzamora, arándano, fresa, brócoli, coliflor, frutales como durazno, nuez, limón, aguacate, por mencionar algunos. Al ser una entidad con gran variedad de producción agrícola también se identifica por su diversidad de plagas y patógenos, algunos ejemplos de hongos fitopatógenos son *Fusarium* spp, *Phytophthora* spp, *Colletotrichum* spp, *Rhizoctonia solani*, entre otros.

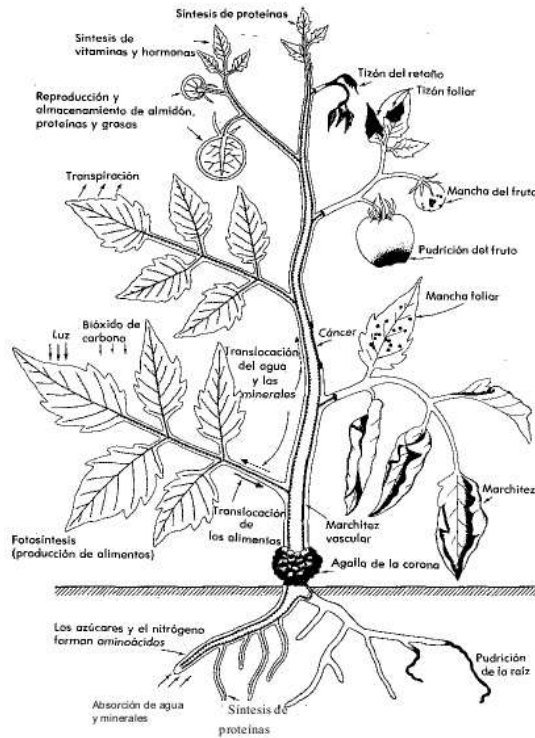


Figura 1. Esquema que muestra las funciones básicas de una planta y la interferencia que sobre ellas ocasionan algunas enfermedades (Agrios, 2005).

Tabla1: Hongos fitopatógenos de importancia agrícola.

Nombre científico	Cultivos afectados	Partes vegetativas afectadas	Tipo de reproducción
<i>Bremia lactucae</i>	Lechuga	Hojas	Sexual/Asexual
<i>Colletotricum lindemuthianum</i>	Frijol	Hojas, flor y frutos	Asexual
<i>Fusarium oxysporum</i>	Melón	Raíz y tallo	Asexual
<i>Phytophthora sojae</i>	Soya	Raíz y hoja	Asexual
<i>Rhizoctonia solani</i>	Arroz	Raíz	Sexual/Asexual
<i>Rhychosporium secalis</i>	Cebada	Raíz	Sexual/Asexual

Dentro de los diversos métodos de manejo de plagas que existen uno de los más usados es el control químico, el cual implica la aplicación de productos de origen natural o en su mayoría sintéticos. Estas sustancias ocasionan trastornos en las poblaciones de insectos sobre las cuales son aplicadas afectando de igual manera el entorno biótico y abiótico que los rodea. De acuerdo a su forma de actuar los plaguicidas son de:

- Contacto: Matan a la plaga cuando entran en contacto con ella. Se aplican al follaje o al suelo sin penetrar a la planta.

- Sistémicos: Se aplican al follaje o al suelo penetrando y moviéndose por toda la planta. Las plagas mueren al alimentarse de las hojas o raíces.
- Fumigante: Al aplicarse se transforman en gases y se utilizan para el tratamiento de suelo para semillero y vivero.
- Por ingestión y estomacal: Cuando el insecto al alimentarse ingiere el producto que se encuentra sobre las hojas (Jiménez, 2009).

La aplicación de plaguicidas conlleva importantes consecuencias ambientales y de salud, las cuales van agravándose año con año, es por eso la importancia de generar productos que sean sustentables y efectivos como plaguicidas.

### PARTE EXPERIMENTAL

Colección de bacterias. Se sembraron bacterias en medio PDA tomadas del cepario original del Laboratorio de Biotecnología UG para obtener las cepas para el proyecto.

Colección de hongos fitopatógenos. Fueron donados 6 hongos fitopatógenos por el Departamento de Fitopatología INIFAP Unidad Bajío, con la cual se realizó un cepario. Los hongos donados fueron *Alternaria* spp., *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp., *Fusarium oxysporum*, *Helminthosporium* spp. y *Bipolaris* spp. Los hongos fueron resembrados en cajas Petri con medio PDA sólido.

### Confrontaciones

Se cortaron rodajas de micelio joven de 0.5 centímetros de diámetro con un horador, se colocaron al centro de cajas Petri con medio PDA, y se incubaron a 28°C. Dos días después fueron sembradas 4 bacterias por caja, una en cada extremo, se sellaron las cajas y se colocaron en incubación a 28°C, las bacterias fueron colocadas de manera aleatoria. Se documentaron fotografías en tres etapas, 4, 15 y 30 días después de sembrar las bacterias. Para la toma de fotografías se utilizó una caja de cartón forrada por dentro con papel mica, se colocó cerrada en campana de flujo laminar, en la parte superior contaba con un orificio para el lente de la cámara y otro orificio para colocar la iluminación.

### RESULTADOS

Durante la primera etapa de confrontaciones se apreciaron diferentes grados de antagonismo, en los anexos se encuentran las imágenes completas de todas las confrontaciones. *Helminthosporium* spp. se distingue por su lento crecimiento radial en comparación al resto de los hongos, al pasar los días se apreció que crecía sin problema solo sobre algunas bacterias como se aprecia en la figura 8, sin embargo, en estas confrontaciones predominó el estancamiento del crecimiento radial, 5 de las 20 bacterias utilizadas con *Helminthosporium* spp., mantuvieron sus características físicamente visuales como color y tamaño, se muestra un ejemplo en la figura 2.

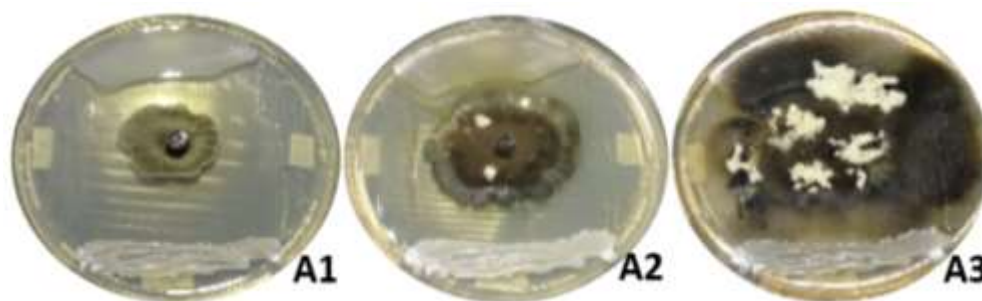


Figura 2: Confrontación de *Helminthosporium* spp. versus 253 (superior), 265-b (inferior), 114 (derecha), 119 (izquierda), secuencia de crecimiento.

*Bipolaris* spp. se caracteriza por su apariencia algodonosa y por el oscurecimiento del micelio conforme a su crecimiento, a pesar de que en los primeros días las bacterias se sobreponían al avance del crecimiento del hongo, muchas cedieron, aunque crecieron adecuadamente, tal como se muestra en la figura 9, el micelio las cubrió en su totalidad, sin embargo 4 bacterias seguían

observándose claramente 30 días después de haber sido sembradas, una de estas bacterias se muestra en la figura 3.



Figura 3: Confrontación de *Bipolaris spp.* versus 256 (superior), 210 (inferior), 121 (derecha), 116 (izquierda), secuencia de crecimiento.

Las confrontaciones con *Alternaria spp.*, fueron visualmente muy distintivas de las demás confrontaciones, el medio PDA tendía a oscurecerse al mismo tiempo que el hongo crecía, pero en algunos casos las zonas detrás de la bacteria mantuvieron su color original, en la imagen 11 podemos encontrar un claro ejemplo. La mayoría de las bacterias se resistió al crecimiento del hongo, lo que provoco que su crecimiento radial se deformara e inclusive se sobrepusiera por los espacios disponibles como se aprecia en la figura 4.

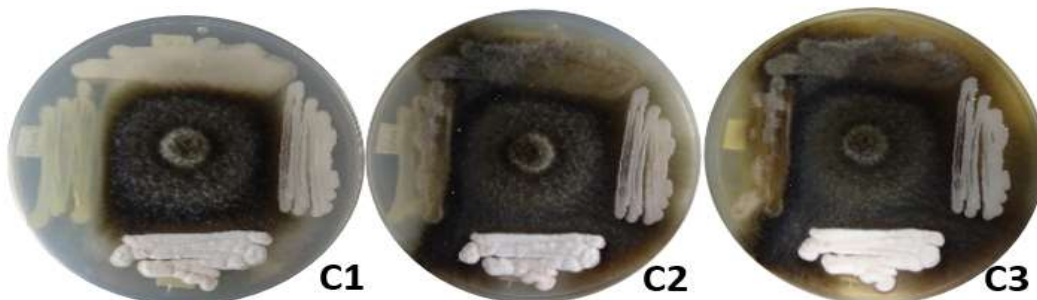


Figura 4: Confrontación de *Alternaria spp.* versus 253 (superior), 121 (inferior), 302 (derecha), 114 (izquierda), secuencia de crecimiento.

El crecimiento de *Rhizoctonia solani* en el medio PDA fue acelerado, su apariencia algodonosa de color café cubrió rápidamente las bacterias colocadas en las confrontaciones, a pesar de esto, las colonias bacterianas crecieron sin ningún problema y se pueden apreciar bajo el micelio como se ve en la figura 5. Dos cepas bacterianas se aprecian aun pasados los 30 días, se observa que el micelio se sobrepone levemente sobre la zona donde fueron sembradas, en la figura 14 se aprecia claramente una de ellas.

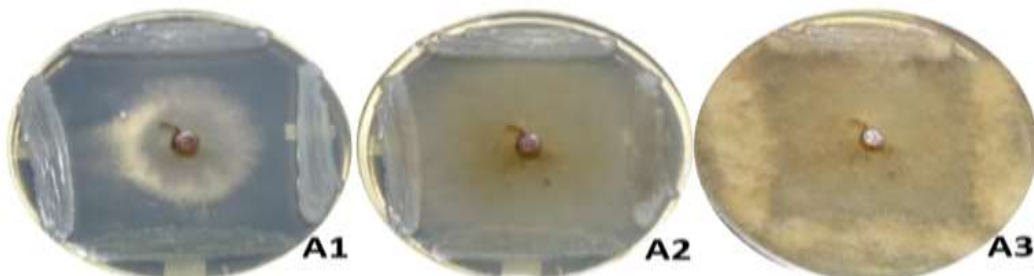


Figura 5: Confrontación de *Rhizoctonia solani* versus 266 (superior), 114 (inferior), 253 (derecha), 112 (izquierda), secuencia de crecimiento.

*Fusarium* spp., se caracteriza por micelio color lila en el área central y blanco en los aros circundantes, también por su facilidad de diseminación, es por eso sé que se pueden apreciar crecimientos amorfos en algunas confrontaciones. Con *Fusarium* spp. podemos apreciar imágenes claras, en su mayoría de bacterias que contuvieron el avance del crecimiento radial, en la figura 15 se puede observar como dos cepas fueron invadidas por micelio joven de color blanco, lo que indica que las bacterias resistieron varios días ante el avance del hongo. En la figura 6 se observa claramente cómo se deformo el crecimiento radial en el sentido de 2 bacterias, aun al momento de capturar las últimas imágenes el hongo no logro ocupar ese espacio.



Figura 6: Confrontación de *Fusarium* spp. versus 109 (superior), 102 (inferior), 101 (derecha), 112 (izquierda), secuencia de crecimiento.

Las confrontaciones de *Fusarium oxysporum* solo se documentaron 2 y 15 días después de sembrar de las bacterias, a pesar de esto se puede observar que en confrontaciones como la de la figura 17, las 4 bacterias detuvieron el crecimiento de este hongo. En la imagen 7 podemos apreciar como el hongo sigue su crecimiento dentro de los espacios de las bacterias sin tocarlas.



Figura 7: Confrontación de *Fusarium oxysporum* versus 112 (superior), 102 (inferior), 115 (derecha), 203 (izquierda), secuencia de crecimiento.

## CONCLUSIONES

Analizar las interacciones microbianas que incluso se presentan de manera natural, nos permite utilizarlas para controlar a un biológico que causa enfermedades en plantas con otro biológico que es benéfico con las plantas.

Las cepas de las rizobacterias aisladas de suelo de áreas naturales protegidas probadas contra los hongos fitopatógenos, fueron efectivas en detener o reducir el crecimiento de los hongos en condiciones in vitro. Los compuestos químicos producidos por las bacterias al detectar un organismo que compite por los nutrientes pueden reducir el crecimiento de los hongos fitopatógenos. Esto nos da la posibilidad de que las cepas de rizobacterias sean bioinoculantes potenciales en control biológico para mejorar la producción vegetal.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Ahn, P.-I., Lee, S.-W., & Suh, C.-S. (2007). Rhizobacteria-induced priming in Arabidopsis is dependent on ethylene, jasmonic acid, and NPR1. *Molecular plant-microbe interactions*, 759-768.

2. Granados, M. (2018). Identificación morfológica de hongos fitopatógenos, taller básico. Obtenido de Universidad de Costa Rica: [http://www.kerwa.ucr.ac.cr/bitstream/handle/10669/79022/Manual\\_hongos\\_y\\_key\\_2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://www.kerwa.ucr.ac.cr/bitstream/handle/10669/79022/Manual_hongos_y_key_2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
3. Jiménez, E. (2009). Métodos de control de plagas. Nicaragua: Universidad Nacional Agraria.
4. Martínez, C., & Arroyo, S. (2007). Riesgo genotóxico por exposición a plaguicidas en trabajadores agrícolas. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 185-200.
5. Rives, N., Acebo, Y., & Hernández, A. (2007). Bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.). *Perspectivas de su uso en Cuba. Cultivos Tropicales*, 29-38.
6. Roa, L., & López, J. O. (2016). Agricultura funcional para la seguridad alimentaria. *Ciencia*, 59-57.
7. Terry, E., Terán, Z., Martínez, R. & Pino, M. (2002). Biofertilizantes, una alternativa promisoría para la producción hortícola en organopónicos. *Cultivos Tropicales*, 43-46.

## CADMIO EN LA PARTICIÓN DE BIOMASA EN PLÁNTULAS DE CHILE

María de la Luz María Buendía-Valverde<sup>1</sup>, Libia I. Trejo-Téllez<sup>1</sup>, Fernando C. Gómez Merino<sup>1</sup>, Tarsicio Corona-Torres<sup>1</sup>, Serafín Cruz-Izquierdo<sup>1</sup>, Rodrigo A. Mateos-Nava<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Colegio de Posgraduados Campus Montecillo. <sup>2</sup>Facultad de Estudios Zaragoza, UNAM.

E-mail: [buendia.luz@colpos.mx](mailto:buendia.luz@colpos.mx)

### RESUMEN

El cadmio (Cd) es un metal no esencial para los organismos. Su exceso en plantas altera varios procesos fisiológicos, bioquímicos y celulares, que pueden presentarse con síntomas visuales entre ellos clorosis, desequilibrio nutrimental y reducción del crecimiento. Sin embargo, algunos autores sugieren que este elemento puede tener efectos horméticos a bajas concentraciones. En el contexto anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la concentración de 0, 5 y 15  $\mu\text{M}$  Cd en la acumulación de biomasa fresca y seca de tres variedades de Chile. Para lo cual se establecieron plántulas de Chile Jalapeño, Poblano y Serrano, en recipientes de plástico de 4 L de capacidad con solución nutritiva Steiner, dos semanas posteriores a su aclimatación, se añadieron los tratamientos de 0, 5 y 15  $\mu\text{M}$  Cd y 28 d después, las plantas fueron seccionadas en hojas, tallos y raíces, para la determinación de las biomasa fresca, después de un proceso de secado (48 h, 72 °C) y se pesaron para la obtención de los pesos de biomasa seca. Con los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza para un diseño completamente al azar con tres repeticiones y las medias fueron comparadas por la prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ), con el software SAS. Los tratamientos con Cd no tuvieron efectos en la biomasa fresca y seca de raíz; por otra parte, las dosis 5 y 15  $\mu\text{M}$  Cd reducen en 49 y 82% la biomasa de fresca de tallo, mientras que la biomasa fresca de hoja se reduce en 45.5 y 65.1% al aplicar 5 y 15  $\mu\text{M}$  Cd en Poblano, respectivamente. Contrario a esto, el tratamiento 5  $\mu\text{M}$  presentó un efecto positivo al incrementar en 183.4% la biomasa fresca de hojas en Jalapeño. El tratamiento 15  $\mu\text{M}$  Cd reduce la biomasa seca de tallos en Jalapeño y Poblano en 62.9 y 82.6%, respectivamente. Finalmente, el Cd no provoca efectos significativos en la biomasa seca de hojas. Se concluye que las variedades de Chile evaluadas muestran diferentes respuestas al Cd, destacando como tolerante Serrano, al no observarse efectos en la partición de biomasa fresca y seca, mientras que la variedad Poblano fue la más sensible a los tratamientos con Cd.

### INTRODUCCIÓN

La contaminación de suelos con metales es un problema que ha crecido en las últimas décadas, es causado principalmente por la precipitación de partículas en el ambiente y por el uso de aguas residuales para la irrigación de campos de cultivo (EPA, 1999).

Por su parte, el Cd está presente en los suelos como un contaminante, y aunque su disponibilidad es regulada por las propiedades físicas y químicas del suelo, la presencia de otros elementos como el Al, Fe, Mn y Zn facilitan su absorción en las plantas al competir por los sitios de acceso, además, debido a que posee un tiempo de vida media de hasta décadas, se puede acumular en hortalizas y ser un riesgo para el ser humano (Seshadri *et al.*, 2016; Morikawa, 2017).

En las plantas, el Cd pueden causar alteraciones en la germinación, en el crecimiento de planta, en la apertura de estomas y en la fotosíntesis, sobre todo en lugares donde se presentan concentraciones altas de éste (Zhang *et al.*, 2020). Contrariamente, en los últimos años, se ha reportado que, a bajas concentraciones, el Cd puede presentar efectos horméticos en las plantas, principalmente en especies tolerantes (Carvalho *et al.*, 2019).

En el contexto anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la concentración de 0, 5 y 15  $\mu\text{M}$  Cd en la acumulación de biomasa fresca y seca de tres variedades de Chile.

### PARTE EXPERIMENTAL

Se emplearon plántulas sanas de 60 d a partir de semillas híbridas de Chile Jalapeño "Emperador", Poblano "Capulín" y Serrano "Coloso", las cuales fueron establecidas bajo un sistema completamente al azar en recipientes de plástico de 4 L de capacidad con solución nutritiva Steiner (Steiner, 1984). La solución se oxigenó cada 3 h por 15 min y se ajustó el pH a 5.5 diariamente. Dos semanas después, cuando las plantas se aclimataron, se añadieron los tratamientos con 0, 5 y 15



$\mu\text{M}$  Cd, donde cada tratamiento tuvo tres repeticiones y la unidad experimental consistió en un recipiente con nueve plántulas. Transcurridos 28 d de exposición, las plantas fueron sacadas de los recipientes y seccionadas en hojas, tallos y raíces. Se determinaron las biomásas frescas de cada plántula por medio de una balanza analítica (OHAUS, modelo Adventurer Pro AV213C, USA), pesando individualmente cada órgano. Para determinar la biomasa seca, las muestras se sometieron a un proceso de secado en una estufa de aire forzado (Riossa, modelo HCF-125, México) por 48 h a 70 °C, se tomó nuevamente el peso. Cada tratamiento tuvo tres repeticiones.

Con los resultados obtenidos se realizó un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias con un LSD ( $P \leq 0.05$ ), independientes para cada uno de los metales, usando el software SAS (SAS, 2011).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo con los datos obtenidos, los tratamientos con Cd no tuvieron efectos significativos en la biomasa fresca de raíz de las variedades de chile analizadas. No obstante, el tratamiento 15  $\mu\text{M}$  Cd disminuye la biomasa seca de raíz en 42 y 36 % en Jalapeño y Poblano, respectivamente. Por el contrario, las dosis 5  $\mu\text{M}$  Cd estimuló el peso fresco de raíz en 10% en Poblano, mientras que, en Serrano ambos tratamientos de Cd incrementaron 23 y 36 % la biomasa fresca de raíz, respecto al testigo (**Cuadro 1**).

Cuadro 1. Biomasa fresca de raíz (g) de plántulas de chile de tres variedades tratadas con Cd.

Variedad	Cd ( $\mu\text{M}$ )		
	0	5	15
Jalapeño	6.91 $\pm$ 0.44 a	6.57 $\pm$ 1.17 a	4.03 $\pm$ 0.55 a
Poblano	5.46 $\pm$ 0.39 a	6.04 $\pm$ 1.23 a	3.44 $\pm$ 1.07 a
Serrano	4.34 $\pm$ 0.27 a	5.32 $\pm$ 0.67 a	5.89 $\pm$ 1.12 a

Medias  $\pm$  DE con letras distintas en cada hilera indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

Las plántulas de chile Jalapeño y Serrano tratadas con Cd no presentaron cambios en la biomasa seca de sus tallos; sin embargo, la dosis 5  $\mu\text{M}$  Cd estimularon en promedio 14% la biomasa fresca de tallo en Jalapeño. Por su parte, las plántulas de Poblano presentaron menor biomasa fresca ante la exposición con Cd con reducciones de 49 y 82 % con 5 y 15  $\mu\text{M}$  Cd, respectivamente (**Cuadro 2**).

Cuadro 2. Biomasa fresca de tallo (g) de plántulas de tres variedades de chile tratadas con Cd.

Variedad	Cd ( $\mu\text{M}$ )		
	0	5	15
Jalapeño	3.66 $\pm$ 0.28 a	4.42 $\pm$ 1.55 a	1.25 $\pm$ 0.20 a
Poblano	8.08 $\pm$ 1.39 a	4.12 $\pm$ 0.80 b	1.43 $\pm$ 0.33 b
Serrano	2.24 $\pm$ 0.16 a	2.41 $\pm$ 0.30 a	2.34 $\pm$ 0.30 a

Medias  $\pm$  DE con letras distintas en cada hilera indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

Los tratamientos con Cd no producen cambios significativos en la biomasa fresca de hoja de plántulas de chile Serrano. Por el contrario, en Poblano se redujo la biomasa fresca de hoja al aplicar 5 y 15  $\mu\text{M}$  Cd en 45.5 y 65.1%. Por su parte, en la variedad Jalapeño el tratamiento 5  $\mu\text{M}$  Cd tuvo un efecto positivo al aumentar 183.4% la biomasa en fresca de hojas.

Cuadro 3. Biomasa fresca de hoja (g) de plántulas de tres variedades de chile tratadas con Cd.

Variedad	Cd ( $\mu\text{M}$ )		
	0	5	15
Jalapeño	6.46 $\pm$ 0.33 b	18.31 $\pm$ 3.79 a	3.07 $\pm$ 0.47 b
Poblano	10.93 $\pm$ 1.19 a	5.95 $\pm$ 1.60 b	3.81 $\pm$ 0.82 b
Serrano	4.81 $\pm$ 0.36 a	4.81 $\pm$ 0.52 a	4.84 $\pm$ 0.49 a

Medias  $\pm$  DE con letras distintas en cada hilera indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

Los efectos diferenciales que produce el Cd en la biomasa fresca de raíz tallo y hoja, se han reportado en diversas especies de plantas, en hortalizas como el rábano (*Raphanus sativus*) y zanahoria (*Daucus carota* var. sativa) expuestas de 20 a 150 mg Cd kg<sup>-1</sup>, se presentaron disminuciones significativas (Chen *et al.*, 2003), así mismo, en plantas de *Spirodela ptyrhiza* L. la aplicación de 0.1 a 2  $\mu\text{M}$  Cd también reduce la biomasa fresca (Seth *et al.*, 2007).

Los tratamientos con Cd producen efectos diferenciales en la biomasa seca de raíz; sin embargo, éstos no son significativos. No obstante, se presentan incrementos del 18% en Jalapeño con 5  $\mu\text{M}$  Cd y en Serrano del 4 y 54% al aplicar 5 y 15  $\mu\text{M}$  Cd, respectivamente (**Cuadro 4**). Por otra parte, la variedad Poblano presentó disminuciones del 6 y 45% con 5 y 15  $\mu\text{M}$  Cd.

Cuadro 4. Biomasa seca de raíz (g) de plántulas de tres variedades de chile tratadas con Cd.

Variedad	Cd ( $\mu\text{M}$ )		
	0	5	15
Jalapeño	0.43 $\pm$ 0.03 ab	0.51 $\pm$ 0.11 a	0.23 $\pm$ 0.04 b
Poblano	0.49 $\pm$ 0.01 a	0.46 $\pm$ 0.10 a	0.27 $\pm$ 0.09 a
Serrano	0.24 $\pm$ 0.03 a	0.25 $\pm$ 0.05 a	0.37 $\pm$ 0.09 a

Medias  $\pm$  DE con letras distintas en cada hilera indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). Los tratamientos con Cd disminuyen la biomasa seca de tallos en las variedades estudiadas, sin embargo, éstas solo son significativas en Jalapeño y Poblano con 62.9 y 82.6%, respectivamente en comparación con sus testigos (**Cuadro 5**).

Cuadro 5. Biomasa seca de tallo (g) de plántulas de tres variedades de chile tratadas con Cd.

Variedad	Cd ( $\mu\text{M}$ )		
	0	5	15
Jalapeño	0.35 $\pm$ 0.02 a	0.29 $\pm$ 0.06 a	0.13 $\pm$ 0.02 b
Poblano	0.86 $\pm$ 0.18 a	0.36 $\pm$ 0.12 ab	0.15 $\pm$ 0.04 b
Serrano	0.20 $\pm$ 0.02 a	0.18 $\pm$ 0.04 a	0.24 $\pm$ 0.04 a

Medias  $\pm$  DE con letras distintas en cada hilera indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

Por último, no se presentan efectos significativos en la biomasa seca de hojas de las plántulas tratadas con Cd. Se destacan los incrementos del 18% al aplicar 5  $\mu\text{M}$  Cd en la variedad Jalapeño y de 54% en plántulas de chile Serrano tratadas con 15  $\mu\text{M}$  Cd.

Cuadro 6. Biomasa seca de hoja (g) de plántulas de tres variedades de chile tratadas con Cd.

Variedad	Cd ( $\mu\text{M}$ )		
	0	5	15
Jalapeño	0.52 $\pm$ 0.10 a	0.76 $\pm$ 0.11 a	0.43 $\pm$ 0.03 a
Poblano	1.23 $\pm$ 0.17 a	0.79 $\pm$ 0.20 a	0.94 $\pm$ 0.20 a
Serrano	0.40 $\pm$ 0.04 a	0.60 $\pm$ 0.06 a	0.46 $\pm$ 0.11 a

Medias  $\pm$  DE con letras distintas en cada hilera indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

Los efectos diferenciales que produce el Cd en la biomasa seca se han reportado con otros metales como el Pb, donde las plantas de calabacita "termo" (*Cucurbita pepo* L.), tratada con 65, 300 y 1000 mg Pb kg<sup>-1</sup>, disminuyen significativamente la biomasa seca de raíz, tallo y hoja (Solís-Mendoza *et al.*, 2012), así mismo, el Cd reduce la biomasa seca en arroz y en alfalfa (Hussain *et al.*, 2019).

### CONCLUSIONES

Se concluye que las variedades de chile evaluadas muestran diferentes respuestas al Cd, destacando a la variedad Serrano como más tolerante a la exposición de Cd, al no presentar efectos en la partición de biomasa fresca y seca, mientras que la variedad Poblano fue la más sensible a los tratamientos con Cd.

### BIBLIOGRAFÍA

1. A. A. Steiner, "The universal nutrient solution. 6th international congress on soilless culture". Wageningen, The Netherlands. 1984, pp. 633-650
2. A. Hussain, M. Rizwan, Q. Ali, & S. Ali, "Seed priming with silicon nanoparticles improved the biomass and yield while reduced the oxidative stress and cadmium concentration in wheat grains", *Environmental Science and Pollution Research* Vol. 26, 8, 2019, pp. 7579-7588.
3. B. Seshadri, N. S. Bolan, H. Wijesekara, A. Kunhikrishnan, R. Thangarajan, F. Qi, R. Matheyarasu, C. Rocco, M. Kenneth, & R. Naidu, "Phosphorus-cadmium interactions in paddy soils", *Geoderma* Vol. 270, 2016, pp. 43-59.
4. C. K. Morikawa, "Reducing cadmium accumulation in fresh pepper fruits by grafting", *The Horticulture Journal* Vol. 86,1, 2017, pp. 45-51.
5. C. S. Seth, P. K. Chaturvedi, V. Misra, "Toxic effect of arsenate and cadmium alone and in combination on giant duckweed (*Spirodela polyrrhiza* L.) in response to its accumulation", *Environmental Toxicology: An International Journal* Vol. 22, 6, 2007, pp. 539-549.
6. EPA, Environmental Protection Agency, "Toxicological review of cadmium and compounds", Washington, D. C. 1999. 85 p.
7. F. Solís-Mendoza, J. Sahagún-Castellanos, C. Villanueva-Verduzco, M. T. Colinas-León, & M. D. R. García-Mateos, "Distribución de biomasa y acumulación de plomo en calabacita (*Cucurbita pepo* L.) cultivada en suelo contaminado", *Revista Chapingo, Serie horticultura* Vol. 18, 2, 2012, pp. 197-205.
8. M. E. A. Carvalho, P. R. C. Castro, & R. A. Azevedo, "Hormesis in plants under Cd exposure: from toxic to beneficial element?", *Journal of Hazardous Materials* Vol. 384, 2019, 121434.
9. SAS Institute Inc., "SAS/STAT Users Guide", Version 9.3. SAS Institute Inc., Cary, N. C., USA. 2011.
10. X. Zhang, H. Wu, Y. Ma, Y. Meng, D. Ren, & S. Zhang, "Intrinsic soil property effects on Cd phytotoxicity to *Ligustrum japonicum* 'Howardii' expressed as different fractions of Cd in forest soils", *Ecotoxicology and Environmental Safety* Vol. 206, 2020, 110949.
11. Y. X. Chen, Y. F. He, Y. M. Luo, Y. L. Yu, Q. Lin, M. H. Wong, "Physiological mechanism of plant roots exposed to cadmium", *Chemosphere* Vol. 50, 6, 2003, pp. 789-793.

## VARIACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FISCOQUÍMICAS DEL FLUIDO OVIDUCTAL Y UTERINO DE LA OVEJA DOMÉSTICA SEGÚN LA ETAPA DEL CICLO ESTRAL.

José Roberto Vazquez Avendaño<sup>1,4</sup>, César Cortez Romero<sup>2</sup>, Hilda Loza Rodríguez<sup>3</sup>, Gerardo Blancas Flores<sup>3</sup>, Demetrio Alonso Ambríz García<sup>4</sup>, María del Carmen Navarro Maldonado<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud, <sup>2</sup>Posgrado en Recursos Genéticos y Productividad-Ganadería, Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, <sup>3</sup>Laboratorio de Farmacología, Departamento de Ciencias de la Salud, UAM Iztapalapa, <sup>4</sup>Laboratorio de Reproducción Animal Asistida, Departamento de Biología de la Reproducción UAM Iztapalapa. [carmennavarro2006@yahoo.com.mx](mailto:carmennavarro2006@yahoo.com.mx)

### RESUMEN

El desarrollo embrionario preimplantacional comienza en el oviducto y continúa en el útero, donde se lleva a cabo la implantación y la gestación. En el oviducto se forma el fluido oviductal (FO) y en el útero el fluido uterino (FU), que brindan al embrión temprano un medio de transporte, nutrientes y, la comunicación entre el embrión y la madre mediante moléculas de señalización, para su desarrollo en el espacio y tiempo. Los cultivos *in vitro* semejan las condiciones del aparato reproductor femenino, sin embargo, han dejado de lado las moléculas contenidas en el FO y FU, cuyo papel es determinante para el desarrollo embrionario. En este estudio se evaluaron algunas propiedades fisicoquímicas del FO y FU de oveja doméstica. El FO y FU se obtuvieron *post mortem* a partir de aparatos reproductores de ovejas sacrificadas en un rastro local, se clasificaron de acuerdo con las estructuras del ovario en: fase folicular (presencia de folículos), fase luteal temprana (presencia de cuerpos hemorrágicos) y fase luteal media (presencia de cuerpos lúteos), del ciclo estral. De cada muestra se evaluó el volumen, osmolaridad, concentración de proteína total y la separación de ésta mediante electroforesis. Se trabajaron 14 aparatos reproductores, seis en fase folicular (F), tres en fase luteal temprana (Lt) y cinco en fase luteal media (Lm). Se obtuvieron en total 45  $\mu\text{L}$  de FO en fase F, 13  $\mu\text{L}$  de FO en fase Lt y 85  $\mu\text{L}$  de FU en fase Lm. Por cada estructura se obtuvo en promedio  $4.5 \pm 0.65 \mu\text{L}$ ,  $1.8 \pm 1.36 \mu\text{L}$  y  $14.2 \pm 1.29 \mu\text{L}$  de FO-F, FO-Lt y FU-Lm, respectivamente. Estos valores están por debajo de lo reportado en la literatura para FO (0.1 a 1.2 mL) y FU (0.5 a 11 mL) en un día de muestreo en ovejas *in vivo*. La osmolaridad de FO-F, FO-Lt y FU-Lm fue de 645 mOsm/kg, 634 mOsm/kg y 984 mOsm/kg, respectivamente, valores por encima de los reportados para FO ( $316 \pm 23$  mOsm/kg) y FU ( $349 \pm 58$  mOsm/kg). Posiblemente esto fue debido a la deshidratación de los aparatos reproductores durante su manipulación y a procesos metabólicos, con la generación de especies reactivas de oxígeno que pueden alterar la osmolaridad. La concentración de proteína total de FO-F ( $20.04 \text{ mg/mL-1}$ ), FO-Lt ( $34.2 \pm 8.3 \text{ mg/mL-1}$ ) y FU-Lm ( $35.8 \pm 21.2 \text{ mg/mL-1}$ ), fue similar a lo reportado por la literatura (FO  $10 \text{ mg/mL-1}$  y FU  $30 \text{ mg/mL-1}$ ) en ovejas. Se observó la presencia de diferentes proteínas con diferente peso molecular, siendo la albúmina la proteína más abundante con un peso molecular de 66 kD. Se concluye que el volumen, la osmolaridad y la concentración de proteína total fue mayor para el FU que para el FO. Los parámetros evaluados varían de acuerdo con la fase del ciclo estral de las ovejas, en la fase folicular se obtuvo un mayor volumen y osmolaridad de FO, y una menor concentración de proteína en la fase luteal, mientras que la albúmina fue la proteína más abundante presente en ambos fluidos.

### INTRODUCCIÓN

El desarrollo embrionario preimplantacional comienza en el oviducto y continúa en el útero, donde se lleva a cabo la implantación y la gestación. Durante esta etapa, el embrión es independiente y todavía no depende de la hembra gestante, de tal manera, que puede ser cultivado *in vitro* en el laboratorio bajo condiciones similares al ambiente oviductal y uterino, dependiendo de la etapa del desarrollo embrionario.

Los embriones son cultivados en medios de desarrollo que pueden ser definidos, indefinidos o semidefinidos. En los medios definidos se conoce de manera precisa cada uno de sus componentes, mientras que en los indefinidos no se sabe con certeza su composición, debido a la adición de suero, cuyo origen puede ser fetal, de ternero o algún otro y cuya composición se desconoce. En el caso

de los medios semidefinidos, se les adiciona albumina sérica bovina (BSA por sus siglas en inglés) como fuente de proteína (1).

Los medios de desarrollo embrionario también se clasifican en permanentes y secuenciales, en el primer caso se utiliza un medio único durante todo el desarrollo embrionario, mientras que, en el segundo caso, se emplean dos medios que proporcionan los nutrientes necesarios en función de los cambios metabólicos del embrión durante las diferentes etapas del desarrollo (2).

En el oviducto se forma el fluido oviductal (FO) y en el útero el fluido uterino (FU), que brindan al embrión temprano un medio de transporte, nutrientes y, la comunicación entre el embrión y la madre mediante moléculas de señalización, para su desarrollo en el espacio y tiempo. Los primeros estudios que analizaron los componentes del FO y FU, así como su concentración, se realizaron en ovinos y a partir de la información obtenida, se comenzó la formulación de medios que pudieran soportar el desarrollo de embriones obtenidos *in vivo* (3, 4). Uno de estos medios fue el fluido oviductal sintético (SOF por sus siglas en inglés) que podía mantener el desarrollo de embriones de ovinos, caprinos y bovinos (5).

Hoy en día se dispone de diferentes medios comerciales para el desarrollo embrionario de las principales especies de interés zootécnico con aceptables tasas de desarrollo. Sin embargo, existe una enorme brecha entre las condiciones *in vitro* del laboratorio y las condiciones *in vivo* dentro del oviducto que, si bien nunca se conseguirán igualar en el laboratorio, si se pueden mejorar.

Por lo anterior, en este estudio se evaluaron algunas propiedades fisicoquímicas de dos fluidos: el FO y el FU de ovejas domésticas, para conocer sus características fisicoquímicas de acuerdo con la etapa del ciclo estral.

## TEORÍA

### Anatomía y fisiología del oviducto

Anatómicamente el oviducto se divide en cuatro segmentos: el infundíbulo con sus respectivas fimbrias que se encargan de capturar al ovocito recién ovulado, el ámpula que es el sitio donde ocurre la fertilización y el comienzo del desarrollo embrionario, el istmo que es el mayor reservorio de espermatozoides y la unión utero-tubal que conecta al oviducto con el útero. Cada uno de estos segmentos se componen de cuatro capas, la mucosa que posee pliegues primarios, secundarios y terciarios, una capa de tejido conectivo vascularizada, una capa de músculo liso y finalmente está la capa serosa (6).

El epitelio del oviducto posee una población heterogénea de células ciliares, células secretoras y células basales, cuya cantidad, proporción y tamaño, varía de una región a otra en el oviducto y presenta cambios con respecto al ciclo estral por la influencia hormonal. De manera general, la proporción de células secretoras no ciliadas aumenta hacia las regiones del infundíbulo y el ámpula, mientras que la población de células ciliadas aumenta en las regiones del istmo y la unión útero-tubal (7).

Las células ciliadas presentan un movimiento coordinado, se encargan de la capacitación espermática y del transporte de gametos y embriones. Por otra parte, las células secretoras presentan una fisiología celular específicamente programada para la secreción de diferentes componentes dentro del lumen oviductal (8), que junto con el trasudado del plasma sanguíneo dan lugar a la formación del FO, que será el medio de transporte de gametos y embriones, así como también suministrará los requerimientos metabólicos necesarios y, a través del cual, se dará la comunicación e interacción con el oviducto (9).

### Fluido oviductal

El FO contiene varios componentes metabólicos tales como: glucosa, lactato, piruvato y aminoácidos. Además, un gran número de proteínas han sido detectadas en el FO, las cuales se clasifican en diferentes grupos como: factores de crecimiento, citosinas y receptores, hormonas y

receptores, proteasas e inhibidores, agentes antioxidantes, agentes de defensa, glicosidasas y glicosil-transferasas, chaperonas y proteínas de choque térmico, glicosaminoglicanos y proteoglicanos, y otros tipos de proteínas (10).

El oviducto de las hembras de los mamíferos, está bajo constantes cambios morfológicos, bioquímicos y fisiológicos durante el ciclo estral. Algunas secreciones parecen responder a la influencia cíclica de las hormonas, mientras que otras son producidas a un ritmo constante. Se ha sugerido que existe un gradiente en la secreción de las proteínas oviductales, desde el infundíbulo a través del ampulla y hacia el istmo (11).

Se ha caracterizado el proteoma del FO de la oveja y se han identificado 624 proteínas, de éstas, las más abundantes durante el estro son la oviductina (OVGP1), la isocitrato deshidrogenasa que participa en el ciclo de Krebs, el factor de elongación 1- $\alpha$ 1 (EEFA1) que interviene en la biosíntesis de proteínas, la proteína de choque térmico HSPA8 que pertenece a la familia de proteínas en respuesta al estrés, la proteína E14-3-3 y la anexina A8 de unión al  $\text{Ca}^{2+}$  que participa en la organización, en la estructura de los fosfolípidos de la membrana plasmática y en las proteínas del citoesqueleto. Las proteínas con mayor abundancia en la fase lútea, son la macroglobulina  $\alpha$ -2 que promueve la proliferación celular, la ceruloplasmina que transporta cobre, la gelsolina que está involucrada en el ensamblaje y desensamblaje de los filamentos de actina, la transferrina que se encarga del transporte de hierro y el factor b del complemento que participa en la proliferación y preactivación de los linfocitos B (12).

### **El ciclo estral de la oveja**

Se puede definir el ciclo estral como una secuencia de eventos endocrinos regulados por el hipotálamo (secreción de GnRH), la adenohipófisis (FSH y LH), el ovario y sus respectivas estructuras como los folículos (estradiol e inhibina) y los cuerpos lúteos (oxitocina y progesterona) y, finalmente el útero que es responsable de la secreción de las prostaglandinas F2 $\alpha$  (13).

La oveja es una especie que presenta mayor actividad sexual a finales del verano y en otoño, con la finalidad de que los partos tengan lugar en primavera, momento más favorable para la supervivencia de los corderos. Durante este periodo de actividad reproductiva, la oveja presenta una sucesión de ciclos estrales (intervalo de tiempo entre dos celos consecutivos) con una duración media de 17 días, que varía entre 16 y 19 días (14).

El ciclo estral se puede dividir en dos fases, la fase lútea (días 1-12) y folicular (días 13-17). Durante la fase lútea, los niveles plasmáticos de progesterona van aumentando progresivamente hasta alcanzar valores de entre 1 y 5 ng ml<sup>-1</sup>, entre los días 6 y 7 del ciclo. Esto se debe a que después de la ovulación, el folículo de Graaf se llena de sangre para formar el cuerpo hemorrágico que, por influencia de la LH, estimula la proliferación y la transformación de las células de la granulosa en células luteínicas, las cuales conforman al cuerpo lúteo alrededor del día 4 del ciclo. En esta fase se presentan en promedio tres ondas de crecimiento folicular, las dos primeras concluirán con atresia folicular, mientras que la última dará lugar al folículo que llegará a ovular en el siguiente ciclo estral (14, 15).

Si no se produce una gestación durante la fase lútea, el cuerpo lúteo secretará oxitocina, que, a nivel del endometrio induce la descarga de PGF2 $\alpha$ , lo cual provocará la lisis del cuerpo lúteo y que así finalice la fase lútea, iniciando una nueva fase folicular. Durante la fase folicular, la frecuencia de los pulsos de GnRH y LH aumentan, debido a la caída de los niveles plasmáticos de progesterona tras la lisis del cuerpo lúteo; la frecuencia de los pulsos de GnRH y LH puede llegar hasta 1 pulso/hora. El aumento de la frecuencia pulsátil de LH, facilita la maduración final de los folículos en crecimiento y, por lo tanto, dará lugar a un aumento notable en los niveles de estradiol producidos por los mismos, que propiciará las manifestaciones externas del celo precedentes al pico preovulatorio de LH, asociado con un aumento notable del flujo sanguíneo al ovario y al folículo dominante, aumentando la presión folicular que culmina con la ovulación (14).

## PARTE EXPERIMENTAL

### Obtención de fluido oviductal y fluido uterino

Los FO y FU se obtuvieron a partir de aparatos reproductores de ovejas adultas criollas (*Ovis aries*), colectados de un rastro local del Estado de México, éstos se manejaron con guantes estériles inmediatamente después de la apertura de la cavidad abdominal y se transportaron al laboratorio en bolsas de plástico estériles en condiciones de refrigeración.

Una vez en el laboratorio, los aparatos reproductores se colocaron sobre una charola de disección estéril y bajo evaluación visual macroscópica, se clasificaron con base en la morfología de las estructuras foliculares y luteales ováricas, para determinar la fase del ciclo estral (16). Los aparatos reproductores con ovarios de tamaño y forma irregular, así como con quistes, o de hembras gestantes, fueron descartados.

La fase folicular se determinó por la presencia de varios folículos primarios ( $\leq 4\text{mm}$ ) y un folículo dominante ( $\geq 8\text{mm}$ ). La fase lútea se dividió en temprana y media, la fase temprana se determinó por la presencia de cuerpos hemorrágicos, mientras que la fase media se determinó por la presencia de cuerpos lúteos en desarrollo. El FO se recuperó del oviducto ipsilateral al ovario con presencia de cuerpos hemorrágicos, mientras que el FU se obtuvo del cuerno uterino ipsilateral al ovario con presencia de cuerpos lúteos en desarrollo.

Una vez clasificados los aparatos reproductores, se disecaron los ligamentos suspensorios y se seccionó la unión útero-tubal para separar al oviducto del cuerno uterino, los oviductos y cuernos uterinos se lavaron y mantuvieron en DPBS estéril (1% de anfotericina B, gentamicina y penicilina A, Laboratorios In Vitro, SA de CV) a 4 °C.

Para la extracción de FO, se siguió la metodología descrita por Carrasco *et al.* (17) con algunas modificaciones. El oviducto se colocó extendido sobre una superficie plana y con un portaobjetos se ejerció presión desde la unión útero-tubal hacia el ámpula, inmediatamente después se colocó un clamp para evitar el regreso del fluido. Posteriormente se introdujo una pipeta Pasteur de vidrio pulida al fuego para recuperar el FO, mismo que fue depositado en un tubo cónico para micro centrifuga de 300  $\mu\text{L}$ . La muestra se centrifugó a 2000x g por 5 min a 4 °C, se recuperó el sobrenadante y se volvió a centrifugar a 7000x g por 10 min a 4 °C, el sobrenadante se almacenó a -80 °C hasta su uso.

Para la obtención de FU, se introdujo una pipeta Pasteur pulida al fuego en la unión útero-tubal, colectando el fluido y por succión colocándolo en un tubo de micro centrifuga de 300  $\mu\text{L}$ , para luego procesarlo y almacenarlo de igual manera que para el FO.

### Determinación total de proteínas por ensayo de Bradford

Se preparó una curva de calibración con BSA como estándar proteico. Para ello, se agregaron 500  $\mu\text{L}$  de solución Bradford más 10  $\mu\text{L}$  de cada concentración de la curva, a tubos cónicos de micro centrifuga de 600  $\mu\text{L}$  por duplicado.

Para analizar los FO y FU, se tomó 1  $\mu\text{L}$  de cada uno y se mezcló con 500  $\mu\text{L}$  de solución Bradford, colocándolos en tubos de micro centrifuga de 600  $\mu\text{L}$  por duplicado. Todas las muestras se homogenizaron.

Posteriormente, las muestras se calentaron a 95 °C durante 5 minutos en baño María, después se colocaron 200  $\mu\text{L}$  de cada una de las concentraciones de la curva de calibración de BSA, así como de los FO y FU, en celdas de una placa de 96 pocillos.

Finalmente se analizaron las muestras con un espectrofotómetro a una absorbancia de 595 nm y se registraron los valores obtenidos.

### Separación de proteínas

La separación de proteínas se realizó a través de una electroforesis, para lo cual se preparó un gel de poliacrilamida al 10%. Primero se preparó el gel separador con los siguientes reactivos, 4.01 mL

de H<sub>2</sub>O, 2.5 mL de Tris-HCl (1.5 M, pH 8.8), 3.32 mL de Bis-Acrilamida (30%), 100 µL de SDS (10%), 50 µL de persulfato de amonio (10%) y 10 µL de TEMED.

Inmediatamente después, se colocó la mezcla en el cartucho donde se polimerizó el gel. Posteriormente se adicionó el gel de concentración y se colocó un peine para formar 10 pozos, se dejó polimerizar.

En un tubo cónico de micro centrifuga se colocaron 10 µL de Buffer de corrimiento con 50 mg/mL de proteína de cada una de las muestras de FO y FU, las muestras se homogenizaron y se calentaron a 95°C durante 5 minutos en baño María. Después se cargaron las muestras en cada pozo del gel de poliacrilamida junto con un marcador de peso molecular de 10 a 250 kD.

Una vez montada la cámara de electroforesis, se conectó a la fuente de poder y se compactaron las proteínas a 150 V por 15 minutos, posteriormente se dejaron correr las muestras a 100 V durante 180 minutos.

#### Tinción con azul de Comassie

Una vez finalizada la electroforesis, el gel se tiñó con una solución de azul de Comassie (azul de Comassie al 0.1%, metanol al 50% y ácido acético glacial al 10%) durante una hora en oscilación constante. Al finalizar el tiempo de tinción, se procedió a retirar el exceso de tinción con una solución al 40% de metanol durante 15 minutos en oscilación, se retiró la solución de lavado y se añadió nueva, se realizaron varios lavados hasta que las bandas comenzaron a aparecer.

#### RESULTADOS

Se trabajaron 14 aparatos reproductivos de oveja, de los cuales seis se encontraban en fase folicular (presencia de folículos), tres en fase lútea temprana (presencia de cuerpos hemorrágicos, Figura 1) y cinco en fase lútea media (presencia de cuerpos lúteos, Figura 2).

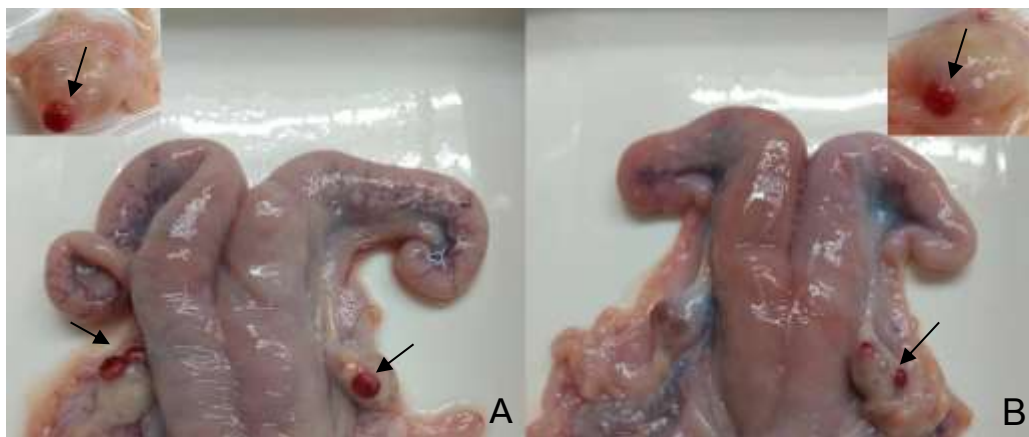


Figura 1. Aparatos reproductivos de ovejas en fase lútea temprana. A) Se observa la presencia de tres cuerpos hemorrágicos, dos del ovario izquierdo y uno del ovario derecho. B) Se observa la presencia de dos cuerpos hemorrágicos del ovario derecho. Las flechas señalan los cuerpos hemorrágicos presentes.



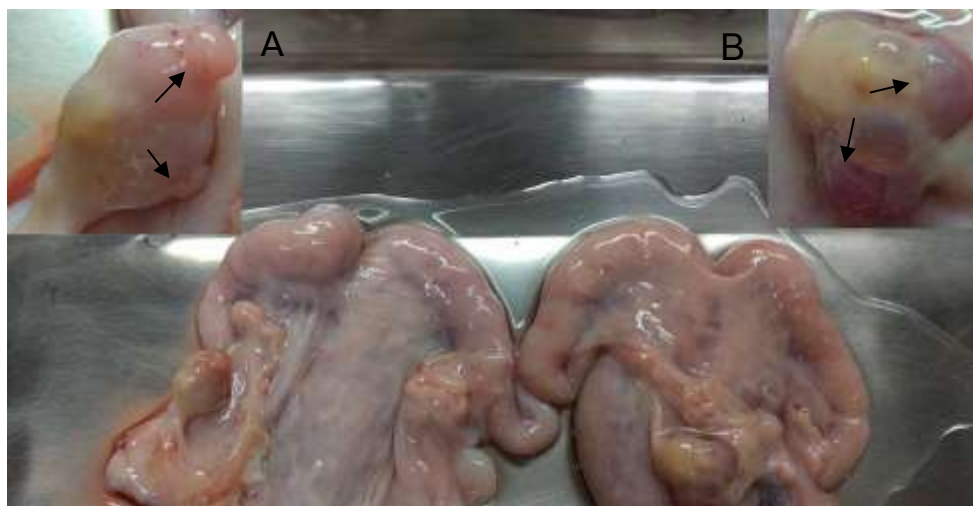


Figura 2. Aparatos reproductivos de ovejas en fase lútea media. Se observa la presencia de dos cuerpos lúteos del ovario izquierdo en ambos aparatos reproductivos (A y B). Las flechas señalan los cuerpos lúteos presentes.

La tabla 1 muestra los volúmenes finales obtenidos de FO en fase folicular, FO en fase lútea temprana y FU en fase lútea media. En promedio se obtuvo un mayor volumen de FU que de FO por aparato reproductivo, similar a lo reportado para FO (0.1 a 1.2 mL) y para FU (0.5 a 11 mL) evaluado durante un día completo en ovejas *in vivo* (3, 4). También se observó que en la fase folicular, se recuperó mayor volumen de FO que en la fase lútea (4.5 vs 1.8  $\mu$ L).

Tabla 1. Volumen Total de Fluido Oviductal y Uterino de Oveja.

Aparatos Reproductivos				Fluidos ( $x \pm DE$ )		
N	Fase Folicular	Fase Lútea		Oviductal ( $\mu$ L)		Uterino ( $\mu$ L)
		Temprana	Media	Fase Folicular	Fase Lútea Temprana	Fase Lútea Media
14	6	3	5	45 (4.5 $\pm$ 0.65)	13 (1.8 $\pm$ 1.36)	85 (14.2 $\pm$ 1.29)

La osmolaridad del FO en fase folicular fue de 645 mOsm/kg, mientras que en fase lútea fue de 634 a 1643 mOsm/kg, finalmente la osmolaridad del FU en fase lútea fue de 984 a 1277 mOsm/kg (Tabla 2).

Tabla 2 Osmolaridad del Fluido Oviductal y Uterino de Oveja.

Fluido	Osmolaridad (mOsm/kg) <sup>290</sup>
Oviductal-Folicular	645
Oviductal-Lútea <sub>1</sub>	634
Oviductal-Lútea <sub>2</sub>	1643
Uterino-Lútea <sub>1</sub>	1277
Uterino-Lútea <sub>2</sub>	984
Suero Fetal Bovino	400

Los valores de osmolaridad de las muestras evaluadas son casi el triple de lo reportado por otros autores para FO (316 mOsm/kg) y FU (349 mOsm/kg) (4). Posiblemente esto fue debido a la deshidratación de los aparatos reproductores durante su manipulación y a procesos metabólicos, con la generación de especies reactivas de oxígeno que pueden alterar la osmolaridad.

#### Determinación de proteína total en fluido oviductal y uterino

Se determinó la absorbancia de la curva de calibración de BSA, por duplicado (Tabla 3) de cinco muestras, una de FO en fase folicular (Ov-Fo), dos de FO en fase lútea (Ov-Lu<sub>1</sub> y Ov-Lu<sub>2</sub>) y dos de FU en fase lútea (Ut-Lu<sub>1</sub> y Ut-Lu<sub>2</sub>) (Tabla 4). Se obtuvo el promedio de las absorbancias obtenidas de cada concentración de la curva de calibración y de cada muestra de fluido.

Tabla 3. Absorbancias de la Curva de Calibración.

BSA □ mg/mL	Absor 1	Absor 2	Absor x
0	0.498	0.532	0.515
10	0.515	0.559	0.537
20	0.551	0.573	0.562
30	0.6	0.632	0.616
40	0.643	0.671	0.657
50	0.671	0.715	0.693
60	0.72	0.742	0.731
70	0.76	0.783	0.772
80	0.78	0.827	0.804

Se determinó la concentración total de proteínas para cada muestra de FO y FU (Tabla 4), las cuales se encontraron en un rango de 20 a 50 mg/mL, que es mayor a lo reportado para FO (10 mg/ mL) y FU (30 mg/mL), en ovejas (4). Posteriormente se calculó el volumen que se tendría que tomar para cargar 50 mg/mL de proteína en un gel de poliacrilamida.

Tabla 4. Absorbancias de los Fluidos Oviductal y Uterino.

Muestras	Absor 1	Absor 2	Absor x	Concentración Total de Proteína (mg/ml)	50 mg (µL)
Ov-Lu <sub>1</sub>	0.589	0.63	0.610	28.314	1.77
Ut-Lu <sub>1</sub>	0.565	0.597	0.581	20.829	2.40
Ov-Fo	0.563	0.593	0.578	20.041	2.49
Ov-Lu <sub>2</sub>	0.64	0.668	0.654	40.000	1.25
Ut-Lu <sub>2</sub>	0.684	0.706	0.695	50.767	0.98

#### Separación de proteínas

Se estandarizó la separación de proteínas de FO y FU por medio de una electroforesis. Se corrieron cinco muestras (Ov-Lu<sub>1</sub>, Ov-Lu<sub>2</sub>, Ov-Fo, Ut-Lu<sub>1</sub> y Ut-Lu<sub>2</sub>). Se observaron diferentes bandas en el gel de poliacrilamida que correspondían a proteínas de determinado peso molecular. Se observó una banda de mayor tamaño que estaba presente en todas las muestras analizadas, de acuerdo con su peso molecular (66.4 kD) se deduce que esta banda corresponde a la albúmina, proteína que está presente en gran cantidad en el FO y FU (Figura 3). Se observó que la concentración de albúmina es diferente para cada una de las muestras (Figura 4), en el caso de la muestra Ut-Lu<sub>2</sub>, presenta mayor concentración que las demás.

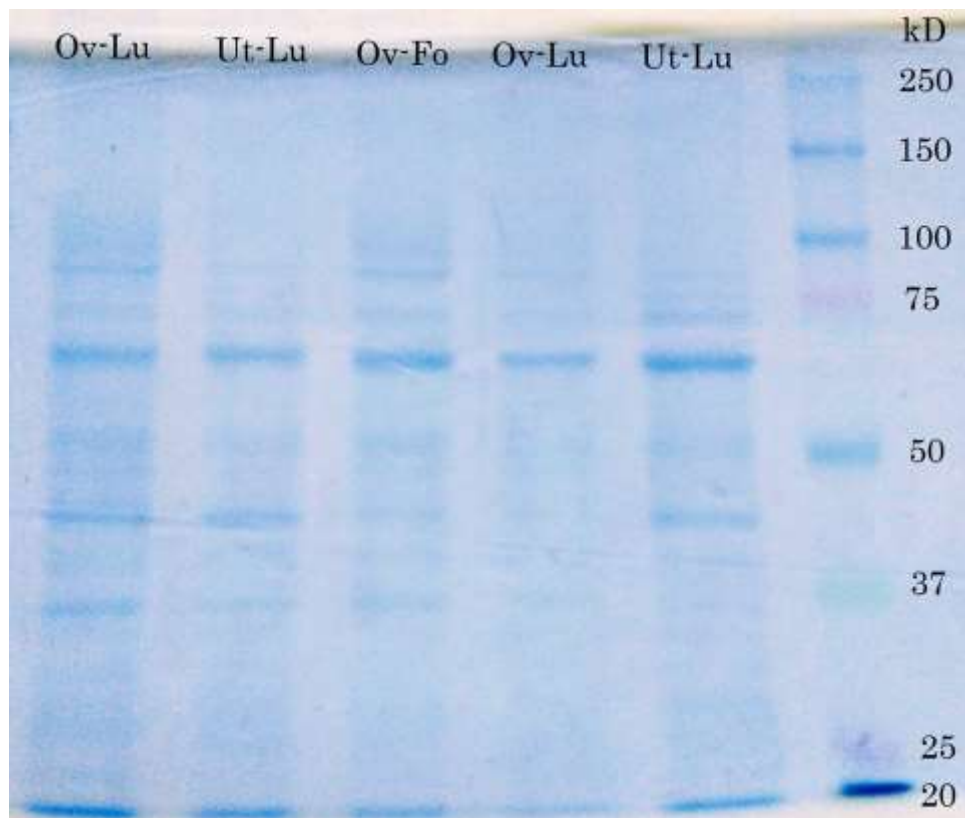


Figura 3. Separación de proteínas de fluido oviductal y uterino. Se corrieron cinco muestras, fluido oviductal en fase lútea (Ov-Lu), fluido oviductal en fase folicular (Ov-Fo) y fluido uterino en fase lútea (Ut-Lu). Se observan diferentes bandas que corresponden a proteínas de determinado peso molecular.

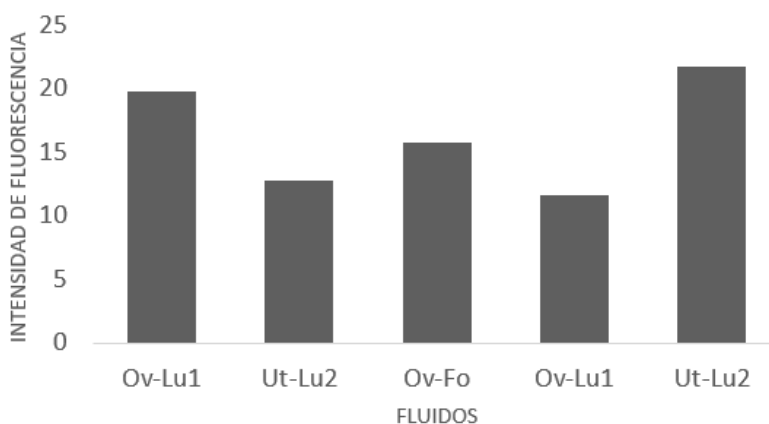


Figura 4. Determinación de la concentración de albúmina en los FO y FU. Se muestra la intensidad de fluorescencia de la banda que corresponde a albúmina en cada una de las muestras (Ov-Lu<sub>1</sub>, Ov-Lu<sub>2</sub>, Ov-Fo, Ut-Lu<sub>1</sub> y Ut-Lu<sub>2</sub>).

## CONCLUSIONES

En el presente trabajo, el volumen, la osmolaridad y la concentración de proteína total fue mayor para el fluido uterino que para el fluido oviductal. Los parámetros evaluados varían de acuerdo a la fase del ciclo estral de las ovejas; en la fase folicular se obtuvo un mayor volumen y osmolaridad de fluido oviductal, y una menor concentración de proteína total en la fase luteal. La albúmina fue la proteína más abundante presente en ambos fluidos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. A. Verma, M. Verma A. Singh, Animal tissue culture principles and applications, Animal Biotechnology, 2020, doi: 10.1016/B978-0-12-811710-1.00012-4. pp. 269-293.
2. D. K. Gardner, M. "Lane, Culture of viable mammalian embryos in vitro", in Principles of Cloning (Academic Press, 2014) Chapter 6, pp. 63-84.
3. B. J. Restall and R. G. Wales, The fallopian tube of the sheep, III The chemical composition of the fluid from the fallopian tube, Australian Journal of Biological Sciences, Vol. 19, 4, 1966 pp. 687-698.
4. R. G. Wales, The uterine of the ewe, II Chemical analysis of uterine fluid collected by canulation, Australian Journal of Biological Sciences, Vol. 26, 4, pp. 947-959.
5. H. R. Tervit, D. G. Whittingham, L. E. Rowson, Successful culture in vitro of sheep and cattle ova, Journal of Reproduction and Fertility, Vol. 30, 3, pp. 493-497.
6. S. Kölle, B. Hughes, H. Steele, Early embryo-maternal communication in the oviduct: A review, Molecular Reproduction and Development, 2020, Vol. 87, 6, pp. 650-662.
7. C. Galina, J. Valencia, Reproducción de animales domésticos, 3a edición, Editorial Limusa, México, D.F., 2008, pp. 569.
8. M. Binelli, A. Gonella-Diaza, F. Silveira, C. Bertan, Sex steroid-mediated control of oviductal function in cattle, Biology, Vol. 7, 1, 2018, doi: 10.3390/biology7010015.
9. S. Li, W. Winuthayanon, Oviduct: roles in fertilization and early embryo development. Journal of Endocrinology, Vol. 232, 1, 2017 pp. R1-R26.
10. M. Avilés, A. Gutiérrez-Adán, P. Coy, (2010) Oviductal secretions: will they be key factors for the future ARTs?, Molecular Human Reproduction, 16(12): 896-906.
11. Buhi W. C., Alvarez I. M., Kouba A. J. (2000) Secreted proteins of the oviduct, Cells Tissues Organs, 166(2): 165-179.
12. C. Soleihavoup, C Riou, G. Tsikis, V. Lavas, G. Harichaux, P. Kohnke, K. Reynaud, S. P. de Graaf, N. Gerard, X. Druart, Proteomes of the female genital tract during the oestrous cycle, Molecular & Cellular Proteomics, Vol. 15, 1, 2016, pp 93-108.
13. C. Cortez, J. Gallegos, Biotecnologías reproductivas moleculares y génicas en ovinos, Editorial Colegio de Postgraduados, Estado de México, 2014, pp. 285.
14. A. Abecia, F. Forcada, Manejo reproductivo en ganado ovino, Editorial Servet, Zaragoza, 2010, pp. 195.
15. J. E. Hernández, F. Fernández, Reproducción de siete especies domésticas, Editorial Universidad Autónoma Metropolitana, México D. F. 2010, pp. 355.
16. P. L. Senger, Pathways to pregnancy and parturition, Current Conceptions, Washington, 2005, pp. 284-289.
17. L. Carrasco, P. Coy P, M. Avilés M, J. Gadea, R. Romar, Glycosidase determination in bovine oviductal fluid at the follicular and luteal phases of the oestrus cycle, *Reproduction, Fertility and Development*, Vol. 20, 7, 2008 pp. 808-817.

## EVALUACIÓN DE LA BIODEGRADACIÓN DE POLIURETANO POR HONGOS MICROSCÓPICOS

Ana Gloria Villalba Villalba<sup>1</sup>, José Alejandro Molina Díaz<sup>2</sup>, Lerma Hanaiy Chan Chan<sup>1</sup>,  
Amir Maldonado Arce<sup>2</sup>

CONACYT-Universidad de Sonora<sup>1</sup>, Universidad de Sonora<sup>2</sup>  
[anagloria.villalba@unison.com](mailto:anagloria.villalba@unison.com)

### RESUMEN

Los poliuretanos (PU) son un tipo de polímero sintético en su mayoría biodegradable con una amplia gama de aplicaciones, pero su alta demanda y uso ha generado un gran problema de contaminación y de manejo de residuos. Según lo anterior, existe la necesidad de buscar métodos alternativos para minimizar los problemas por acumulación de residuos de PU<sup>1</sup>. En ese sentido, existen estudios que han reportado que los PU pueden ser vulnerables al ataque por microorganismos como los hongos microscópicos<sup>2</sup>. Por lo tanto, en este estudio se plantea la búsqueda de cepas fúngicas con capacidad de biodegradar PU. Para lograr lo anterior se realizó la síntesis de un PU biodegradable y se aislaron dos cepas fúngicas a partir de suelo. Las cepas se identificaron de acuerdo con sus principales características morfológicas. Los experimentos de biodegradación del PU se realizaron en placa utilizando agar papa dextrosa (PDA). Mientras que la biodegradación se monitoreó a los días 7, 21 y 35 por pérdida de peso, microscopía óptica, microscopía electrónica de barrido (SEM). Según las características morfológicas las cepas se identificaron como *Rhizopus spp.* y *Cladosporium spp.* Al día 35 *Rhizopus spp.* mostró una pérdida de peso de  $6.22 \pm 1.04$  % y *Cladosporium spp.* de  $8.89 \pm 1.25$  %, mientras que el control (PU sin cepa) perdió  $1.14 \pm 0.39$ %, siendo estadísticamente diferentes. La microscopía óptica permitió observar que el control no experimentó cambios visibles. Ambas especies proliferaron en la superficie del PU, pero *Cladosporium spp.* incluso generó orificios en el polímero desde el día 7 de incubación. La evidencia de SEM confirma que los hongos se acumulan en la superficie del PU, observándose en la superficie, surcos, grietas y erosión, principalmente con *Cladosporium spp.* Ambas especies demostraron capacidad de biodegradación del poliuretano, sin embargo, *Cladosporium spp.* mostró mejor desempeño al provocar mayor pérdida de peso y grietas evidentes en el polímero.

### INTRODUCCIÓN

El desarrollo de la industria ha favorecido el aumento en el consumo y fabricación de polímeros sintéticos, también conocidos como plásticos. El bajo costo y facilidad de fabricación ha permitido el incremento en la demanda global de estos materiales. Se estima que la producción mundial de plásticos es de 311 millones de toneladas anuales<sup>1</sup>. Incluso con el conocimiento de los persistentes problemas de contaminación causados por los polímeros sintéticos, la producción mundial sigue aumentando sobre todo en países en desarrollo. Este gran volumen de plásticos generados día a día representa un gran problema de manejo de residuos. Lo anterior merece atención para investigar opciones de métodos efectivos para la degradación de estos materiales. Los PU son un tipo de polímero sintético utilizado en una amplia gama de aplicaciones como: asientos de automóviles, colchones, suelas de zapatos, esponjas, pinturas y recubrimientos, adhesivos y sellantes, entre otros; esta enorme cantidad de aplicaciones le asegura un elevado uso. Sin embargo, la principal área de aplicación del poliuretano es la industria de la construcción, donde este plástico sintético se utiliza principalmente como aislante y como espuma de montaje, lo que lo convierte en uno de los polímeros con mayor persistencia en el medio ambiente<sup>3</sup>.

Las técnicas más utilizadas para el tratamiento de este tipo de residuos sólidos poliméricos son el compostaje, el reciclaje, la incineración y el relleno sanitario. Las investigaciones sobre el pirólisis u otros procesos de reprocesamiento de poliuretanos (PU) producen compuestos tóxicos como aldehídos, cianuro, amoniaco, isocianatos, óxidos de nitrógeno y cloruro de vinilo, los cuales son peligrosos para la salud humana y responsables de la interrupción de los procesos ecológicos y la contaminación ambiental. Según lo anterior, existe una necesidad de buscar métodos alternativos para resolver los problemas planteados por acumulación de residuos de PU. En ese sentido, existen estudios que han reportado que los PU son vulnerables al ataque por microorganismos como los

hongos microscópicos, mostrando su gran potencial de biodegradación<sup>2,4, 5</sup>. Por lo tanto, en este estudio se plantea la búsqueda de cepas fúngicas con capacidad de biodegradar PU.

## TEORÍA

### Poliuretano (PU)

Es un polímero que se obtiene de bases hidroxílicas combinadas con diisocianatos (normalmente TDI o MDI). Los poliuretanos se clasifican en dos grupos, definidos por su estructura química, diferenciados por su comportamiento frente a la temperatura. De esta manera pueden ser: poliuretanos termoestables o poliuretanos termoplásticos. Los poliuretanos termoestables más habituales son las espumas, muy utilizadas como aislantes térmicos y como espumas resilientes. Entre los poliuretanos termoplásticos más habituales destacan los empleados en elastómeros, adhesivos selladores de alto rendimiento, suelas de calzado, pinturas, fibras textiles, sellantes, embalajes, juntas, preservativos, componentes de automóvil, en la industria de la construcción, del mueble y múltiples aplicaciones más<sup>7</sup>. Otra forma de clasificar la PU es dos subgrupos sobre la base de tipos de polioli utilizados en su síntesis, es decir, poliéster y poliéter. El PU resiste la degradación microbiana, pero se ha visto que el tipo poliéster es más susceptible al ataque microbiano en comparación con el tipo poliéter. Existen varios reportes que informan sobre la susceptibilidad de este tipo de PU al ataque de bacterias y hongos.

### Hongos microscópicos con potencial para biodegradar PU

Una de las aplicaciones más recientes dadas a los hongos microscópicos es su capacidad de biodegradar ciertos materiales, sobre todo los poliméricos. Existen estudios que demuestran la susceptibilidad a la degradación de polímeros mediante el uso de hongos endófitos de los géneros *Pestalotiopsis*, *Alicyclophilus*, *Aspergillus*, *Geomyces pannorum*, *Nectria spp.*, principalmente, además de *Cylindrocladiella parva*, *Penicillium inflatum*, *Plectosphaerella cucumerin* y *P. inflatum*, *Alternaria*, *Penicillium venetum*, *Neonectria ramulariae* y *Penicillium viridicatum*<sup>8</sup>.

Estudios donde se concluye la necesidad por explorar un mayor número de especies para con ello encontrar hongos específicos y óptimos para cada tipo de polímero a degradar.

En un estudio realizado por<sup>9</sup> encontraron que los hongos microscópicos *Aspergillus tubingensis* y *Aspergillus flavus* son capaces de degradar un tipo de polímero de alta densidad (HDPE por sus siglas en inglés). Estas dos cepas colonizaron, formaron una biopelícula y la consecuente degradación del HDPE. Se observó que la superficie del polímero pasó por cambios morfológicos volviéndose rugosa y con grietas, lo anterior indicando la presencia de actividad enzimática. Ambas cepas fúngicas liberaron enzimas extracelulares para degradar el polímero. Estos experimentos fueron realizados en condiciones in vitro.<sup>10</sup> estudiaron la biodegradación de PU por *A. tubingensis*, encontrando que este pudo crecer en la superficie del PU, demostrando su capacidad de degradación por la formación de grietas, poros y pérdida de resistencia a la tracción. En esta investigación también atribuyen a la actividad de enzimas extracelulares como posible mecanismo de degradación utilizado por el hongo, aunque recomiendan ampliar la investigación para elucidar los mecanismos de biodegradación.

En otra investigación llevada a cabo por<sup>8</sup> documentaron la degradación de PU en condiciones anaeróbicas el hongo endófito *Pestalotiopsis spp.*, en donde el polímero sintético sirvió como la única fuente de carbono para el hongo. Este trabajo establece que este tipo de hongos son una fuente útil de biodiversidad con potencial en métodos de degradación de polímeros sintéticos. La relativa facilidad con la que estos organismos pueden aislarse y seleccionarse hacen de estos métodos biológicos de degradación sean accesible y ambientalmente relevantes de estudiar.

Por otro lado,<sup>1</sup> encontraron que *Aspergillus fumigatus* aislado del suelo tiene capacidad de degradación de PU. El hongo provocó un aumento en la temperatura de fusión de PU de 191 a 196 °C que podría ser debido al aumento de la cristalinidad del polímero. Además, observaron un aumento gradual en actividad específica de enzimas tipo esterases hasta el máximo de 15 días de incubación. Si bien es cierto que especies de *Aspergillus* pueden causar infecciones respiratorias graves en personas inmunocomprometidas, sin embargo, *A. fumigatus* y sus enzimas purificadas podrían usarse en ambientes controlados para la degradación de PU.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Síntesis del poliuretano (PU)

#### Materiales

Para la preparación del poliuretano biodegradable, se utilizó como segmento flexible la poli-ε-caprolactona diol (PCL diol) con un peso molecular de 2000 g/mol. El diisocianato empleado fue Hexametileno diisocianato (HDI) y como extensor de cadena se utilizó Glicina. La reacción fue catalizada con 2-etilhexanoato de estaño también conocido como octoato de estaño. Como disolvente en la síntesis se utilizó dimetilformamida (DMF) y para la preparación de películas se empleó tetrahidrofurano (THF). Todos los reactivos antes mencionados son de la marca Sigma-Aldrich. Los reactivos fueron manipulados bajo atmósfera de nitrógeno para evitar su contaminación con agua del ambiente.

#### Síntesis

La síntesis del PU se realizó por medio de una poliadición en dos pasos: el primer paso consistió en la preparación de un prepolímero por medio de la reacción de la PCL diol con el diisocianato (HDI) en proporción 1:2.1 y 0.3% de octoato de estaño como catalizador en disolución de DMF. El segundo paso consistió en hacer reaccionar el prepolímero con cantidades equimolares del extensor de cadena. Para agregar la Glicina, fue disuelta en DMF. La Figura 1 muestra un esquema de la reacción llevada a cabo con los diferentes extendedores de cadena.

La reacción se llevó a cabo por 2 horas para el prepolímero y 2 h de extensión a 60°C y atmósfera de nitrógeno. Una vez terminada la reacción se precipitó en agua destilada el producto para detener la reacción. Posteriormente, el precipitado fue enjuagado exhaustivamente con agua destilada para eliminar todos los residuos de la reacción. Finalmente, el precipitado se secó a presión reducida a 60°C por 24 horas.

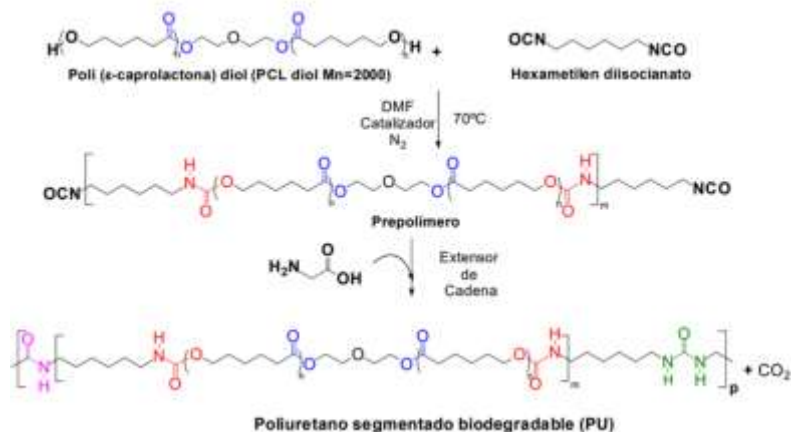


Fig. 1. Esquema de la reacción de polimerización para obtener el PU biodegradable.

#### Aislamiento de las cepas fúngicas

Las cepas fúngicas usadas en este estudio se obtuvieron a partir de muestras de suelo de una mina ubicada en San Felipe de Jesús, Sonora. Las muestras fueron transportadas en bolsas de polietileno y almacenadas a temperatura ambiente hasta el momento de su empleo.

El aislamiento de las cepas fúngicas se llevó a cabo según el método de <sup>11</sup>, con modificaciones. Para ello cinco trozos de PU se colocaron en 10 g de suelo, el cual previamente se mezcló con 100 ml de medio mineral (MM) conteniendo (por litro) 2 g de glucosa, 1 g de NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, 0.2 g MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 1 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1.0 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.15 g KCl, 1 mg de FeSO<sub>4</sub>, 1 mg ZnSO<sub>4</sub>, 1 mg MnSO<sub>4</sub>. Las muestras se incubaron a temperatura ambiente en la oscuridad por 1 mes. Después los trozos de PU se enjuagaron delicadamente con agua destilada esterilizada y se colocaron en medio de cultivo PDA (Potato Dextrose Agar) donde se mantendrán a 28 °C hasta el crecimiento de las cepas.

Posteriormente se realizó el aislamiento de cada uno de los hongos presentes seleccionando las colonias y sembrándolas en medio de cultivo PDA hasta lograr la purificación de las cepas.

### **Identificación morfológica de las cepas fúngicas**

Las cepas aisladas se identificaron en base a las principales características morfológicas de las colonias. Es decir, características macroscópicas como color, forma y tipo de colonia. Además, se analizaron las estructuras microscópicas más importantes como esporas, cabeza conidial y conidióforo utilizando la técnica de microcultivo. El microcultivo consistió en colocar dentro de una placa Petri un cuadrado de 1 cm x 1 cm de PDA montado sobre un portaobjetos, y cada cepa aislada fue inoculada en las esquinas del agar con un asa de cultivo, después se colocó un cubreobjetos sobre el inóculo. Abajo del portaobjetos se colocó un papel filtro húmedo. Se incubó durante 7 días a 28 °C, para luego observar las estructuras microscópicas. Se colocó una gota del colorante azul de lactofenol sobre un portaobjetos, se retiró el cubreobjetos del microcultivo y fue montado en el portaobjetos conteniendo el colorante. Las observaciones se realizaron en un microscopio óptico.

### **Pruebas de biodegradación**

#### **Biodegradación en placa**

Las cepas fúngicas fueron probadas para biodegradar el PU en medio de cultivo PDA. Para ello, se inocularon las placas con cada cepa de manera individual y se colocaron sobre el inóculo cinco trozos de 5 mm x 15 mm de PU (previamente esterilizados por exposición a luz UV durante 60 min) y se incubaron a 28 °C por 7 días. Después de los 7 días, cuando el micelio cubra los trozos de PU fueron transferidas a PDA suplementado con el MM. El tratamiento control constó en colocar el PU en el medio de cultivo sin inóculo. La biodegradación se monitoreó a 7, 21 y 35 días, respectivamente mediante fotografías, microscopía óptica, microscopía electrónica de barrido (SEM) y pérdida de masa. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

#### **Caracterización de la biodegradación**

Los fragmentos de película de PU recuperadas del experimento de degradación en placa fueron analizados por pérdida de peso, cambios en la morfología de la superficie (microscopía óptica y microscopía electrónica de barrido, SEM, por sus siglas en inglés). También se analizó el control (PU sin inóculo).

#### **Pérdida de peso**

El PU recuperado de los ensayos de biodegradación fue lavado con agua destilada esterilizada para remover la biomasa adherida y restos de componentes del medio de cultivo. La pérdida de peso se calculó siguiendo la ecuación:

$$\text{Pérdida de peso (\%)} = (\text{peso inicial} - \text{peso final}) / \text{peso inicial} \times 100$$

#### **Cambios en la superficie**

La erosión de la superficie del PU se analizó mediante fotografías, microscopía óptica y microscopía electrónica de barrido, con el objetivo de encontrar cambios derivados de la incubación con las cepas. Para ello, los fragmentos de PU se lavaron con agua destilada esterilizada y se examinaron por fotografías, microscopía óptica y SEM.

#### **Análisis estadístico**

Todos los experimentos se realizaron por triplicado. El análisis estadístico se realizó utilizando el software Minitab 17, mediante análisis unidireccional de ANOVA. Los datos obtenidos se expresaron como media  $\pm$  desviación estándar (DE). Las diferencias se consideraron significativas a  $p < 0.05$ .

## **RESULTADOS**

### **Aislamiento e identificación morfológica de las cepas**

Se lograron aislar dos especies de hongos microscópicos, que según sus principales características morfológicas se identificaron como *Rhizopus spp.* y *Cladosporium spp.*, como se describe a continuación.



**Características macroscópicas*****Rhizopus spp.***

Se observaron, colonias elevadas y opacas, de color gris, y forma rizoide con una textura algodonosa y aspecto rugoso (Figura 2) tal y como se ha descrito en la literatura para cepas de *Rhizopus spp.*<sup>12</sup>.

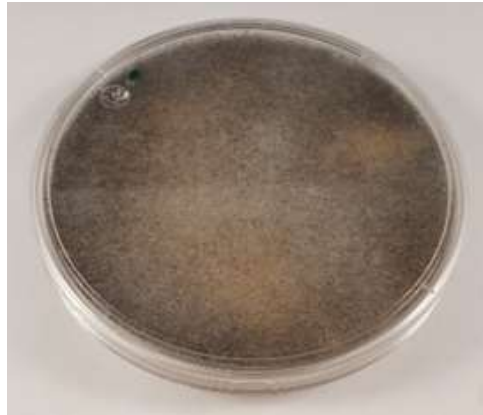


Figura 2. Características macroscópicas de *Rhizopus spp.* aislada en este estudio.

***Cladosporium spp.***

Colonias de forma irregular, elevadas y opacas color marrón, con una textura compacta y un aspecto rugoso con un tamaño aproximado entre 56 y 63 mm, como se puede observar en la Figura 3 y tal como se ha descrito en la literatura<sup>13</sup>.

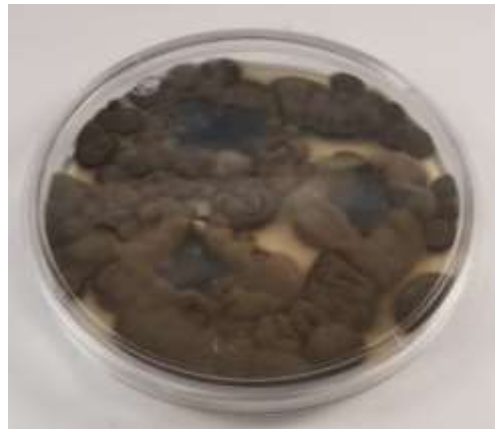


Figura 3. Características macroscópicas de *Cladosporium spp.* aislada en este estudio.

**Características microscópicas*****Rhizopus spp.***

Entre las principales características microscópicas de este micromiceto se encuentran, un micelio macrosifonado, hialino, cenocítico, en los puntos en donde se conectan los esporangióforos y los estolones que presentan, se forman rizoides. Los esporangióforos son largos y no se ramifican, culminan en esporangios de gran tamaño, presenta una alta producción de esporas (Figura 4)<sup>12</sup>.

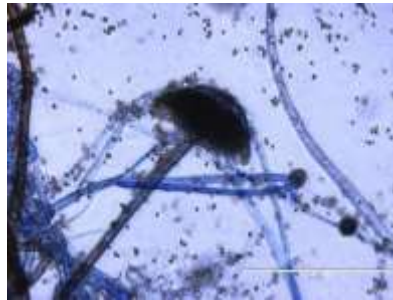


Figura 4. Características microscópicas de *Rhizopus spp.* aislada en este estudio.

### ***Cladosporium spp.***

Entre las principales características microscópicas de este hongo microscópico, destacan sus hifas generativas, los conidióforos son curvados en los puntos donde se origina la conidia o espora. Este patrón curvo es llamado de crecimiento simpodial geniculado y suele tener una escasa producción de esporas (Figura 5) <sup>13</sup>.

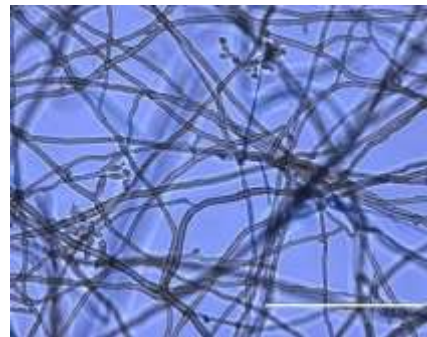


Figura 7. Características microscópicas de *Cladosporium spp.* aislada en este estudio.

### **Caracterización de la biodegradación**

En la siguiente sección se explican los cambios ocurridos en el PU por acción de las cepas fúngicas de *Rhizopus spp.* y *Cladosporium spp.* aisladas en este estudio.

#### **Pérdida de peso**

El monitoreo de la pérdida de peso del PU se realizó al día 7, 21 y 35, encontrando que en los tratamientos con las cepas fúngicas siempre fue mayor la pérdida de peso comparada con el control (PU sin contacto con hongos). La pérdida de peso del PU fue la misma con ambas cepas (2.3 %), mientras que al día 21 la pérdida de peso con *Rhizopus spp.* fue de  $5.19 \pm 0.22$  % y con *Cladosporium spp.* fue de  $7.19 \pm 1.75$  %. Al día 35 *Rhizopus spp.* arrojó una pérdida de peso de  $6.22 \pm 1.04$  % y *Cladosporium spp.* de  $8.89 \pm 1.25$  %. En el estudio realizado por Devi et al., 2015, reportaron una pérdida de peso de  $6.02 \pm 0.20$  % para un polietileno de alta densidad a los 30 días de contacto con una cepa de *A. tubingensis*, que a pesar de ser considerado un desecho sólido no biodegradable y de  $8.51 \pm 0.10$  % por acción de una cepa de *A. flavus*.

#### **Cambios de superficie**

A continuación, se muestran los cambios ocurridos en la superficie del PU por acción de los hongos microscópicos *Rhizopus spp.* y *Cladosporium spp.* a 35 días de contacto.

#### **Microscopía óptica**

La microscopía óptica permitió observar que el control no experimentó cambios visibles durante el tiempo de contacto con el medio de cultivo (Figura 8). Por otro lado, en las Figura 9 y 10 se puede

apreciar que la superficie del polímero la presencia de hifas. Lo anterior gracias a la hidrofobicidad de las células que les permite con facilidad proliferar en la superficie del PU, este comportamiento es similar para ambas cepas. Sin embargo, que *Cladosporium spp.* generó orificios en el polímero desde el día 7 de incubación.

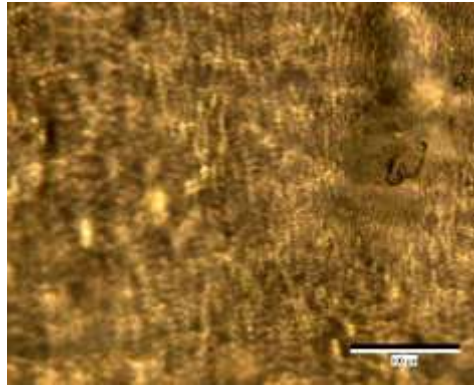


Figura 8. Morfología de la superficie del PU por microscopía óptica. Control, sin exposición a cepas fúngicas, con exposición al medio de cultivo durante 35 días.

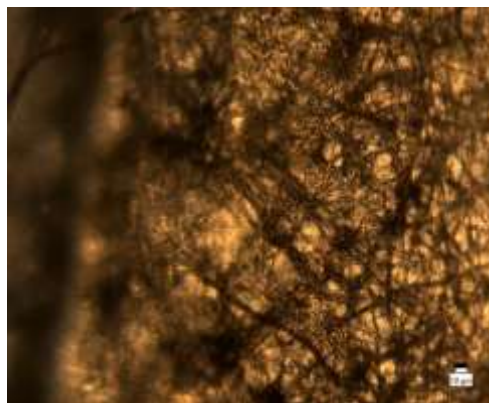


Figura 9. Morfología de la superficie del PU por microscopía óptica. PU a 35 días de contacto con *Rhizopus spp.*

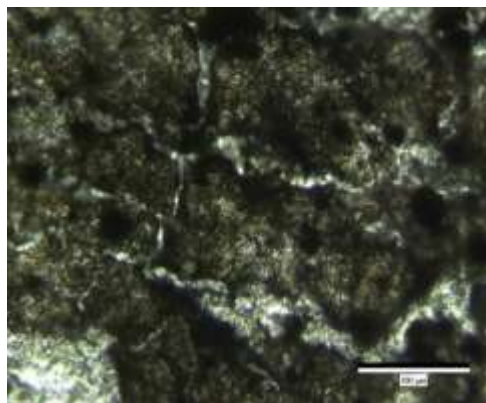


Figura 10. Morfología de la superficie del PU por microscopía óptica. PU a 35 días de contacto con *Cladosporium spp.*

**Microscopía electrónica de barrido (SEM)**

Los cambios en la topografía de la superficie de las películas de PU se examinaron mediante análisis SEM. En la Figura 11, se observa que el PU con tratamiento control (sin hongo), no experimentó cambios importantes en su morfología superficial a los diferentes días de exposición, incluso al día 35. Mientras que, en los tratamientos con hongos, la adhesión de las células fúngicas (hifas) sobre la superficie del PU durante la formación de biopelícula condujo a la erosión en la superficie del polímero (Figura y Figura 13). Lo anterior sucedió con ambas cepas estudiadas, pero este efecto fue más evidente con el hongo microscópico *Cladosporium spp.*

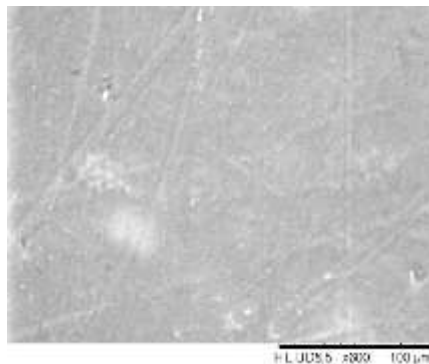


Figura 11. Morfología de la superficie del PU por microscopía electrónica de barrido (SEM). Control, sin exposición a cepas fúngicas, con exposición al medio de cultivo durante 35 días.



Figura 12. Morfología de la superficie del PU por microscopía electrónica de barrido (SEM). PU a 35 días de contacto con *Rhizopus spp.*

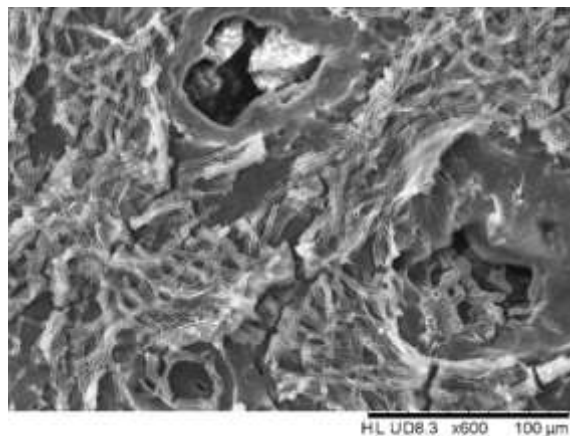


Figura 13. Morfología de la superficie del PU por microscopía electrónica de barrido (SEM). PU a 35 días de contacto con *Cladosporium spp.*

En este estudio, las imágenes obtenidas por SEM confirman que los hongos se acumulan en la superficie del PU, observándose también, surcos, grietas y erosión, principalmente con *Cladosporium spp.* Además, se observó que las películas tratadas con los hongos se volvieron rugosas mientras que la película no tratada mantuvo una superficie lisa incluso después de 35 días.<sup>9</sup> reportaron efectos similares, pero no tan evidentes de alteración física de polietileno de alta densidad por una cepa de *A. tubingensis* y *A. flavus*. También<sup>14</sup>, observaron efectos similares con biodegradación de polietileno con bacterias. Adicionalmente la degradación fue más evidente dado que el polímero de este proyecto está preparado con segmentos de poliéster, el cual que puede ser hidrolizado más fácilmente, al grado de considerarse como biodegradable; esto a diferencia del polietileno que normalmente no se considera biodegradable al carecer de dicha característica hidrolizable.

## CONCLUSIÓN

Se lograron aislar e identificar los hongos microscópicos como *Cladosporium spp.* y *Rhizopus spp.*, lo anterior en base a sus características micro y macroscópicas. Fue posible sintetizar el poliuretano con una estructura que le permitió ser biodegradable gracias a los sus grupos biodegradables en su estructura. Ambas especies demostraron capacidad de biodegradación del poliuretano, sin embargo, *Cladosporium spp.* mostró mejor desempeño al provocar mayor pérdida de peso, una mayor afectación en su estructura química y evidentes cambios físicos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. M. Osman, M. Sadia, A. Satti, F. Hasan, S. Ziaullah, A. Aamer, "Degradation of polyester polyurethane by *Aspergillus* sp. strain S45 isolated from soil", J. Polym. Environ., Vol. 26, 2018, pp. 301–310.
2. U. Zafar, P. Nzeram, A. Langarica-Fuentes, A. Houlden, A. Heyworth, A. Saiani, G.D. Robson, "Biodegradation of polyester polyurethane during commercial composting and analysis of associated fungal communities", Bioresour. Technol., Vol. 158, 2014, pp. 374-377.
3. Y. Primo, E. Eduardo, "Química orgánica básica y aplicada: de la molécula a la industria", Ed. Reverté, S.A. Universidad Politécnica de Valencia, España. 174-178. (1996).
4. S.R. Barratt, A.R., Ennos, M. Greenhalgh, G.D. Robson, P.S. Handley, "Fungi are the predominant micro-organisms responsible for the degradation of soil-buried polyester polyurethane over a range of soil water holding capacities", J. Appl. Microbiol., Vol. 94, 2003, pp. 1-8.

5. K. Krasowska, H. Janik, A. Gradys, M. Rutkowska, "Degradation of polyurethanes in compost under natural conditions", *J. Appl. Polym. Sci.*, Vol. 125, 2012, pp. 4252-4260.
6. G. Mathur, R. Prasad, "Degradation of polyurethane by *Aspergillus flavus* (ITCC 6051) isolated from soil", *Appl. Biochem. Biotechnol.*, Vol. 167, 2012, pp. 1595-1602.
7. A. González, R. Midalis, M. Vázquez, "Caracterización de la espuma rígida de poliuretano expandido como impermeabilizante de cubiertas", *Revista de Arquitectura e Ingeniería*, Vol. 10, 2, 2016, pp. 1-12.
8. J. R. Russell, J. Huang, P. Anand, K. Kucera, A. G. Sandoval, K. W. Dantzer, "Biodegradation of polyester polyurethane by endophytic fungi", *Appl. Environ. Microbiol.*, 77, 1, 2011, pp. 6076-6084.
9. S. Devi, R. Kannan, D. Nivas, K. Kannan, S. Chandru, "Biodegradation of HDPE by *Aspergillus* spp. from marine ecosystem of Gulf of Mannar, India", *Mar. Pollut. Bull.*, 96, 1-2, 2015, pp. 32-40.
10. S. Khan, S. Nadir, Z. Ullah, S. Ali, S. Karunarathna, X. Jianchu, "Environmental pollution, biodegradation of polyester polyurethane by *Aspergillus tubingensis*". P.225:469-480. (2017).
11. A. Sivan, M. Szanto, V. Pavlov, "Biofilm development of the polyethylene degrading bacterium *Rhodococcus ruber*", *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 72, 2, 2006, pp. 346-352.
12. J.A. Bonifaz, "Micología médica básica". 4ta. ed. Ed. McGrawHill, México., 2012, pp. 97.
13. A. Hernández, D. León, R. Narovis, A. Diaz, "Identificación de aislamientos autóctonos de pseudomonas fluorescentes con actividad antagonista *Curvularia* spp.", Facultad de Biología. Universidad de la Habana, *Rev. Protección Veg.*, Vol. 25, 3, 2010, pp. 181-189.
14. S. Bonhomme, A. Cuer, A.M. Delort, J. Lemaire, M. Sancelme, C. Scott, "Environmental biodegradation of polyethylene", *Polym. Degrad. Stab.*, 81, 2003, pp. 441-452.

## NANOMEMBRANAS CON PIGMENTOS DE MELANINA DERIVADA DE RESIDUOS DE CÁSCARA DE NUEZ (*CARYA ILLINIONENSIS*) CON CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIMICROBIANA

Fernanda Nayeli Medrano Lango<sup>1\*</sup>, Jesús Salvador Jaime Ferrer<sup>2</sup>, Elizabeth Quintana Rodríguez<sup>2</sup>, Edén Morales<sup>3</sup>, Domancar Orona Tamayo<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Instituto Politécnico Nacional, Unidad Interdisciplinaria de Ingeniería Campus Guanajuato (UPIIG-IPN), Silao, Guanajuato; <sup>2</sup>Centro de Innovación Aplicada en Tecnologías Competitivas (CIATEC), León, Guanajuato; <sup>3</sup>Centro de Investigación en Óptica (CIO), León, Guanajuato.

fernay\_medrano@yahoo.com; dorona@ciatec.mx\*

### RESUMEN

En el estado de Guanajuato, anualmente se generan millones de toneladas de residuos y subproductos agroindustriales los cuales puede propiciar la aparición de insectos plaga, roedores y patógenos de plantas y humanos debido a un inadecuado almacenamiento. La quema de esquilmos es una actividad tipificada como delito en el estado ya que se producen grandes cantidades de CO<sub>2</sub> que generan diversos problemas ambientales y de salud. Sin embargo, muchos de estos residuos son ricas fuentes de compuestos bioactivos, específicamente la cáscara de nuez es rica en fitoquímicos como compuestos fenólicos, azúcares, fibra y pigmentos como melanina. La melanina es un pigmento bioactivo de gran abundancia en la naturaleza [1][2], de color marrón a negro con un alto peso molecular, formado por la polimerización oxidativa de los grupos fenoles y compuestos indólicos en plantas, animales y microorganismos; su función principal en las células es la pigmentación para la fotoprotección contra la radiación ultravioleta, además de presentar actividad antioxidante y antimicrobiana [3]. Debido a estas funciones este pigmento puede ser empleado en áreas de cosmética y de salud. Una nueva tecnología en el área de la salud es el electrohilado, la cual puede incorporar compuestos bioactivos y su liberación a través de un soporte polimérico compatible con las células [4]. Para generar un producto de alto valor agregado, en el presente proyecto, se elaboraron nanomembranas con una mezcla polimérica de poliacrilonitrilo (PAN) con diferentes concentraciones de melanina (0.5, 2.0 y 5.0% w/w), se evaluaron los parámetros de electrohilado; a su vez se estudiaron las cinéticas de degradación y liberación de melanina de la nanomembrana; en paralelo, se realizaron pruebas bioquímicas antioxidantes contra DPPH y ABTS e inhibición bacteriana (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*). El análisis de las nanomembranas por FTIR y SEM mostraron similitudes en sus grupos funcionales, así como una morfología rugosa en las fibras de orden micrométrico, además de presentar una degradación gradual con liberación de melanina entre el 21 y 41% a las 10 h. Por otro lado, las nanomembranas presentaron excelente actividad antioxidante, superior al 50% y una alta capacidad antimicrobiana. Estas pruebas indican que la melanina tiene buena compatibilidad y difusión con el PAN, proporcionando una degradación progresiva de la nanomembrana contra el tiempo, así como fuertes efectos antioxidantes y actividad antimicrobiana.

### INTRODUCCIÓN

En la actualidad, las industrias están cada vez más en la mira del gobierno, debido a la gran cantidad de contaminantes que generan al medio ambiente, provocando una demanda social y ecológica, por ello es necesario que las empresas tengan una gestión integral de sus residuos basada en la idea de la economía circular, para explotar recursos renovables conjuntamente con el concepto de biorrefinería y el enfoque para reducir, reutilizar y reciclar los residuos, con el objetivo de recuperar materiales con alto valor agregado [1]

En el estado de Guanajuato una de las principales actividades económicas es la industria alimentaria la cual genera alrededor de 2.5 millones de toneladas en residuos agrícolas [3]. Sin embargo, la disposición de estos residuos suele ser comúnmente mediante la técnica de quema de esquilmos agrícolas que, para el 2005 el Inventario de Emisiones de gases de Invernadero de Guanajuato [25], reporta que se generaron 2.64 mil toneladas de emisiones de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), además de propiciar la generación de plagas de roedores, insectos y organismos patógenos que atentan contra

la salud. Sin embargo, todos los desechos agrícolas son ricos en ingredientes bioactivos que pueden ser aprovechados por procesos de bajo costo para la extracción de azúcares, fibra dietética, proteínas, celulosas, compuestos fenólicos y pigmentos útiles en diferentes industrias.

Guanajuato ocupa el 16vo lugar a nivel nacional en la producción de nuez pecanera (*Carya illinoensis*) con una producción de 148.0 toneladas en el año 2020 [3]. Sin embargo, de dicha producción, entre el 40-50% constituyen principalmente cáscaras, las cuales potencialmente pueden ser utilizadas para su revalorización. La composición principal de las cáscaras de nuez, es fibra, compuestos fenólicos, polisacáridos y pigmentos [4],[5]. Las cáscaras de nuez contienen melanina, un metabolito secundario de alto peso molecular derivada de la polimerización oxidativa de un fenol [6][7]. Las melaninas de origen vegetal y animal presentan propiedades benéficas como la fotoprotección contra la luz ultravioleta (UV), lisis enzimática de las células, alta capacidad antioxidante y antimicrobiana [8]. Estas funciones, hacen a la melanina un compuesto bioactivo que potencialmente puede ser utilizada en áreas como la agricultura, medicina, cosmética, farmacéutica, polimérica y de alimentos [9].

En las últimas décadas; las industrias, específicamente las farmacéuticas y cosméticas, han buscado un método de liberación de compuestos bioactivos que no provoquen efectos adversos y que tengan efectos benéficos a la salud; sin embargo, la liberación de los compuestos bioactivos se ven afectados principalmente por la distribución, la farmacocinética, el metabolismo celular, así como efectos toxicológicos en las células [10]. Actualmente, las nanotecnologías han desarrollado vehículos como las nanopartículas, nanofibras, nanogeles, micelas y microesferas, que ayudan a resolver esos inconvenientes ya que son una herramienta prometedora para el desarrollo farmacéutico y la liberación de fármacos mediante su uso [11][15].

En la última década, tecnologías como el electrohilado o *electrospinning* han ganado popularidad debido a la producción de fibras a nivel de nanoescala, representando técnicas versátiles para la producción de micro y nanofibras con el uso de polímeros sintéticos o naturales [12].

La técnica de electrohilado consiste en la inyección de una solución polimérica a través de una aguja por una bomba, la diferencia de potencial vence la tensión superficial existente en la solución generando un cono, conocido como *cono de Taylor*, y el polímero sale disparado de manera helicoidal hacia el colector en forma de fibras, formando las nano o microfibras [16].

Las fibras generadas son atractivas para aplicaciones como membranas de filtración, nanomembranas catalíticas, sensores a base de fibras e ingeniería tisular en el uso de andamios (*scaffolds*) particularmente para heridas en la piel [13][14].

## TEORÍA

La melanina es un pigmento que tiene muchas aplicaciones en la cosmética como el uso cremas, ya que actúa como filtro solar para la protección de la piel contra la radiación UV, así como para atenuar los defectos de las enfermedades de la piel como el "vitiligo" [17]. Potencialmente, la melanina proveniente de residuos de cáscaras de nuez puede ser usada en tecnologías como el electrohilado que permitan un uso cosmético, farmacéutico y alimentario, así como de salud.

En este trabajo se realizó la elaboración de membranas por la técnica de electrohilado con capacidad antioxidante y antimicrobiana, además de la caracterización de las fibras y cinética de liberación. La fabricación de las membranas en un futuro tendría un valor agregado útil en industrias como la cosmética y médica.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Formulación de nanomembranas con melanina

Las soluciones para electrohilar fueron preparadas solubilizando el poliacrilonitrilo (PAN) en N,N-dimetil formamida (N,N-DMF) en una relación de 12:88. La mezcla fue agitada durante 24 h. Las



soluciones se prepararon adicionando el polvo de melanina pulverizado y tamizado (TEST SIEVE no. 230; 63 $\mu$ m), en concentraciones de 0.5%, 2.0% y 5.0% (w/w).

#### Proceso de elaboración de nanomembranas por electrohilado

Las nanomembranas fueron sintetizadas en un equipo de electrohilado Ne100 Electrospinning Device Nano Spiner. Se inyectaron 5 ml de cada solución polimérica preparada y como sustrato de recolección se usó una película de aluminio. Los parámetros de elaboración de las nanomembranas fueron 15kV, 15 cm de distancia, flujo de 0.1mL/h y 100-300 rpm.

#### Caracterización de membranas por Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

Las morfologías de las fibras se analizaron mediante microscopio electrónico de barrido (SEM) en un Hitachi S-4800 (Hitachi High-Technologies, Canadá) a un voltaje de aceleración de 2 kV y un flujo de corriente de 10  $\mu$ A. Para la caracterización, una pequeña parte de cada muestra fue recubierta con 9 nm de oro / paladio para reducir el efecto de carga antes de la toma de imágenes (equipo Polaron, unidad de recubrimiento SEM E5100, Kontron AG, Suiza). El software ImageJ 1.47v (National Institutes of Health, EE. UU.) fue usado para medir el diámetro de la fibra.

#### Análisis por espectrofotometría Infrarroja con Transformada de Fourier (FT-IR)

Se realizaron las lecturas de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FT-IR) y Reflectancia Total Atenuada (ATR) el espectro Nicolet iS10 ThermoScientific en el rango de 500 a 4000  $\text{cm}^{-1}$  con el software OMNIC. Se analizaron los grupos funcionales del espectro de cada nanomembrana obtenida experimentalmente y la melanina comercial.

#### Porcentaje de degradación de los materiales de la nanomembrana

Siguiendo la metodología de Kalantary et al. (2020) [18], las nanomembranas de 1x1  $\text{cm}^2$  fueron pesados y sumergidos en Buffer de fosfatos (PBS) a pH de 7.4 y fue incubado a 37°C durante 7 y 14 días. La degradación se determinó en porcentaje de peso perdido (ecuación 1):

$$\%W_{perdido} = \left( \frac{w_0 - w_t}{w_0} \right) * 100 \quad (1)$$

Donde  $w_0$  es el peso al tiempo 0 y  $w_t$  es el peso al tiempo en que se saca la muestra, 7 o 14 días.

#### Ensayo de liberación de melanina

Modificando la metodología de Kalantary et al. (2020) [18], las muestras de nanofibras fueron pesadas hasta 1 mg, posteriormente fueron sumergidas en 3 mL de Buffer (PBS, pH 7.4) y Tween 80 (0.1% w/w), posteriormente fueron incubadas con agitación a 180 rpm y 32°C. Se tomaron muestras de 1 mL cada 2 horas, durante un periodo total de 10 horas, y el mismo volumen de solución fue aplicado a la solución de incubación. Las muestras se leyeron en el equipo Evolution 300 UV-Vis a 220 nm determinándose la concentración mediante una curva de calibración previamente realizada.

#### Capacidad antioxidante

Las actividades antioxidantes de las membranas con melanina fueron realizadas con DPPH y ABTS, modificando las metodologías de Kalantary *et al.* (2020) [18] y Orona-Tamayo *et al.* (2015) [19]. Las muestras de nanofibras fueron pesadas a 1 mg y disueltas en 1 mL de disolvente N, N-DMF. Para la confrontación se tomaron 0.5 mL de muestra y 0.5 mL de solución de antioxidante, incubando la reacción a temperatura ambiente en oscuridad. Pasado el tiempo de incubación, se midió la absorbancia a 517 nm para el DPPH y a 734 nm para el ABTS, se determinó el porcentaje de actividad inhibitoria de la siguiente forma (ecuación 2):

$$\% \text{ actividad inhibitoria (DPPH)} = \left( \frac{A_{control} - A_{muestra}}{A_{control}} \right) * 100 \quad (2)$$

Donde  $A_{control}$  es la absorbancia de la solución antioxidante y metanol (80%),  $A_{muestra}$  es la absorbancia de la solución antioxidante y membrana. Como blanco se utilizó una solución 1:1 de metanol/ membrana de PAN diluida en N,N-DMF. Los ensayos se realizaron por triplicado.

### Capacidad antimicrobiana

La capacidad antimicrobiana se realizó mediante pruebas de antibiogramas con las cepas *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *P. aeruginosa*. Como control positivo se usaron dos antibióticos (Gentamicina y Ampicilina) a concentración de 0.1 mg/mL y como control negativo se usaron membranas de PAN. Se inocularon 100  $\mu$ l de caldo de cultivo a concentración de DO600. Posteriormente los antibiogramas fueron incubados a 37°C durante 24 h. La capacidad antimicrobiana se reportó mediante el halo de inhibición (mm) generado para cada muestra en las placas.

## RESULTADOS

### Nanomembranas por electrohilado

Las soluciones poliméricas preparadas de PAN y PAN/Melanina (Figura 1) se electrohilaron obteniendo nanomembranas de coloración marrón en distintas tonalidades (Figura 2), observándose que a mayor concentración de melanina, la tonalidad marrón en la membrana aumenta. El grosor y ancho de cada concentración varió de una a otra nanomembrana; sin embargo, no se detectó una relación con las concentraciones.



Figura 1. Soluciones poliméricas de PAN y Melanina, A) PAN; B) Melanina pulverizada de cáscara de nuez; C) Mezcla de PAN-Melanina después de un proceso de sonicación.

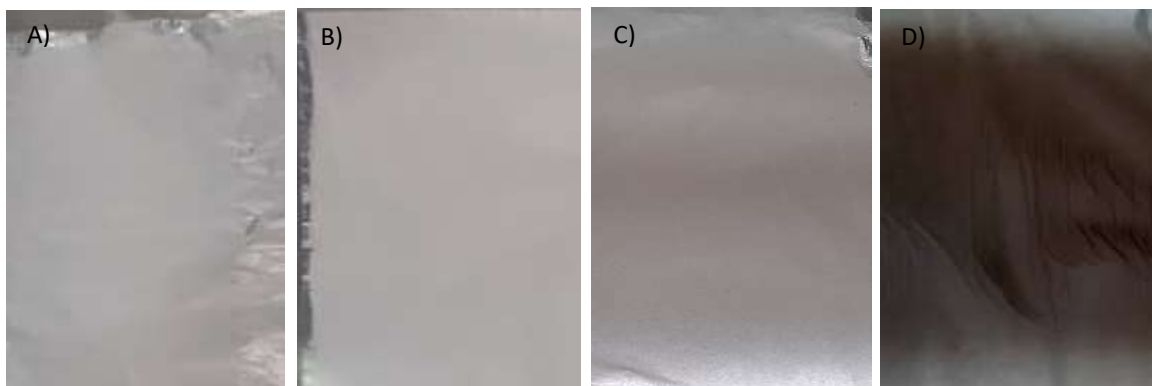


Figura 2. Nanomembranas por electrohilado con diferentes concentraciones de melanina: A) PAN; B) PAN-Melanina 0.5%; C) PAN-Melanina 2.0%; D) PAN-Melanina 5.0%.

Las nanomembranas presentan maleabilidad y poseen energía estática proporcionada por el PAN, ya que es una propiedad de característica del monómero. Similarmente, Tran-Ly, et al (2020) [21], elaboraron nanomembranas cargadas con melanina al 10%, y las tonalidades de la membrana con estas concentraciones de melanina, son menores a las que obtuvimos en nuestro estudio.

### Caracterización por Microscopía Óptica de Barrido (SEM)

El SEM permitió caracterizar la morfología de las nanomembranas observándose que conforme cambia la concentración de melanina existe una rugosidad en las fibras; sin embargo, no podemos determinar una relación certera entre estos dos factores (Figura 3). En caso contrario, Tran-Ly *et al.*

(2020) [21] reportó que la presencia de melanina en la solución genera fibras lisas y homogéneas mientras que los polímeros sin melanina presentan perlas. Sin embargo, el efecto de las fibras se vio influenciado por la melanina al ser un pigmento portador de carga [6].

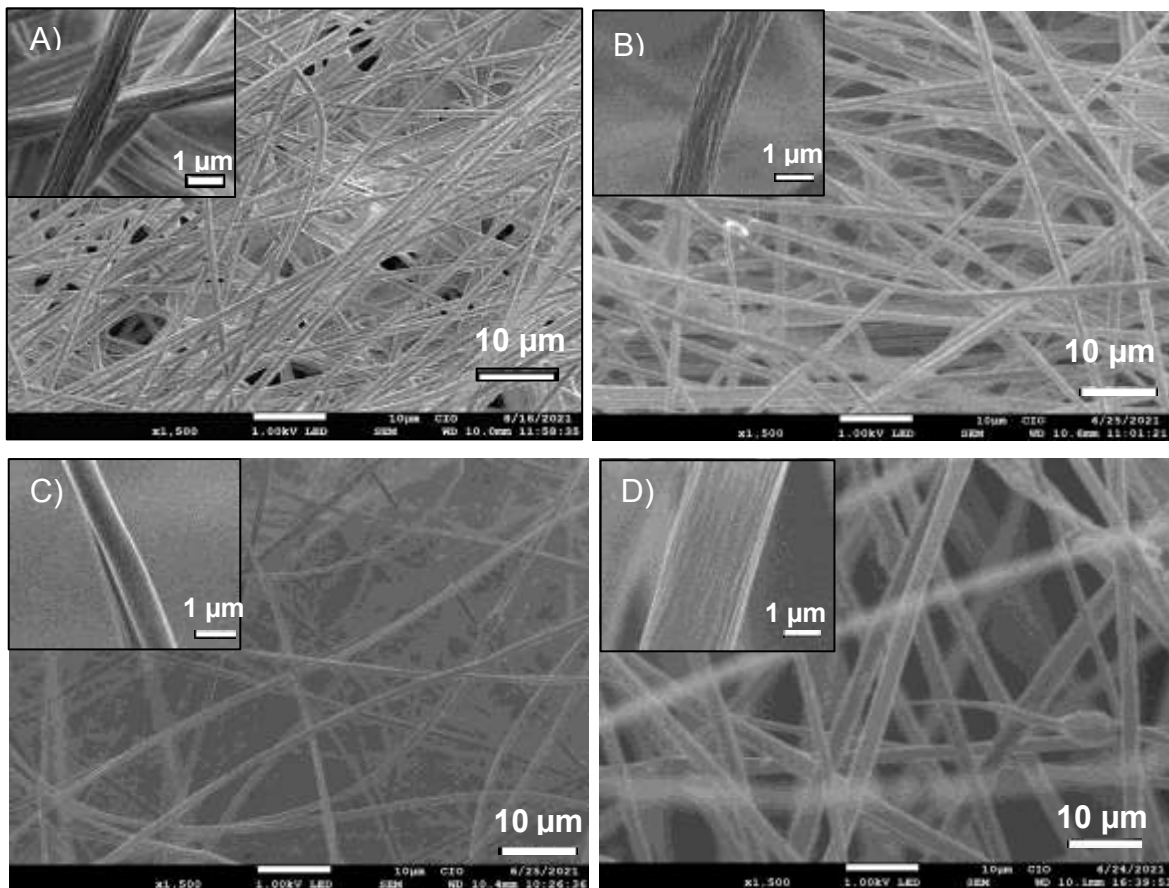


Figura 3. Nanomembranas con diferentes concentraciones de melanina analizadas por microscopía SEM: A) PAN control, B) 0.5%, C) 2.0% y D) 5.0%.

El análisis mediante el software ImageJ 1.47v indicó que las fibras en las membranas son de orden micrométrico, oscilando entre los 0.9-1.2 µm para la membrana de PAN (Figura 4A) y de 1.3-2.3 µm de diámetro para las membranas de PAN/Melanina (Figura 4B). Debido al orden de magnitud de las fibras, éstas se puede definir como micromembranas [13].

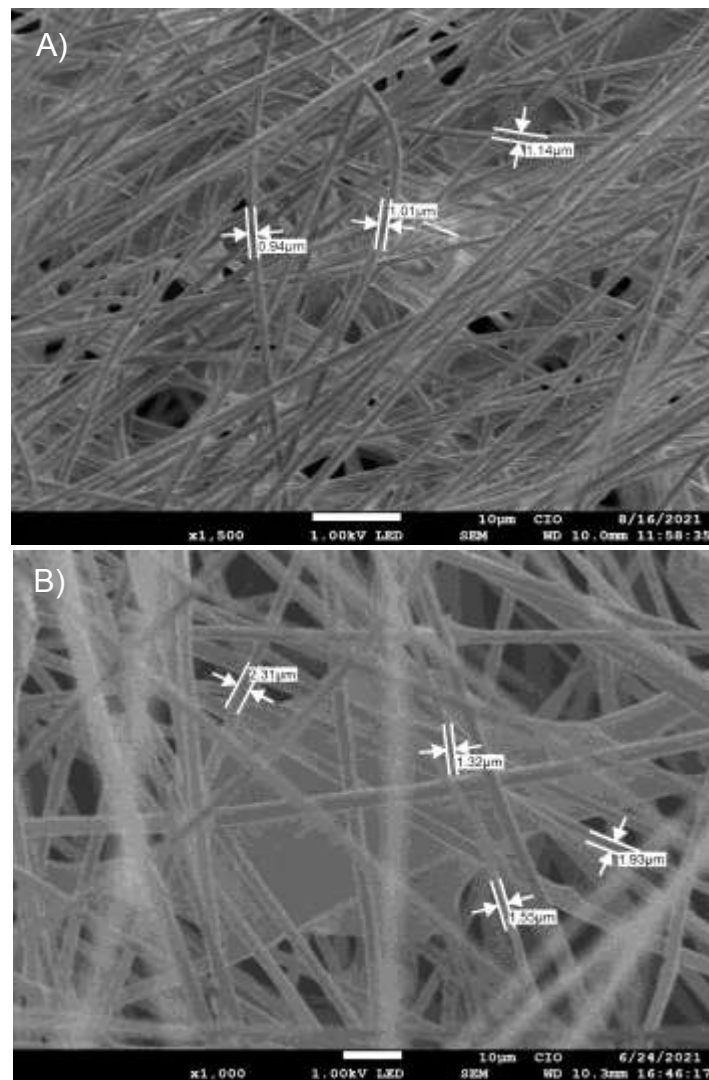


Figura 4. Diámetro de las fibras de membranas obtenidas por SEM: A) PAN y B) PAN/Melanina.

#### Caracterización por Infrarrojo con Transformada de Fourier (FT-IR)

Los espectros analizados por FTIR de la melanina extraída de la cáscara de nuez (Figura 5E) y melanina de *Sepia officinalis* (estándar; Figura 5F) son similares, ya que los picos muestran un pequeño desplazamiento de la melanina de nuez similar a la melanina estándar (Tabla 1).

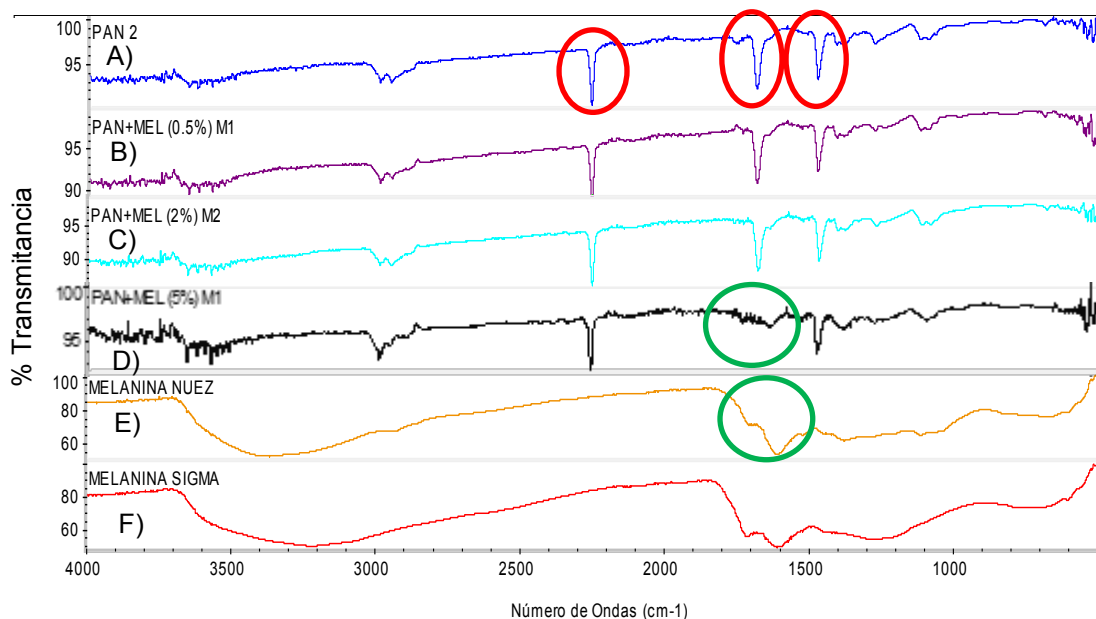


Figura 5. Espectros FT-IR de las membranas de A) PAN; B) PAN-Melanina 0.5%; C) PAN-Melanina 2.0%; D) PAN-Melanina 5.0%; y polvos de E) Melanina de nuez y F) Melanina comercial.

Sin embargo, la membrana de PAN muestra picos en las regiones de 2980.83, 2941.16, 2242.53, 1666.46, 1453.141386.89, 1251.97 y 1094.09  $\text{cm}^{-1}$  (Tabla 2). Comparando los espectros de las membranas de PAN y melanina, podemos observar que estos picos están presentes en todos los espectros de las membranas, a excepción de las concentraciones más altas (5%), ya que el pico a 1666.46  $\text{cm}^{-1}$  es visiblemente atenuado, esto quizás por la presencia de mayor concentración de melanina. Mientras que el pico característico del PAN está a 2245  $\text{cm}^{-1}$ , mostrando el estiramiento de grupos nitrilo ( $\text{C} = \text{N}$ ) [22]. A la longitud de 1633  $\text{cm}^{-1}$  se presenta el pico representativo del estiramiento del grupo amino  $\text{NH}_2$  (Kalaisevam, *et al.*, 2013).

Tabla 1. Picos de muestras de melanina de nuez y melanina de *Sepia officinalis* (estándar) obtenidos por análisis de FT-IR.

	Melanina de Nuez	Melanina Estándar	Grupo Funcional
Número de Onda ( $\text{cm}^{-1}$ )	3362.31	3231.00	Grupo N – H (3100-3300 $\text{cm}^{-1}$ )
		1705.00	Hidrocarburos alifáticos, alargamiento de enlace $\text{C} = \text{O}$
	1606.93	1606.81	Deformación de enlace N – H o alargamiento de enlace $\text{C} - \text{N}$ en indol
	1373.40	1285.96	Alargamiento de enlace $\text{C} - \text{OH}$ fenólico
	1110.75		Vibración en $\text{C} - \text{O}$
	665.96	753.47	Alargamiento de enlace $\text{C} - \text{N}$

Tabla 2. Picos de muestras de membranas con melanina a distintas concentraciones obtenidos por análisis de FT-IR

	PAN	PAN-Melanina 0.5%	PAN-Melanina 2.0%	PAN-Melanina 5.0%	Grupo Funcional
Número de Onda (cm <sup>-1</sup> )	2980.83	2980.45	2980.32	2980.52	Señal de estiramiento O – H
	2941.16	2938.9	2942.28	2941.76	Estiramiento C-H en aldehídos
	2242.53	2242.5	2242.33	2243.01	Estiramiento de enlace triple C-N, C-C
	1732.22	1715.75	1732.54	1748.28	Hidrocarburos alifáticos, alargamiento de enlace C = O
	1666.46	1666.74	1666.75	1661.41	Deformación de enlace N – H o alargamiento de enlace C – N en indol
				1621.63	Flexión de NH en primarias
		1507.2	1507.31	1507.33	Estiramiento de NH en secundarias
	1453.14	1453.15	1453.68	1454.23	
	1386.89	1386.78	1373.32	1362.02	Absorciones de estiramiento simétrico y antisimétrico C = O
	1251.97	1253.7	1250.68	1252.49	Alargamiento de enlace C – OH fenólico
	1094.09	1093.93	1067.82	1070.26	Estiramiento C-N

### Porcentaje de degradación de membranas

El estudio presentó que todas las nanomembranas se degradan gradualmente en la primera y segunda semana de forma similar (Figura 6). El PAN (control) tuvo una degradación del 21.1% y 32.0% a los 7 y 14 días, respectivamente. La degradación de las nanomembranas de 0.5% de concentración de melanina fue de 17.7% en ambos tiempos, este fenómeno se repitió con la concentración de 2.0% ya que tuvo una degradación del 28.3% en ambos tiempos. La concentración del 5.0% de melanina presentó degradación de 18.7% para el día 7 y 23.8% para el día 14. A pesar de existir un incremento en las degradaciones respecto al tiempo no se presentaron diferencias significativas entre las membranas ( $p < 0.05$ ). La degradación de las nanomembranas sumergidas en PBS durante dos semanas, puede deberse a la interacción de los materiales usados en su fabricación. La presencia de compuestos hidrofílicos en la membrana forman puentes de hidrógeno que interaccionan con el agua haciéndolos capaces de disolverse.

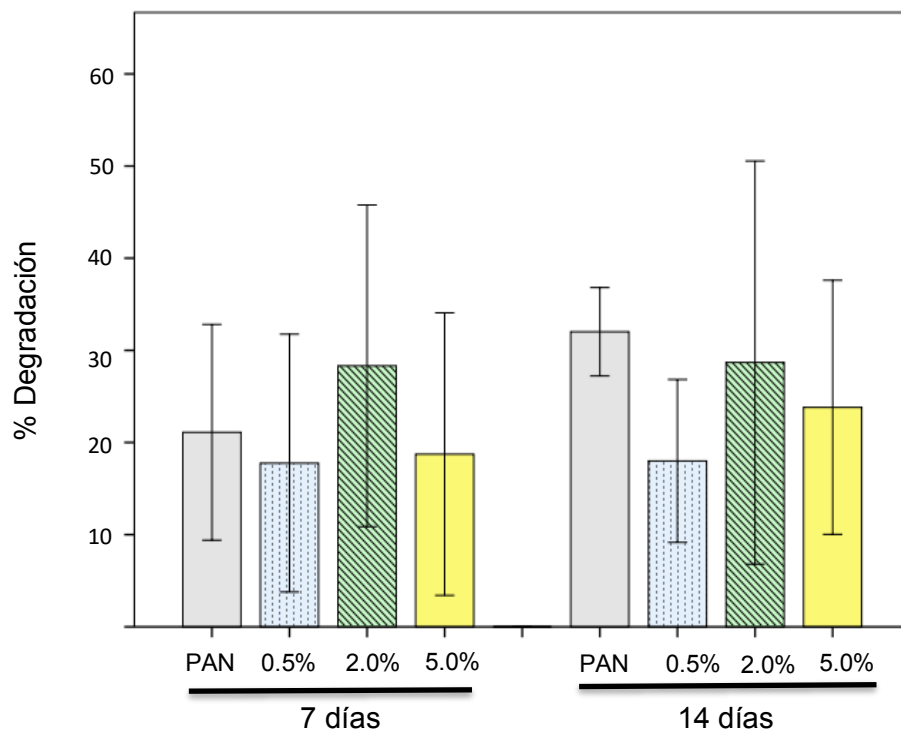


Figura 6. Porcentaje de degradación de las nanomembranas a diferentes tiempos. Análisis estadístico Post hoc- Tukey después de un ANOVA ( $P < 0.05$ ), software SPSS ( $n = 6$ ).

### Liberación de melanina

La liberación *in vitro* de la melanina es rápida durante las primeras dos horas, siguiendo un proceso de liberación continua hasta las 10 h (Figura 7). La liberación de melanina está directamente relacionado al aumento de la concentración, ya que se obtuvo una liberación del 35.6% en la membrana de mayor concentración (5.0%) a las 2 h, seguida por orden descendente de concentración, 2.0% y 0.5% respectivamente. Sin embargo, otros estudios realizados en nanomembranas con vitamina E muestra que durante las primeras 4 horas hay un incremento gradual en la liberación del compuesto llegando hasta un 68-80% al final de las 12 h [18], mientras que la liberación de melanina se da entre el 24 y 41% al final de las 10 h.

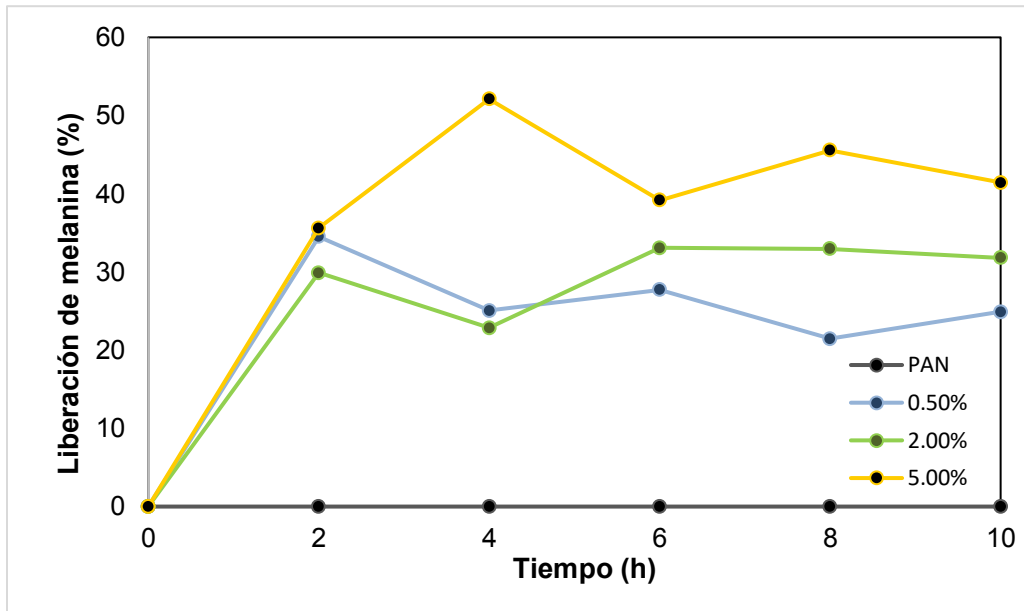


Figura 7. Liberación de melanina de nanomembranas (Análisis estadístico Post hoc- Tukey después de un ANOVA ( $P < 0.05$ ), software SPSS ( $n=6$ )).

#### Actividad antioxidante

Las pruebas antioxidantes de las nanomembranas de melanina presentaron fuertes actividades antirradicales contra los agentes oxidantes DPPH y ABTS (Figura 8). Las membranas de concentraciones de 0.5%, 2.0% y 5.0% de melanina mostraron una inhibición de 50.25%, 48.01% y 40.08% contra el radical DPPH y contra el radical ABTS de 55.95%, 66.90% y 80.70%, respectivamente. Sin embargo, se observa que al aumentar las cantidades de melanina aumenta la capacidad antioxidante con la prueba ABTS, mientras que con el DPPH es el caso opuesto. Estas diferencias pueden deberse a la naturaleza de cada prueba antioxidante, ya que ambas son complementarias y solo son para determinaciones rápidas, por lo que deben emplearse otro tipo de pruebas más específicas como las pruebas *in vivo* como células de cultivo, así como pruebas en organismos más complejos [20]. Nune *et al.* (2019) [24], reportaron que la melanina comercial (M0418, Sigma) en fibras electrohiladas de seda, tuvieron actividad antioxidante del 40% del radical DPPH al finalizar las 72 h. Se ha encontrado que nanomembranas cargadas con 2.0 y 2.5% de extractos de cascara de granada mostraron fuerte actividad antioxidante, de 79-83% contra radicales DPPH y de 97-99% contra ABTS (Laosirisathian *et al.* 2021). Estas inhibiciones nos indican la capacidad de la melanina para evitar la generación de radicales libres que son dañinos a los



compuestos biológicos de las células como membranas, lípidos, proteínas, y ácidos nucleicos (Valverde *et al.* 2017).

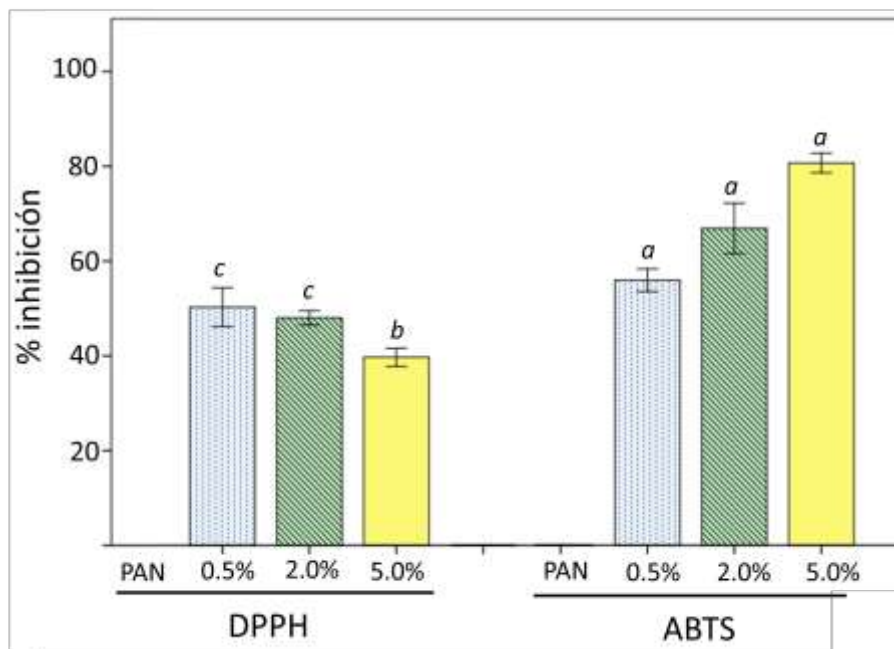


Figura 8. Inhibición de nanomembranas con melanina contra DPPH y ABTS. Análisis estadístico Post hoc- Tukey después de un ANOVA ( $P < 0.05$ ), software SPSS ( $n = 6$ ).

### Capacidad antimicrobiana

Las pruebas antimicrobianas para medir la susceptibilidad en las cepas patógenas de humanos *E. coli*, *S. aureus* y *P. aeruginosa*, se realizaron en presencia de las membranas de melanina. Se determinó que su inhibición ocurre por contacto directo de la nanomembrana, presentando ausencia de crecimiento sobre la membrana y sus bordes (alrededor de 7 mm). Mientras el control negativo presentó crecimiento sobre la membrana, los controles positivos generaron un halo de inhibición en las 3 cepas de aproximadamente 9.9 mm para *S. aureus*, 9.8 mm para *E. coli* y 9.3 mm para *P. aeruginosa*. Sin embargo, los controles positivos mostraron un halo de inhibición mayor para las tres cepas (Tabla 2). Sin embargo, Kalaisevam, *et al.*, (2013), mostraron que la melanina obtenida de la levadura *Hortaea werneckii* presentó una gran actividad antibacteriana, con halos de inhibición de 17, 15 y 11 mm contra las cepas de *Salmonella typhi*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Klebsiella pneumoniae*, respectivamente.

Tabla 2. Inhibición de muestras de nanomembranas con melanina.

Cepas	Diámetro de inhibición (mm)					
	PAN	0.50%	0.02%	5.0%	Gentamicina	Ampicilina
<i>E. coli</i>	0	7.1 ± 0.5	7.3 ± 0.5	7.6 ± 0.7	9.9 ± 0.6	9.8 ± 1.1
<i>S. aureus</i>	0	6.7 ± 0.5	6.8 ± 0.6	7.6 ± 0.4	10.0 ± 1.5	9.5 ± 1.8
<i>P. aeruginosa</i>	0	7.3 ± 1.5	7.8 ± 0.7	8.1 ± 0.8	9.4 ± 0.4	11.3 ± 2.0

Análisis estadístico Post hoc- Tukey después de un ANOVA ( $P < 0.05$ ), software SPSS ( $n = 6$ ).

### CONCLUSIONES

Las nanomembranas de melanina fueron producidas por la técnica de electrohilado a diferentes concentraciones (0.5, 2.0 y 5.0% w/w) sin presentar reacción química entre los compuestos, con fibras de diámetros de orden micrométrico (1-3  $\mu\text{m}$ ).

Las micromembranas presentaron una degradación gradual respecto al tiempo sin importar la concentración de melanina, obteniendo una mayor liberación en membranas con alta concentración de melanina.

Las melaninas en las microfibras presentaron características antioxidantes superiores al 50% y una inhibición antimicrobiana contra cepas patógenas de humanos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. M. Donner, R. Gohier & H. de Vries, "A new circular business model typology for creating value from agro-waste", *Science of the Total Environment*, 716:137065.
2. INEGI, "Anuario estadístico y geográfico de Guanajuato 2017", Instituto Nacional de Estadística y Geografía, 2017, Cap. 11.
3. SIAP, "Avance de siembras y cosechas", Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Disponible en: [https://nube.siap.gob.mx/avance\\_agricola/](https://nube.siap.gob.mx/avance_agricola/).
4. S. Agustín-Salazar, P. Cerruti, L. A. Medina-Juárez, G. Scarinzi, M. Malinconico, H. Soto-Valdez, & N. Gamez- Meza, "Lignin and holocellulose from pecan nutshell as reinforcing fillers in poly (lactic acid) biocomposites. *International Journal of biological macromolecules*, 2018, 115: pp. 727-736.
5. R.A. Flores-Estrada, N. Gamez-Meza, L.A. Medina-Juárez, L.G. Castellón- Campaña, C.C. Molina-Domínguez, L.A. Rascón-Valenzuela, & A. García-Galaz, "Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and antiproliferative activities of wastes from pecan nut (*Carya illinoensis* (Wagenh) K. Koch)", *Waste and Biomass valorization*, 2020, 11: pp. 3419-3432.
6. J.D. Nosanchuk, R.E. Stark, & A. Casadevall, "Fungal Melanin: What do We Know About Structure?", *Front. Microbiol.*, 2015, 6: 1463. DOI: 10.3389/fmicb.2015.01463.
7. H. Soundra, T. Ramesh, J. Sabramanian, & M. Kalaiselvam, "Production and Characterization of Melanin Pigment from Halophilic Black Yeast *Hortaea werneckii*", *International Journal of Pharma Research & Review*, 2013, 2(8): pp. 9-17.
8. V. Vasanthabharathi, R. Lakshminarayanan, & S. Jayalakshmi, "Melanin production from marine *Streptomyces*", *African Journal of Biotechnology*, 2011, Vol. 10(54), pp. 11224-11234, DOI: 10.5897/AJB11.296.
9. A. Mboniyirivuze, B. Mwakikunga, S. M. Dhlamini, & M. Maaza, "Fourier transform infrared spectroscopy for sepioid melanin".
10. O.S. Fenton, K.N. Olafson, P.S. Pillai, M.J. Mitchell, R. Langer, *Advances in biomaterials for drug delivery*, *Adv. Mater.* 2018, 30: 1–29, <https://doi.org/10.1002/adma.201705328>.
11. B. Pant, M. Park, S.J. Park, *Drug delivery applications of core-sheath nanofibers prepared by coaxial electrospinning: A review*, *Pharmaceutics* 11 (2019), <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11070305>.
12. A. Luraghi, F. Peri, & L. Moroni, "Electrospinning for drug delivery applications: a review", *Journal of Controlled Release*, 2021, 30: pp. 463-484. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2021.03.033>.
13. Q.P. Pham, U. Sharma, A.G. Mikos, "Electrospinning of polymeric Nanofibers for Tissue Engineering Applications: A Review", *Tissue Engineering*, 2006, 12 (5): 1197-1211.
14. G. Gorrasi, R. Longo, & G. Viscusi, "Fabrication and characterization of electrospun Membranes based on *Poly(ε-caprolactone)*, *Poly(3-hydroxybutyrate)* and their blend for tunable drug delivery of curcumin", *Polymers*, 2020, 12: 2239. DOI:10.3390/polym12102239.
15. R. Jain, S. Shetty, K.S. Yadav, *Unfolding the electrospinning potential of biopolymers for preparation of nanofibers*, *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 57 (2020) 101604, <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.101604>.
16. G. Yuan, B.T. Yen, Z. Yonggang, & L.K. Ilias, "Electrospun Antibacterial Nanofibers: Production, Activity and *In Vivo* Applications. A review", *Journal of Applied Polymer Science*, 2014, 40797. DOI: 10.1002/app.40797.
17. K. Tarangini, & S. Mishra, "Production of melanin by soil microbial isolate on fruit waste extract: two step optimization of key parameters". *Biotechnology reports*, 4: pp. 139-146.
18. S. Kalantary, F. Golbabaie, M. Latifi, M.A. Shokrgozar, & M. Yaseri., "Feasibility of Using Vitamin E-Loaded Poly(ε-caprolactone)/Gelatin Nanofibrous Mat to Prevent Oxidative Stress

- Skin”, *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 2020, 20: pp. 1-9. DOI: 10.1166/jnn.2020.17486.
19. D. Orona-Tamayo, M.E. Valverde, B. Nieto-Rendón, & O. Paredes-López, “Inhibitory activity of chia (*Salvia hispánica L.*) protein fractions against angiotensin I-converting enzyme and antioxidant capacity”, *LTW-Food Science and Technology*, 2015, 64: pp. 236-242. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.05.033>.
  20. M.E. Valverde, D. Orona-Tamayo, B. Nieto-Rendón, & O. Paredes-López, “ Antioxidant and antihypertensive potential of protein fractions from Fluor and Milk substitutes from Canary Seeds (*Phalaris canariensis L.*)”, *Plant foods for human nutrition*, 2017, 72: pp. 20-25. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11130-016-0584-z>.
  21. A.N. Tran-Ly, J. Ribera, F.W.M.R. Schwarze, M. Brunelli, & G. Fortunato, “Fungal melanin-based electrospun membranes for heavy metal detoxification of water”, *Sustainable Materials and Technology*, 2020, 23: e00146. DOI: 10.1016/j.susmat.2019.e00146.
  22. J.A. Dena-Aguilar, J. Jáuregui-Rincón, A. Bonilla-Petriciolet, I.E. Medina-Ramírez, & J. Romero-García, “Copolimerización injertada de almidón con poli(acrilonitrilo) y acetato de vinilo mediante radicales libres en solución: síntesis y caracterización”, *Afinidad LXVIII*, 2011, 553: pp. 195-202.
  23. D. Orona -Tamayo, & O. Paredes-López, “Sustainable crop for the 21st century: Food properties and Nutraceuticals for improving Human Health”, *Sustainable protein sources* p.p. 239-256. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128027783000159>
  24. M. Nune, S. Manchineella, T. Govindaraju, & K.S. Narayan, “Melanine incorporated electroactive and antioxidant silk fibroin nanofibrous scaffolds for nerve tissue engineering”, *Materials Science & Engineering C*, 2019, 94: pp. 17-25. DOI: 10.1016/j.msec.2018.09.014.
  25. SMAOT, “Inventario de emisiones de gases de Efecto Invernadero, Guanajuato 2005”. Secretaría de Medio Ambiente y Ordenamiento Territorial (2021). <https://smaot.guanajuato.gob.mx/sitio/calidad-del-aire/3/Inventario-de-Gases-de-Efecto-Invernadero>

## TALIO EN CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE CHILE POBLANO

María de la Luz María Buendía-Valverde<sup>1</sup>, Libia I. Trejo-Téllez<sup>1</sup>, Fernando C. Gómez Merino<sup>1</sup>, Tarsicio Corona-Torres<sup>1</sup>, Serafín Cruz-Izquierdo<sup>1</sup>, Rodrigo A. Mateos-Nava<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Colegio de Posgraduados Campus Montecillo. <sup>2</sup>Facultad de Estudios Zaragoza, UNAM.

E-mail: [buendia.luz@colpos.mx](mailto:buendia.luz@colpos.mx)

### RESUMEN

El Tl es un elemento presente en el suelo, proveniente del material parental que le dio origen; su concentración puede incrementarse considerablemente por actividades antropogénicas como la industria y la minería. Esta investigación tuvo como objetivo evaluar los efectos que el Tl tiene en parámetros de crecimiento de Chile Poblano “Capulín” en fase de plántulas. Las dosis de Tl evaluadas fueron 0, 0.5 y 1.5  $\mu\text{M}$ , mismas que fueron adicionadas en la solución nutritiva empleada para el riego a partir de  $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2\text{Tl}$ . El experimento se estableció en un sistema de raíz flotante dotado de un sistema de oxigenación y tuvo una duración de 42 d. La unidad experimental consistió en un contenedor de 4 L conteniendo nueve plantas y se tuvieron tres repeticiones por tratamiento. Posteriormente se midieron los parámetros de crecimiento altura de plántula, área foliar, número de hojas y biomasa seca de hojas. Con los datos obtenidos se realizó análisis de varianza y prueba de comparación de medias por Tukey ( $\alpha=0.05$ ). La altura de plántula fue disminuida de manera significativa con la adición de 0.5 y 1.5  $\mu\text{M}$  Tl, con decrementos de 30.4 y 43.5%, respectivamente, en comparación con el tratamiento testigo. Esta misma tendencia se observó en los resultados de área foliar; la dosis 1.5  $\mu\text{M}$  Tl redujo el área foliar en 72.3% en comparación con el testigo. El número de hojas no fue afectado por los tratamientos con Tl dado que se registró alta variedad entre repeticiones de un mismo tratamiento; sin embargo, se observan tendencias decrecientes a medida que incrementa la dosis de Tl. Por otro lado, la biomasa seca de hoja se redujo en promedio en 68.3% en plantas tratadas con Tl, respecto al testigo. Las reducciones de gran magnitud causadas por el Tl en el área foliar y en la biomasa seca de hojas, muestran el alto potencial tóxico, e incluso letal que el Tl puede tener en cultivos agrícolas; asimismo, es pertinente visualizar los efectos negativos en la salud humana que pueden generarse con el consumo de éstos.

### INTRODUCCIÓN

El Tl es un metal no esencial para las plantas superiores que se encuentra presente en la atmósfera en bajas concentraciones, sin embargo, en las últimas décadas su concentración viene aumentando a consecuencia de la quema de combustibles fósiles, la contaminación y la precipitación de partículas presentes en el ambiente (WHO, 1996; Karbowska, 2016).

Una de las principales vías de exposición para animales y humanos es a través de la ingestión de plantas cultivadas en suelos contaminados. En diversas partes del mundo los niveles de Tl dependen del origen del suelo y las actividades antropogénicas que se presenten en la zona, algunas instituciones y organizaciones han establecido niveles seguros de este metal (**Cuadro 1**; Kazantis, 2000).

Cuadro 1. Límites ambientalmente seguros para Tl.

Ambiente	Límites de Tl
Agua potable	2 $\mu\text{g L}^{-1}$
Suelos de cultivo	1 $\text{mg kg}^{-1}$
Plantas terrestres	0.008-1.0 $\text{mg kg}^{-1}$
Plantas comestibles	0.03-0.3 $\text{mg kg}^{-1}$
Ingesta diaria promedio mundial	2 $\mu\text{g día}^{-1}$
Dosis de referencia oral	0.056 $\text{mg día}^{-1}$

Tomado de Karbowska (2016).

En plantas, el acceso del TI a la raíz ocurre de la misma forma que los elementos esenciales por medio de difusión, flujo de masas e intercepción radical. Por otra parte, existen diversos reportes que han evidenciado que el TI utiliza los sitios específicos de absorción del K debido a que entre estos elementos existe una similitud en su radio iónico (Xiao *et al.*, 2004; Peter y Viraraghavan, 2005; Vaněk *et al.*, 2019).

Altas concentraciones de TI pueden ocasionar toxicidad en diversas especies vegetales, la reducción del crecimiento de brotes y raíces, clorosis y necrosis son síntomas visuales característicos de la toxicidad del TI en planta superiores (Mazur *et al.*, 2016).

En el contexto anterior, esta investigación tuvo como objetivo evaluar los efectos que producen los tratamientos con 0, 0.5 y 1.5  $\mu\text{M}$  TI, en parámetros de crecimiento de plántulas de chile Poblano "Capulín" durante su fase vegetativa.

## PARTE EXPERIMENTAL

Como material vegetal se utilizaron semillas híbridas de chile Poblano variedad "Capulín", las cuales se germinaron en una charola de unicel de 200 cavidades con turba como sustrato, donde se aplicaron riegos ligeros de agua; después de 60 d se obtuvieron plántulas sanas de entre 15 y 20 cm de longitud.

Las plántulas fueron establecidas en un sistema de raíz flotante, en un sistema completamente al azar con tres repeticiones, donde la unidad experimental consistió en una charola de plástico de 4L de capacidad en solución nutritiva Steiner (Steiner, 1984). Transcurridas dos semanas de aclimatación, se añadieron los tratamientos de 0, 0.5 y 1.5  $\mu\text{M}$  TI partir de acetato de talio ( $\text{CH}_3\text{COOTI}$ , Sigma Aldrich). Después de 28 d de tratamiento, las plantas fueron retiradas y separadas en parte aérea y raíz, enseguida se determinó para cada plántula: el número de hojas, altura, área foliar y la biomasa seca con una balanza analítica (OHAUS, modelo Adventurer Pro AV213C, USA).

Con los resultados obtenidos se realizó un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias con un LSD ( $P \leq 0.05$ ), independientes para cada uno de los metales, usando el software SAS (SAS, 2011).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El número de hojas no fue afectado por los tratamientos con TI dado que se registró alta variabilidad entre repeticiones de un mismo tratamiento; sin embargo, se observan tendencias decrecientes a medida que incrementa la dosis de TI, con reducciones de 33 y 42% con 0.5 y 1.5  $\mu\text{M}$  TI, respectivamente (**Figura 1**). Contrario a lo anterior, se ha reportado que en plantas de mostaza blanca (*Sinapis alba* L.) tratadas con 1000  $\mu\text{g}$  TI  $\text{L}^{-1}$  se redujo el número de hojas, además presentaron decoloración y necrosis (Mazur *et al.*, 2016).

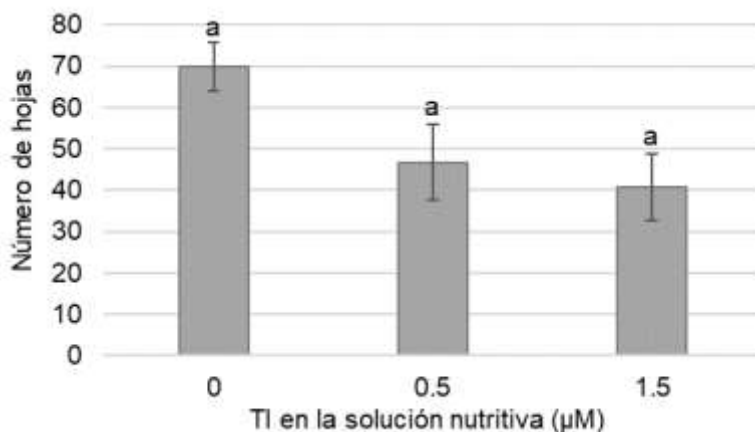


Figura 1. Número de hojas de plántulas de chile Poblano tratadas con 0, 0.5 y 1.5  $\mu\text{M}$  TI. Medias  $\pm$  DE con letras distintas indican diferencias significativas (LSD,  $P \leq 0.05$ ).

Por otra parte, la altura de plántula fue disminuida de manera significativa con la adición de 0.5 y 1.5  $\mu\text{M}$  TI, con decrementos de 30.4 y 43.5%, respectivamente, en comparación con el testigo (**Figura 2**). Este efecto ha sido reportado en plantas de mostaza blanca cultivadas en hidroponía en presencia de 500  $\mu\text{g}$  TI  $\text{L}^{-1}$ , donde se observaron que las plantas tratadas fueron más pequeñas, además, presentaban cambios morfológicos en la lámina de la hoja con decoloración a lo largo de las nervaduras centrales y las nervaduras principales (Mazur *et al.*, 2016).

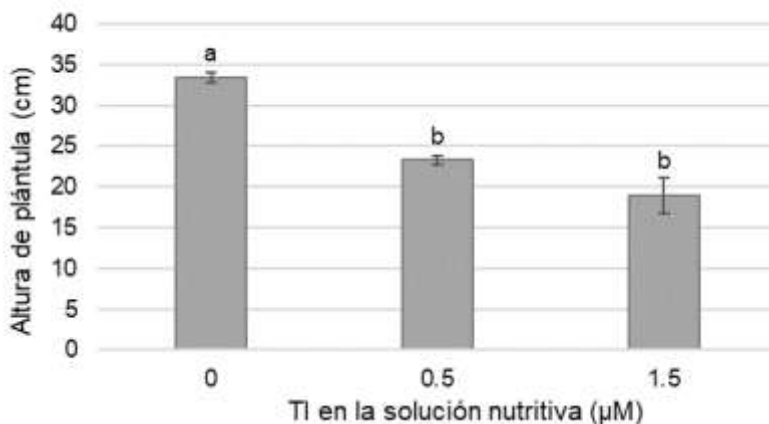


Figura 2. Altura de plántula de chile Poblano tratadas con 0, 0.5 y 1.5  $\mu\text{M}$  TI. Medias  $\pm$  DE con letras distintas indican diferencias significativas (LSD,  $P \leq 0.05$ ).

Así mismo, el área foliar de las plántulas de chile Poblano presentó reducciones significativas al aplicar los tratamientos con TI, con decrementos del 54.5 y 72.3% al aplicar 0.5 y 1.5  $\mu\text{M}$  TI, respectivamente en comparación con el testigo (**Figura 3**). Estos resultados concuerdan con la reducción de área foliar reportada en plantas de fresa (*Fragaria* sp. cv. Camarosa), donde se presentaron decrementos del 60% en comparación al control con tratamientos de 150  $\text{mg}$  Mn  $\text{kg}^{-1}$  (Casierra-Posada y Poveda, 2005).

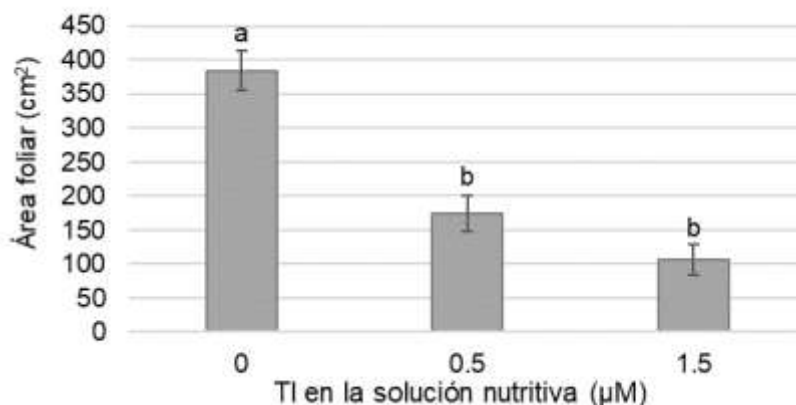


Figura 3. Área foliar de plántulas de chile Poblano tratadas con 0, 0.5 y 1.5  $\mu\text{M}$  TI. Medias  $\pm$  DE con letras distintas indican diferencias significativas (LSD,  $P \leq 0.05$ ).

Finalmente, los tratamientos con TI tuvieron efectos significativos en la biomasa seca de hoja con respecto al testigo, causando reducciones del 67.6 y 68.8% con los tratamientos de 0.5 y 1.5  $\mu\text{M}$  TI, respectivamente (**Figura 4**). Estos efectos se han reportado con otros metales, tal es el caso de los tratamientos con 65, 300 y 1000  $\text{mg}$  Pb  $\text{kg}^{-1}$ , donde se producen reducciones en la biomasa seca de hojas calabacita "termo" (Solís-Mendoza *et al.*, 2012).

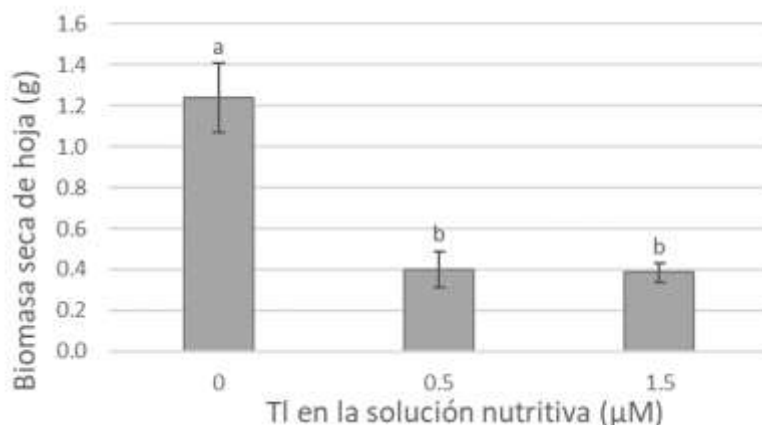


Figura 4. Biomasa seca de plántulas de chile Poblano tratadas con 0, 0.5 y 1.5  $\mu\text{M}$  TI. Medias  $\pm$  DE con letras distintas indican diferencias significativas (LSD,  $P \leq 0.05$ ).

### CONCLUSIONES

Las reducciones de gran magnitud causadas por el TI en el área foliar y en la biomasa seca de hojas, muestran el alto potencial tóxico, e incluso letal que puede tener en cultivos agrícolas; asimismo, es pertinente visualizar los efectos negativos en la salud humana que pueden generarse con el consumo de éstos.

### BIBLIOGRAFÍA

1. A.A. Steiner, "The universal nutrient solution. 6th international congress on soilless culture", Wageningen, Holanda, 1984, pp. 633-650
2. A.J. Peter, & T. Viraraghavan, "Thallium: a review of public health and environmental concerns". Environment international, Vol. 31, 4, 2005, pp. 493-501.
3. A. Vaněk, o. Holubík, V. Oborná, M. Mihaljevič, J. Trubač, V. Ettlér, L. Pavlů, P. Vokurková, V. Penížek, T. Zádorová, & A. Voegelin, "Thallium stable isotope fractionation in white mustard: Implications for metal transfers and incorporation in plants. Journal of Hazardous Materials, Vol. 369, 2019, pp. 521-527.
4. B. Karbowska, "Presence of thallium in the environment: sources of contaminations, distribution and monitoring methods". Environmental Monitoring and Assessment, Vol. 188, 11, 2016, pp. 1-19.
5. F. Casierra-Posada, & J. Poveda, "La toxicidad por exceso de Mn y Zn disminuye la producción de materia seca, los pigmentos foliares y la calidad del fruto en fresa (*Fragaria* sp. cv. Camarosa)", Agronomía Colombiana, Vol. 23, 2, 2005, pp. 283-289.
6. F. Solís-Mendoza, J. Sahagún-Castellanos, C. Villanueva-Verduzco, M. T. Colinas-León, & M. D. R. García-Mateos, "Distribución de biomasa y acumulación de plomo en calabacita (*Cucurbita pepo* L.) cultivada en suelo contaminado", Revista Chapingo. Serie Horticultura, Vol. 18, 2, 2012, pp. 197-205.
7. G. Kazantzis, "Thallium in the environment and health effects". Environmental Geochemistry and Health, Vol. 22, 4, 2000, pp. 275-280.
8. R. Mazur, M. Sadowska, Ł. Kowalewska, A. Abratowska, H. M. Kalaji, A. Mostowska, M. Garstka, & B. Krasnodębska-Ostręga, "Overlapping toxic effect of long term thallium exposure on white mustard (*Sinapis alba* L.) photosynthetic activity", BMC Plant Biol Vol. 16, 2016, pp. 191.
9. SAS Institute Inc., "SAS/STAT Users Guide", Version 9.3. SAS Institute Inc., Cary, N. C., USA. 2011.

10. T. Xiao, J. Guha, D. Boyle, C. Q. Liu, B. Zheng, G. C. Wilson, "Naturally occurring thallium: a hidden geoenvironmental health hazard?", *Environment International*, Vol. 30, 4, 2004, pp. 501-507.
11. WHO, "Thallium", World Health Organization, International Programme on Chemical Safety (IPCS), *Environmental Health Criteria* 192, 1996, Ginebra.



## CONTENIDO Y DISTRIBUCIÓN DE CITOCININAS EN HOJAS Y PSEUDOBULBOS DE PLANTAS DE *LAELIA ANCEPS* INDUCIDAS A FLORACIÓN, POR ACCIÓN DE ÁCIDO GIBERÉLICO EXÓGENO

Olga Tejada-Sartorius<sup>1</sup>, Ramón Marcos Soto-Hernández<sup>1</sup>, Rubén San Miguel Chávez<sup>1</sup>, Libia Iris Trejo-Téllez<sup>1</sup>, Yasbet Ríos-Barreto<sup>1</sup>, Peralta Sánchez, Ma. Guadalupe<sup>1</sup>.

Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Carretera México-Texcoco Km 36.5, 56230 Montecillo, Estado de México.

Correo-electrónico: [olgats@colpos.mx](mailto:olgats@colpos.mx)

### RESUMEN

Se evaluó el efecto de diferentes dosis de AG<sub>3</sub> exógeno, en el contenido y distribución de ciertos tipos de citocininas endógenas ( $\mu\text{g g}^{-1}$  PS; PS=peso seco) en hoja y pseudobulbo, durante la inducción de la floración de *Laelia anceps*. Se seleccionaron plantas adultas en etapa reproductiva, con brotes vegetativos sin apertura foliar y con tamaño de 10 a 15 cm de longitud, y se asperjaron con dosis de 400, 600, 800 y 1000 mg AG<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>; se usó un testigo sin AG<sub>3</sub>. Las plantas se mantuvieron en una cámara de crecimiento bajo condiciones controladas durante la etapa inductiva. Se cuantificó el contenido de citocininas por cromatografía de líquidos y las correspondientes curvas estándar de: cinetina (CIN), zeatina (ZEA) y trans-zeatina (T-ZEA). Se presentó una distribución diferencial notoria de ZEA y CIN en la que el contenido de ambas hormonas es mayor en pseudobulbo que en hoja. Si bien el análisis estadístico mostró diferencias únicamente para CIN en pseudobulbo, la mayoría de las dosis de AG<sub>3</sub> superaron al testigo, en más del 100%, en el contenido de CIN y ZEA. En hoja, el contenido de estas hormonas es igual estadísticamente entre tratamientos con AG<sub>3</sub> y el testigo, y los contenidos muy similares. Por su parte, en hoja, las dosis bajas de AG<sub>3</sub>, 400 y 600 mg L<sup>-1</sup>, disminuyen el contenido de T-ZEA; mientras que esas mismas dosis aumentan dicho contenido en pseudobulbo, en cuyo caso, el testigo no presentó T-ZEA. Se concluye que el contenido de CIN y ZEA es mayor en pseudobulbo que en hoja en etapa de floración. Se observó un efecto hormético de AG<sub>3</sub> en pseudobulbo, en cuanto al contenido de T-ZEA.

### INTRODUCCION

Las giberelinas y citocininas, entre otras, son hormonas de las plantas que regulan distintos procesos fisiológicos, como el de la floración, conformando una complicada red de interconexión para regular la inducción floral. Esas hormonas actúan diferencialmente en la formación floral y pueden tener efectos sinérgicos o antagónicos (Zhang *et al.*, 2016). La aplicación exógena de esas hormonas, llamadas reguladores del crecimiento vegetal (PGRs, por sus siglas en inglés), naturales o sus análogos sintéticos, pueden inhibir o modificar la biosíntesis de las hormonas endógenas, su translocación y su modo de acción (Rademacher, 2015). Los PGRs reciben atención actualmente para ver su efecto en la floración de plantas ornamentales, como las orquídeas, pero no hay efectos concluyentes, por la complejidad de influencias multifactoriales, endógenas y ambientales. La ruta de señalización de ácido giberélico (AG) es reconocida como una de las cuatro rutas de la floración en plantas (Zhang *et al.*, 2016).

Se evaluó el efecto de diferentes dosis de AG<sub>3</sub> exógeno, en el contenido y distribución de ciertos tipos de citocininas endógenas en hoja y pseudobulbo, durante la inducción de la floración de *Laelia anceps* (Orchidaceae).

### MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron plantas adultas en etapa reproductiva, con brotes vegetativos sin apertura foliar, con 6 pseudobulbos. Se trasplantaron a un sustrato con 60% corteza de pino, 20% zeolita; 20% peat moss. Se mantuvieron en fase de adaptación y cuando los brotes tuvieron un tamaño de 10 a 15 cm de longitud, se sometieron a tratamientos inductivos. Los tratamientos consistieron en aspersiones foliares con diferentes dosis de ácido giberélico (AG<sub>3</sub>; Gibiotin®): de 400, 600, 800 y 1000 mg L<sup>-1</sup>; se usó un testigo sin AG<sub>3</sub>. Se realizaron aspersiones foliares vespertinas de 30 mL humedeciendo toda la planta. Durante la etapa de inductiva a floración, las plantas se mantuvieron en una cámara de

crecimiento bajo condiciones controladas, equipada con luz LED roja y azul,  $120 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , con fotoperiodo 12/12 h, y temperatura  $28/12 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Se determinó el contenido de hormonas endógenas en hoja y pseudobulbo, con el método propuesto por Pan *et al.* (2010). Se cuantificó el contenido de citocininas por cromatografía de líquidos, con las correspondientes curvas estándar de: cinetina (CIN), zeatina (ZEA) y trans-zeatina (T-ZEA), ( $\mu\text{g g}^{-1}$  PS; PS=peso seco).

Se diseñó un experimento completamente al azar, cada planta en una maceta se consideró como la unidad experimental y se incluyeron seis repeticiones por cada tratamiento. A los datos se les realizó análisis de varianza y prueba de comparación de medias por Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis estadístico mostró diferencias únicamente para CIN en pseudobulbo, en donde las dosis más altas de  $\text{AG}_3$ , 800y 1000  $\text{mg L}^{-1}$   $\text{AG}_3$ , incrementaron significativamente su contenido en (0.055  $\mu\text{g g}^{-1}$  PS, promedio de ambas dosis, vs 0.0070  $\mu\text{g g}^{-1}$  PS del testigo) (Figura 1).

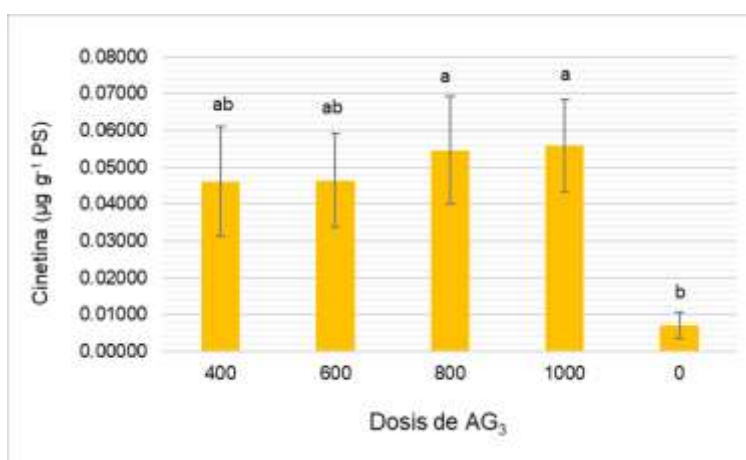


Figura 1. Contenido de cinetina en pseudobulbo de plantas de *Laelia anceps* inducidas a floración, por efecto de diferentes dosis de ácido giberélico exógeno.

Se presentó una distribución diferencial notoria de CIN (Figura 2, A-B) y ZEA (Figura 2, C-D) en la que el contenido de ambas hormonas es mayor en pseudobulbo (Figura 2, B y D) que en hoja (Figura 2, A-B). La mayoría de las dosis de  $\text{AG}_3$  superaron al testigo, en más del 100%, en el contenido de CIN y ZEA. En hoja, el contenido de estas hormonas es igual estadísticamente entre tratamientos con  $\text{AG}_3$  y el testigo, y los contenidos muy similares (entre 0.010 y 0.023  $\mu\text{g g}^{-1}$  PS para ZEA; y entre 0.0021 y 0.0085  $\mu\text{g g}^{-1}$  PS

para CIN) (Figura 2, A-C). Por su parte, en hoja, las dosis bajas de  $\text{AG}_3$ , 400 y 600  $\text{mg L}^{-1}$ , disminuyen el contenido de T-ZEA entre 76 y 92% en relación con el testigo (Figura 2, E); mientras que esas mismas dosis aumentan dicho contenido en pseudobulbo, con valores de 0.064 y 0.050  $\mu\text{g g}^{-1}$  PS, en cuyo caso, el testigo no presentó T-ZEA (Figura 2, F). Este resultado es similar con lo reportado por Yang *et al.* (2012), quienes midieron cuatro tipos de hormonas endógenas durante la diferenciación de yemas florales de *Eulophia flava* (Orchidaceae), entre ellas, unas citocininas del tipo zeatina ribosida (ZR). Los autores encontraron que durante dicho proceso, el contenido de ZRs incrementó en el pseudobulbo. El aumento de citoquininas puede estar relacionado con lo que señalan (Li *et al.*, 2019) acerca de que estas hormonas actúan como antagonistas de AG durante la transición floral en manzana (*Malus × domestica* Borkh.) al sobre-regular la expresión de la degradación de genes de AG y reprimir la ruta de señalización de AG.

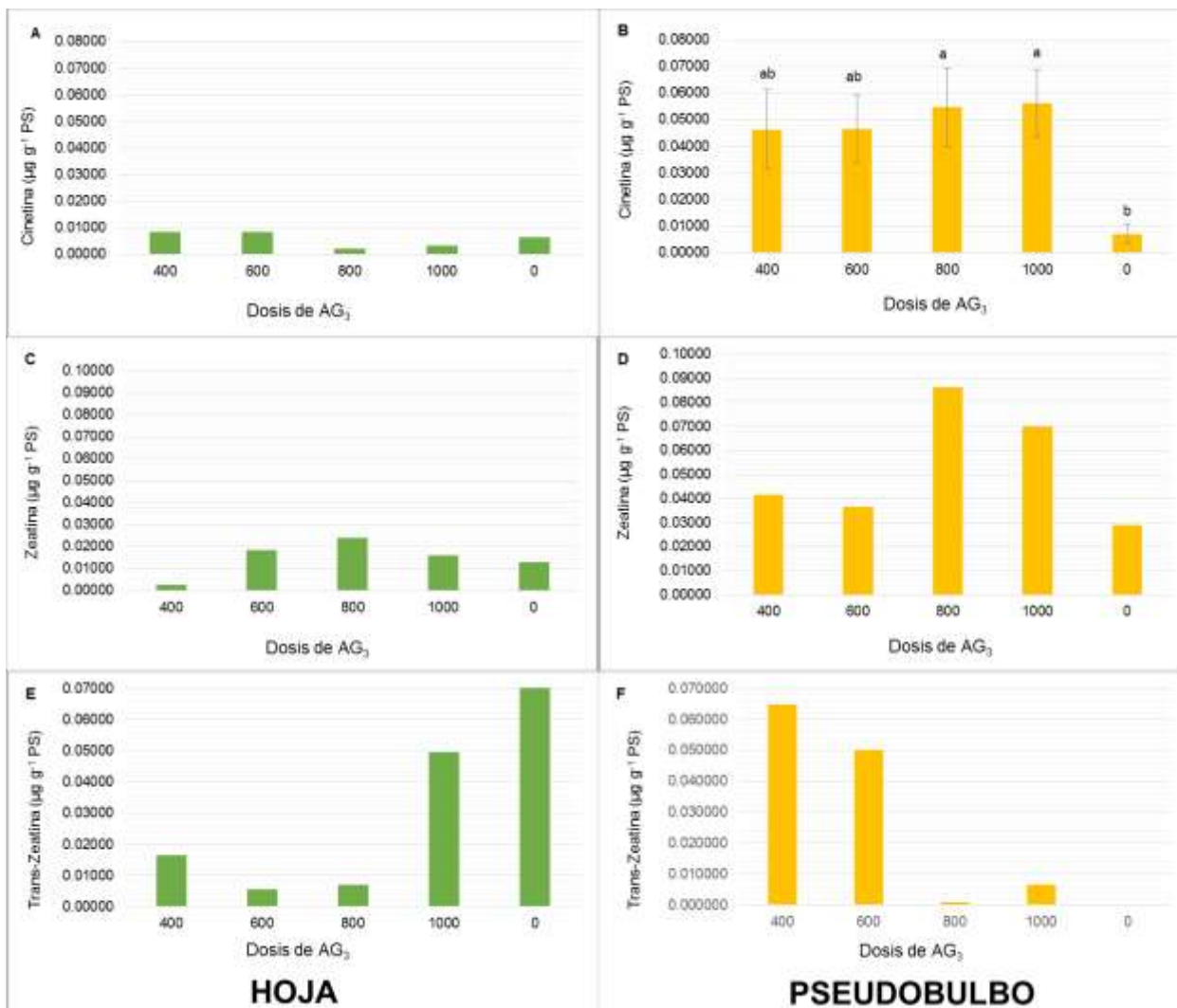


Figura 2. Contenido de cinetina, zeatina y trans-zeatina en hoja y pseudobulbo de plantas de *Laelia anceps* inducidas a floración, por efecto de diferentes dosis de ácido giberélico aplicadas exógenamente.

## CONCLUSIONES

Con base en los resultados, se concluye que dosis altas de ácido giberélico exógeno (800 y 1000  $\text{mg L}^{-1}$ ) aumentan significativamente el contenido de CIN y ZEA en pseudobulbo, siendo mayor en este órgano que

en hoja, en etapa de floración. Se observó un efecto hormético de AG<sub>3</sub> en pseudobulbo, en cuanto al contenido de T-ZEA. Es probable que estas condiciones de distribución y contenido de citocininas en hoja y pseudobulbo intervengan directamente en el proceso de la inducción de la floración en *Laelia anceps*.

## BIBLIOGRAFÍA

1. G. S. Yang, S. R. Huang, C. Wang, S. H. Huang, H. Zhang & Z. Q. Zhang. "Study on changes of endogenous hormone contents in pseudobulbs during the floral bud differentiation of *Eulophia flava*". Northern Horticulture. 2012, 23.

2. Zhang, D. Zhang, S. Fan, L. Du, Y. Shen, L. Xing, Y. Li, J. Ma, M. Han. "Effect of exogenous GA3 and its inhibitor paclobutrazol on floral formation, endogenous hormones, and flowering-associated genes in 'Fuji' apple (*Malus domestica* Borkh.)". *Plant Physiology and Biochemistry*. 2016. 107: 178-186.
3. W. Rademacher. "Plant Growth Regulators: Backgrounds and Uses in Plant Production". *Plant Growth Regul.* 2015. 34:845-872.
4. X. Pan, R. Welti, X. Wang. 2010. "Quantitative analysis of major plant hormones in crude plant extracts by high-performance liquid chromatography mass spectrometry". *Nature Protocols*. 2010. 5(6): 986-992.
5. Y. Li, D. Zhang, N. An, S. Fan, X. Zuo, X. Zhang, L. Zhang, C. Gao, M. Han, L. Xing. "Transcriptomic analysis reveals the regulatory module of apple (*Malus × domestica*) floral transition in response to 6-BA". *Plant Biology*. 2019. 19:93, 1-17.

## EFFECTO DEL NEODIMIO EN LA ALTURA DE PLANTAS DE CAÑA DE AZÚCAR

Víctor José Ramírez-Antonio<sup>1</sup>, Fernando Carlos Gómez-Merino<sup>1</sup>, Libia Iris Trejo-Téllez<sup>2</sup>, Sara Monzerrat Ramírez-Olvera<sup>2</sup>, Josafhat Salinas Ruiz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Colegio de Postgraduados Campus Córdoba. Carretera Federal Córdoba-Veracruz km 348, Congregación Manuel León, Amatlán de los Reyes 94953, Veracruz, México. <sup>2</sup>Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco 56230, Estado de México, México.

E-mail autor principal: [victor\\_ramirez\\_97@hotmail.com](mailto:victor_ramirez_97@hotmail.com)

### RESUMEN

La caña de azúcar es uno de los cultivos más importantes a nivel internacional por su valor en la industria alimentaria, energética y agrícola. México ocupa el sexto lugar a nivel mundial en la producción de este cultivo, siendo Veracruz el estado con mayor superficie sembrada y cosechada dentro del país. Como todo cultivo a cielo abierto, la caña de azúcar es afectada por diversos factores que pueden reducir indicadores de crecimiento, rendimiento y calidad de jugo, por lo que es necesario buscar alternativas que puedan contribuir a solucionar esta problemática. Los lantánidos son un grupo de 17 de elementos que han mostrado efectos benéficos en el metabolismo vegetal. El neodimio (Nd) pertenece a este grupo, y fue el primer lantánido en ser comercializado; sin embargo, existen pocas investigaciones sobre su efecto en plantas de interés económico. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la aplicación de Nd en la altura de plantas de caña de azúcar variedad Mex 69-290. Yemas de tallos maduros de 10 meses (ciclo planta) se plantaron en un sustrato constituido por tezontle:turba (1:1; v:v) en macetas de polietileno de 10 cm de altura, con 1 kg de capacidad. Un día después de la siembra se adicionaron los tratamientos que consistieron en 0, 50, 100 y 150  $\mu\text{M}$  Nd a partir de  $\text{NdCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , posteriormente se adicionaron cada 7 días, durante 21 días. Se registró la altura de las plantas a los 15, 17, 19 y 21 después del inicio de tratamientos (ddit). Esta variable se registró desde el nivel de sustrato hasta la hoja bandera. A los 15 ddit, el tratamiento de 100  $\mu\text{M}$  Nd incrementó significativamente la altura de planta respecto al testigo. En la evaluación realizada 17 ddit, la adición de 50 y 100  $\mu\text{M}$  Nd aumentaron la altura a comparación con el testigo y con el tratamiento 150  $\mu\text{M}$  Nd. A los 19 y 21 ddit se observaron efectos significativos positivos en la altura con el tratamiento 50 y 100  $\mu\text{M}$  Nd en relación al testigo. Se concluye que el Nd tuvo efectos benéficos en el crecimiento de caña de azúcar variedad Mex 69-290, en particular cuando es suministrado a una concentración de 100  $\mu\text{M}$ .

### INTRODUCCIÓN

La caña de azúcar (*Saccharum* spp. híbridos) es un cultivo de gran importancia económica por la provisión de alimentos e insumos en la industria de la bioenergética; su gran valor económico es debido a que es una especie altamente productiva, eficiente en el uso de insumos y recursos productivos y puede ser procesada localmente para realizar productos de fácil manejo, transporte, almacenamiento y de alto valor agregado (Moore, 2014). En México, se produjo una cantidad de 5,278, 320 t de caña de azúcar y con un rendimiento de 6.74 t ha<sup>-1</sup> en el ciclo 2019-2020, ocupando uno de los diez primeros lugares a escala internacional (CONADESUCA, 2020). El país cuenta con seis regiones donde se concentra el cultivo de la caña de azúcar: Noroeste, Pacífico, Noreste, Sur y Golfo. Veracruz se circunscribe en esta última región, y ocupa el primer lugar de producción a nivel nacional (Sentíes-Herrera, 2014).

Para mejorar la producción de caña de azúcar en México, se han implementado estrategias como mejorar la infraestructura de ingenios, mejores tecnologías en sistemas de riego y la generación de nuevas variedades. Sin embargo, aún existen varios factores que pueden afectar el rendimiento de la caña de azúcar, como la falta de nutrientes en el suelo, el clima, las plagas y una ineficiente fertilización, por tal motivo se buscan mejores estrategias para mejorar indicadores de crecimiento, rendimiento y calidad (Figueroa *et al.*, 2015).

Los lantánidos o elementos tierras raras son metales de transición con un número atómico del 57 al 71 en la tabla periódica. Estos elementos han sido estudiados en la agricultura como fertilizantes

para distintos cultivos encontrándose un efecto benéfico en el metabolismo de la planta, mejorando características fisiológicas con las concentraciones adecuadas (Tao *et al.*, 2018). Entre estos elementos se encuentra el neodimio (Nd), que de hecho fue el primer lantánido en ser comercializado como tinte de vidrio, y también ha sido ocupado para fabricar imanes, aleaciones de metales, baterías y partes de motores de autos; de igual manera ha sido ocupado en la agricultura, aunque hay muy pocas investigaciones sobre este elemento en cultivos de interés económico (Basu *et al.*, 2016). Debido a lo anterior, el objetivo de esta investigación es evaluar los efectos del neodimio en la altura de la caña de azúcar var. Mex 69-290.

### PARTE EXPERIMENTAL

Se obtuvieron 144 yemas de caña de azúcar var. Mex 69-290 con una edad de 10 meses ciclo planta. Las yemas fueron sembradas en macetas de polietileno de 10 cm con una mezcla de sustrato constituido por turba:tezontle (1:1; v:v). Las yemas fueron regadas un día después de la siembra y posteriormente cada siete días con los siguientes tratamientos: 0, 50, 100 y 150  $\mu\text{M}$   $\text{NdCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . Se tuvieron 3 réplicas de 12 yemas por tratamiento. Se tomaron medidas a los 15, 17, 19 y 21 días después del inicio del tratamiento (ddit). Las plantas se midieron con la ayuda de una regla desde el nivel del sustrato hasta la hoja bandera. Los datos obtenidos se analizaron con una prueba de comparación de medias Tukey ( $p \leq 0.05$ ) por medio del software estadístico SAS versión 9.

### RESULTADOS

A los primeros 15 ddit, el tratamiento 100  $\mu\text{M}$  Nd presentó diferencias significativas respecto al testigo, mientras que el tratamiento 150  $\mu\text{M}$  no presenta ningún dato debido a que, para el día 15, ninguna yema había brotado (**Figura 1**).

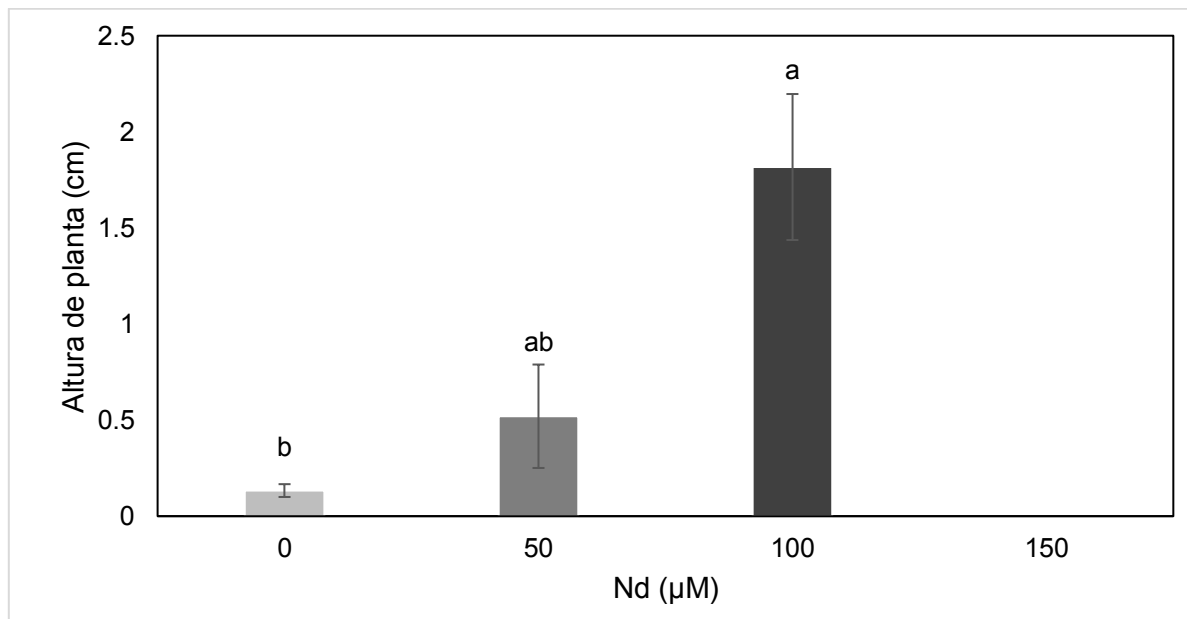


Figura 1. Altura de plantas de caña de azúcar 15 días después del inicio de los tratamientos con neodimio.

La altura de las plantas de caña a los 17 ddit aumentó al aplicar 50 y 100  $\mu\text{M}$  Nd, ya que los ambos tratamientos presentaron diferencias estadísticas significativas con el testigo y también respecto al tratamiento con 150  $\mu\text{M}$  Nd (**Figura 2**).

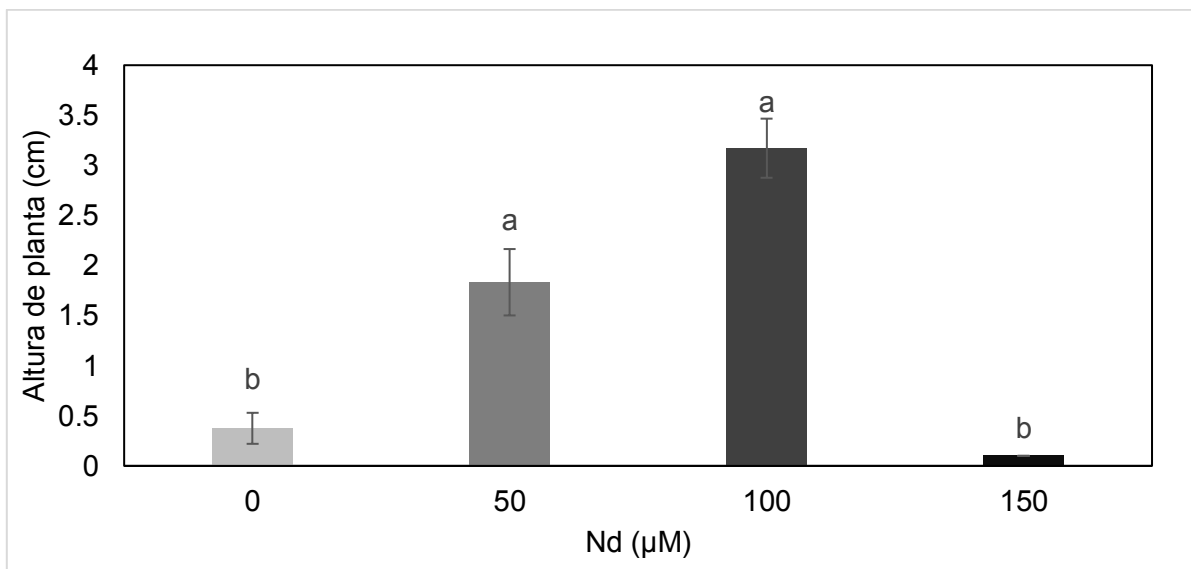


Figura 2. Altura de plantas de caña de azúcar 17 días después del inicio de los tratamientos con neodimio.

Después de los 19 días el tratamiento 150 µM Nd no presentó diferencias con el tratamiento 50 µM Nd ni el testigo. Sin embargo, el tratamiento 100 µM Nd mostró diferencias significativas con los demás tratamientos, observándose una mejoría en la altura de la caña (**Figura 3**).

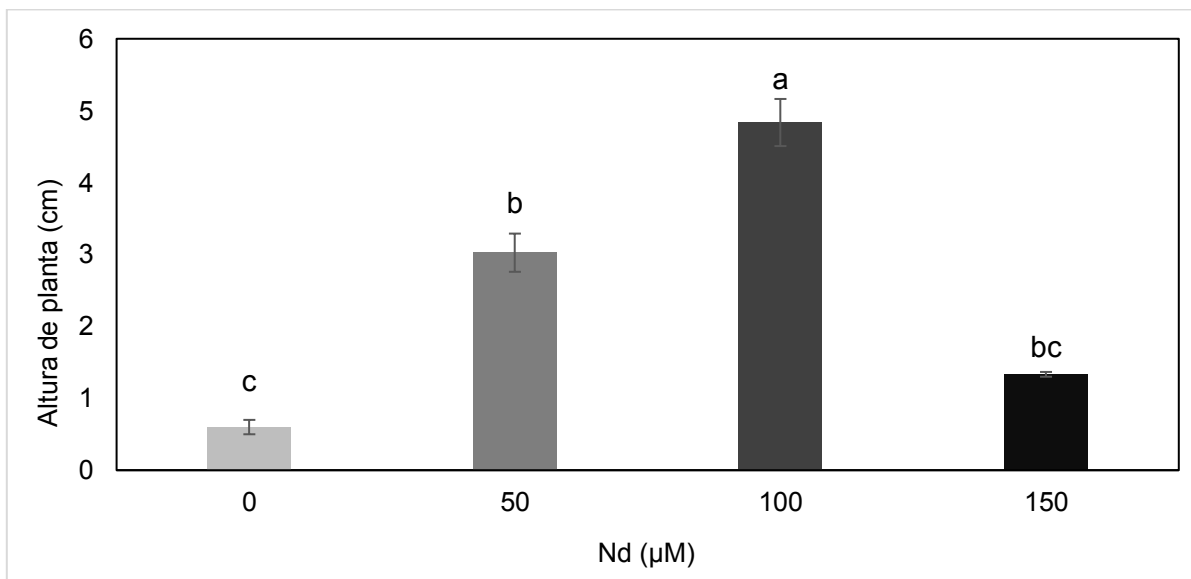


Figura 3. Altura de plantas de caña de azúcar 19 días después del inicio de los tratamientos con neodimio.

Por último, a los 21 días, la altura mejoró por el tratamiento 100 µM Nd, observándose diferencias significativas con los demás tratamientos. Se puede observar que la adición de 150 µM Nd es estadísticamente similar con el testigo y el tratamiento 50 µM Nd (**Figura 4**).

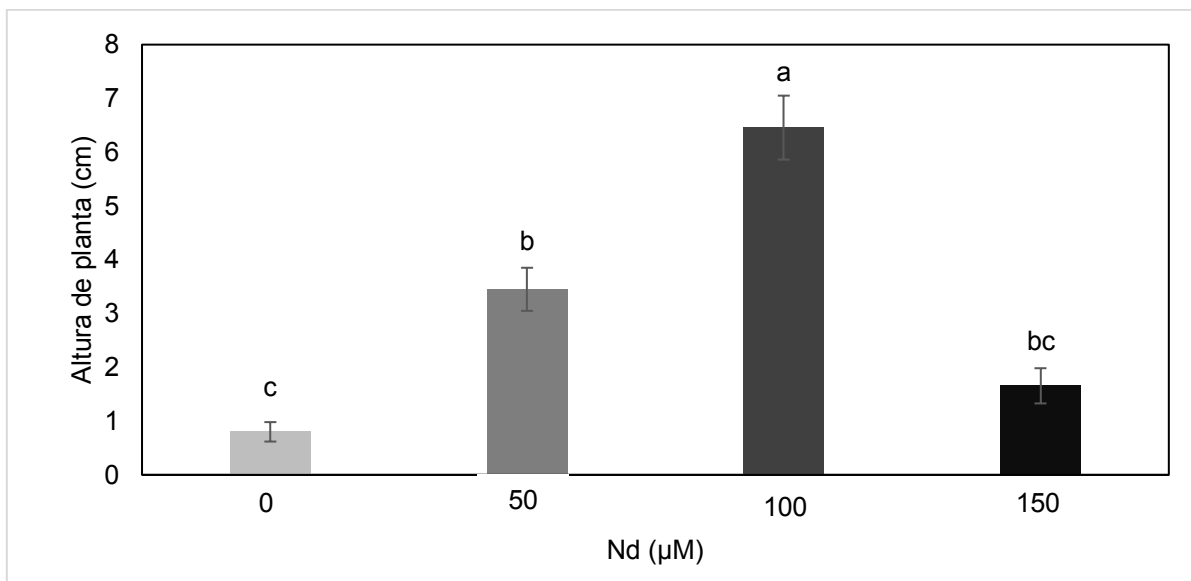


Figura 4. Altura de plantas de caña de azúcar 21 días después del inicio de los tratamientos con neodimio.

La altura de la planta de caña de azúcar fue estimulada en respuesta a la adición de 100 mM Nd, lo cual puede ser resultado de la acción de lantánidos sobre la síntesis de ácido indolacético, hormona encargada en la elongación celular (Sheng y Zhang, 1994). Está bien demostrado que los elementos benéficos como el Ce pueden tener efectos horméticos sobre los sistemas biológicos, lo que se refleja en respuestas estimulantes a dosis óptimas (i.e. 50 y 100 µM Ce) pero respuestas tóxicas o inhibitorias a mayores dosis (i.e. 150 µM Ce) (Lui *et al.*, 2017).

### CONCLUSIÓN

La adición de 100 µM NdCl<sub>3</sub> 6H<sub>2</sub>O aumenta la altura de plantas de caña de azúcar var. Mex 69-290 en el transcurso de los días, siendo una dosis benéfica. Mientras que la adición de la dosis más alta (150 µM NdCl<sub>3</sub> 6H<sub>2</sub>O) afecta negativamente esta variable disminuyendo la altura de plantas de caña de azúcar.

### BIBLIOGRAFÍA

1. A. Basu, S. S. Kar, S. S. Panda, N. K. Dhal. Bioaccumulation of neodymium oxide (REE) and its effects on the growth and physiological changes of wheat and rice seedlings: A hydroponics study under plant growth chamber. *e-planet*. Vol. 14, 2016, pp. 33-40.
2. B. L. Sheng, L. J. Zhang Effects of La on content of endogenesis hormone in wheat seedling plant. *Plant Physiology Communications*. Vol. 30(5), 1994, pp. 361-352.
3. CONADESUCA. Concluye la zafra 2019/2020. Comité Nacional para el Desarrollo Sustentable de la Caña de Azúcar. 2020. ([www.gob.mx](http://www.gob.mx)).
4. H. E. Sentíes-Herrera, F. C. Gómez-Merino, A. Valdez-Balero, H. V. Silva-Rojas, L. I. Trejo-Téllez. The agro-Industrial sugarcane system in Mexico: Current status, challenges and opportunities. *Journal of Agricultural Science*. Vol. 6(4), 2014, pp. 26-54. doi:10.5539/jas.v6n4p26
5. K. A. Figueroa Rodríguez, A. M. T. García García, Y. Mayett Moreno, F. Hernández Rosas, B. Figueroa Sandoval. Factors that explain the yield of sugar cane at municipal level in Mexico. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. Vol. 6, 2015, pp. 1345-1358.
6. L. Tao, D. Shiming, S. Wenchonga, C. Zhongyia, Z. Chaoshengc, L. Haitaoa. A review of fractionations of rare earth elements in plants. *Journal of Rare Earths*. Vol. 26, 2018, pp. 7-15.



7. P. H. Moore, A. H. Paterson, T. Tew. Sugarcane: the crop, the plant and domestication. Sugarcane: physiology, Biochemistry and functional biology. John Wiley, New York, NY, USA. 2014, pp. 1-17. doi: 10.1002/9781118771280.ch1
8. Y. Liu, L. Sun, J. Wan, J. Xu. Lanthanum inhibits primary root growth by repressing auxin carrier abundances in Arabidopsis. *Frontiers in Plant Science*. Vol. 8, 2017, pp. 1661. doi:10.3389/fpls.2017.01661

## LANTANO EN LA CONCENTRACIÓN DE CLOROFILAS A, B Y TOTALES EN DOS VARIEDADES DE LISIANTHUS

Nadia I. Torres-Flores, Fernando C. Gómez Merino, Libia I. Trejo-Téllez, Ma. Guadalupe Peralta-Sánchez

Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco km 36.5, 56230 Montecillo, Estado de México Correo-e: nadia.torres@colpos.mx

### RESUMEN

El lantano (La) es un elemento benéfico que incrementa la tasa fotosintética y el índice de clorofila en plantas superiores. En este contexto, este estudio evaluó los efectos de la fuente y dosis de La en la concentración foliares de clorofilas a, b y totales en lisianthus variedades Echo Lavanda y Mariachi Blue en tres etapas fenológicas (vegetativa, reproductiva y senescencia). Para lo anterior se establecieron dos experimentos independientes (uno por variedad) con un arreglo factorial  $2 \times 4$ . Las fuentes de La usadas fueron  $\text{LaCl}_3$  y  $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ; mientras que, las dosis de La fueron 0, 10, 20 y 30  $\mu\text{M}$ . Las fuentes y dosis de La fueron adicionadas a la solución nutritiva Steiner al 50%; iniciando la aplicación de los tratamientos 15 días después del trasplante. Cada uno de los ocho tratamientos resultantes para cada variedad tuvieron cinco repeticiones. La unidad experimental fue una plántula, depositada en una bolsa de polietileno negro de 30 x 30 cm con una mezcla de tezontle (tamaño de partícula entre 5 y 8 mm) + Agrolita® (70/30, v/v) como sustrato. Se tuvieron efectos significativos tanto del factor fuente de La como de la concentración de La. Destaca que en comparación con el  $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , el  $\text{LaCl}_3$  incrementó concentraciones de clorofila a en fase vegetativa en el cultivar Echo Lavanda y en la fase de senescencia en el cultivar Mariachi Blue; asimismo, esta fuente incrementó concentraciones de clorofila b en fases vegetativa y reproductiva en Echo Lavanda y Mariachi Blue, respectivamente. El  $\text{LaCl}_3$  también aumentó las clorofilas totales en la Echo Lavanda en fase vegetativa y en Mariachi Blue en fases reproductiva y de senescencia. En lo que respecta a las dosis de La, 20 y 30  $\mu\text{M}$  incrementan la concentración de clorofila a y clorofila total en Echo Lavanda en fase reproductiva. Dosis de 10  $\mu\text{M}$  incrementaron clorofila a y clorofila total en Mariachi Blue en fases vegetativa y reproductiva. Por el contrario, la dosis 30  $\mu\text{M}$  redujo de manera significativa la concentración de clorofila a en fase de senescencia en la variedad Mariachi Blue. La concentración de clorofila b en fase vegetativa y de senescencia en Echo Lavanda, fue incrementada con las dosis 20 y 10  $\mu\text{M}$ , respectivamente. En Mariachi Blue, la dosis 10  $\mu\text{M}$  aumenta la clorofila b en fases vegetativa y reproductiva; mientras que la dosis 20  $\mu\text{M}$  la incrementa en senescencia en esta misma variedad. En ambos cultivares se observó que la dosis 30  $\mu\text{M}$  reduce significativamente la concentración de clorofila b en la fase de senescencia. Se concluye que, de manera general, la fuente de  $\text{LaCl}_3$  incrementa la concentración de clorofilas a, b y totales en las dos variedades de lisianthus evaluadas; así como dosis de 10 y 20  $\mu\text{M}$  de este elemento.

### INTRODUCCIÓN

La floricultura es una técnica que sirve para cultivar diferentes tipos de plantas ornamentales, con diferentes fines, entre ellos, para paisajes, decoraciones para jardín, venta y distribución a diferentes establecimientos (Briseño, 2018).

El lisianthus es una planta ornamental, que está siendo cultivada como flor de corte y de maceta; su producción y popularidad está creciendo al ser considerada como una de las más vendidas (Camargo *et al.*, 2004).

Por otra parte, los elementos benéficos pueden presentar funciones muy diversas, como estimular el crecimiento vegetal, aumentar la resistencia a plagas y enfermedades, mejorar los procesos metabólicos y otorgar resistencia ante factores climáticos adversos; algunos de los elementos benéficos reportados son silicio, vanadio, cobalto, sodio, selenio, aluminio, cerio y lantano.

En el contexto anterior, este trabajo plantea como objetivo, evaluar el efecto del La en la concentración de las clorofilas a, b y totales en hojas de dos variedades de lisianthus (Mariachi Blue y Echo Lavanda), en tres fases del cultivo.

## PARTE EXPERIMENTAL

Las plántulas utilizadas se obtuvieron de la empresa Plántulas de Tétela, ubicada en Cuernavaca, Morelos. Las condiciones de esta investigación fueron bajo invernadero. El sustrato utilizado fue una mezcla de tezontle de 5-8 mm + Agrolita® (70/30, v/v), en bolsas de polietileno negro de 30 x 30 cm, donde se trasplantó una plántula por bolsa; considerada como una unidad experimental.

Se evaluaron dos fuentes La [ $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{LaCl}_3$ ] y 4 dosis, (0, 10, 20 y 30  $\mu\text{M}$ ). La aplicación de los tratamientos se inició 15 días después del trasplante, aplicando 200 mL por bolsa tres veces por semana durante el desarrollo del cultivo. Las concentraciones de La con la fuente correspondiente fueron suministradas en la solución nutritiva de Steiner al 50% (Steiner, 1984). El diseño experimental utilizado fue factorial 2 x 4 con cinco repeticiones por tratamiento.

Durante el desarrollo del cultivo en las fases (vegetativa, reproductiva y senescencia) se recolectó material vegetal (hojas) para la determinación de la concentración de clorofilas a, b y totales (**Figura 1**); en extractos etanólicos. La concentración de clorofilas foliares a y b se determinaron, leyendo los extractos a 635 y 645 nm en un espectrofotómetro (Jenway 6715; Staffordshire, UK) y sustituyendo los datos obtenidos en las siguientes formulas: Clorofila a =  $(12.7 \cdot A_{663}) - (2.59 \cdot A_{645})$ ; Clorofila b =  $(22.9 \cdot A_{645}) - (4.70 \cdot A_{663})$  y Clorofila total =  $(8.2 \cdot A_{663}) + (20.2 \cdot A_{645})$ .



Figura1. Plantas de lisianthus Mariachi Blue (A) y Echo Lavanda (B) utilizadas en esta investigación.

Con los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias (LSD,  $P \leq 0.05$  %) empleando el software Statistical Analysis System (SAS, 2002).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Dosis de 10  $\mu\text{M}$  La incrementaron clorofila a en Mariachi Blue en fases vegetativa y reproductiva. Por el contrario, la dosis 30  $\mu\text{M}$  redujo de manera significativa la concentración de clorofila a en fase de senescencia en la variedad Mariachi Blue. En la variedad Echo Lavanda la dosis de La 20  $\mu\text{M}$  incrementan la concentración de clorofila a en la fase reproductiva y de senescencia. Respecto a las fuentes, destaca que en comparación con  $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , el  $\text{LaCl}_3$  incrementó concentraciones de clorofila a en fase vegetativa en el cultivar Echo Lavanda y en la fase de senescencia en el cultivar Mariachi Blue (**Cuadro 1**).

Cuadro 1. Efecto de las concentraciones y fuentes de La en la concentración foliar de clorofila a en dos variedades de *lisianthus* en tres fases fenológicas.

Variedades	Mariachi Blue			Echo Lavanda		
Fase fenológica	V	R	S	V	R	S
<b>La, <math>\mu\text{M}</math></b>	$\mu\text{g mg}^{-1}$ de peso fresco					
<b>0</b>	1.48 b	1.20 b	1.44 ab	2.03 a	1.15 b	1.51 ab
<b>10</b>	1.67 a	1.41 a	1.45 a	1.84 a	1.30 ab	1.49 ab
<b>20</b>	1.56 ab	1.28 b	1.22 bc	1.85 a	1.44 a	1.71 a
<b>30</b>	1.61 a	1.26 b	1.09 c	1.87 a	1.41 a	1.31 b
<b>Fuente de La</b>	$\mu\text{g mg}^{-1}$ de peso fresco					
<b>LaCl<sub>3</sub></b>	1.59 a	1.27 a	1.38 a	2.02 a	1.37 a	1.55 a
<b>La(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 6H<sub>2</sub>O</b>	1.57 a	1.31 a	1.22 b	1.77 b	1.28 a	1.45 a

V=Vegetativa; R=Reproductiva; S=Senescencia. Medias con letras distintas en cada columna por factor de estudio, son diferentes estadísticamente (LSD,  $P \leq 0.05$ ).

En Mariachi Blue, la dosis 10  $\mu\text{M}$  aumenta la clorofila b en fases vegetativa y reproductiva; mientras que con la dosis 20  $\mu\text{M}$  La es incrementada en senescencia en esta misma variedad. La concentración de clorofila b en fase vegetativa y de senescencia en la variedad Echo Lavanda, fue incrementada con las dosis 20 y 10  $\mu\text{M}$  La respectivamente. En ambos cultivares se observó que la dosis 30  $\mu\text{M}$  La reduce significativamente la concentración de clorofila b en la fase de senescencia. Respecto a las fuentes, el LaCl<sub>3</sub> incrementó las concentraciones de clorofila b en fases reproductiva y vegetativa en las variedades Mariachi Blue y Echo Lavanda respectivamente (**Cuadro 2**).

Cuadro 2. Efecto de las concentraciones y fuentes de La en la concentración foliar de clorofila b en dos variedades de *lisianthus* en tres fases fenológicas.

Variedades	Mariachi Blue			Echo Lavanda		
Fase fenológica	V	R	S	V	R	S
<b>La, <math>\mu\text{M}</math></b>	$\mu\text{g mg}^{-1}$ de peso fresco					
<b>0</b>	0.332 b	0.443 c	0.496 b	0.424 b	0.405 a	0.357 b
<b>10</b>	0.399 a	0.760 a	0.509 ab	0.378 b	0.377 a	0.531 a
<b>20</b>	0.349 ab	0.613 b	0.671 a	0.482 a	0.351 a	0.352 b
<b>30</b>	0.270 c	0.471 c	0.490 b	0.369 b	0.414 a	0.222 c
<b>Fuente de La</b>	$\mu\text{g mg}^{-1}$ de peso fresco					
<b>LaCl<sub>3</sub></b>	0.347 a	0.646 a	0.538 a	0.468 a	0.405 a	0.365 a
<b>La(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 6H<sub>2</sub>O</b>	0.328 a	0.497 b	0.546 a	0.359 b	0.369 a	0.366 a

V=Vegetativa; R=Reproductiva; S=Senescencia. Medias con letras distintas en cada columna por factor de estudio, son diferentes estadísticamente (LSD,  $P \leq 0.05$ ).

La dosis de 20  $\mu\text{M}$  La incrementó las concentraciones de clorofilas totales en las tres fases evaluadas en la variedad Mariachi Blue. En la variedad Echo Lavanda 30 y 20  $\mu\text{M}$  La produjeron mayores concentraciones de clorofilas totales en la fase reproductiva y de senescencia, respectivamente. El LaCl<sub>3</sub> también aumentó las clorofilas totales en Mariachi Blue en fases reproductiva y de senescencia y en Echo Lavanda en fase vegetativa (**Cuadro 3**).

Cuadro 3. Efecto de las concentraciones y fuentes de La en la concentración foliar de clorofilas totales en dos variedades de lisianthus en tres fases fenológicas.

Variedades	Mariachi Blue			Echo Lavanda		
Fase fenológica	V	R	S	V	R	S
<b>La, <math>\mu\text{M}</math></b>	$\mu\text{g mg}^{-1}$ de peso fresco					
<b>0</b>	1.81 b	1.65 c	1.93 a	2.46 a	1.56 b	1.87 a
<b>10</b>	2.07 a	2.17 a	1.96 a	2.22 a	1.68 ab	2.01 a
<b>20</b>	1.91 b	1.90 b	1.89 a	2.33 a	1.79 a	2.06 a
<b>30</b>	1.8 b	1.73 c	1.58 b	2.24 a	1.82 a	1.53 b
<b>Fuente de La</b>	$\mu\text{g mg}^{-1}$ de peso fresco					
<b>LaCl<sub>3</sub></b>	1.94 a	1.92 a	1.92 a	2.49 a	1.78 a	1.92 a
<b>La(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 6H<sub>2</sub>O</b>	1.90 a	1.81 b	1.76 b	2.13 b	1.65 a	1.82 a

V=Vegetativa; R=Reproductiva; S=Senescencia. Medias con letras distintas en cada columna por factor de estudio, son diferentes estadísticamente (LSD,  $P \leq 0.05$ ).

### CONCLUSIONES

Se concluye que, de manera general, la fuente de LaCl<sub>3</sub> incrementa la concentración de clorofilas a, b y totales en las dos variedades de lisianthus evaluadas; así como dosis de 10 y 20  $\mu\text{M}$  La de este elemento. Como se ha indicado en otros estudios, es probable que el La participe en la síntesis de clorofila de manera estructural, sustituyendo el átomo de Mg en la molécula de clorofila.

### BIBLIOGRAFÍA

1. A. Steiner, "The universal nutrient solution", *in*: ISOSC Proceedings 6th International Congress on Soilless Culture. The Netherlands. 1984. pp. 633-649.
2. Briceño V., Gabriela. (2018). *Floricultura*. Recuperado el 6 julio, 2021, de Euston96: <https://www.euston96.com/floricultura/>
3. M. S. Camargo, L. K. Shimizu, A. M. Saito, H. C. Kameoka, C. S. Mello, Q. A. Carmello C., 2004. Crescimento e absorção de nutrientes pelo Lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) cultivado em solo. *Horticultura Brasileira* 22 (1): 143-146.
4. SAS. 2002. SAS High-Performance Forecasting 2.2: User's Guide. (Vol. 1 & 2). Cary, NC: SAS Institute Inc. Ver. 9). 652 p.

## INDUCCIÓN A LA OVULACION CON PROGESTAGENOS CADUCOS EN CAPRINOS

Dulce Carolina Montes Melchor, María Guadalupe Torres Cardona, Martín Meza Nieto, Blas Rogelio Ávila Castillo, Isaac Almaraz Buendía, Miguel Ángel Ramos Martínez, J. Jesús Germán Peralta Ortiz

Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Área académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Instituto de Ciencias Agropecuarias, Avenida Universidad Km. 1 s/n Exhacienda Aquetzalpa, 43600 Tulancingo de Bravo, Hgo. Autor por correspondencia Dulce Carolina Montes Melchor [mo317993@uaeh.edu.mx](mailto:mo317993@uaeh.edu.mx)

### RESUMEN

El caprino es una especie que ha tomado gran auge dentro de las producciones a pequeña escala, sin embargo, no ha tenido el crecimiento esperado por diversos factores y uno de ellos es la estacionalidad reproductiva de esta especie. El uso de hormonas para la inducción a la ovulación en cabras ha sido de gran ayuda para obtener crías sin importar la estación del año, pero desafortunadamente, estos tratamientos por medio de hormonas no siempre pueden ser solventados por los productores, basándonos en esta situación se buscó conocer la viabilidad de esponjas con hormonas caducadas para lograr la inducción a la ovulación en cabras y economizar estos tratamientos. La presente investigación se realizó en el año 2020, en el poblado San Cristóbal, municipio de Temascalapa Estado de México, se utilizaron 14 cabras hembras de raza mestiza con una edad aproximada de 2 años, su condición corporal fue de 2.5-3 en escala de uno a cuatro<sup>1</sup>, con un peso promedio de 40 kg, fueron alimentadas únicamente con pastos nativos de la región, el lote de animales se dividieron en dos tratamientos de forma aleatoria, donde el tratamiento uno consto de 7 cabras que fueron inducidas a la ovulación con esponjas de chronogest (cronolone) caducadas en el año 2013 y el tratamiento dos con 7 cabras inducidas a la ovulación con esponjas no caducadas del mismo fármaco. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, donde la unidad experimental fue cada cabra y para determinar si existieron diferencias en el número de cabras que presentaron estro y gestación se utilizó la prueba de Ji- cuadrada. En ambos tratamientos los resultados fueron similares, por lo que concluimos que las esponjas caducadas como las esponjas no caducadas muestran la misma eficiencia en cuanto a la inducción de la ovulación, duración de estro, fertilidad y al porcentaje de gestación.

### INTRODUCCIÓN

En México el ganado caprino es una de las especies de gran importancia para las clases rurales de escasos recursos, los caprinos han teniendo un gran auge en diversas regiones del país debido a la elaboración de diversos productos como: queso, carne, algunos dulces y artículos de piel. Desafortunadamente en todo México, el desarrollo de la producción caprina ha sido lento, los sistemas más utilizados son extensivo o tradicional esto debido a su bajo costo productivo. El manejo reproductivo que se abordará es pensando en explotaciones extensivas ya que son las que predominan en nuestro país, con su realidad de limitaciones de infraestructura, económicas, de títulos de propiedad de la tierra, recursos forrajeros escasos, etc., lo que nos obliga a trabajar con recursos totalmente degradados en donde la cabra consume y depreda a voluntad, debido a la tolerancia de los sabores amargos, el ramoneo y actitud bípeda (Gioffredo, 2010).

Debemos mencionar que uno de los problemas que se dan dentro de la producción caprina es la detección de estros, por esta razón el uso de sincronizadores puede ser una alternativa para el desarrollo de una producción.

Las técnicas reproductivas son una de las disciplinas de mayor crecimiento en estos tiempos para lograr el incremento de la eficiencia reproductiva y que estas herramientas nos otorguen ciertas ventajas para obtener crías, leche, carne y subproductos durante todo el año sin importar la estacionalidad de la especie. Y una de estas tecnologías reproductivas es la inducción a la ovulación la cual constituye la base primordial para la reproducción ya que es altamente utilizada en programas de mejoramiento genético, ésta consiste en lograr un alto porcentaje de presentación del estro dentro de un rebaño independientemente de la época del año, de esta manera se pueden utilizar machos con un aporte genético elevado en un periodo más breve. Esta técnica generalmente es utilizada

con el propósito de obtener lotes más homogéneos de las crías y que se den en los periodos más favorables del año, acortar los periodos de servicio natural o la inseminación artificial y aumentar la eficiencia reproductiva. Estos tratamientos pueden ser utilizados durante la estación reproductiva o en el anestro estacional. Desafortunadamente, como se mencionó antes, la inducción a la ovulación no siempre es una opción para los ganaderos debido a los costos de la misma, además de que, en producciones de mayor escala no cuentan con rebaños homogéneos.

Con la utilización de métodos hormonales para la inducción a la ovulación en cabras se puede lograr inseminar a varios vientres en un periodo corto de tiempo con alto índice de preñez.

Gracias a las características climáticas y geográficas con las que cuenta México la producción caprina se ha visto favorecida. En el poblado de San Cristóbal municipio de Temascalapa, Estado de México se cuenta con un clima templado semi-seco, las heladas son una constante anual y se permite solo una cosecha al año, debido a la flora con la que cuenta este poblado la cabra se considera una especie apta para sobrevivir tanto por la vegetación como por el clima.

### **JUSTIFICACIÓN**

Este trabajo es para conocer la viabilidad que se tiene utilizando esponjas caducadas en el año 2013, esto debido a que las esponjas comerciales cuentan con fecha de caducidad y se cree que estas pierden efectividad cuando llegan a dicha fecha por lo cual debe pasar a la destrucción de estos dispositivos.

La presente investigación busca comprobar la eficiencia de las esponjas caducadas con el fin de utilizarlas debido a que generalmente cuando el médico veterinario realiza una sincronización de estros, no siempre utiliza las 20 esponjas que contiene las bolsas comerciales, esto ayudara a que el médico veterinario pueda utilizar las esponjas que se pensaron que no funcionarían y a disminuir gastos en cuestión de protocolos de sincronización a los productores antes del proceso de destrucción por considerarse RPBI.

Por lo anterior expuesto, el objetivo de esta investigación fue utilizar esponjas intravaginales caducadas en el año 2013 y esponjas sin caducar con el fin de comprobar la eficiencia de ambas dentro de un grupo de cabras en el poblado de Temascalapa del Estado de México.

### **METODOLOGÍA**

Esta investigación se realizó en el municipio de Temascalapa Estado de México poblado San Cristóbal, Coordenadas: 19°48'N 98°54'O / 19.8, -98.9, cuenta con clima templado semi-seco, las heladas son una constante anual y permite solo una cosecha al año, su temperatura va de 10 a 25°C, se encuentra entre los 2240 y 2650 metros sobre el nivel del mar (Pérez, 2010).

Para esta investigación se utilizaron 14 cabras hembras de raza mestiza con un aproximado de 2 años de edad, su condición corporal es de 2.5-3 de 4 (Morales, 2006) con un peso promedio de 40 kg, estas fueron alimentadas únicamente con pastos nativos de la región, el grupo de 14 animales se dividió aleatoriamente en dos tratamientos, donde el tratamiento uno consto de 7 cabras que fueron inducidas a la ovulación con esponjas impregnadas de Acetado de flurogestona (cronolone; Chronogest) caducadas en el año 2013 y el tratamiento dos con 7 cabras inducidas a la ovulación con esponjas no caducadas del mismo fármaco.

Esta investigación comenzó el día 14 de mayo del 2020 realizando ultrasonografía a las 14 cabras para comprobar que no se encontraran gestantes, posteriormente se inició el protocolo de inducción a la ovulación. La esponja con 20 mg de Acetato de flurogestona (FGA) fue impregnada con antibiótico (emicina líquida) antes de su colocación por vía vaginal, con el fin de evitar posibles infecciones y a su vez lubricar la esponja, entre una aplicación y otra, el aplicador se sumergió en una solución antiséptica de cloruro de benzalconio al 1% entre cabra y cabra, este procedimiento se repitió con las 14 cabras, en donde a 7 cabras se les colocó esponjas que caducaron en el año 2013 y a las 7 siguientes se les colocó esponjas no caducadas, en el día 12 se administró por vía intramuscular 50 µg de prostaglandina F2α (Cloprostenol sódico).

Las esponjas se retiraron en el día 14 posterior a la colocación de las esponjas, este mismo día se aplicaron 300 UI de Gonadotropina Coriónica Equina (eCG; Novormon 5000).

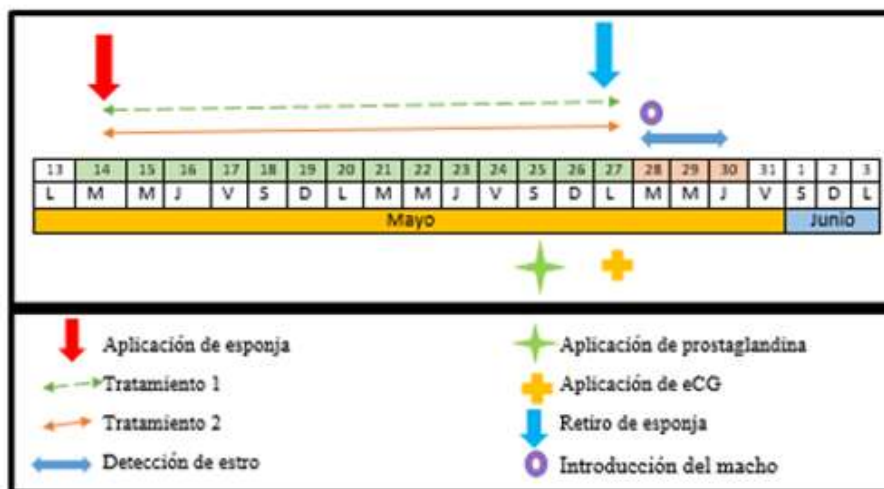


Fig.1 Protocolo de inducción a la ovulación utilizado en los 14 caprinos

#### Detección del estro

El porcentaje de detección de estro se determinó 24 horas después del retiro de la esponja, empleando 1 semental que se introdujo al corral tres veces al día a intervalos regulares de tiempo, los cuales aparearon a las cabras que mostraron signos característicos del estro. El inicio del estro se determinó en el momento que la cabra se dejó aparear por el semental, en el momento que el semental apareaba a la hembra, ésta era retirada del grupo y el término del estro fue determinado en cuanto la hembra se reusó a ser apareada por el semental.

#### Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental completamente a lazar, donde la unidad experimental fue cada cabra.

Para determinar si existieron diferencias en el número de cabras que presentaron estro y gestación se utilizó la prueba de Ji- cuadrada.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### Determinación de la tasa de gestación

La tasa de gestación se determinó como el número de cabras detectadas gestantes / el número de ovejas servidas x100. Y se realizó el diagnóstico de gestación a los 60 días después del estro por ultrasonografía (sonovet 600), con un transductor lineal de 7.5 Mhz por vía rectal.

Motlomelo (2002) evaluó la eficiencia de las esponjas de acetato de medroxiprogesterona (MAP) y las de acetato de flurogestona (FGA) durante la temporada de reproducción natural, y el progestágeno intravaginal se administró durante un período de 16 días, donde los dos tratamientos con progestágenos no mostraron diferencias significativas en la respuesta del estro (97%) y la duración (33.3 + -13.4) del período del estro inducido.

En cuanto al intervalo de tiempo de inicio y fin del estro desde la retirada de la esponja obtuvimos un intervalo de 36 a 48 horas en ambos tratamientos, comparando con la investigación de Requena (2010) quien obtuvo un intervalo de 56 a 120 horas para las cabras tratadas con prostaglandina y de 40 a 80 horas para las tratadas con eCG. Referente a la fertilidad que encontramos en ambos tratamientos no se encontró diferencia estadística ( $P > 0.05$ ) ya que en ambos tratamientos se obtuvo una fertilidad del 85.7%, (Cuadro 1). En la investigación de Requena (2010) utilizó 221 cabras con esponjas intravaginales impregnadas con 60 mg de MAP durante 11 días. Tras estos 11 días, se procedió a la retirada de las esponjas y a la administración vía intramuscular de 450 U.I. de eCG 7 (Serigan®, Laboratorios Ovejero S.A. España) a los animales que estaban en fase folicular y 52,5 microgramos de d-cloprostenol (Galapán®, Invesa, España) a los que estaban en fase luteal. Los



resultados de fertilidad obtenidos para cabras tratadas con prostaglandina o eCG fueron de 81,25% y 85,32% respectivamente. En cuanto al trabajo realizado por Clariget (2012) quien realizó sincronización de 31 cabras por medio de esponjas intravaginales conteniendo 60mg de medroxiacetato de progesterona durante 14 días sin asociar el tratamiento a un agente luteolítico se obtuvo fertilidad de 53%.

La fertilidad y prolificidad del estro inducido en la cabra durante la estación no reproductiva son menores a las obtenidas en la época reproductiva, lo cual puede obedecer a una disminución de la tasa ovulatoria, y a un aumento de la mortalidad embrionaria temprana (Aguilar, 2010).

Cuadro 1. Variables de respuesta de los resultados de la investigación

Variables de respuesta	Tratamiento	
	T1 (n=7)	T2 (n=7)
Respuesta del estro (%)	100% (7/7)	100% (7/7)
Tasa de fertilidad (%)	85.7	85.7
Inicio del estro (h)	34 ± 7	33 ± 10
Duración del estro (h)	37 ± 11	36 ± 12

T1: Cabras tratadas con esponjas (Chronogest) caducas del año 2013.

T2: Cabras tratadas con esponjas no caducas.

Es recomendable complementar el tratamiento con eCG ya sea 48 horas o 24 horas antes de extraer la esponja. Los resultados iniciales de sincronización con FGA y eCG en cabras criollas fuera de la estación han dado un resultado del 100% de celos y 67% de fertilidad al servicio, con un 1.56 crías (Stagnaro, 1993), esto se vio reflejado en el presente trabajo ya que la presentación de estros fue del 100% en ambos tratamientos y la fertilidad tuvo un 85.7%.

## CONCLUSIÓN

En ambos tratamientos los resultados fueron similares, por lo que concluimos que las esponjas impregnadas con acetato de flurogestona (cronolone, chronogest) caducadas en el 2013, así como las esponjas no caducadas conteniendo el mismo hormonal, muestran la misma eficiencia en cuanto a la inducción de la ovulación, duración de estro, fertilidad y al porcentaje de gestación en la especie caprina.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Aguilar, M. M. (2010). Respuesta estral y tasa de preñez en cabras en anestro estacional tratadas con progestágenos y somatotropina bovina. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* Vol.2, [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-11242011000200009](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11242011000200009).
2. Clariget, R. P. (2012). Sincronización de celos en cabras en estación reproductiva: uso de esponjas de medroxiprogesterona o aplicación de prostaglandina después de cinco días de detección de celos. *Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XXII, N° 3*, 245-251.
3. Requena D, F. (2010). Efecto de diferentes protocolos de sincronización de estros sobre la eficiencia reproductiva en caprino lechero. Obtenido de [http://www.uco.es/zootecniaygestion/img/pictorex/09\\_11\\_36\\_Trabajo\\_Fin\\_Master\\_Cabras \[1\]\\_Fernando\\_Requena\\_Domenech.pdf](http://www.uco.es/zootecniaygestion/img/pictorex/09_11_36_Trabajo_Fin_Master_Cabras [1]_Fernando_Requena_Domenech.pdf).
4. Gioffredo, J. J. (2010). Caprinos: generalidades, nutrición, reproducción e instalaciones. [http://www.produccion-animal.com.ar/produccion\\_ovina/ovina\\_y\\_caprina\\_curso\\_fav/122-curso\\_UNRC.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_ovina/ovina_y_caprina_curso_fav/122-curso_UNRC.pdf).
5. Morales, J. U. (2006). Condición corporal en caprinos. Obtenido de Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias: <http://biblioteca.inifap.gob.mx:8080/jspui/bitstream/handle/123456789/325/68.pdf?sequence=1>
6. Motlomelo, K. (2002). Synchronisation of oestrus in goats: The use of different progestagen treatments. *mall Ruminant Research*, 45-49.

7. Pérez, E. S. (2010). H. Ayuntamiento de Temascalapa. Obtenido de Enciclopedia de Los Municipios y Delegaciones de México: <https://www.google.com.mx/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjIquyFjZTkAhUFYawKHSlyCZ0QFjACegQIAhAB&url=http%3A%2F%2Fwww.inafed.gob.mx%2Fwork%2Fenciclopedia%2FEMM15mexico%2Fmunicipios%2F15084a.html&usg=AOvVaw2JbKqs0BV0yt3JT>
8. Stagnaro, C. G. (1993). Control del ciclo estructural en ovejas y cabras en el medio tropical. Revista Científica, FCV-LUZ/Vol. III, N°3, 218-219.

## LANTANO Y MAGNESIO AFECTAN DIFERENCIALMENTE LAS CONCENTRACIONES DE N, P Y K EN TOMATE

María Guadalupe Peralta-Sánchez<sup>1</sup>, Beatriz Adriana Jiménez-González<sup>2</sup>, Fernando Carlos Gómez-Merino<sup>1</sup>, Olga Tejeda-Sartorius<sup>1</sup>, Gabriel Alcántar-González<sup>1</sup>, César San Martín Hernández<sup>1</sup> y Libia Iris Trejo-Téllez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco km 36.5, 56230 Montecillo, Estado de México. <sup>2</sup>Depto. de Suelos, Universidad Autónoma Chapingo. Carretera México-Texcoco km 38.5, 56230 Chapingo, Estado de México.

E-mails: [mgps22@yahoo.com.mx](mailto:mgps22@yahoo.com.mx), [mgperalta@colpos.mx](mailto:mgperalta@colpos.mx)

### RESUMEN

El La es un elemento benéfico para plantas superiores; incluso se ha indicado que puede sustituir en algunas funciones al elemento esencial Mg. La óptima nutrición con Mg incrementa la eficiencia en el uso de N en plantas, y aumenta la absorción de P; por el contrario, es un antagonista de la absorción de K. En esta investigación se evaluaron los efectos principales y de interacción de tres niveles de La (0, 15 y 30  $\mu\text{M}$ ) y dos condiciones de Mg [deficiente (1 mM) y suficiente (2 mM)] en la concentración de N, P y K en plántulas de tomate. Se estableció un experimento factorial ( $3 \times 2$ ) bajo condiciones de invernadero usando un sistema de raíz flotante. Los niveles de La y Mg fueron agregados a la solución nutritiva de Steiner que fue empleada como referencia, la cual se renovó cada 7 d; el pH de la misma se ajustó a 5.5 todos los días. El experimento tuvo una duración de 21 d. Concluido el experimento, las plántulas fueron cosechadas y en parte aérea se determinaron las concentraciones de N, P y K. Las dosis 15 y 30  $\mu\text{M}$  La incrementaron en 20.2 y 3.0% la concentración de P respectivamente; la concentración de K solo fue distinta entre las dosis 15 y 30  $\mu\text{M}$  La pero no con el testigo (sin La). Por otra parte, la condición deficiente de Mg incrementó en 4.5% la concentración de N, respecto a la condición de suficiencia de Mg. La interacción de los factores de estudio no tuvo efectos significativos en la concentración de N. La dosis 15  $\mu\text{M}$  La incrementó la concentración de P bajo deficiencia de Mg, con respecto al tratamiento deficiente en Mg sin La. Asimismo, la concentración de K fue superior en plantas tratadas con 15  $\mu\text{M}$  La, independientemente del nivel de Mg suministrado en la solución nutritiva. Se concluye que el La influye de forma positiva en la concentración de los macronutrientes evaluados y el Mg de forma diferencial en plántulas de tomate.

### INTRODUCCIÓN

Los elementos de tierras raras (REE) forman un grupo químicamente uniforme e incluyen al lantano (La) y 14 elementos que componen la serie lantánidos, además de escandio e itrio (Tyler, 2004).

El lantano tiene influencia en diversos procesos y reacciones fisiológicas, como la absorción, transporte y asimilación nutricional, y el aumento de la fijación de nitrógeno (Ramírez-Martínez *et al.*, 2012; Ramos *et al.*, 2016). En determinadas condiciones, a bajas concentraciones algunos REE favorecen el crecimiento y la productividad de las plantas (Tyler, 2004).

Por otra parte, las plantas necesitan elementos minerales durante el crecimiento y desarrollo. De forma específica requieren de altos niveles de N, P y K, así como cantidades moderadas de otros nutrientes y muy bajas de elementos benéficos (Zhang *et al.*, 2013).

Existen interacciones entre el  $\text{Mg}^{2+}$  y otros iones. Los altos niveles de  $\text{K}^+$  dan como resultado una baja disponibilidad de Mg en las raíces de las plantas (Gou *et al.*, 2016). La clorosis es una respuesta obvia en deficiencia de Mg que predice una reducción considerable en el rendimiento (Wang *et al.*, 2020). En condiciones de deficiencia de Mg, el K tiene un fuerte comportamiento de absorción antagonista (Chaudhry *et al.*, 2021). Es decir, el K ejerce un fuerte efecto antagonista sobre el transporte de Mg, mientras que el Mg ejerce un efecto sinérgico o no ejerce ningún efecto sobre el transporte de K a los brotes (Xie *et al.*, 2021). La competencia de cationes se debe a la disponibilidad desequilibrada de nutrientes para las plantas (Gransee y Fühns, 2013).

En algunas especies, la presencia de REE puede promover efectos benéficos en la absorción y translocación de nutrientes como el N, aumentando así la producción de aminoácidos y proteínas, que actuarán en varias rutas metabólicas de la planta (Ramos *et al.*, 2016).

La deficiencia de magnesio afecta la absorción de nutrimentos y sus concentraciones en raíces, tallos y hojas. La evidencia muestra que la deficiencia de Mg puede mejorar las concentraciones de otros cationes como Ca, K y Mn (Ye *et al.*, 2019). Concentraciones bajas de La (0.05 a 0.75 mg L<sup>-1</sup>) aumentaron la absorción de Cu, Ca, P, Mn y Mg en granos de arroz (Xie *et al.*, 2002).

En este contexto, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del La en la concentración foliar de N, P, K de plántulas de tomate con dos estatus de nutrición con magnesio.

## PARTE EXPERIMENTAL

### *Material vegetal*

Se utilizaron plántulas de tomate var. El Cid, híbrido que presenta un hábito de crecimiento indeterminado.

### *Tratamientos y diseño experimental*

Se estableció un experimento factorial (3 × 2) bajo condiciones de invernadero en el Campus Montecillo del Colegio de Postgraduados. Se utilizó un sistema de raíz flotante. Se evaluaron los efectos principales y de interacción de tres niveles de La (0, 15 y 30 µM) y dos condiciones de Mg en la solución nutritiva [deficiente (1 mM) y suficiente (2 mM)], en la concentración foliar de N, P y K en plántulas de tomate. Los niveles de La y Mg fueron agregados a la solución nutritiva de Steiner (Steiner, 1984), que fue empleada como referencia, la cual se renovó cada 7 d; el pH de la misma se ajustó a 5.5 todos los días.

### *Determinación de macronutrimentos*

Después de 21 días, las hojas se llevaron al laboratorio, éstas fueron previamente secadas en una estufa de aire forzado (Riossa, modelo HCF-125; Guadalajara, México) a 72 °C por 72 h, una vez secas se introdujeron en un molino tipo Wiley de acero inoxidable.

La determinación de la concentración foliar de N se hizo con el método semi-micro Kjeldahl, en el extracto resultante de una digestión húmeda con C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>:H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Alcántar y Sandoval, 1999).

Para las determinaciones de las concentraciones foliares de P y K se utilizó material vegetal seco en el cual se hizo digestión húmeda con ácidos HNO<sub>3</sub>:HClO<sub>4</sub>. En el extracto obtenido, los macronutrimentos se leyeron en un espectrofotómetro de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP-AES 725-ES, Agilent, Santa Clara, CA, USA).

### *Análisis estadístico*

Con los resultados obtenidos, se realizó análisis de varianza y prueba de comparación de medias (Tukey, 0.05) con el software SAS (SAS, 2011).

## RESULTADOS

Los tratamientos con La no tuvieron influencia en la concentración foliar de N. Por el contrario, las dosis 15 y 30 µM La incrementaron significativamente la concentración foliar de P, con aumentos de 20.3 y 2.3% respectivamente, en comparación con el testigo. Por otra parte, la concentración 15 µM La aumentó ligeramente la concentración de K, pero no fue estadísticamente diferente al testigo; por el contrario, la concentración de K registrada con dosis de 30 µM La fue significativamente menor a la obtenida con la dosis 15 µM La (Cuadro 1). Lian *et al.* (2019) al evaluar aplicaciones foliares de LaCl<sub>3</sub>, registraron incrementos en la concentración de P en hojas, mejorando la absorción de P de raíces, brotes y hojas bajo deficiencia de este elemento. En brotes de maíz, el aumento de las concentraciones de La en la solución de 0 a 5 µM disminuyeron las concentraciones de N, P y K (Diatloff *et al.*, 2008).

Cuadro 1. Concentración foliar de nitrógeno, fósforo y potasio en tomate var. El Cid en función de dosis crecientes de lantano.

Nivel de La ( $\mu\text{M}$ )	Concentración ( $\text{g kg}^{-1}$ )		
	N	P	K
0	39.25 $\pm$ 1.29 a	4.69 $\pm$ 0.27 b	19.65 $\pm$ 1.87 ab
15	41.08 $\pm$ 0.59 a	5.64 $\pm$ 0.19 a	22.33 $\pm$ 0.98 a
30	40.26 $\pm$ 0.72 a	4.83 $\pm$ 0.19 a	19.53 $\pm$ 1.02 b

Medias  $\pm$  SD con la misma letra en cada columna indican que no hay diferencias significativas (Tukey, 0.05).

Los efectos del estatus de Mg se presentan en la Figura 1. Las concentraciones de P y K en hojas no fueron influenciadas por el estatus de Mg. La concentración de N fue significativamente menor bajo deficiencia por magnesio que con suficiencia de éste. En *Arabidopsis thaliana* se observó una disminución relativa en el contenido de P y K en hojas maduras después de dos días con deficiencia de Mg (Ogura *et al.*, 2020). Por otra parte, se ha observado que un aumento en la concentración de K reduce la absorción de Mg<sup>2+</sup> y está inhibición ocurre principalmente en las raíces de las plantas. Su interacción se produce no sólo durante la absorción en la raíz, sino probablemente también durante la translocación de raíz a brote, distribución y utilización (Xie *et al.*, 2021).

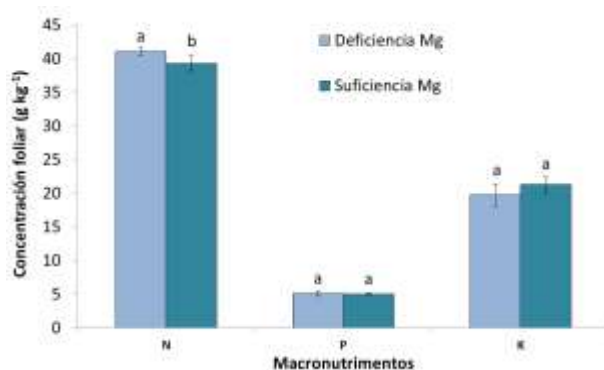


Figura 1. Concentración de macronutrientes en plántulas de tomate var. El Cid con dos estatus de nutrición con Mg.

Medias  $\pm$  DE con letras distintas en cada nutriente indican diferencias estadísticas (Tukey, 0.05).

La concentración de N en hojas de tomate no fue influenciada por los tratamientos resultado de la combinación de dosis de La y estatus de Mg. Por otra parte, cuando se analizan los efectos de interacción en las concentraciones foliares de P y K, destacan los efectos diferenciales del La, dependientes éstos del estatus de Mg. Con deficiencia de Mg, se observa que la dosis alta de La evaluada (30  $\mu\text{M}$ ) tiende a reducir la concentración foliar de P; mientras que, bajo deficiencia de Mg, la dosis 15  $\mu\text{M}$  incrementa de manera significativa la concentración de P en hoja. Por otra parte, se observa también que, bajo deficiencia de Mg, la adición de La es fundamental para incrementar la concentración de K; particularmente a dosis de 15  $\mu\text{M}$  (Cuadro 2).

Cuadro 2. Concentración nutrimental en las hojas de plántulas de tomate var. El Cid en función de la concentración de La en la solución nutritiva y el estatus de nutrición con Mg.

Nutrimento (g kg <sup>-1</sup> )	Suficiencia de Magnesio			Deficiencia de Magnesio		
	Lantano (µM)			Lantano (µM)		
	0	15	30	0	15	30
N	38.5 ± 1.8 a	40.5 ± 0.6 a	39.0 ± 0.17 a	40.0 ± 0.64 a	41.7 ± 0.4 a	41.6 ± 0.3 a
P	5.0 ± 0.1 bc	5.4 ± 0.2 ab	4.6 ± 0.07 bc	4.4 ± 0.31 c	5.9 ± 0.14 a	5.1 ± 0.2 abc
K	22.5 ± 0.8 a	22.4 ± 0.8 a	18.9 ± 1.0 ab	16.8 ± 1.38 b	22.3 ± 1.3 a	20.2 ± 1.1 ab

Medias ± SD con la misma letra en cada hilera indican que no hay diferencias significativas (Tukey, 0.05).

## CONCLUSIONES

Se concluye que el La influye de forma positiva en la concentración de los macronutrientes evaluados y el Mg de forma diferencial en plántulas de tomate. Es decir, el lantano aplicado en dosis de 15 µM influye de forma positiva las concentraciones foliares de N, P y K en plántulas de tomate bajo deficiencia de magnesio.

## BIBLIOGRAFÍA

1. A. Gransee, H. Führs, "Magnesium mobility in soils as a challenge for soil and plant analysis, magnesium fertilization and root uptake under adverse growth conditions", *Plant and Soil*, 368, 2013, pp. 5-21.
2. A. Steiner, "The Universal Nutrient Solution", Sixth International Congress on Soilless Culture, Wageningen, pp. 633-650.
3. A.H. Chaudhry, S. Nayab, S.B. Hussain, M. Ali, Z. Pan, "Current understandings on magnesium deficiency and future outlooks for sustainable agriculture", *Int. J. Mol. Sci.*, Vol. 22, 4, 1819, 2021, pp. 2-18.
4. C. Zhang, Q. Li, M. Zhang, N. Zhang, M. Li, "Effects of rare earth elements on growth and metabolism of medicinal plants", *Acta Pharm. Sin. B.*, Vol. 3, 1, 2013, pp. 20-24.
5. E. Diatloff, F.W. Smith, C.J. Asher, "Effects of lanthanum and cerium on the growth and mineral nutrition of corn and mungbean", *Ann. Bot.*, Vol. 101, 7, 2008, pp. 971-982.
6. G. Alcántar G., M. Sandoval V., "Manual de análisis químico de tejido vegetal. Guía de muestreo, preparación, análisis e interpretación. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo A. C.", 10, pp. 156.
7. G. Tyler, "Rare earth elements in soil and plant systems-A review", *Plant Soil*, Vol. 267, 2004, pp. 191-206.
8. H. Lian, C. Qin, C. Zhang, M. Yan, Li H., S. Zhang, "Foliar-applied lanthanum chloride increases growth and phosphorus acquisition in phosphorus-limited adzuki bean seedlings", *Plant Soil*, 442, 2019, 385-399.
9. K. Xie, I. Cakmak, S. Wang, F. Zhang, S. Guo, "Synergistic and antagonistic interactions between potassium and magnesium in higher plants", Vol. 9, 2, 2021, pp. 249-256.
10. M. Ramírez-Martínez, L.I. Trejo-Téllez, F.C. Gómez-Merino, A.M. Castillo-González, I. Hernández-Ríos, E. Hernández-Acosta, "Bioacumulación de potasio, calcio y lantano en tulipán tratado con lantano", *Terra Latinoam.*, Vol. 30, 3, 2012, pp. 229-238.
11. S.J. Ramos, G.S. Dinali, C. Oliveira, G.C. Martins, C.G. Moreira, J.O. Siqueira, L.R.G. Guilherme, "Rare earth elements in the soil environment", *Curr. Pollut. Rep.*, Vol. 2, 2016, pp. 28-50.
12. SAS Institute, "Statistical Analysis System version 9.3, User's Guide", Cary, NC. 2011.
13. T. Ogura, N.I. Kobayashi, C. Hermans, Y. Ichihashi, A. Shibata, K. Shirasu, N. Aoki, R. Sugita, T. Ogawa, H. Suzuki, R. Iwata, T.M. Nakanishi, K. Tanoi, "Short-Term Magnesium deficiency triggers nutrient retranslocation in *Arabidopsis thaliana*". *Front. Plant Sci.*, Vol. 11, 563, 2020, pp. 1-13.
14. W. Guo, H. Nazinf, Z. Liang, D. Yang, "Magnesium deficiency in plants: An urgent problem", *Crop J.*, Vol. 4, 2, 2016, pp.83-91.

15. X. Ye, X.-F. Chen, C.-L. Deng, L.-T. Yang, N.-W. Lai, J.-X. Guo, L.-S. Chen, "Magnesium-deficiency effects on pigments, photosynthesis and photosynthetic electron transport of leaves, and nutrients of leaf blades and veins in *Citrus sinensis* seedlings", *Plants*, Vol. 8, 10, 2019, 389, pp. 1-20.
16. Z. Wang, M.U.L. Hassan, F. Nadeem, L. Wu, F. Zhang, X. Li, "Magnesium fertilization improves crop yield in most production systems: a meta-analysis", *Front. Plant Sci.*, 10, 1727, 2020, pp. 1-10.
17. Z.B. Xie, J.G. Zhu, H.Y. Chu, Y.L. Zhang, Q. Zeng, H.L. Ma, "Effect of lanthanum on rice production, nutrient uptake, and distribution", *J. Plant Nutr.*, Vol. 25, 10, 2002, pp. 2315-2331.

## LANTANO EN EL CRECIMIENTO DE DOS VARIEDADES DE LISIANTHUS

María de la Luz Buendía Valverde, Nadia Issaí Torres Flores, Fernando Carlos Gómez Merino y Libia Iris Trejo Téllez

Colegio de Postgraduados  
buendia.luz@colpos.mx

### RESUMEN

Durante el crecimiento del cultivo de lisianthus en las dos variedades (Mariachi Blue y Echo Lavanda), se aplicaron ocho tratamientos producto de la combinación de dos fuentes de La [ $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{LaCl}_3$ ] y cuatro concentraciones (0, 10, 20 y 30  $\mu\text{M}$ ). Los tratamientos se adicionaron a través de la solución nutritiva Steiner al 50%, iniciando la aplicación a los 15 días después del trasplante de la plántula, realizando tres riegos semanales de 200 mL por unidad experimental. La unidad experimental fue una plántula, en una bolsa de polietileno negro de 30 x 30 cm con una mezcla de tezontle (tamaño de partícula entre 5 y 8 mm) + Agrolita® (70/30, v/v) como sustrato. El diseño experimental fue un factorial 2 x 4 con cinco repeticiones por tratamiento. La evaluación de la altura de planta se realizó en tres fases (vegetativa, reproductiva y de senescencia); el grosor de tallos se midió en posición basal, media y apical cuando se tuvo plena floración. El factor concentración de La solo tuvo efecto en la altura de planta de Mariachi Blue en la fase reproductiva, observándose que dosis de 20  $\mu\text{M}$  la incrementan en 11.7%. Así, en Mariachi Blue, el tratamiento 20  $\mu\text{M}$   $\text{LaCl}_3$  incrementó la altura en 14.4%, respecto al testigo. En Echo Lavanda, la altura de planta se incrementó significativamente en la fase vegetativa con todas las concentraciones de La, respecto al testigo; mientras que, en la reproductiva y en la de senescencia, 20 y 10  $\mu\text{M}$  La aumentaron en 10 y 8% la altura de planta. Con respecto al factor fuente de La, se observó que, durante la fase vegetativa, la altura se incrementó en plantas de Echo Lavanda tratadas con  $\text{LaCl}_3$ . En la variable diámetro de tallo, solo existieron diferencias del factor fuente de La, éstas en la variedad Mariachi Blue, donde se observó que los diámetros medio y apical del tallo se incrementaron en plantas tratadas con  $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . Los resultados permiten concluir que el La, suministrado principalmente como  $\text{LaCl}_3$  incrementa la altura de planta en las dos variedades evaluadas, y la fuente de  $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  favorece el diámetro de tallo, especialmente en Mariachi Blue.

### INTRODUCCIÓN

El lisianthus (*Eustoma grandiflorum*), es una planta originaria de las praderas húmedas de la zona meridional de los Estados Unidos y norte de México; cuyas flores muestran una demanda en crecimiento en el mercado, al ser agradables a los consumidores a nivel mundial (Kiamohammadi, 2011).

Por otro lado, existe un grupo de los elementos químicos denominados benéficos para plantas superiores, que de forma directa o indirecta benefician la nutrición de éstas; entre los elementos benéficos se encuentra el lantano (La), silicio (Si), cobalto (Co), sodio (Na), selenio (Se), titanio (Ti) y vanadio (V) (Rodríguez y Floréz, 2015).

En el contexto anterior, este trabajo plantea como objetivo la evaluación de los efectos que el La tiene en la calidad de tallos de lisianthus de dos variedades (Mariachi Blue y Echo Lavanda), cuando se suministra durante el ciclo productivo.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Las plántulas utilizadas para esta investigación fueron compradas en la empresa Plántulas de Tétela, ubicada en Cuernavaca, Morelos. El desarrollo de la investigación fue bajo condiciones de invernadero. El sustrato utilizado fue una mezcla de tezontle de 5 a 8 mm + Agrolita® (70/30, v/v), el cual fue colocado en bolsas de polietileno negro de 30 x 30 cm, donde se trasplantó una plántula por bolsa. Cada bolsa fue considerada como una unidad experimental. Se evaluaron ocho tratamientos, resultado de la combinación de cuatro concentraciones de La (0, 10, 20 y 30  $\mu\text{M}$ ) y de dos fuentes de La [ $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{LaCl}_3$ ], mismos que fueron suministrados durante el desarrollo del cultivo. Las concentraciones de La con la fuente correspondiente fueron suministradas en la solución nutritiva de Steiner al 50% (Steiner, 1984). El diseño experimental utilizado fue factorial por cada



variedad 2 x 4 con cinco repeticiones por tratamiento. La aplicación de los tratamientos se inició 15 días después del trasplante, aplicando 200 mL por bolsa tres veces por semana.

El registro de la altura de planta (**Figura 1**) se realizó en tres fases del cultivo (vegetativa, reproductiva y de senescencia); mientras que, los datos de diámetro de tallo en tres posiciones, apical, medio y basal se tomaron al momento de plena floración.

Con los resultados obtenidos se realizó un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias (LSD,  $P \leq 0.05$  %) empleando el software Statistical Analysis System (SAS, 2002).



Figura 1. Material vegetal utilizado en esta investigación. A) Plantas de lisianthus Mariachi Blue. B) Plantas de lisianthus Echo Lavanda.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la variedad Mariachi Blue (**Cuadro 1**) el mejor tratamiento durante la fase vegetativa fue  $30 \mu\text{M}$   $\text{LaCl}_3$ , con un incremento del 24.1% en la altura, respecto al testigo. En la fase reproductiva el tratamiento  $20 \mu\text{M}$   $\text{LaCl}_3$  aumentó en 14.4% la altura y en la fase de senescencia los tratamientos de  $30 \mu\text{M}$   $\text{LaCl}_3$  y  $20 \mu\text{M}$   $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  incrementaron la altura en un 4.5 y 3.8%, respectivamente. El factor concentración de La solo tuvo efecto en la altura de planta de Mariachi Blue en la fase reproductiva, observándose que la dosis de  $20 \mu\text{M}$  incrementa en 11.7%. La fuente de La no tuvo efectos significativos en la altura de planta de ambas variedades.

Cuadro 1. Efecto del La en la altura de plantas de lisanthus variedad Mariachi Blue, en tres fases fenológicas.

Variedad	Mariachi Blue					
Fase fenológica	Vegetativa		Reproductiva		Senescencia	
Tratamiento	cm					
Testigo	5.4	ab	47.2	b	44.8	ab
LaCl <sub>3</sub> (10 μM)	5.4	ab	48.5	b	45.0	ab
LaCl <sub>3</sub> (20 μM)	6.0	ab	54.0	a	44.4	ab
LaCl <sub>3</sub> (30 μM)	6.7	a	50.4	ab	46.8	a
La(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> 6H <sub>2</sub> O (10 μM)	5.8	ab	50.0	ab	44.3	ab
La(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> 6H <sub>2</sub> O (20 μM)	4.7	b	51.4	ab	46.5	a
La(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> 6H <sub>2</sub> O (30 μM)	5.9	ab	50.2	ab	41.2	b
La, μM						
0	5.4	a	47.2	b	44.8	a
10	5.6	a	49.2	ab	44.6	a
20	5.4	a	52.7	a	45.5	a
30	6.3	a	50.3	ab	43.9	a
Fuente de La	cm					
LaCl <sub>3</sub>	5.9	a	50.0	a	45.2	a
La(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> 6H <sub>2</sub> O	5.4	a	49.7	a	44.2	a

Medias con letras distintas en cada columna por factor de estudio, son diferentes estadísticamente (LSD,  $P \leq 0.05$ ).

En la variedad Echo Lavanda, la altura de planta se incrementó significativamente en un 50.6 y 54.6% en la fase vegetativa con las dosis de 20 y 30 μM LaCl<sub>3</sub>. En la fase reproductiva el tratamiento de 20 μM La(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 6H<sub>2</sub>O aumentó la altura en 12.6%. En la fase de senescencia, el tratamiento 10 μM LaCl<sub>3</sub> aumentó la altura de planta en 10.2%. Con respecto al factor concentración de La, se observó que, durante la fase vegetativa, la altura se incrementó en plantas de Echo Lavanda en las tres concentraciones de La evaluadas. En la fase reproductiva y en la de senescencia, 20 y 10 μM La aumentaron en 10 y 8% la altura de planta, en comparación con el testigo. Respecto a la fuente aplicada, únicamente en la fase vegetativa hubo diferencias significativas, siendo mejor LaCl<sub>3</sub> (**Cuadro 2**).

Cuadro 2. Efecto del La en la altura de plantas de lisianthus variedad Echo Lavanda, en tres fases fenológicas.

Variedad	Echo Lavanda					
Fase fenológica	Vegetativa		Reproductiva		Senescencia	
Tratamiento	cm					
Testigo	7.5	c	49.0	b	49.0	bc
LaCl <sub>3</sub> (10 μM)	10.5	ab	49.4	b	54.0	a
LaCl <sub>3</sub> (20 μM)	11.3	a	52.6	ab	52.3	ab
LaCl <sub>3</sub> (30 μM)	11.6	a	52.7	ab	47.0	c
La(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> 6H <sub>2</sub> O (10 μM)	10.5	ab	49.3	b	51.8	ab
La(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> 6H <sub>2</sub> O (20 μM)	9.7	abc	55.2	a	51.5	abc
La(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> 6H <sub>2</sub> O (30 μM)	8.4	bc	51.2	ab	49.7	abc
La, μM						
0	7.5	b	49.0	b	49.0	bc
10	10.5	a	49.4	b	52.9	a
20	10.5	a	53.9	a	51.9	ab
30	10.0	a	51.9	ab	48.4	c
Fuente de La						
LaCl <sub>3</sub>	10.2	a	50.9	a	50.6	a
La(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> 6H <sub>2</sub> O	9.0	b	51.2	a	59.5	a

Medias con letras distintas en cada columna por factor de estudio, son diferentes estadísticamente (LSD,  $P \leq 0.05$ ).

En la variable diámetro de tallo, solo existieron diferencias respecto al testigo, en el tratamiento 20 μM La(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 6H<sub>2</sub>O en el diámetro medio y apical con incrementos de 10.5 y 67.7%, respecto al testigo (**Cuadro 3**).

El factor concentración de La, no influyó en los diámetros de tallo medidos en ambas variedades (**Cuadro 3**).

Respecto a la fuente evaluada se observó que los diámetros medio y basal del tallo se incrementaron en plantas tratadas con La(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 6H<sub>2</sub>O. En la variedad Echo Lavanda no hubo diferencias estadísticas significativas en el diámetro de tallo ocasionadas por los tratamientos, concentraciones y fuentes (**Cuadro 3**).

Cuadro 3. Efecto del La en el diámetro de tallo en tres posiciones (basal, medio y apical), de plantas de lisianthus variedades Mariachi Blue y Echo Lavanda, en plena floración.

Variedades	Mariachi Blue						Echo Lavanda					
	Fase fenológica	Diámetro basal	Diámetro medio	Diámetro apical	Diámetro basal	Diámetro medio	Diámetro apical	Diámetro basal	Diámetro medio	Diámetro apical		
cm												
Testigo	0.678	a	0.554	abc	0.365	b	0.761	a	0.591	a	0.415	a
LaCl <sub>3</sub> (10 µM)	0.663	a	0.557	abc	0.342	b	0.811	a	0.585	a	0.425	a
LaCl <sub>3</sub> (20 µM)	0.663	a	0.515	c	0.354	b	0.826	a	0.605	a	0.423	a
LaCl <sub>3</sub> (30 µM)	0.740	a	0.522	bc	0.372	b	0.827	a	0.667	a	0.427	a
La(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> 6H <sub>2</sub> O (10 µM)	0.731	a	0.567	abc	0.349	b	0.805	a	0.603	a	0.387	a
La(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> 6H <sub>2</sub> O (20 µM)	0.699	a	0.612	a	0.612	a	0.811	a	0.661	a	0.422	a
La(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> 6H <sub>2</sub> O (30 µM)	0.732	a	0.606	ab	0.335	b	0.801	a	0.627	a	0.403	a
La (µM)												
0	0.678	a	0.553	a	0.364	a	0.761	a	0.591	a	0.414	a
10	0.697	a	0.562	a	0.345	a	0.807	a	0.594	a	0.405	a
20	0.680	a	0.563	a	0.483	a	0.818	a	0.633	a	0.422	a
30	0.736	a	0.563	a	0.353	a	0.813	a	0.646	a	0.415	a
Fuente de La												
LaCl <sub>3</sub>	0.686	a	0.536	b	0.358	b	0.805	a	0.612	a	0.422	a
La(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> 6H <sub>2</sub> O	0.710	a	0.584	a	0.415	a	0.794	a	0.620	a	0.406	a

Medias con letras distintas en cada columna por factor de estudio, son diferentes estadísticamente (LSD,  $P \leq 0.05$ ).

### CONCLUSIÓN

Los resultados permiten concluir que el tratamiento con lantano durante el ciclo productivo de lisianthus, tiene efectos bioestimulantes, reflejados éstos en variables de crecimiento. Cuando el La es suministrado como LaCl<sub>3</sub> incrementa la altura de planta en las dos variedades evaluadas, cuando la fuente es La(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 6H<sub>2</sub>O favorece el diámetro de tallo, especialmente en Mariachi Blue.

### BIBLIOGRAFÍA

1. A. Steiner, "The universal nutrient solution", in: ISOSC Proceedings 6th International Congress on Soilless Culture. The Netherlands. 1984. pp. 633-649.
2. M. Kiamohammadi, 2011. "The effects of different floral preservative solutions on vase life of lisianthus cut flowers". J. Ornamental Hortic. Plants 1: 115-122.
3. M. Rodríguez S., V. Floréz R, "Elementos esenciales y beneficiosos", Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 2015.
4. SAS. 2002. SAS High-Performance Forecasting 2.2: User's Guide. (Vol. 1 & 2). Cary, NC: SAS Institute Inc. Ver. 9). 652 p.

## EXPLORANDO EL POTENCIAL DE LOS AROMAS PARA LA DETECCIÓN TEMPRANA DE ENFERMEDADES EN PLANTAS

Nancy Edith Lozoya Pérez<sup>1</sup>, Daniela Soto González<sup>2</sup>, Varinia López Ramírez<sup>3</sup>, Juan Vázquez Martínez<sup>3</sup>, Domancar Orona-Tamayo<sup>1</sup> y Elizabeth Quintana Rodríguez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Soluciones Tecnológicas e Investigación, CIATEC A.C. <sup>2</sup>Departamento de ingenierías, Universidad Iberoamericana de León, <sup>3</sup>Instituto Tecnológico Superior de Irapuato. [equintana@ciatec.mx](mailto:equintana@ciatec.mx)

### RESUMEN

Con el crecimiento de la población, ha aumentado la actividad agrícola y con esto las estrategias para mejorar rendimientos y calidad de las cosechas. Sin embargo, las enfermedades ocasionadas por microorganismos siguen causando problemas en la productividad de las cosechas. Un ejemplo de esto, lo encontramos en el tomate donde la enfermedad conocida por cáncer bacteriano causada por la bacteria *Clavibacter michiganensis* generan disminuciones en las cosechas de hasta un 90% que conllevan pérdidas económicas para los agricultores. Hasta el momento, la observación de síntomas en las plantas de tomate es la estrategia más empleada para diagnosticar y tratar la enfermedad, lo cual no resulta apropiado ya que los síntomas suelen ser similares a los provocados por otras afecciones. Aunado a lo anterior, la aparición de síntomas ocurre hasta 30 y 40 días después de la infección lo que permite que el patógeno se multiplique, se dificulte su control y por tanto las afectaciones sean mayores. En este contexto, el manejo de la enfermedad requiere un diagnóstico seguro y oportuno; por tanto, es fundamental recurrir a métodos de detección efectivos, tempranos y que puedan implementarse previamente a la aparición de los síntomas de la enfermedad. Constitutivamente, las plantas liberan aromas y en respuesta a enfermedades cambian el perfil de aromas emitidos. En el presente trabajo se analizaron los cambios en los aromas emitidos por plantas de tomate infectados con la bacteria *C. michiganensis* a las 3, 6 y 24 horas para identificar los compuestos diferenciales que pudiesen funcionar como un marcador temprano de la enfermedad, se tuvieron como control los aromas emitidos por plantas sanas. A su vez se empleó un marcador molecular para contrastar los resultados utilizando oligonucleótidos específicos para la detección de la bacteria. Encontramos que a las tres horas posteriores a la infección se emiten compuestos diferenciales entre estos el aroma terpineno y que este aumenta a las 24 horas. Por otro lado, no fue posible la detección de la bacteria mediante el uso de marcadores moleculares a las 3,6 y 24 horas post infección. Se concluye que los aromas pueden ser un excelente marcador temprano de enfermedades en plantas.

### INTRODUCCIÓN

El tomate es uno de los cultivos agrícolas más importantes en México, la producción nacional de tomates se ha incrementado durante los últimos años debido a la exportación que se hace principalmente a Estados Unidos (1). Sin embargo, diversos factores afectan la producción de este cultivo entre estos las enfermedades. El cáncer bacteriano de tomate, causado por la bacteria *Clavibacter michiganensis* (Cm) es considerada una de las enfermedades más devastadoras para el cultivo de tomate pudiendo llegar a la pérdida total del cultivo (2). En México, la enfermedad se encuentra distribuida básicamente en todos los estados productores de tomate. Afecta tanto al tomate de trasplante (plántulas) como al de siembra directa, de invernadero y a cielo abierto, ocasionando necrosis, marchitez, achaparramiento, roturas de tallo, decoloración de tejidos vasculares, amarillamiento y manchas pequeñas color café con halo blanco, en los frutos (3). Plantas infectadas con Cm muestran varios síntomas que son dependientes de la edad de la planta, del cultivar y de la virulencia de la bacteria. Además, factores físicos como humedad y temperatura favorecen el desarrollo de la enfermedad. Cuando las plantas son infectadas en las etapas tempranas de desarrollo, presentan infecciones sistémicas que afectan la calidad del fruto y los rendimientos conduciendo a la muerte de la planta. En contraste, cuando plantas viejas son infectadas desarrollan una infección secundaria que causa clorosis en las hojas, pero afecta la calidad y rendimiento del cultivo.

Durante la infección sistémica, las plantas parecen asintomáticas y muestran los síntomas hasta después de 6-8 semanas. Cm invade y prolifera en xilema lo cual interfiere con el transporte de agua lo que conduce a la marchitez (4).

Los métodos de detección incluyen la revisión de síntomas por parte de los agricultores, detección por técnicas moleculares como lo es la ampliación de oligonucleótidos específicos de la bacteria. Sin embargo, esta última detección solo se logra después de varios días de infección con la bacteria. La detección temprana de las plantas aún asintomáticas puede prevenir la diseminación de la enfermedad y así reducir las pérdidas económicas del cultivo.

## TEORÍA

Los aromas de las plantas cumplen múltiples funciones entre ellas sirven como señales químicas para las plantas vecinas u otros organismos (5). Los aromas que las plantas emiten pueden cambiar diferencialmente por efecto de una invasión por herbívoros o por infecciones. Plantas infectadas liberan mezclas de aromas que difieren de las plantas sanas, por lo que los que estos compuestos pueden ser usados para detectar enfermedades (6). En respuesta a hongos fitopatógenos, plantas de cacahuete y sauces emitieron aromas diferenciales en comparación a las plantas sanas (7,8,9). Mientras que, plantas infectadas con bacterias también mostraron cambios en su perfil de aromas en comparación con plantas sanas. Manzanos mostraron una emisión de aromas alterada por efecto de la bacteria *Erwinia amylovora* (10). Asimismo, vides inoculadas con la bacteria tumorigénica *Agrobacterium vitis* mostraron también cambios en sus perfiles de aromas (11).

El Diagnóstico de enfermedades en plantas se basa convencionalmente en biomarcadores como los ácidos nucleicos de patógenos. Sin embargo, estos ensayos son laboriosos, inaccesibles en el campo y generalmente detectan las infecciones solo días después del desarrollo de síntomas. Por lo que es esencial el desarrollo de nuevos métodos de identificación temprana que prevengan la propagación de enfermedades. Los aromas de plantas se postulan como un biomarcador temprano para la detección de enfermedades. El principal objetivo de este trabajo fue encontrar aromas emitidos por plantas de tomate en las primeras horas de la infección con la bacteria Cm y contrastarlo con el uso de marcadores moleculares.

## PARTE EXPERIMENTAL

Plántulas de tomate de dos semanas fueron sembradas en macetas de 5 L y puestas en un invernadero dentro de las instalaciones de CIATEC. La bacteria *C. michiganensis* fue proporcionada amablemente por el Dr. Jhon Delano de CINESTAV unidad Irapuato y fue mantenida en agar nutritivo.

Previamente, se obtuvo la cinética de crecimiento de la bacteria. Cultivos en medio líquido se mantuvieron en agitación a una temperatura de 28°C. Se tomaron muestras cada hora para medir su absorbancia en un espectro de luz UV a una longitud de onda de 600nm.

Una vez determinada la densidad óptica en la cual la bacteria se encontraba en su fase exponencial de crecimiento, a esta absorbancia se prepararon soluciones para su inoculación en las plantas de tomate de 4 semanas de edad. Las plantas fueron asperjadas con esta solución bacteriana.

Para la colecta de aromas se utilizó en el sistema de microextracción en fase sólida (SPME, por sus siglas en inglés). Las plantas fueron colocadas en bolsas (Bratenschlauch': Toppits, www.toppits.de) que no emiten aromas y dentro se insertaron las fibras. Fibras (2 cm, carboxen/Polidivinilsiloxano/carbowax; Supelco, Bellefonte, PA, USA) fueron expuestas por periodos de 3, 6 y 24 horas a los aromas provenientes de plantas inoculadas con Cm. Como control, se utilizaron plantas sin inocular. Las fibras fueron desorbidas por 30 s directamente en el puerto de inyección de un cromatógrafo de gases a una temperatura de 180 °C. Los aromas se analizaron mediante cromatografía de gases acoplado a masas (Agilent 7890 cromatógrafo de gases en interfase con detector de ionización electrónica masa-selectivo de triple eje Agilent 5975; Agilent Technologies, Santa Clara CA, USA). El programa de temperatura usado para el análisis fue el siguientes: temperatura inicial de 60°C, la cual se incrementó a 80 °C a 210°C a 8 °C min<sup>-1</sup> y se mantuvo a 210 °C por 5 min. Los compuestos fueron identificados usando la biblioteca de espectros de masas National Institute of Standards and Technology (NIST).

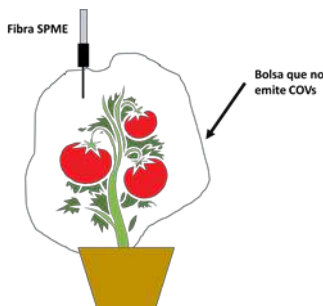


Figura 1. Sistema de colecta de aromas en plantas de tomate.

Se obtuvo material de plantas a las 3,6,24, 48 horas y 7 días post- infección y se realizó la extracción de DNA genómico. El tejido vegetal se trituró con la ayuda de un mortero y posteriormente se resuspendió en 500  $\mu\text{L}$  del regulador de lisis (SDS, 1%; EDTA, 50 mM, Tris pH 8.0, 100 mM). Se rompieron las células mecánicamente usando perlas de vidrio y agitando las muestras en vórtex durante 3 min. Se añadieron 275  $\mu\text{L}$  de acetato de amonio 7 M y se incubaron las muestras a 65°C por 5 min y en baño de hielo por otros 5 min. Se adicionaron 500  $\mu\text{L}$  de mezcla cloroformo: alcohol isoamílico (24:1), se realizó la extracción agitando por inversión y centrifugando durante 10 min a 9485 x g. Se recuperó la fase acuosa, se adicionó un volumen de isopropanol y se incubó a -20°C durante 10 min. El DNA se recuperó por centrifugación a 9485 x g por 10 min, se retiró el sobrenadante y se lavó la pastilla dos veces con etanol al 70%. Una vez se hubo secado, el DNA se resuspendió en 100  $\mu\text{L}$  de agua con RNAsa (10  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ).

El DNA genómico obtenido fue cuantificado por espectrofotometría utilizando un UV-Vis Spectrophotometer Q5000 (Quawell). Se utilizaron 2  $\mu\text{L}$  de muestra para realizar la medición utilizando agua-DEPC como blanco.

Se diseñaron oligonucleótidos en base a las secuencias reportadas para los genes de patogenicidad (*patI*) y ARN polimerasa subunidad  $\beta$  (*rpoB*) de *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*: *patI*dir (ATATGTCGTTACCGCGAAGC)/*patI*rev(CGTCGCATATTACACCGATGAT) con un tamaño esperado de amplificación de 450 pb; *rpoB*dir (CCGTTTCATCTTCGTCTCGTT)/*rpoB* rev (CCTACTCCGCTCCCCTCTAC) con un tamaño de amplificación esperado de 662 pb.

Para realizar la reacción en cadena de la polimerasa se requirió de : 100 ng  $\mu\text{L}^{-1}$  a 200 ng  $\mu\text{L}^{-1}$  del DNA aislado, 15  $\mu\text{g mL}^{-1}$  de los oligonucleótidos específicos (reverso y directo), 2.5  $\mu\text{L}$  de amortiguador 10X DreamTaq ( MgCl<sub>2</sub> 20mM), 0.5  $\mu\text{L}$  de deoxinucleótidos trifosfatos (dNTPs) 2.5 mM, y 0.2  $\mu\text{L}$  de la enzima (DreamTaq 5U  $\mu\text{L}^{-1}$ ), la reacción se llevó a un volumen final de 25 $\mu\text{L}$  con agua libre de DNasa y RNasa. Las condiciones de amplificación fueron: temperatura de alineamiento 55 °C, y 30 segundos de extensión, durante 30 ciclos.

Los productos de PCR fueron observados mediante electroforesis horizontal, cargando una alícuota en un gel de agarosa. Cada muestra contenía el ácido nucleico y amortiguador de carga 6X (ésta se preparó con 0.25% p/v de orange G y 30% de glicerol estéril en agua desionizada estéril) en proporción (3:1) v/v. La concentración de agarosa del gel varió (0.8% a 1%) en función del tamaño del ácido nucleico. Para la detección de éste se empleó bromuro de etidio a una concentración de 20 ng  $\mu\text{L}^{-1}$ , el cual se polimerizó junto con la agarosa. Como amortiguador de la disolución de la agarosa y de corrida de la electroforesis se empleó TAE 1X y como marcadores de peso molecular se emplearon marcadores lineales de 1Kb (Thermo Scientific). Los geles fueron analizados en el foto-documentador Gel Logic 112.

## RESULTADOS

En la figura 2, se observa la colocación de las plantas en las bolsas y como queda la fibra SPME en el espacio de cabeza para colectar los aromas.



Figura 2. Colecta de aromas en plantas de tomate.

Encontramos un cambio drástico en el perfil de aromas de las plantas de tomate infectadas desde las 3 horas post inoculación con la bacteria *C. michiganensis* comparado con las plantas sanas control. También se observó que algunos compuestos se emiten con mayor intensidad en las plantas infectadas; tal como,  $\beta$ -cariofileno y limoneno. También se encontraron compuestos exclusivos para las plantas infectadas en los tres tiempos de muestreo (3,6 y 24 h) los cuales fueron: ocimeno, terpineno,  $\delta$  y  $\beta$  elemeno y cimol (Tabla 1).

Tal como en otros estudios, los aromas pueden servir de marcadores de enfermedades. Tal es el caso, de plantas de papá infectadas con *Phytophthora infestans* en las cuales mediante aromas se detectó la presencia de este patógeno antes del desarrollo de la enfermedad (12). Mientras que en árboles de manzana fue posible distinguir entre dos bacterias fitopatógenas solo por el perfil de aromas que emiten las plantas asintomáticas y en condiciones reales (13).

Tabla 1. Aromas emitidos en plantas de tomate infectadas con *C. michiganensis*

TR	Compuesto	Ctrl	3 h	6 h	24 h
16.045	Ocimeno				
16.48	Terpineno				
16.924	Cimol				
17.205	Limoneno				
23.813	$\delta$ -elemeno				
24.444	Copaeno				
24.578	$\beta$ -elemene				
25.058	Cariofileno				
25.274	(-)-Aristoleno				

tiempos de retención, n=3

Para la detección de la bacteria en las plántulas infectadas una vez que se obtuvo el DNAg genómico, se buscó la amplificación de dos marcadores *patI* y *rpoB*. Como control positivo de amplificación se utilizó DNA genómico de *C. michiganensis* y para comprobar que los oligonucleótidos no estuvieran generando dímeros se utilizaron por separado en la reacción de amplificación. No fue posible la detección de la bacteria mediante estos marcadores moleculares en los tiempos seleccionados, incluso a los 7 días posteriores no fue posible la identificación (Figura 2).



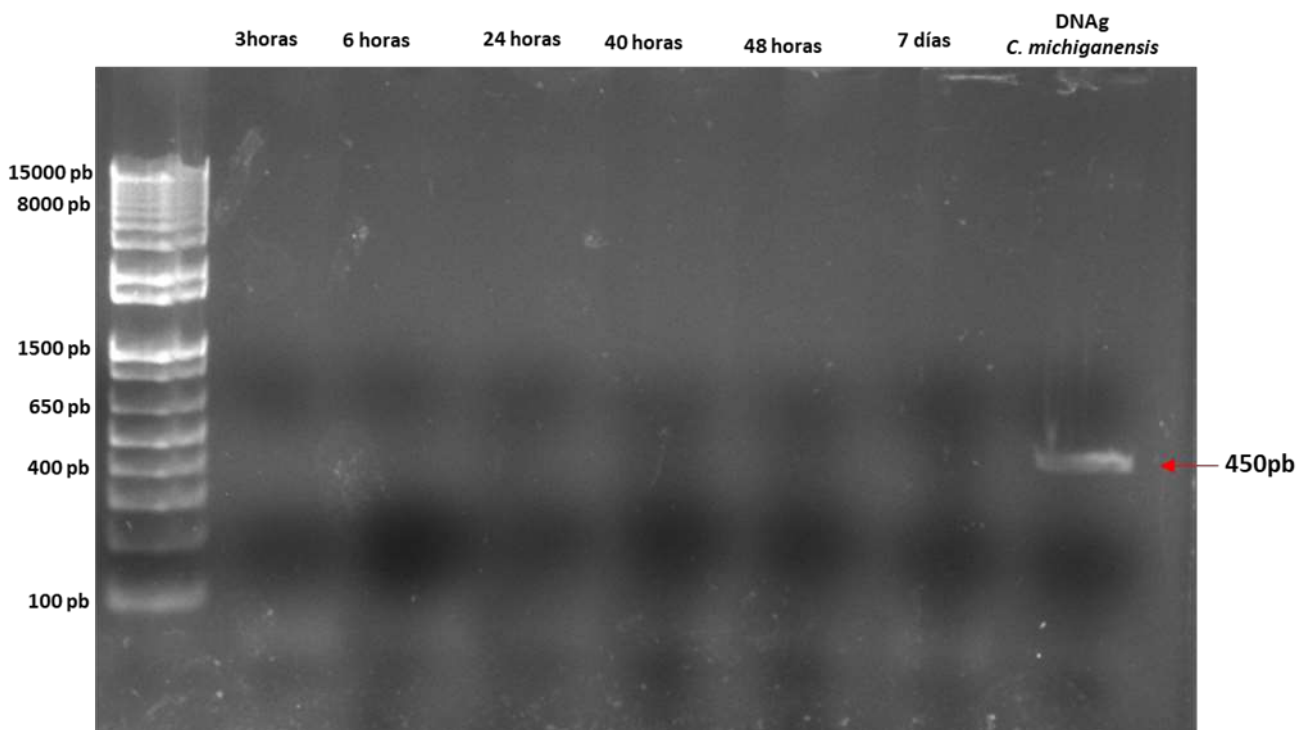


Figura 2. Amplificación de sonda molecular *patI* para la detección de la bacteria *C. michiganensis*. Se analizaron plántulas de tomate post-infección a diferentes tiempos. Como control se utilizó el DNA de *C. michiganensis*.

Como se mencionó anteriormente el diagnóstico molecular suele ser laborioso e inaccesible en campo. Otra característica que se ha descrito es la utilización de concentraciones altas del patógeno en estudios “in vitro” (14) y generalmente el tiempo para estudios post-infección es más largo (hasta 21 días) en comparación con los tiempos en los que pueden ser detectados los COVs.

## CONCLUSIONES

Los aromas de plantas presentan un enorme potencial para su uso como marcadores tempranos de infección en plantas. En este trabajo encontramos, que mediante la detección de aromas podemos detectar la enfermedad a las tres horas post-infección. Contrariamente, los marcadores moleculares no fueron capaces de detectar la enfermedad en tiempos tempranos. Los aromas terpineno, cimol y ocimeno se proponen como marcadores bioquímicos tempranos para la detección de la enfermedad del cáncer de tomate.

## BIBLIOGRAFÍA

1. CEDRSSA “Reporte. La producción y el comercio del tomate en México”, 2018 pp 2-3.
2. M. Nandi, J. Macdonald, P. Liu, B. Weselowski, Z. Yuan, “Clavibacter michiganensis ssp. michiganensis: bacterial canker of tomato, molecular interactions and disease management” Molecular plant pathology, Vol. 19,8, 2010, pp. 2036-2050.
3. P. Peritore-Galve, C. Miller, C. Smart, “Characterizing colonization patterns of Clavibacter michiganensis during infection of tolerant wild Solanum species” Phytop. Vol. 110,3, 2020, pp. 574-581.
4. G. Cordon, C. Andrade, L. Barbara, A. M. Romero, “Early detection of tomato bacterial canker by reflectance indices” Information Processing in Agriculture, 2021
5. M. Heil, R. Karban, “Explaining evolution of plant communication by airborne signals”, Trends in ecology & evolution, Vol. 25,3,2010, pp. 137-144.

6. D. Tholl, O. Hossain, A. Weinhold, U. Röse, Q. Wei, "Trends and applications in plant volatile sampling and analysis" *The Plant Journal*, Vol.106,2, 2021, pp.314-325.
7. J. Cardoza, H. T. Alborn, J. H. Tumlinson, "In vivo volatile emissions from peanut plants induced by simultaneous fungal infection and insect damage" *J. Chem. Ecol.* Vol.28, 2002, pp. 161–74.
8. W. Lutz, K. Samir, "Dimensions of global population projections: What do we know about future population trends and structures?" *Philos. Trans. R. Soc. London, Ser.* Vol.365, 2010, pp. 2779–91.
9. M. Toome, P. Randjary, L. Copolovici, U. Niinemets, K. Heinsoo, "Leaf rust induced volatile organic compounds signalling in willow during the infection" *Planta* Vol.232, 2010, pp.235–43.
10. F. Spinelli, M. Noferini, J. Vanneste, G. Costa, "Potential of the electronic-nose for the diagnosis of bacterial and fungal diseases in fruit trees" *EPPO Bull.* Vol.40, 2010, pp. 9–67.
11. S. Blasioli, E. Biondi, I. Braschi, U. Mazzucchi, C. Bazzi, C. E. Gessa, "Electronic nose as an innovative tool for the diagnosis of grapevine crown gall" *Anal. Chim. Acta* Vol. 672, 2010, pp.20–24.
12. J. Laothawornkitkul, R. Jansen, H. Smid, H. Bouwmeester, J. Muller, A. Van Bruggen, "Volatile organic compounds as a diagnostic marker of late blight infected potato plants: A pilot study" *Crop protection*, Vol:29,8, 2010, pp. 872-878.
13. A. Cellini, E. Biondi, S. Blasioli, L. Rocchi, B. Farneti, I. Braschi, F. Spinelli, "Early detection of bacterial diseases in apple plants by analysis of volatile organic compounds profiles and use of electronic nose" *Annals of applied biology* Vol. 168,3, 2016 pp.409-420.
14. M. A. Jacques, K. Durand, G. Orgeur, S. Balidas, C. Fricot, S. Bonneau, A. Quillévéré, C. Audusseau, V. Olivier, V. Grimault, R. Mathis "Phylogenetic analysis and polyphasic characterization of *Clavibacter michiganensis* strains isolated from tomato seeds reveal that nonpathogenic strains are distinct from *C. michiganensis* subsp. *michiga*" *Appl Environ Microbiol* Vol. 78,23, 2012, pp.388-402.

## MANEJO REPRODUCTIVO DEL PEZ ARCOÍRIS ENANO (*MELANOTAENIA MACCULLOCHI*) COMO MODELO PARA ESTUDIOS DE DESARROLLO EMBRIONARIO.

Vanesa Yeraldin Hernández Tapia<sup>1</sup>, José Roberto Vazquez Avendaño<sup>2</sup>, Demetrio Alonso Ambríz García<sup>3</sup>, María del Carmen Navarro Maldonado<sup>3</sup>, Román Espinosa Cervantes<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Licenciatura en Biología, <sup>2</sup>Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud, División de Ciencias Biológicas y de la Salud UAM-Iztapalapa, <sup>3</sup>Departamento de Biología de la Reproducción, División de Ciencias Biológicas y de la Salud UAM-Iztapalapa. <sup>4</sup>Departamento de Producción Agrícola y Animal, División de Ciencias Biológicas y de la Salud UAM-Xochimilco. Correo electrónico:

[espinosa@correo.xoc.uam.mx](mailto:espinosa@correo.xoc.uam.mx)

### RESUMEN

Gran parte de la investigación biomédica utiliza modelos animales para profundizar en el conocimiento de enfermedades en animales y humanos. A pesar de que los roedores han sido el modelo de investigación más utilizado, recientemente el uso del pez cebra (*Danio rerio*) se ha extendido ampliamente entre la comunidad científica, esto debido a su tamaño relativamente pequeño, costo de mantenimiento, facilidad de manejo y requerimientos de instalaciones. Sin embargo, existen otros peces que podrían ser utilizados para este fin, como el *Melanotaenia maccullochi* o pez arcoiris enano. Esta especie se distribuye principalmente en Papúa Nueva Guinea y Australia, presenta dimorfismo sexual. Las hembras desovan de 20 a 30 ovocitos, que miden aproximadamente 1 mm. Pueden mantenerse a temperatura de 19 a 32 °C y a pH de 5.5 a 7. El presente trabajo tuvo como objetivo establecer un sistema en casa de crianza y manejo reproductivo del pez arcoiris enano, como modelo para estudios de desarrollo embrionario. Los peces fueron obtenidos del Laboratorio de Modelos Animales de la UAM Xochimilco. El acuario de reproducción (50 L), se mantuvo bajo un sistema controlado de temperatura a 27 °C, pH de 7.5, fotoperiodo 14 luz/10 oscuridad, un sistema de circulación de aire y filtración continua para mantener la calidad del agua. La alimentación se proporcionó dos veces al día en hojuelas comerciales (Silver cup). Tres días antes del apareamiento, se administró alimento vivo (artemia salina), a razón de 3% del peso vivo de los peces. Se realizaron cuatro apareamientos de los que se obtuvieron en promedio 22.5 huevos. De éstos, 18.5 (83.74%) fueron fertilizados e iniciaron segmentación y el promedio de ovocitos eclosionados fue de  $12.5 \pm 25\%$ . El desarrollo de los embriones se evaluó bajo microscopio digital (Modelo S02), a un aumento de 10x durante dos días. Se observó que la etapa de segmentación inició a las 2 - 8 h post fertilización. La etapa de blástula se presentó a las 10 h, la de gástrula a las 31 h, la organogénesis ocurrió a las 48 h y a las 120 h post fertilización, tuvo lugar la eclosión. Al comparar estos resultados con los reportados para el pez cebra, se encontró que en *Melanotaenia maccullochi*, la segmentación y el desarrollo a blástula y gástrula es más tardía. El número de ovocitos ovopositados por día fue similar a lo reportado para esta especie. Se concluye que *Melanotaenia maccullochi* es un modelo de fácil mantenimiento y reproducción, que podría ser una alternativa en estudios del desarrollo embrionario para diferentes enfoques de investigación.

### INTRODUCCIÓN

A través de la historia, el uso de animales en la investigación biomédica ha tenido un papel central en el estudio de diversas enfermedades del ser humano, ayudando a describir sus causas, diagnósticos y tratamientos (Barré-Sinoussi y Montagutelli, 2015). Particularmente los mamíferos (ratón, rata, conejo, oveja, cabra, vaca, cerdo, primate, perro y gato) han contribuido a investigar y dilucidar una serie de mecanismos fisiológicos con la finalidad de desarrollar y probar nuevas terapias antes de ser aplicadas en el ser humano (Andersen y Winter, 2019). Estas especies tienen un alto grado de similitud anatómica, fisiológica y genética de órganos (hígado, páncreas y riñón) con los humanos (Zang *et al.*, 2018).

La investigación biomédica ha utilizado otros organismos tales como los insectos del género *Drosophila*, los nemátodos de la especie *Caenorhabditis elegans*, ranas del género *Xenopus* y peces cebra de la especie *Danio rerio* (Lin *et al.*, 2016; Toni *et al.*, 2018). En los últimos años, los peces tropicales de agua dulce han llamado la atención como modelo para la investigación biomédica por

su alta prolificidad y bajo costo de mantenimiento (Lawrence, 2007; Yang y Tiersch, 2008; Rajla *et al.*, 2015).

Algunos factores que favorecen el reemplazo del modelo animal son que, por ejemplo, el ratón, se estresa fácilmente, por lo que algunos comportamientos humanos no pueden ser estudiados bajo estas condiciones. Además, esta especie requiere de espacios grandes para su manejo, lo que incrementa los costos. Para la obtención de embriones, es necesario sacrificar a las hembras y para estudios farmacológicos, los tratamientos deben aplicarse individualmente a cada animal. Mientras que, en especies como los peces, el tratamiento en el agua llega a todos los individuos (Simonetti *et al.*, 2015).

El concepto de sustitución de animales fue discutido por primera vez en 1957, por Charles Hume y William Russell en la Federación de Universidades para el cuidado de los animales (UFAW por sus siglas en inglés). Posteriormente, Russell y Burch, en 1959, sugirieron algunas formas de hacer más experimentos con animales desde un punto de vista más humano, a lo que llamaron las 3Rs: a) El uso de un número mínimo de animales, es decir, “reducción” en el número total de animales utilizados en un experimento, b) El uso de animales debe ser planificado y “refinado” cuidadosamente, para que el dolor y la angustia causados durante el experimento sean mínimos y, por último, c) De ser posible, los animales superiores podrían ser “reemplazados” por organismos inferiores con metodologías alternativas (Sonalí *et al.*, 2015).

La especie que cumple con estas 3Rs es el pez cebra, nativo del sudeste del Himalaya. Las razones de su uso son, que los embriones del pez cebra se desarrollan fuera del cuerpo de la madre y son transparentes, por lo que son un organismo ideal para estudiar el desarrollo embrionario de vertebrados sin necesidad de procedimientos invasivos (Nowik *et al.*, 2015; Schlegel y Gut, 2015). Entre otros factores benéficos, el pez cebra tiene un costo de mantenimiento relativamente bajo, necesita menos espacio, menos tiempo de dedicación a su cuidado, y hay menos regulaciones que en el caso de los roedores; por ejemplo, en el enriquecimiento del hábitat (Espinosa *et al.*, 2019).

Otra especie que podría ser utilizada para este fin, es el *Melanotaenia maccullochi* o pez arcoíris enano. Esta especie se distribuye principalmente en Papúa Nueva Guinea y Australia. Presenta dimorfismo sexual, las hembras desovan de 20 a 30 ovocitos que miden aproximadamente 1 mm de diámetro. Pueden mantenerse a una temperatura del agua de 19 a 32 °C y pH de 5.5 a 7 (Ariztegi, 2015).

Debido a que no hay información suficiente sobre la crianza del pez arcoíris enano, el objetivo de este trabajo fue establecer y documentar, un sistema en casa de crianza y manejo reproductivo del pez arcoíris enano, como modelo para estudios de desarrollo embrionario. La información recabada se contrastó con la reportada en el pez cebra, una especie en donde se ha caracterizado el desarrollo embrionario ampliamente.

## TEORÍA

### Desarrollo embrionario del pez cebra

El pez cebra (*Danio rerio*), se ha considerado una especie ideal para estudios genéticos y del desarrollo en vertebrados, debido a que la embriogénesis ocurre externamente, además de que los embriones son transparentes, lo que permite ver el desarrollo y seguir las divisiones celulares. La cantidad de embriones disponibles por cada experimento es de entre 100 y 200 embriones que una pareja puede producir cada semana, los cuales representan individuos potenciales. El pez cebra es diploide y con ciclos generacionales cortos de 2 a 3 semanas, sin embargo, puede ser difícil mantener niveles elevados y constantes de reproducción en instalaciones pequeñas que mantengan una población reducida de peces (Maldonado, 2003).

La temperatura del agua se considera una de las variables que más afecta al desarrollo de los organismos acuáticos, debido a su importancia en el control de los procesos fisiológicos (Fuiman, 2002). Tanto la organogénesis como el desarrollo somático son controlados por enzimas, y éstas se

ven afectadas por la variación de la temperatura *in situ*. La duración del periodo embrionario y el ritmo de consumo del vitelo están fuertemente influenciados por la temperatura del agua que rodea el desove, pudiendo producirse un desarrollo anormal de las estructuras embrionarias si el vitelo se agota antes de que el embrión esté listo para eclosionar (Petereit *et al.*, 2008).

El periodo de cigoto en el pez cebra ocurre a los diez minutos posteriores a la fertilización, en esta fase comienza la formación del embrión a partir de una célula única, el polo animal se distingue por tener citoplasma diferente al vitelo (Botero *et al.*, 2004; Aguirre, 2007).

La segmentación se caracteriza por las divisiones celulares que van desde 2 hasta 64 células y que, en el pez cebra, son meroblásticas. Es decir que, la segmentación se orienta verticalmente, afectando únicamente al polo animal (sitio donde se ubica el núcleo y en el que ocurre la actividad metabólica) del cigoto, dando como resultado la formación del embrión. El embrión recibe el nombre de blástula y las células que los constituyen se denominan blastómeros (Botero *et al.*, 2004; Aguirre, 2007).

La blástula comienza con la distribución de los blastómeros, reorganizándolos en distintas capas que más tarde se diferenciarán para dar lugar a la organogénesis. Hacia la décima división embrionaria, comienza la transcripción de los genes del embrión, las divisiones se enlentecen y el movimiento celular es más evidente. Se pueden diferenciar tres tipos celulares en la blástula: El primero es la Capa Sincicial del Vitelo o *Yolk Syncytial Layer* (YSL), que se forma cuando las células del polo vegetal del blastodermo se fusionan con el vitelo subyacente, produciendo un anillo de núcleos que se sitúan en el vitelo, por debajo del blastodermo. Más tarde, mientras el blastodermo se expande rodeando el vitelo, parte de los núcleos se moverán por debajo de éste para formar la YSL interna, y otros se situarán en el vitelo, justo bajo el margen blastodermal para formar la YSL externa. La YSL será importante para dirigir algunos de los movimientos de la gastrulación. El segundo tipo celular que se distingue en la blástula media es la Capa Envoltente o *Enveloping Layer* (EVL), formada por las células superficiales del blastodermo, que forman una gruesa capa epitelial. El tercer tipo celular lo forman las Células Profundas o *Deep Cells*, ubicadas entre la EVL y la YSL, que son las que darán origen al embrión propiamente dicho. Esta etapa demora hasta dos horas y media en el pez cebra (Botero *et al.* 2004; Aguirre, 2007).

La gastrulación inicia en el interior del embrión. El primer movimiento celular observable es la epibolia de las células del blastodermo sobre el vitelo. En esta etapa, las células profundas del blastodermo se mueven sobre la superficie del vitelo para envolverlo completamente. Este movimiento es originado por la expansión de la YSL hacia el polo animal del vitelo, lo cual arrastra a la EVL que está muy unida a la YSL, y las células profundas rellenan el espacio entre estas dos capas. La expansión de la YSL depende de una red de microtúbulos. Sin embargo, la diferenciación de blástula a gástrula será a partir de un aumento en el porcentaje de la epibolia. La gástrula se diferenciará por la presencia del eje germinal o eje embrional y la capa sincicial del vitelo. Luego de que las células han cubierto la mitad del vitelo, se observa el anillo germinal, que es un engrosamiento en todo el margen del blastodermo. Este anillo germinal está compuesto por epiblasto (capa superficial) e hipoblasto (capa interna). Las células del hipoblasto convergen y se extienden anteriormente, estrechándose a lo largo de la línea media dorsal. Estos movimientos formarán los precursores de la notocorda y las células mesodermales paraxiales adyacentes serán las precursoras de los somitos mesodérmicos. La convergencia y extensión en el epiblasto, originan las células neurales presuntivas hacia la línea media dorsal, donde formarán la cresta neural. El resto del epiblasto dará origen a la piel del pez. Finalmente, el periodo de eclosión ocurrirá a las 17 h después de la fertilización, donde el embrión comenzará el nado y avanzará en forma rectilínea. No todos los embriones eclosionan al mismo tiempo, pero la mayoría lo hacen a las dos horas (Botero *et al.*, 2004; Aguirre, 2007).

### **Mantenimiento del pez cebra**

El mantenimiento de esta especie se realiza comúnmente en dos acuarios de vidrio con capacidad de 30 litros (30 x 25 x 50 cm), tanto para la alimentación como para la puesta y recogida de los ovocitos y embriones. En este último acuario se colocan cuatro contenedores de vidrio (23.7 x 5.8 x

7 cm) para recoger los ovocitos con un nivel de agua de 10 cm por encima de los contenedores, para disminuir su depredación durante la puesta, mientras caen al fondo. El acuario de alimentación debe tener un nivel de 10 cm del borde superior, para evitar que los peces salten fuera y mantener un acceso sencillo. En cuanto a la calidad del agua, ésta debe asegurar las siguientes características: conductividad de 100 a 200  $\mu$ s, pH entre 7.4 a 7.6 y una temperatura de  $28 \pm 1^\circ$  C (Rocha *et al.*, 2002).

Se debe cambiar un cuarto del agua de los acuarios cada semana, añadiendo 50  $\mu$ L de tiosulfato sódico (250 g/L), para eliminar el cloro. Ambos acuarios deben contener filtros internos de arena especial compuesta por 90% de sílice, 10% de feldespato, carbón activado y mantener un pH de 7.0. Deben ser colocados en contenedores de vidrio sumergidos (23.7 x 7.8 x 7 cm) y provistos con un tubo para el flujo de aire, junto a un compresor que, conectado a un difusor, permita la aireación suplementaria (Rocha *et al.*, 2002).

En cuanto a la alimentación, ésta debe proporcionarse tres veces al día y puede consistir en comida seca de escamas para peces de acuario, larvas de mosquito rojo (*Chironomido*) congeladas, y artemia salina adulta congelada. Retirando los desechos y limpiando los cristales diariamente (Rocha *et al.*, 2002).

### **Reproducción del pez cebra**

Un método de reproducción del pez cebra es el propuesto por McGowan (2001), quien determinó que el estrés es un factor importante a considerar, para mantener sana la colonia reproductora de peces. Comprobó que, al colocar juntos a los peces en una trampa de cría en las primeras horas de la mañana, es mayor el estrés que supone llevar a los peces de un acuario a otro. Lo mismo ocurre si se colocan la noche anterior en la trampa de crianza.

Los peces se mantienen en poblaciones grandes con un entorno consistente y se separan los acuarios de alimentación y de ovoposición. Para ello, los peces se mantienen en un acuario de metacrilato con una malla en el fondo, facilitando la limpieza y descontaminación de los embriones. Al estar todos los peces adultos en un solo acuario de metacrilato con fondo perforado, no se deben capturar, minimizando así el estrés y, al estar en un mayor volumen de agua que en los acuarios de ovoposición, estarán más activos. Por la mañana, en presencia de luz, se debe sacar a los peces del primer acuario e introducirlos en el segundo, con solo agua. Se utilizan varillas de vidrio para suspender la trampa por encima del fondo. Al terminar el periodo de cría, se retira la varilla de cristal y los peces adultos se cambian de acuario, mientras los huevos pueden ser recolectados de manera fácil por sifón (McGowan, 2001).

Por su parte, Rocha *et al.* (2002) señalan que, para inducir la ovoposición, es importante el fotoperíodo, manteniendo la iluminación con ciclos de 14 horas con luz por 10 de oscuridad. El comienzo de la iluminación debe ser simultáneo con el amanecer natural. Cuatro tardes a la semana se retiran los individuos adultos del acuario que los contiene, colocándolos en el acuario de alimentación y los contenedores se sacan del acuario para ser lavados y así, recuperar y desinfectar los huevos. Éstos se recogen con una pipeta Pasteur de vidrio de punta pulida, con un diámetro interno de 2 mm. La desinfección se lleva a cabo mediante tres lavados con un buffer (88 mM NaCl, 1 mM ClK, 1 mM MgSO<sub>4</sub>, 2.5 mM CO<sub>3</sub> HNA, 7 mM Cl<sub>2</sub>Ca, 5 mM HEPES, 50  $\mu$ g/ml gentamicina y 2  $\mu$ g/ml fungizona) y azul de metileno All-Blue.

Una especie poco estudiada, son los melanotenideos como el pez arcoíris enano (*Melanotaenia maccullochi*). Esta especie se ha introducido como pez de ornato, se ha hecho muy popular y su número se ha intensificado en las últimas décadas. Es una especie que se cultiva y de las más apreciadas y valoradas en el mercado. Sin embargo y, a pesar de ser popular, no hay información suficiente sobre su desarrollo temprano. Dado su gran potencial de producción y su alto valor en el mercado, los estudios sobre esta especie han adquirido una relevancia creciente, especialmente los

que se refieren al desarrollo embrionario y larvario de la especie (Costa *et al*, 2015). De ahí el interés de este trabajo, por estudiar a la especie.

### PARTE EXPERIMENTAL

Siguiendo la metodología descrita por McGowan (2001) y Rocha (2002), con algunas modificaciones, se establecieron los acuarios de alimentación y de desove en el pez arcoíris enano (*Melanotaenia maccullochi*), como grupo experimental (GE) y en el pez cebra (*Danio rerio*), como grupo control (GC).

#### **Montaje de acuarios para el mantenimiento y reproducción del pez arcoíris enano (*Melanotaenia maccullochi*) y del pez cebra (*Danio rerio*)**

Se implementó un sistema de crianza en casa de pez arcoíris enano y de pez cebra, en la Alcaldía de Iztapalapa en la Ciudad de México, México.

Para el mantenimiento del pez cebra, se utilizaron dos acuarios, uno con capacidad de 50 L y otro con capacidad de 100 L, tres filtros de la marca Ocean Aqua, tres calentadores de 50 W, dos termómetros, sal para acuario, anticloro (Clorkill), azul de metileno (All-Blue) y una mica acrílica. Para el mantenimiento del pez arcoíris enano, se utilizó un solo acuario con capacidad de 50 L, un filtro Ocean Aqua, un calentador de 50 W, un termómetro, sal de acuario, anticloro, azul de metileno y una sal reguladora de la dureza del agua (Neutral regulation, Seachem).

Para el montaje de los acuarios del pez cebra, se lavaron con agua del grifo. Una vez limpios, se les agregó agua de grifo hasta un nivel de 5 cm por debajo del borde del acuario para evitar posibles escapes por parte de los peces. Se destinó un acuario de 50 L para los apareamientos del pez cebra, colocando un filtro, un calentador y un termómetro, así como 4 gotas de azul de metileno, para evitar infecciones por hongos, 25 gotas de anticloro y una cucharada cafetera de sal de acuario.

Un acuario de 100 L fue destinado para mantener a los peces cebra adultos. Éste se dividió en dos secciones, utilizando una placa acrílica. En una de las secciones se colocaron las hembras y en la otra, los machos. A cada sección se le colocó un filtro, un calentador y un termómetro, colocado justo a la mitad, para mantener la temperatura de ambas secciones. Al acuario total se le agregaron 4 gotas de azul de metileno, 50 gotas de anticloro y una cucharada cafetera de sal de acuario.

Para el montaje del acuario del pez arcoíris enano, se lavó el acuario con agua de grifo. Una vez limpio, igualmente se le agregó agua de grifo hasta un nivel de 5 cm por debajo del borde del acuario para evitar escapes de los peces. Se colocó un filtro, un calentador y un termómetro, adicionando 4 gotas de azul de metileno, 25 gotas de anticloro, una cucharada cafetera de sal de acuario y 40 cucharadas cafeteras de sal reguladora de dureza.

Para determinar el pH del agua se utilizó una prueba comercial (Nutrasfin Test), ya que el agua de grifo de la Alcaldía de Iztapalapa es muy dura, con valores de 310 mg/L de CaCO<sub>3</sub>, siendo éste un valor no benéfico para la crianza de los peces. Para evaluar el pH, se tomaron 5 mL de agua del acuario y se adicionaron 4 gotas de la prueba comercial, se homogenizó la solución y al cabo de unos segundos se comparó el color resultante con el valor de pH correspondiente.

Para reducir gradualmente la dureza del agua, se agregaron 3 cucharadas cafeteras de la sal reguladora de dureza a 5 L de agua y se midió nuevamente el pH. Debido a que el pH era muy alcalino, se agregaron 40 cucharadas de sal reguladora hasta obtener una dureza baja y un pH neutro. Una vez que el pH fue el óptimo, se fue agregando el agua tratada al acuario a intervalos de 3 minutos. Este procedimiento se repitió al día siguiente. Se dio mantenimiento al acuario cada dos semanas.

Se adquirieron 10 peces cebra: 7 hembras y 3 machos (GC), y una pareja de peces arcoíris enano (GE), del laboratorio de Modelos Animales de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad

Xochimilco. Se colocaron en sus respectivos acuarios y se analizó su comportamiento de adaptación al cambio de ambiente.

#### **Alimentación del pez cebra y del pez arcoíris enano**

Se utilizó alimento seco (alimento para truchas de 0.3 mm) y alimento vivo (artemia salina). Los días que no se tenía previsto efectuar apareamientos, se les dio alimento seco, el cual se les suministró (equivalente al 3% del peso vivo) dos veces por día, en horarios de las 8:00 y las 18:00 h. Tres días antes de los apareamientos, se inició la alimentación flushing suministrando artemia salina, ya que, al aumentar el nivel de energía, proteína y otros nutrientes, se estimula la superovulación (Rocha *et al.*, 2002).

#### **Fotoperiodo para inducir la reproducción del pez cebra y del pez arcoíris enano**

Ambos grupos de peces se sometieron a un fotoperiodo de 14 h luz y 10 h de oscuridad, siendo el inicio de horas luz a las 7:00 h y la iniciación de horas oscuridad a las 21:00 h.

#### **Elaboración de nidos del pez cebra y del pez arcoíris enano**

Para la elaboración del nido del pez cebra, se utilizaron 2 m de malla mosquitera y con ayuda de ventosas fue sujeta a las 4 esquinas del acuario. La malla se sumergió a 15 cm de profundidad y se le colocaron 2 plantas elodeas (*Elodea canadensis*), como se muestra en la figura 1.

Para la elaboración del nido del pez arcoíris enano, se utilizaron 3 m de estambre color café, un corcho y una roca. El estambre se enrolló en la palma de la mano, hasta completar 15 vueltas. Una vez enrollado, se le realizó un amarre justo en el centro, con ayuda de un pedazo de estambre sobrante y con unas tijeras se cortaron las hebras que se encontraban unidas, para que tomara un aspecto de mechudo.

Al mechudo de estambre se le colocó un corcho en una de las hebras para que, al colocarlo en el acuario, éste flotaré, mientras que en la parte baja del estambre se colocó una roca para que se mantuviera estático, como se muestra en la figura 2.



Figura 1. Nido elaborado con dos metros de mala mosquitera adicionada con dos plantas acuáticas (Elodeas).



Figura 2. Nido elaborado con estambre color café sujetado a un corcho en la parte superior y en la parte inferior con una roca.

#### **Reproducción del pez cebra y del pez arcoíris enano**

Para llevar a cabo los apareamientos del pez cebra, una noche antes del día del apareamiento se tomaron las 7 hembras y los 3 machos, y se colocaron en el acuario destinado para reproducción. Este acuario ya tenía colocado el nido de malla a 15 cm de profundidad, tal como se muestra en la figura 1, acompañado de dos plantas elodeas, para tener un mayor estímulo de apareamiento. Las



parejas se mantuvieron en el acuario aproximadamente durante 1 hora, esperando la ocurrencia de los desoves.

En el caso del pez arcoíris enano, un día antes del posible apareamiento se colocó el nido de estambre en el acuario de 50 L, tal como se muestra en la figura 2.

#### Tasa de producción de embriones de pez cebra y pez arcoíris enano

Con ayuda de una linterna, a través del cristal de los acuarios se visualizó la presencia de embriones del pez cebra en el fondo, mientras que para el pez arcoíris, los embriones se encontraban pegados en las madejas de estambre.

La recuperación de los embriones se llevó a cabo con ayuda de una pipeta Pasteur y se colocaron en una caja de Petri previamente etiquetada con la hora, fecha y la cantidad de embriones colectados. Los embriones se visualizaron bajo un microscopio digital modelo S02, a un aumento de 10X.

#### Medición de embriones de pez arcoíris enano (*Melanotaenia maccullochi*)

Una vez colectados los embriones del pez arcoíris enano, se prosiguió a realizar su medición. Para determinar el tamaño de los embriones se tomó una muestra del 10% del lote y se depositaron en una caja de Petri, se colocó una hoja milimétrica por debajo y se determinó el tamaño de los embriones, comparándolo con los de los cuadros de la hoja.

## RESULTADOS

#### Tasa de producción de embriones de pez arcoíris enano

Se realizaron los apareamientos de peces arcoíris enano (*Melanotaenia maccullochi*), a partir del día 2 de mayo del 2021. En el cuadro 1 se muestra el número de ovocitos obtenidos, el porcentaje de fertilización y de eclosión.

Cuadro 1. Datos de los desoves de *M. maccullochi*: Porcentaje de fertilización y de eclosión.

Desove	Fecha	No. Ovocitos	Fertilización		Eclosión	
			N	(%)	N	(%)
A	02/05/21	13	12	(92.3 %)	6	(50 %)
B	02/05/21	23	17	(73.9 %)	0	(0 %)
C	03/05/21	22	23	(100 %)	0	(0 %)
D	06/05/21	32	22	(68.7 %)	0	(0 %)
		<b>22.5 ± 7.7</b>	<b>18.5 ± 5.0</b>	<b>83.7 ± 14.8</b>	<b>1.5 ± 3</b>	<b>12.5 ± 25</b>

De acuerdo con Rocha *et al.* (2002), el número de ovocitos que se obtiene por desove en el pez cebra va de 32 a 37 por puesta. Si se compara con lo obtenido en este estudio para el pez arcoíris enano, vemos que fue inferior ( $22.5 \pm 7.7$  ovocitos). La tasa de fertilización fue del  $83.7 \pm 14.8$  %, sin embargo, la tasa de eclosión fue muy baja de tan solo  $12.5 \pm 25$  % (Cuadro 1). Una variable que pudo influir en esta última cifra es la temperatura, ya que afecta el desarrollo de organismos acuáticos, debido a su efecto en los procesos fisiológicos (Fuiman, 2002). Los embriones fueron mantenidos en cajas de Petri a temperatura ambiente para su evaluación, lo que pudo afectar las eclosiones de los lotes B, C y D que son los que se vieron más afectados con 0 % de eclosión.

La tasa de ovocitos por puesta se mantiene en el rango según lo mencionado por Tsang (2017), las hembras desovan de 20 a 30 ovocitos.

#### Desarrollo embrionario del pez arcoíris enano

En el desove A se obtuvieron 13 ovocitos, de los cuales 12 fueron fertilizados (92.3%) y 6 eclosionaron (50%) (Figura 3). Cabe mencionar que este desove fue recuperado en un desarrollo embrionario avanzado, ya que se encontraba en etapa de organogénesis, según lo mencionado por Costa *et al.* (2012) para la especie *Melanotaenia praecox*. La formación del corazón ocurre a las 47 h y la de los ojos a las 57 h.



Figura 3. Desarrollo de embriones de pez arcoíris enano (*M. maccullochi*) (Aumento a 10 X).

En los desoves B, C y D, los embriones alcanzaron la etapa de organogénesis pero ninguno eclosionó (0%) (Figuras 4 y 5). Costa *et al.* (2012), señalan que para la especie *M. praecox*, la segmentación embrionaria inicia a las 30 min - 4 h post fertilización. En este estudio, en *M. maccullochi* la segmentación inició a las 2 - 8 h post fertilización, un rango mayor si se la compara con *M. praecox*. Posiblemente la temperatura también afectó la velocidad del proceso de segmentación. Por su parte, en el pez cebra (*Danio rerio*) la segmentación inicia 2-6 h post fertilización.



Figura 4. Desarrollo embrionario de pez arcoíris enano (*M. maccullochi*), en etapa de organogénesis (Aumento a 10 X).

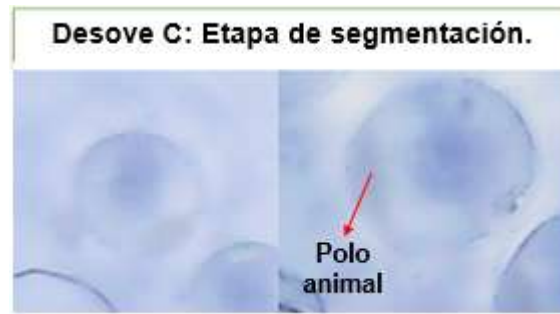


Figura 5. Desarrollo embrionario de pez arcoíris enano (*M. maccullochi*), de la etapa de fertilización al inicio de la segmentación (Aumento a 10 X).

La figura 6 muestra un esquema del desarrollo embrionario de *M. maccullochi*, monitoreado durante este estudio (desove D), que inició con la fertilización (tiempo 0), mientras que la segmentación ocurrió a las 2 h post-fertilización observándose el polo animal, la etapa de blástula inició a las 10 h. A las 24 h, se distingue la capa epitelial del blastodermo. A las 31 h, inicio la gastrulación. A las 48 h, ocurrió la organogénesis. A las 120 h, tuvo lugar la eclosión.

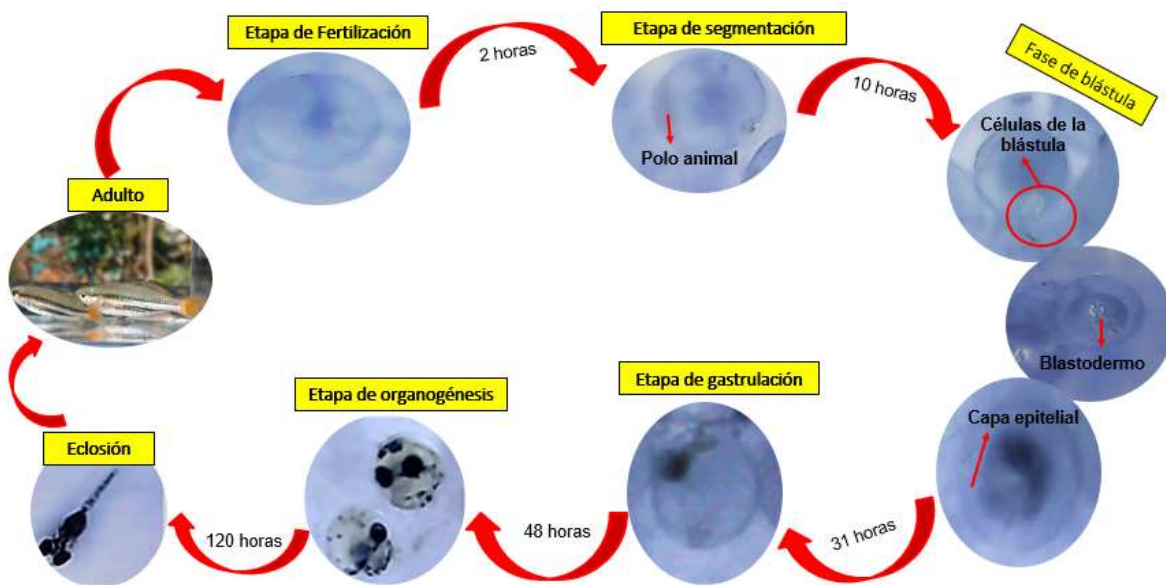


Figura 6. Monitoreo del desarrollo embrionario de *M. maccullochi* (Aumento a 10 X).

Con base en el esquema anterior, se realizó un análisis comparativo de los tiempos del desarrollo embrionario del pez cebra vs. el pez arcoíris enano (Cuadro 2).

Cuadro 2. Análisis comparativo de la duración del desarrollo embrionario del pez cebra (Gutiérrez, 2009) y lo observado en el pez arcoíris enano.

Comparación del desarrollo embrionario del pez cebra y peces arcoíris.				
	Etapa de segmentación	Etapa de gastrulación	Etapa de organogénesis	Eclosión
Pez cebra (Danio rerio)	2 – 6 h	8 – 16 h	24 h post fertilización	48 h post fertilización
Pez arcoíris enano (M. maccullochi)	2 - 8 h	31 h	48 h post fertilización	120 h post fertilización
M. praecox	30 min – 4 h	8 – 14 h	16 h post fertilización	119 – 126 h post fertilización

Si comparamos el ciclo de vida del pez cebra propuesto por Gutiérrez (2009), se observa que la segmentación de *M. maccullochi*, no muestra diferencias en las horas de su inicio. Sin embargo, en las etapas siguientes: gastrulación, organogénesis y eclosión, sí se observaron grandes variaciones en las horas del inicio de cada etapa.

Con respecto al *M. praecox* propuesto por Costa *et al.* (2012), se observó que en el pez arcoíris enano (*M. maccullochi*), los cambios del desarrollo embrionario no muestran gran diferencia en la etapa de eclosión.

#### Medición de embriones de *Melanotaenia maccullochi*

La figura 6 muestra el tamaño de los embriones de la especie estudiada. Al comparar los resultados con lo descrito por Rocha (2002), vemos que no hay diferencias en el tamaño de los embriones del pez arcoíris enano (1 mm) con respecto a los del pez cebra (1 a 1.02 mm), ni a los de *M. praecox* (0.99 a 1.04 mm) (Costa *et al.*, 2012).



Figura 6. Embrión de *M. maccullochi*. visto a 10 X. Tamaño 1 mm.

El desarrollo embrionario en las especies estudiadas, no presenta diferencias durante las etapas iniciales. Sin embargo, para *Melanotaenia maccullochi*, las etapas de gástrula, blástula y de organogénesis aparecen a tiempos más tardíos que lo que ocurre para *Danio rerio*.

En especies como *D. rerio*, el fotoperiodo tiene un papel importante en el desove (McGowan, 2001; Rocha, 2002). En este estudio se observó que para *M. maccullochi*, las primeras horas de luz no influyeron en el desove, ya que ocurrieron desoves en dos momentos diferentes del día. Es probable

que esto se debiera a la similitud en la intensidad de la luz presente en el ambiente, lo que indujo a un desove durante el día.

A diferencia de *D. rerio*, en *M. maccullochi* se presentaron desoves sin necesidad del estímulo otorgado por un nido en el acuario. Lo anterior se afirma porque, al inicio del experimento, se observó un desove previo a la colocación del nido.

## CONCLUSIONES

En el presente estudio, las primeras horas de luz no influyeron en el desove de *M. maccullochi*, contrario al caso de *D. rerio*, donde el fotoperiodo tiene un papel importante. A diferencia de *D. rerio*, en *M. maccullochi* se presentaron desoves sin necesidad del estímulo otorgado por un nido en el acuario. Lo anterior se afirma porque, al inicio del experimento, se observó un desove previo a la colocación del nido. Con base en los resultados obtenidos en este trabajo, el pez arcoíris enano (*Melanotaenia maccullochi*), es un modelo de fácil mantenimiento y reproducción, que podría ser una alternativa en estudios del desarrollo embrionario para diferentes enfoques de investigación.

Los hallazgos encontrados en el pez arcoíris enano sobre desarrollo embrionario, se pueden confirmar aún más en mamíferos. Con el desarrollo regular de nuevas tecnologías, el pez arcoíris es un modelo animal para mejorar significativamente nuestra comprensión del desarrollo de los vertebrados en condiciones normales y patológicas.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Aguirre, C. (2007). Estudios de la expresión y función de las proteínas wnt3a y ck1y2 en el desarrollo embrionario del pez cebra (*Danio rerio*) [Tesis de Licenciatura, Universidad de Chile]. Facultad de ciencias veterinarias y pecuarias escuela de ciencias veterinarias. pp 5-14.
2. Andersen, L. y M. Winter, 2019, "Animal models in biological and biomedical research-experimental and ethical concerns", en *An Acad Bras Cienc*, 19; 91(suppl 1):e20170238.
3. Ariztegi, J. (2015). Ficha *Melanotaenia maccullochi* (pez arcoíris enano). <http://acuariofiliamadrid.org/Thread-Ficha-Melanotaenia-maccullochi-pez-arco-iris-enano>.
4. Barré-Sinoussi y Montagutelli, 2015. Animal models are essential to biological research: Issues and perspectives, *Future Science OA* 1(4):1-3.
5. Botero, M., Fresneda, A., Montoya, A., & Olivera, M. (2004). Descripción del desarrollo embrionario de cigotas híbridas obtenidos por el cruce de machos de Cachama Blanca (*Piaractus brachipomus*) y hembras de Cachama Negra (*Colossoma macropomum*). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 17(4), 38–45.
6. Costa Radael Marcella, Demier Cardoso Leonardo, Ricardo Andrade Dalcio, Mattos Jonas Douglas, Henrique Motta Jonas, Vitor Manhães João; 2012, "Morphophysiological characterization of the embryonic development of *Melanotaenia praecox* (Weber & de Beaufort, 1922)", Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Departamento de Produção Animal, Laboratório de Zootecnia e Nutrição Animal, CEP, Campos dos Goytacazes, RJ, Brazil. pp 3- 5.
7. Costa Radael Marcella, Demier Cardoso Leonardo, Ricardo Andrade Dalcio, Veloso Ferreira André, da Cruz Mattos Douglas y Vazquez Vidal Junior Manuel; 2015, "Effect of temperature on embryonic development of *Melanotaenia boesemani* (Allen and Cross, 1982)", Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Parque Califórnia, Campo dos, Goytacazes. pp 301- 302.
8. Espinosa, R., Rodríguez, A. y Galeana, J; 2019, "El pez cebra (*Danio rerio*) como modelo para el estudio del metabolismo y la obesidad", *SOCIEDADES RURALES, PRODUCCIÓN Y MEDIO AMBIENTE*. vol.19 núm. 37. pp 131-148.
9. Fuiman, L.A. (2002). Special considerations of fish eggs and larvae. In *Fishery Science: The Unique Contributions of Early Life Stages* (eds L.A. Fuiman & R.G. Werner), pp. 1–32. Oxford: Blackwell Science.

10. Gutiérrez Carreño Héctor; 2009, "Efectos del ácido retinoico en el desarrollo temprano del pez cebra *Danio rerio*", Máster de Neurociencias. Instituto de Neurociencias de Castilla y León (INCYL). Universidad de Salamanca. pág. 11.
11. Lawrence, C., 2007, "The husbandry of zebrafish (*Danio rerio*): A review", en *Aquacultur*, 269:1-20.
12. Lin, Y. et al., 2016, "Zebrafish and Medaka: new model organisms for modern biomedical research", en *Journal of Biomedical Science*, 23(19):1-11.
13. Maldonado, E. (2003) Experimentación en el pez cebra, un modelo de biología del desarrollo. *Mensaje bioquímico*, XXVII, 147–156. México.
14. McGowan, R.A., 2001. A low stress, high yield breeding trap for use with zebrafish *Danio rerio*, pp. 507- 523.
15. Nowik, N. et al., 2015, "Zebrafish: an animal model for research in veterinary medicine", en *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 18(3): 663-674.
16. Petereit, C., Haslob, H., Kraus, G. & Clemmesen, C. (2008). The influence of temperature on the development of Baltic Sea sprat (*Sprattus sprattus*) eggs and yolk sac larvae. *Mar. Biol.* 154, 295–306.
17. Rajla, S. et al., 2015, "Zebrafish (*Danio rerio*): The future of animal model in biomedical research", en *Journal of Fisheries Sciences*, 9(3):039-045.
18. Rocha, A., Ruiz, S., & Coll, J. M. (2002). Método sencillo para producir huevos embrionados de pez cebra. *Invest. Agr.: Prod. Sanid. Anim.*, 17(1–2), 93–102.
19. Schlegel, A. y P. Gut, 2015, "Metabolic insights from zebrafish genetics, physiology, and chemical biology", en *Cell. Mol. Life Sci*, 72: 2249-2260.
20. Simonetti, B. et al., 2015, "Zebrafish (*Danio rerio*): the future of animal model in biomedical research", en *Journal of Fisheries Sciences*, 9(3): 39-45.
21. Sonali, K. et al., 2015, "Alternatives to animal testing: A review", en *Saudi Pharmaceutical Journal*, 23(3): 223-229.
22. Toni, M. et al., 2018, "Assessing fish welfare in research and aquaculture, with a focus on European directives", en *Animal*, 13(1): 161-170.
23. Tsang, B. "Breeding Zebrafish: A Review of Different Methods and a Discussion on Standardization". *Zebrafish.*, Vol, 14 6, 2017, pp 1-13.
24. Yang, H. y R. Tiersch, 2008, "Current status of sperm cryopreservation in biomedical research fish models: zebrafish, medaka, and *Xiphophorus*", en *Comparative biochemistry and physiology. Toxicology & pharmacology: CBP*, 149(2): 224-32.
25. Zang, L. et al., 2018, "Zebrafish as a Model for Obesity and Diabetes", en *Frontiers in cell and developmental biology*, 6(91):1-13.

## LOS EFECTOS DEL La EN LA PARTICIÓN DE BIOMASA SECA DE TOMATE SON DEPENDIENTES DEL ESTATUS DE MG

Beatriz Adriana Jiménez-González<sup>1</sup>, María Guadalupe Peralta-Sánchez<sup>2</sup>, Fernando Carlos Gómez-Merino<sup>2</sup>, Olga Tejeda-Sartorius<sup>2</sup>, César San Martín-Hernández<sup>2</sup>, Libia Iris Trejo-Téllez<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Depto. de Suelos, Universidad Autónoma Chapingo. Carretera México-Texcoco km 38.5, 56230 Chapingo, Estado de México. <sup>2</sup>Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Carretera México- Texcoco km 36.5, 56230 Montecillo, Estado de México.

E-mails: [mgps22@yahoo.com.mx](mailto:mgps22@yahoo.com.mx), [mgperalta@colpos.mx](mailto:mgperalta@colpos.mx)

### RESUMEN

El Mg es un elemento esencial para plantas superiores; es estructural en clorofilas, necesario en fotosíntesis y en la estabilización de ribosomas, entre otras funciones. Su deficiencia impacta de forma negativa el metabolismo vegetal y entre las variables más afectadas se encuentra la acumulación de biomasa. En este estudio se evaluaron los efectos que el La (0, 15, 30  $\mu$ M) tiene en la partición de biomasa por órganos y total de plántulas de tomate bajo suficiencia (2 mM) y deficiencia de Mg (1 mM), lo que dio como resultado seis tratamientos. Éstos se establecieron bajo condiciones de invernadero durante 20 días en un sistema hidropónico de raíz flotante. Se hipotetiza que el La, puede reducir el impacto negativo de la deficiencia de Mg en la acumulación relativa de biomasa, al ser éste un elemento benéfico que puede suplir las funciones del Mg. Se observaron efectos contrastantes del La en la acumulación de biomasa, los cuales dependieron tanto de la dosis de La como del estatus de Mg en la planta. Bajo suficiencia de Mg, el La afecta negativamente la acumulación de biomasa seca; las dosis 15 y 30  $\mu$ M La redujeron la biomasa seca de hojas en 14.5 y 33.1; la de tallos en 6.1 y 21.1 %, la de raíz en 10.7 y 25.2 %, y la total en 12.1 y 28.9 %, respectivamente, en todos los casos en comparación con el tratamiento suficiente en Mg sin La. Por el contrario, bajo deficiencia de Mg, la dosis 15  $\mu$ M La incrementó la biomasa seca de hojas y total en 10.7 y 10.4%, en comparación con el tratamiento deficiente en Mg sin La. Este hallazgo permite concluir que, el La en bajas concentraciones (15  $\mu$ M) bajo las condiciones experimentales de este estudio, mitiga los efectos negativos de la deficiencia de Mg, probablemente, por sustituir a éste en algunas funciones en el metabolismo vegetal.

### INTRODUCCIÓN

El magnesio (Mg) desempeña un papel clave en varios procesos fisiológicos y bioquímicos; es parte integral de la clorofila, participa en la fotosíntesis, es activador de enzimas, tiene un rol en la construcción de ácidos nucleicos y en el metabolismo de carbohidratos, así como en la síntesis de proteínas, entre otros (Xie *et al.*, 2002; Yousaf *et al.*, 2021). La deficiencia de este elemento ejerce efectos adversos en la estructura y la función de los cloroplastos, la actividad de RubisCO, la capacidad de reacciones lumínicas en el estroma y la división del carbono entre los órganos sumideros, y por lo tanto en la asimilación de carbono (Xie *et al.*, 2002). Por tanto, la deficiencia de Mg, es uno de los trastornos fisiológicos más comunes que influyen en la productividad y la calidad de los cultivos (Ye *et al.*, 2019).

Tanto la deficiencia de Mg como el exceso presenta efectos perjudiciales en el crecimiento de las plantas (Guan *et al.*, 2020). Sin embargo, aún no se comprende cómo la nutrición del Mg afecta cuantitativamente la producción, partición y el uso de fotoasimilados (Guan *et al.*, 2020). Los síntomas de deficiencia de Mg se observan en la parte aérea de las plantas, mientras que los síntomas se reflejan en el desarrollo de raíces y la distribución de biomasa seca entre la raíz y brote son variables (Chaudhry *et al.*, 2021). La deficiencia de este elemento ejerce una gran influencia de materia seca y carbohidratos entre brotes y raíces (Cakmak y Kirkby, 2008).

Por otro lado, estudios previos han demostrado que el La induce hormesis en muchos procesos fisiológicos de las plantas como el crecimiento inicial de las plántulas, la actividad peroxidasa, la fotosíntesis neta y la producción de clorofila; mostrando que origina respuestas caracterizadas por estimulación a concentraciones bajas e inhibición a concentraciones altas (He *et al.*, 2020).

Investigaciones anteriores demostraron que cuando el suministro de Mg en el suelo es bajo, el La puede reemplazar al Mg para mejorar la tasa fotosintética (Backer y Salomon, 2020). En este mismo

sentido, Hong *et al.* (2002) reportan que el  $\text{La}^{3+}$  puede sustituir al  $\text{Mg}^{2+}$  por la formación de clorofila en espinacas en ausencia de  $\text{Mg}^{2+}$  en la solución; debido a que el  $\text{La}^{3+}$  mejora la formación y velocidad de PSII.

Por tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del lantano en la partición de biomasa seca total y en los diferentes órganos de plántulas de tomate, bajo suficiencia y deficiencia de Mg.

## PARTE EXPERIMENTAL

### *Material vegetal*

Se utilizaron plántulas de tomate var. El Cid establecidas en un sistema hidropónico de raíz flotante dotado de un sistema de oxigenación.

### *Tratamientos y diseño experimental*

Se utilizó un experimento factorial ( $3 \times 2$ ) bajo condiciones de invernadero del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Se evaluaron los efectos principales y de interacción de tres niveles de La (0, 15 y 30  $\mu\text{M}$ ) y dos estatus de Mg [deficiente (1 mM) y suficiente (2 mM)] en plántulas de tomate. Los niveles de La y Mg fueron agregados a la solución nutritiva de Steiner que fue empleada como referencia (Steiner, 1984) la cual se renovó cada 7 d; el pH de la misma se ajustó a 5.5 todos los días.

### *Determinación de biomasa seca en hojas, tallos, raíces y total*

Las plántulas se cosecharon 20 días después del inicio de tratamientos, se fraccionaron por órganos (hojas, tallos y raíces) se secaron a 72 °C por 72 h, en una estufa de aire forzado (Riossa, modelo HCF-125; Guadalajara, México) y posteriormente se pesaron en una balanza analítica.

### *Análisis estadístico*

Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza y prueba de comparación de medias (Tukey, 0.05) con el software SAS (SAS, 2011).

## RESULTADOS

La biomasa seca total, de hojas y tallos se redujo conforme incrementó la dosis de La; en particular 30  $\mu\text{M}$  La fue la dosis que afectó negativamente la acumulación de materia seca (Figura 1). La biomasa seca en hojas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) fue influenciada de manera positiva con dosis de 10  $\mu\text{M}$  La (García-Jiménez *et al.*, 2017). Luo *et al.* (2021) reportan que los tratamientos con La incrementó la biomasa aérea total en plántulas de arroz (*Oryza sativa* L.). En tabaco (*Nicotiana tobacum*) con dosis bajas (5-20 mg  $\text{L}^{-1}$  de  $\text{LaCl}_3$ ) incrementó la acumulación de materia seca en los diferentes órganos (Chen *et al.*, 2001). Así también, se observó un incremento de biomasa en brotes en maíz a dosis bajas de La (25 y 50  $\mu\text{M}$ ) (Oliveira-Duarte *et al.*, 2018).

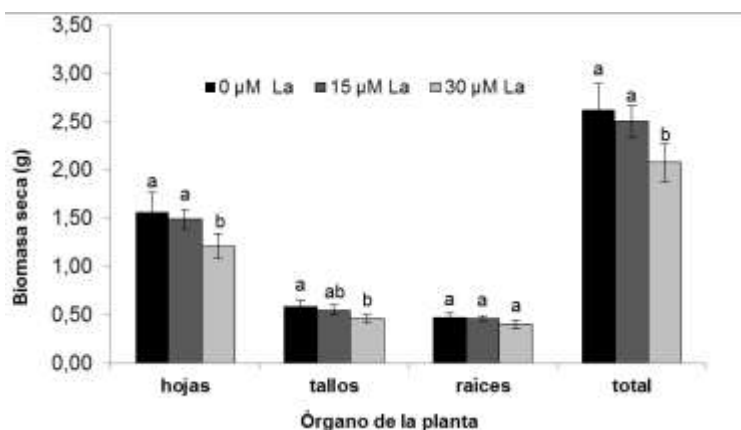


Figura 1. Biomasa seca de plántulas de tomate var. El Cid con dosis crecientes de La. Medias  $\pm$  DE con letras distintas en cada órgano indican diferencias estadísticas (Tukey, 0.05).



Por otra parte, la deficiencia de Mg ocasionó la reducción significativa de la biomasa seca de hojas y tallos (Figura 2). Una de las principales respuestas de las plantas a la deficiencia de Mg es la carga alterada del floema. La biomasa seca total, brotes y raíces en cebada disminuyen al reducirse el suministro de Mg (Tränkner *et al.*, 2016). El abastecimiento adecuado de Mg mejora la asimilación neta de CO<sub>2</sub> lo que lleva un incremento en la biomasa (Hanuer-Jákli y Tränkner, 2019). La deficiencia de Mg en la germinación o en etapa inicial da como resultado una reducción en el crecimiento de raíces, por lo que, una de las primeras reacciones del estrés por deficiencia de Mg impacta en la partición de materia seca entre raíces y brotes (Cakmak y Kirkby, 2008; Chaudhry *et al.*, 2021). En este estudio la reducción de biomasa seca se detectó en hojas y tallos, pero no en las raíces.

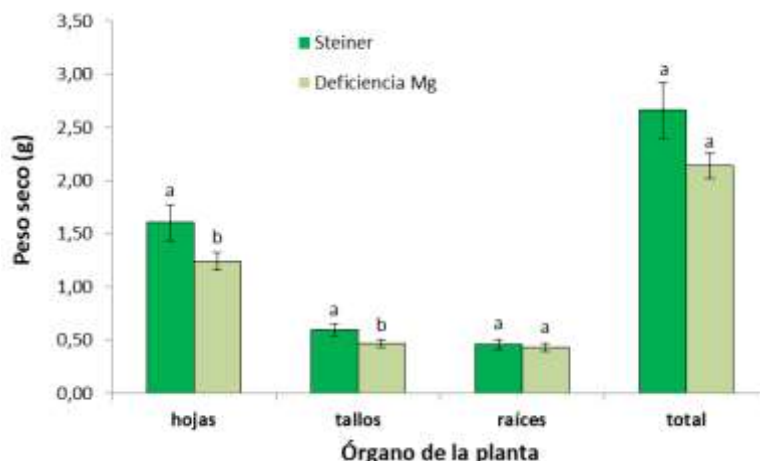


Figura 2. Biomasa seca de plántulas de tomate var. El Cid con dos estatus de nutrición con Mg. Medias±DE con letras distintas indican diferencias estadísticas (Tukey, 0.05).

En los efectos de la interacción de los factores de estudio se observó que el La a dosis 15  $\mu\text{M}$  bajo deficiencia de Mg ocasiona valores más altos de biomasa seca de hoja, de raíz y total (Cuadro 1). Estos resultados son coincidentes con los de Hong *et al.* (2002) en espinaca, donde se observó que la adición de La<sup>3+</sup> en una solución Hoagland carente de Mg<sup>2+</sup>, incrementó el crecimiento y la fotosíntesis lo que se reflejó en un aumento en las biomásas fresca y seca.

Cuadro 1. Efectos de la interacción de los factores de estudio en la biomasa seca en los diferentes órganos y total de plántulas de tomate var. El Cid.

Variable (g)	Solución Steiner al 100%			Deficiencia de Magnesio		
	Lantano ( $\mu\text{M}$ )			Lantano ( $\mu\text{M}$ )		
	0	15	30	0	15	30
Hoja	1.91 ± 0.09 a	1.63 ± 0.08 ab	1.28 ± 0.16 bc	1.22 ± 0.09 c	1.35 ± 0.05 bc	1.15 ± 0.08 c
Tallo	0.66 ± 0.05 a	0.62 ± 0.05 ab	0.50 ± 0.04 bc	0.51 ± 0.05 abc	0.48 ± 0.03 bc	0.42 ± 0.03 c
Raíz	0.52 ± 0.03 a	0.47 ± 0.03 a	0.39 ± 0.05a	0.42 ± 0.04 a	0.46 ± 0.02 a	0.41 ± 0.04 a
Biomasa seca total	3.10 ± 0.15 a	2.72 ± 0.15 ab	2.17 ± 0.24bc	2.15 ± 0.09 bc	2.29 ± 0.10 bc	1.99 ± 0.14 c

Medias±SD con la misma letra en cada hilera indican que no hay diferencias significativas (Tukey, 0.05).

## CONCLUSIONES

En la interacción de los factores de estudio se observó que el La a dosis 15  $\mu\text{M}$  bajo deficiencia de Mg ocasiona valores más altos de biomasa seca de hoja, de raíz y total. Este hallazgo permite concluir que, el La en bajas concentraciones (15  $\mu\text{M}$ ) bajo las condiciones experimentales de este

estudio, mitiga los efectos negativos de la deficiencia de Mg, probablemente, por sustituir a éste en algunas funciones en el metabolismo vegetal.

## BIBLIOGRAFÍA

1. A. García-Jiménez, F.C. Gómez-Merino, O. Tejeda-Sartorius, L.I. Trejo-Téllez, 2017. "Lanthanum affects bell pepper seedling quality depending on the genotype and time of exposure by differentially modifying plant height, stem diameter and concentrations of chlorophylls, sugars, amino acids, and proteins", *Front Plant Sci.*, Vol. 8, 308.
2. A. Steiner, "The Universal Nutrient Solution", Sixth International Congress on Soilless Culture, Wageningen, pp. 633-650.
3. A.C. Oliveira-Duarte, C. de Oliveira, R.S. Junio, E.M. de Castro, J.O. Siquiera, G.L.R. Guimarães, "Lanthanum content and effects on growth, gas exchanges, and chlorophyll index in maize plants", *Proc. Biol. Sci.*, Vol. 40, 1, e38469, 2018, pp. 2-6.
4. A.H. Chaudhry, S. Nayab, S.B. Hussain, M. Ali, Z. Pan, "Current understandings on magnesium deficiency and future outlooks for sustainable agriculture", *Int. J. Mol. Sci.*, Vol. 22, 4, 1819, 2021, pp. 2-18.
5. F. Hong, Z. Wei, G. Zhao, "Mechanism of lanthanum effect on chlorophyll of spinach", *Sci. China C Life Sci.*, Vol. 45, 2, 2002, pp. 166-176.
6. H. Luo, Y. Chen, L. He, "Lanthanum (La) improves growth, yield formation and 2-acetyl-1-pyrroline biosynthesis in aromatic rice (*Oryza sativa* L.). *BMC*", *Plant Biol.*, Vol. 21, 233, 2021, pp. 2-13.
7. I. Cakmak, E.A. Kirkby, "Role of magnesium in carbon partitioning and alleviating photooxidative damage", *Physiol. Plantarum*, Vol. 133, 4, 2008, pp. 692-704.
8. M. Hauer-Jákli, M. Tränkner, "Critical leaf magnesium thresholds and the impact of magnesium on plant growth and photo-oxidative defense: a systematic review and meta-analysis from 70 years of research", *Front. Plant Sci.*, 10, 2019, pp. 766.
9. M. Tränkner, B. Jákli, E. Tavakol C-M. Geilfus, I. Cakmak, K. Dittert, M. "Senbayram magnesium deficiency decreases biomass water-use efficiency and increases leaf water-use efficiency and oxidative stress in barley plants" *Plant Soil*, Vol. 406, 2016, pp. 409-423.
10. M. Yousaf, S. Bashir, H. Raza, A.N. Shah, J. Iqbal, M. Arif, M.A. Bukhari, S. Hashim, J. Alkahtani, M.S. Alwhibi, C. Hu, "Role of nitrogen and magnesium for growth, yield and nutritional quality of radish", *Saudi J. Biol. Sci.*, Vol. 28, 2, 2021, pp. 3021-3030.
11. R. Backer, D. Salomon, "REAP supplemental fertilizer improves greenhouse crop yield", *bioRxiv*, The Preprint Server for Biology, Vol. 107, 2020, pp. 2411-2502.
12. SAS Institute, "Statistical Analysis System version 9.3, User's Guide", Cary, NC. 2011.
13. W.J. Chen, Y. Tao, Y.H. Gu, G.W. Zhao, "Effect of lanthanide chloride on photosynthesis and dry matter accumulation in tobacco seedling", *Biol. Trace Elem. Res.*, Vol. 79, 2, 2001, pp. 169-176.
14. X. Guan, D. Liu, B. Liu, C. Wu, C. Liu, X. Wang, C. Zou, X. Chen, "Critical leaf magnesium concentrations for adequate photosynthate production of soilless cultured cherry tomato interaction with potassium", *Agronomy*, Vol. 10, 12, 2020, pp. 2-14.
15. X. He, P. You, Y. Sun, "Lanthanum and abscisic acid coregulate chlorophyll production of seedling in switchgrass", *PLoS One*, 15, 5, 2020, e0232750.
16. X. Ye, X-F. Chen, C-L. Deng, L-T. Yang, N-W. Lai, J-X. Guo, L-S. Chen, "Magnesium-deficiency effects on pigments, photosynthesis and photosynthetic electron transport of leaves, and nutrients of leaf blades and veins in *Citrus sinensis* seedlings", *Plants*, Vol. 8, 10, 2019, pp. 389.
17. Z.B. Xie, J.G. Zhu, H.Y. Chu, Y.L. Zhang, Q. Zeng, H.L. Ma, "Effect of lanthanum on rice production, nutrient uptake, and distribution", *J. Plant Nutr.*, Vol. 25, 10, 2002, pp. 2315-2331.

## CRECIMIENTO Y CONCENTRACIÓN DE ÁCIDO INDOLACÉTICO SON AFECTADOS POR EL CERIO EN ARROZ

Sara M. Ramírez-Olvera<sup>1</sup>, Fernando C. Gómez-Merino<sup>2</sup>, Libia I. Trejo-Téllez<sup>1</sup>, Lucero del Mar Ruíz-Posadas<sup>3</sup>, Gabriel Alcántar González<sup>4</sup>, Crescenciano Saucedo-Veloz<sup>5</sup>, Leonardo Hernández-Aragón<sup>6</sup>, Leticia Tavitas-Fuentes<sup>7</sup>

<sup>1-5</sup>Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco km 36.5, 56230 Montecillo, Texcoco, Estado de México. <sup>6,7</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Zacatepec. Carretera Zacatepec Galeana, 62780, Zacatepec de Hidalgo, Morelos.  
Correo-e: ramirez.sara@colpos.mx

### RESUMEN

El arroz es uno de los cultivos de mayor importancia para la población mundial, al ser un alimento básico, por tanto, es de suma importancia la búsqueda de alternativas que mejoren su crecimiento. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la aplicación de 0, 4, 8 y 12  $\mu\text{M}$  Ce en el crecimiento y la concentración de ácido indolacético (AIA) en vástago y raíz de plantas de arroz cv. Morelos A-92. Veinticinco semillas de arroz se colocaron en contenedores de plástico de 12 x 11 cm, sobre papel filtro, al cual previamente se le adicionaron 15 mL de cada tratamiento. Se utilizó cloruro de cerio ( $\text{CeCl}_3$ ) como fuente de cerio, y tres contenedores de plástico por tratamiento. Los contenedores de plástico con las semillas, se colocaron en oscuridad por tres días y a luz natural cuatro días. Después, las plántulas se retiraron de los contenedores y se registró la altura de planta, longitud de raíz y número de raíces, posteriormente con los datos se calculó el valor relativo para cada variable. La concentración de AIA se determinó por cromatografía de alta eficiencia en tejido fresco de vástago y raíz. La adición de Ce a las dosis evaluadas no modificó la altura relativa de planta, ni el número relativo de raíces. La longitud de raíz aumentó con la adición de 4 y 8  $\mu\text{M}$  Ce en 27.10 y 24.50% respectivamente, en relación al tratamiento testigo. En vástago, la adición de 4 y 12  $\mu\text{M}$  Ce redujo en 68.60 y 57.85% la concentración de AIA, en tanto que la adición de 8  $\mu\text{M}$  Ce aumentó en más del 100% la concentración de AIA en raíz. El cerio aumenta el crecimiento de raíz, y modifica la concentración de AIA de plántulas de arroz cv. Morelos A-92.

### INTRODUCCIÓN

El cerio (Ce) es un metal que pertenece al grupo de las tierras raras, grupo constituido por 17 elementos metálicos químicamente similares (15 lantánidos), más escandio e itrio. Dentro del grupo de los lantánidos se encuentran los elementos lantano (La), Ce, praseodimio (Pr), neodimio (Nd), prometio (Pm), samario (Sm), europio (Eu), gadolinio (Gd), terbio (Tb), disprosio (Dy), holmio (Ho), erbio (Er), tulio (Tm), iterbio (Yb) y lutecio (Lu) (Hu *et al.*, 2006). El término raro, hace referencia a el limitado número de depósitos concentrados de tierras raras, y no a su abundancia (Wall, 2014).

Dentro del grupo de los lantánidos, el Ce, es el elemento más abundante en la corteza terrestre, y se encuentra a concentraciones de 20 a 60 ppm. Actualmente, se utiliza en la metalurgia como estabilizador en aleaciones, en aditivos del combustible diésel, y en baterías recargables (Gad, 2005).

El Ce ha mostrado efectos benéficos en el metabolismo vegetal, al mejorar el crecimiento, y la tolerancia a factores de estrés bióticos y abióticos (Trejo-Téllez *et al.*, 2016). Su aplicación aumenta la altura de plantas de arábidopsis (*Arabidopsis thaliana*) (He y Loh, 2000) y arroz (*Oryza sativa*) (Liu *et al.*, 2012); el crecimiento de raíz de jengibre (*Dioscorea zingiberensis*) (Zhang *et al.*, 2013); el peso de biomasa de espinaca (*Spinacia oleracea*) (Fashui *et al.*, 2002); maíz (Hu *et al.*, 2018) y lechuga (Barbieri *et al.*, 2013). No obstante, son pocos los estudios de su efecto en el crecimiento y su interacción con fitohormonas.

El ácido indol-3-acético (AIA) es la principal auxina de las plantas, implicada en diversos procesos fisiológicos como la división celular, la diferenciación de tejidos y las respuestas a la luz y la gravedad (Kowalczyk y Sandberg, 2001), y son pocos los estudios de su efecto en el crecimiento y concentración de AIA.

El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la aplicación de 0, 4, 8 y 12  $\mu\text{M}$  Ce a plantas de arroz de los cultivares Morelos A-92 en el crecimiento y concentración ácido indol-3-acético.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Material vegetal y desinfección de semillas

Semillas de arroz Morelos A-92, se obtuvieron del Banco de Germoplasma del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas (INIFAP). Las semillas se desinfectaron mediante su inmersión en etanol al 70% durante 15 min, después se enjuagaron con agua destilada, enseguida se colocaron en NaClO 5% durante 30 min, después se colocaron en el fungicida Ridomil durante 30 min. Posteriormente 25 semillas en contenedores de plástico de 12 x 15 cm, sobre papel filtro y se adicionaron 15 mL de cada tratamiento. Se utilizó cloruro de cerio ( $\text{CeCl}_3$ ) como fuente de Ce. Los contenedores con las semillas se colocaron en oscuridad por tres días a 28 °C, después a luz natural por cuatro días. Y se adicionaron cada tercer día 2 mL de cada tratamiento. En seguida, se registró la altura de planta, longitud y número de raíces.

### Concentración de ácido indolacético

Se utilizaron 100 mg de tejido macerado de vástago y raíz y se adicionaron 500  $\mu\text{L}$  de solución de extracción, la cual contenía 2-propanol (Baker; Memphis, Tennessee, Estados Unidos), agua HPLC (LiChrosolv; Darmstadt, Alemania), ácido clorhídrico concentrado (Meyer; Ciudad de México, México) (2:1:0.002). Inmediatamente después, las muestras se sonicaron (Cscientific, CS-UB32, Estados Unidos) durante 30 min. Después, a cada muestra se adicionaron 1000  $\mu\text{L}$  de diclorometano grado HPLC (Fermon; Monterrey, México), y se centrifugó a 8000 rpm durante 10 min. Se tomó la fase orgánica (inferior) y se evaporó totalmente el disolvente. Después, se agregaron 500  $\mu\text{L}$  de metanol filtrado, el resultante se filtró en membranas de politetrafluoroetileno de 0.45  $\mu\text{m}$  (Whatman; Amersham, Inglaterra), y se realizó en el cromatógrafo.

Se utilizó el cromatógrafo Agilent 1200, con detector UV (Agilent Technologies, 1200; Santa Clara, California, Estados Unidos), se utilizó la columna C8 (Zorbax; Agilent, Santa Clara, California, Estados Unidos). La fase móvil consistió en acetonitrilo grado HPLC (Baker; Memphis, Tennessee, Estados Unidos) al 20%, y agua grado HPLC al 80% acidificada con ácido trifluoroacético 0.1% (Sigma Aldrich; San Luis, Misuri, Estados Unidos). Se inyectaron 20  $\mu\text{L}$  de cada muestra, con flujo de 2 mL  $\text{min}^{-1}$ . Se utilizaron los estándares, ácido indolacético  $\geq 98\%$  (Sigma Aldrich; San Luis, Misuri, Estados Unidos) como referencia.

## RESULTADOS

El Ce mejora el crecimiento de diversas especies vegetales. Por ejemplo, se ha reportado que la aplicación de 0.1 mM  $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$  a plantas de arroz (Liu *et al.*, 2012); y 17.84  $\mu\text{M}$   $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$  a caupí (Shyam y Aery, 2012) incrementaron la altura de planta. Sin embargo, en esta investigación la adición de Ce a las concentraciones 4, 8 y 12  $\mu\text{M}$ , no modificaron significativamente la altura de planta respecto al tratamiento testigo (Figura 1).

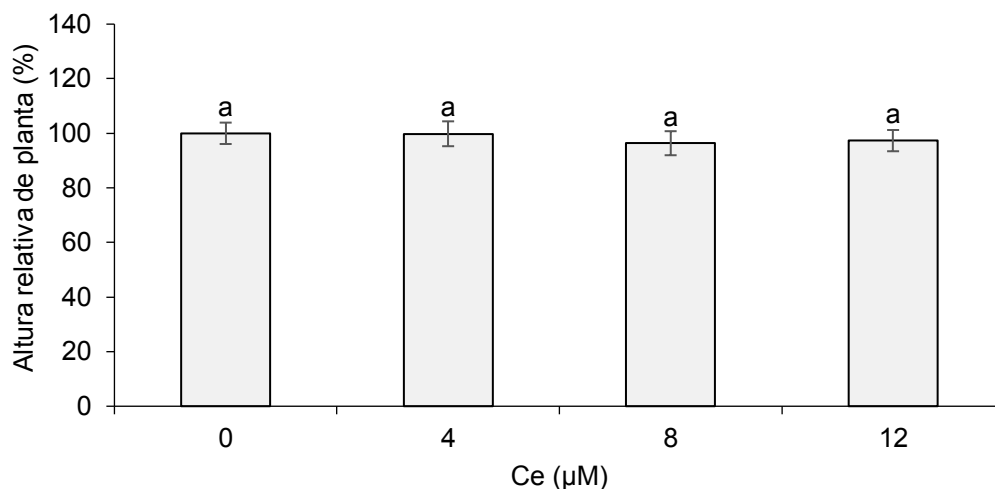


Figura 1. Altura relativa de plántulas de arroz Morelos A-92, tratados con Ce. Medias  $\pm$  DE con letras diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos (Duncan,  $P \leq 0.05$ ).

Respecto a la longitud relativa de raíz (Figura 2), los tratamientos 4 y 8  $\mu\text{M}$  Ce, aumentaron significativamente el crecimiento de raíz, en relación al tratamiento testigo. Lo cual está relacionado al efecto de Ce en la concentración de fitohormonas.

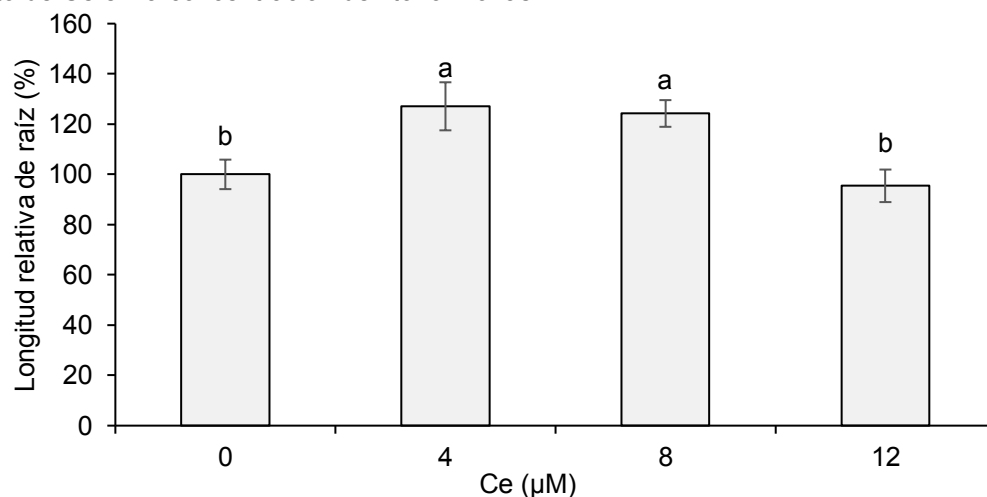


Figura 2. Longitud relativa de plántulas de arroz Morelos A-92, tratados con Ce. Medias  $\pm$  DE con letras diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos (Duncan,  $P \leq 0.05$ ).

Por otro lado, el número relativo de raíces (Figura 3), no se modificó bajo ningún tratamiento de cerio evaluado.

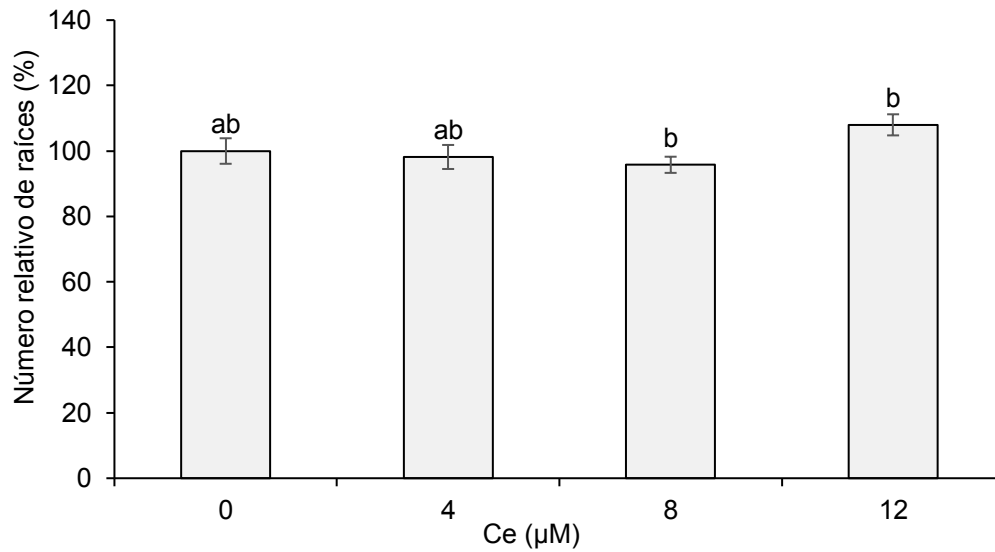


Figura 3. Número relativo de raíces de plántulas de arroz Morelos A-92, tratados con Ce. Medias  $\pm$  DE con letras diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos (Duncan,  $P \leq 0.05$ ).

Respecto a la concentración de ácido indolacético en vástago (Figura 4), la adición de 4 y 12  $\mu\text{M}$  Ce, redujo significativamente la concentración en raíz (Figura 5). Al respecto se ha informado que otros elementos del grupo de las tierras raras como el lantano, estimulan la expresión de los genes relacionados con la biosíntesis de auxinas, además de modificar el transporte de éstas mediado por los transportadores de entrada y salida PIN, lo que cambia la distribución de raíces laterales, y crecimiento de la raíz primaria (Liu *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2017).

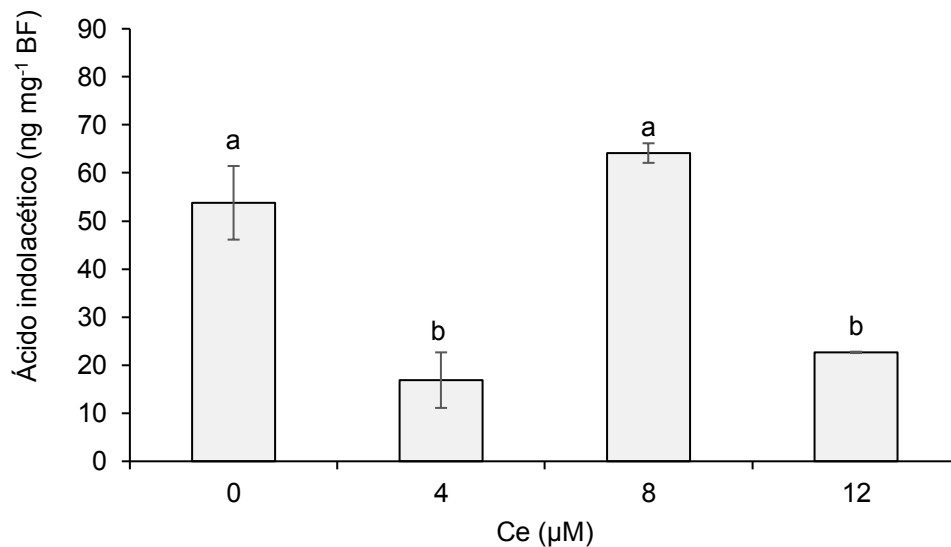


Figura 4. Concentración de ácido indolacético en vástago plántulas de arroz Morelos A-92, tratados con Ce. BF: Biomasa Fresca. Medias  $\pm$  DE con letras diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos (Duncan,  $P \leq 0.05$ ).

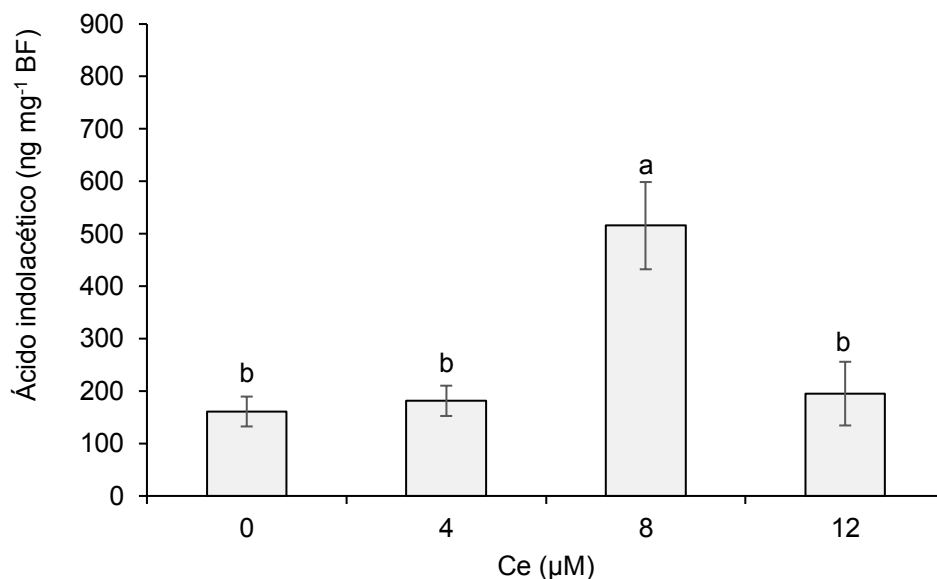


Figura 5. Concentración de ácido indolacético en raíz de plántulas de arroz Morelos A-92, tratados con Ce. BF: Biomasa Fresca. Medias  $\pm$  DE con letras diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos (Duncan,  $P \leq 0.05$ ).

## CONCLUSIONES

La aplicación de Ce a plantas de arroz cv. Morelos A-92, no modifica la altura relativa de planta, ni el número relativo de raíces, incrementa la longitud relativa de raíz, y modifica la concentración de ácido indolacético en vástago y raíz.

## BIBLIOGRAFÍA

1. A. P. P. Barbieri, M. C. G. Espíndola, N.L. de Menezes, D. F. S. Henrique, "Tratamento de sementes de alface com soluções aquosas de cério e lantânio" *Pesq. Agropec. Trop.* Vol. 43, 1, 2013, pp. 104-109.
2. C. Zhang, Q. Li, M. Zhang, N. Zhang, M. Li "Effects of rare earth elements on growth and metabolism of medicinal plants" *Acta Pharm. Sin. B.* Vol. 3, 1, 2013, pp. 20-24.
3. D. Liu, X. Wang, Y. Lin, Z. Chen, H. Xu, L. Wang, "The effects of cerium on the growth and some antioxidant metabolisms in rice seedlings" *Environ. Sci. Pollut. Res.* Vol. 19, 8, 2012, pp. 3282-3291.
4. H. Hu, C. Shan, "Effect of cerium (Ce) on the redox states of ascorbate and glutathione through ascorbate-glutathione cycle in the roots of maize seedlings under salt stress" *Cereal Res. Commun.* Vol. 46, 1, 2018, pp. 31-40.
5. H. Fashui, W. Ling, M. Xiangxuan, W. Zheng, Z. Zheng "The effect of cerium (III) on the chlorophyll formation in spinach" *Biol. Trace Elem. Res.* Vol. 89, 3, 2002, pp. 263-276.
6. H. Hu, C. Shan, "Effect of cerium (Ce) on the redox states of ascorbate and glutathione through ascorbate-glutathione cycle in the roots of maize seedlings under salt stress" *Cereal Res. Commun.* Vol. 46, 1, 2018, pp. 31-40.
7. L. I. Trejo-Téllez, F.C. Gómez-Merino, G. Alcántar-González. 2016. Elementos benéficos: potencialidades y limitaciones. In: *Nutrición de Cultivos. Segunda Edición.* Alcántar González G, Trejo-Téllez L.I, Gómez-Merino F.C. (eds.). Montecillo: Ed. Colegio de Postgraduados. pp. 59-101.
8. M. Kowalczyk, G. Sandberg, "Quantitative analysis of indole-3-acetic acid metabolites in *Arabidopsis*" *Plant Physiol.* Vol.127, 4, 2001, pp. 1845-1853.

9. O. Sytar, P. Kumari, S. Yadav, M. Brestic, A. Rastogi "Phytohormone priming: regulator for heavy metal stress in plants" J. Plant Growth Regul. Vol. 38, 2, 2019, pp. 739-752.
10. R. Shyam, N. C. Aery, "Effect of cerium on growth, dry matter production, biochemical constituents and enzymatic activities of cowpea plants [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]" J. Soil Sci. Plant Nutr. Vol. 12, 1, 2012, pp.1-14.
11. X. Gong, M. Hong, Y. Wang, M. Zhou, J. Cai, C. Liu, "Cerium relieves the inhibition of photosynthesis of maize caused by manganese deficiency" Biol. Trace Elem. Res. Vol. 141, 3, 2011, pp. 305-316.
12. Y. Y. Liu, R. L. Wang, P. Zhang, L. L. Sun, J. Xu "Involvement of reactive oxygen species in lanthanum-induced inhibition of primary root growth" J. Exp. Bot. Vol. 67, 21, 2016, 6149-6159.
13. Y. Liu, L. Sun, P. Zhang, J. Wan, R. Wang, J. Xu "Lanthanum inhibits primary root growth by repressing auxin carrier abundances in Arabidopsis" Front. Plant Sci. Vol. 8, 2017, 1661.
14. Y. He, C. Loh "Cerium and lanthanum promote floral initiation and reproductive growth of *Arabidopsis thaliana*" Plant Sci. Vol. 159, 1, 2000, pp.117-124.
15. Z. Hu, S. Haneklaus, G. Sparovek, E. Schnug "Rare earth elements in soils" Soil Sci. Plant Anal. Vol. 37, 10, 2006, pp. 1381-1420.



## ESTABILIDAD DE UN EXTRACTO DE COL MORADA (*BRASSICA OLERACEA* VAR. *CAPITATA F. RUBRA*) ADICIONADA A UNA BASE DE YOGURT

Espejel Blancas Lorena<sup>1</sup>, Salcedo Rodela Sebastián<sup>1</sup>, María Carmen Fernández Martínez<sup>2</sup>, Zamora Espino Laura Gabriela<sup>1</sup>, Jesús Valencia Arredondo<sup>1</sup> y Jorge Yáñez Fernández<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Instituto Politécnico Nacional, Unidad profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, <sup>2</sup> Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada.  
jyanezfe@ipn.mx.

### RESUMEN

Un extracto crudo de antocianinas de col morada fue adicionado a una base de yogur para evaluar su estabilidad durante el almacenamiento. La sobrevivencia de los microorganismos propios de la base de yogur comercial, así como las propiedades antioxidantes y de estabilidad del color fueron evaluadas durante 4 semanas de almacenamiento. Una base incolora de yogur comercial con  $20 \times 10^5$  UFC/mL, fue adicionada con concentraciones de 0.1, 0.3, 0.6 y 0.9 % de un extracto microfiltrado de antocianinas. La base de yogur con el extracto a diferentes concentraciones fue almacenada a temperatura de refrigeración. Cada semana se determinó viabilidad de los microorganismos, color y capacidad antioxidante. Los resultados obtenidos después de cuatro semanas de evaluación presentan una disminución de la viabilidad en un ciclo logarítmico en las muestras con mayor concentración de extracto, mientras que en la base testigo (sin extracto) no se observaron bacterias viables. La actividad antioxidante presentada fue proporcional a la concentración del extracto y no presentó cambios significativos durante las 4 semanas del ensayo. Por otro lado, el color en la base de yogur mostró tonos rosos y un incremento proporcional a la concentración del extracto. Las tonalidades no presentaron cambios observables durante las 4 semanas de almacenamiento. Estos resultados indican que los extractos de col morada son una opción potencial para su aplicación como colorante en desarrollo de bebidas funcionales con bajos valores de pH.

### INTRODUCCIÓN

Una de las demandas más marcadas por los consumidores actuales es la preferencia por alimentos procesados que no contengan aditivos sintéticos. Así, una de las tendencias es el empleo de los colorantes naturales como ingredientes en diferentes formulaciones de productos alimenticios y esto debido particularmente a que varios estudios indican que existe riesgo potencial derivado del consumo de colorantes sintéticos, como son patologías alérgicas y neurológicas, urticaria y daño al hígado entre otros (Pinela et al., 2019; Mehnaza et al., 2021).

Las fuentes naturales de los colorantes pueden ser muy diversas como es el caso de animales, plantas y microorganismos. Del mismo modo la estructura química del colorante suele ser una forma de clasificarlos, tal es el caso de la clorofila, carotenoides, betalaínas y antocianinas que debido a su propia estructura pueden dar coloraciones que van desde el amarillo, rojo, violeta, hasta el verde y marrón (Sigurdson et al., 2017).

Dentro de los colorantes naturales más importantes para su aplicación en alimentos se encuentran los carotenoides, antocianinas y betalaínas debido a que presentan actividad biológica que promueve beneficios a la salud. (Rodríguez-Amaya, 2019; Mehnaza et al., 2021).

Las antocianinas son el grupo de colorantes más importantes y abundantes en la naturaleza, muestran la mayor diversidad de colores y se encuentran presentes en frutas, flores y verduras como es el caso de la col morada (Athanasious & Thimais, 2013). Los colorantes obtenidos de fuentes naturales alternas como la col morada podrían ser una excelente alternativa a los colorantes sintéticos para su aplicación en alimentos.

### TEORÍA

La característica principal en la col morada es su elevado contenido de sustancias bioactivas como son las antocianinas, los flavonoides y glucosinolatos con actividad terapéutica además del uso

potencial de estas últimas como pigmentos naturales (Charron et al., 2015; Dyrby et al., 2018; Mazza y Miniati, 2018).

Las antocianinas son pigmentos responsables de la gama de colores que abarcan desde el rojo hasta el azul de muchas frutas, vegetales y cereales (Garzón, 2008). El interés en estos pigmentos se ha intensificado gracias a sus posibles efectos terapéuticos y benéficos, dentro de los cuales se encuentran la reducción de enfermedades coronarias, los efectos anticancerígenos, antitumorales, antiinflamatorios y antidiabéticos (He and Guiti, 2010). Además de tener colores atractivos y brillantes son solubles en agua, lo que facilita su incorporación en sistemas acuosos alimenticios.

La col morada es uno de los vegetales más ricos en antocianinas, las cuales son glúcidos formadas por una molécula de antocianidina (Glicona) unida a una fracción de carbohidrato mediante enlaces  $\beta$ -glucosídico. (Giusti y col., 2001; Wu y Prior, 2005). Las antocianinas existen en equilibrio a través de cuatro especies moleculares: el catión flavilio (rojo) a pH 1, si pasa a pH 7 se equilibra en una base quinoidal (azul), por otro lado, al pasar del catión flavilio a un pH de 4.5, se forma una pseudobase de carbinol (incoloro) que concluye en una chalcona (incolora) (Giusti y col., 2001). Esta propiedad de diferentes formas en equilibrio puede aprovecharse en matrices alimentarias que desean mantener estable sus propiedades de color.

### PARTE EXPERIMENTAL

El trabajo experimental en una primera etapa consistió en la obtención de un extracto crudo de col morada, la cual fue adquirida en un mercado local de la Ciudad de México. La col fue lavada y desinfectada, posteriormente fue cortada en pequeños trozos y sometida a hidrólisis ácida controlada. Posteriormente el extracto fue decantado y los sólidos eliminados. El extracto se sometió a un proceso de microfiltración (membrana de polisulfona Minntechâ de arreglo de fibra hueca, tamaño de poro 0.05  $\mu\text{m}$  y área 0.5572  $\text{m}^2$ ) (Fig. 1), donde el permeado fue considerado como el extracto crudo (Fig. 2A). Las condiciones de extracción fueron establecidas previamente por Cerón-Montes et al., (2015)



Figura 1. Proceso de obtención del extracto crudo de col morada.

El extracto fue adicionado a una base de blanca de yogurt (Yogurt Natural) en concentraciones de 0.1, 0.3, 0.6 y 0.9 % (Fig. 2). A cada muestra se le determinó actividad antioxidante por el método de captación de radicales de DPPH evaluada a 517 nm, utilizando un espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda XLS y Trolox como estándar (Sigma Aldrich, México) de acuerdo, con el método propuesto por Brand-Williams et al (1995). También se determinaron antocianinas monoméricas totales (CTAm), esto fue mediante el método de pH diferencial de acuerdo con Giusti y Wrolstad (2001). Paralelamente se determinó cuenta total de microorganismos en las muestras de yogurt. El yogurt con el extracto adicionado se mantuvo en frascos de 100 mL y éstos fueron almacenadas durante 6 semanas en refrigeración (5°C). Cada semana se determinó actividad antioxidante, CTAm y crecimiento de microorganismos por cuenta en placa.



Figura 2. (A) Frasco con extracto crudo microfiltrado y (B) frascos con yogurt-extracto crudo a distintas concentraciones (0.1, 0.3, 0.6, 0.9 %).

## RESULTADOS

En la figura 3 se presentan los resultados de la actividad antioxidante de las muestras en mg eq Trolox /mL. Como se observa, las muestras de yogurt a las cuatro concentraciones (0.1, 0.3, 0.6 y 0.9 %) tienen un aumento significativo en la semana 3, posterior a esto, tienen una disminución de actividad en la semana 4 y estas vuelven a aumentar en la semana 5. Esto puede deberse al microambiente en que se encuentran ya que los metabolitos producidos por las bacterias ácido-lácticas del yogurt pudieron interactuar con los compuestos antioxidantes y producir un efecto sinérgico e inhibitorio. Se observa una clara dependencia entre la actividad antioxidante y concentración del extracto de col morada, obteniendo la mejor respuesta a la concentración de 0.9%, a lo largo de las seis semanas de evaluación.

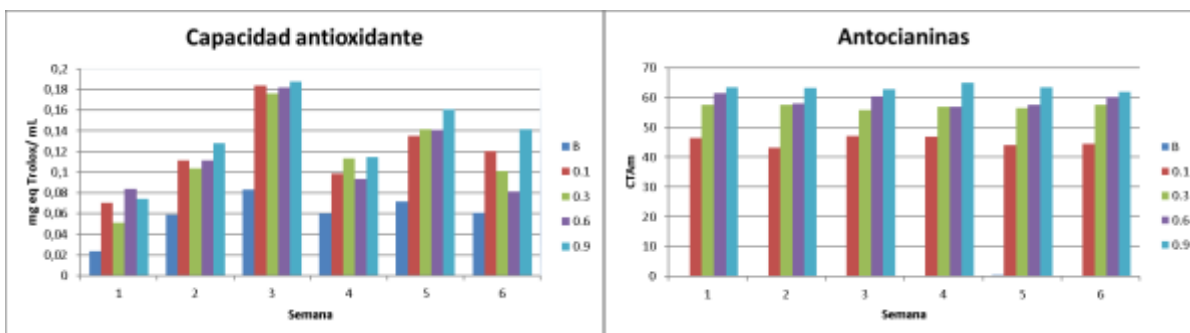


Figura 3. Comportamiento de la capacidad antioxidante y antocianinas monoméricas totales (CTAm) durante el almacenamiento en refrigeración del yogurt adicionado con diferentes concentraciones del extracto de col morada. (B) Testigo, 0.1, 0.3, 0.6 y 0.9 son concentraciones de extracto (%)

Los resultados obtenidos se pueden relacionar a los discutido por Hassimoto et al. (2015), quien relaciona la capacidad antioxidante con el contenido de fenoles totales y las antocianinas, donde cada componente fenólico puede contribuir de forma y proporción diferente. Así mismo se menciona que la capacidad antioxidante no solo depende de la concentración y calidad del componente antioxidante, sino también de su interacción con otros componentes y la metodología aplicada.

Respecto a las antocianinas monoméricas totales (CTAm), las concentraciones obtenidas fueron de 46.48 mg cianidina-3- glucósido/g hasta 44.40 mg cianidina-3- glucósido/g para 1% de extracto, mientras que para 0.3% los valores oscilaron de 57.59 mg /g a 57.47 mg/g. Para las dos últimas concentraciones se tienen valores iniciales de 61.397 mg/g y 63.34 mg/g, y valores finales de 60.12 mg/g y 61.92mg/g a la concentración de 0.6% y 0.9% respectivamente. Los resultados muestran que la cantidad de antocianinas es independientemente de la concentración del extracto crudo y se mantiene constante durante el tiempo de almacenamiento experimentado. Al respecto se conoce que la estabilidad de las antocianinas está fuertemente influida por el pH del medio (Delgado-Vargas

y Paredes-López, 2003), por lo que en valores de pH bajos las coloraciones rojizas son las que prevalecerán si los cambios de pH no se modifican con el tiempo.

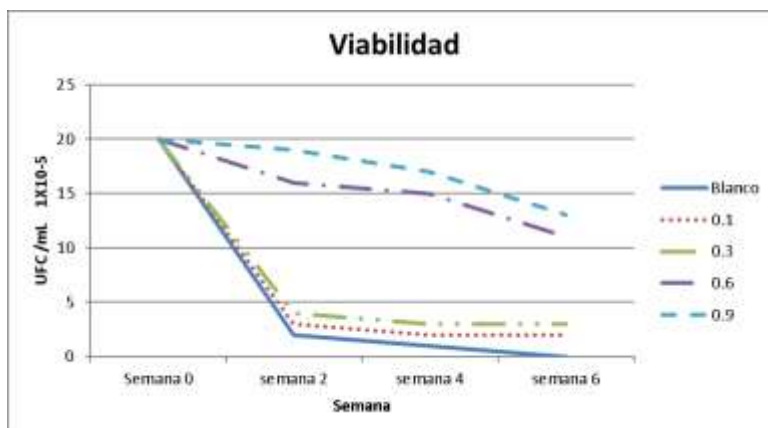


Figura 4. Comportamiento de la viabilidad de los microorganismos a diferentes concentraciones de extracto de col morada, durante 6 semanas de almacenamiento. (B) Blanco o testigo, 0.1, 0.3, 0.6 y 0.9 son concentraciones de extracto (%).

En la figura 4 se presenta el comportamiento de la viabilidad de las bacterias ácido-lácticas del yogurt. Un comportamiento importante es el del blanco o testigo (B), pues inicia a con una concentración de  $20 \times 10^{-5}$  UFC/mL y este valor disminuyendo drásticamente después de 2 semanas de almacenamiento para llegar a un valor nulo, mientras que en las muestras con baja concentración de pigmento (0.1 y 0.3%) siguen el mismo comportamiento hasta las dos semanas y posteriormente permanecen en un estado de viabilidad constante hasta el final del experimento. Las muestras con 0.6 y 0.9 % de extracto mantienen mejor la viabilidad de los microorganismos, teniendo solo una disminución de un ciclo logarítmico. Este comportamiento podría deberse a que el extracto crudo adiciona una cantidad significativa de carbohidratos, proteínas y minerales como el potasio, sodio, fósforo y calcio al medio, incrementando las fuentes de carbono y nitrógeno que mantienen por un mayor tiempo a los microorganismos viables.

## CONCLUSIONES

El extracto crudo de col morada mejoró sustancialmente la viabilidad de las bacterias lácticas del yogurt comercial durante 4 semanas de almacenamiento en refrigeración, respecto al testigo sin adición. Particularmente se observa una mejora en la viabilidad con concentraciones de 0.6 y 0.9 % de extracto crudo. Estos resultados indican que la incorporación de extractos crudos de col morada en matrices con características de pH semejantes a las del yogurt, pueden ser potencialmente empleadas como un colorante en alimentos. Por otro lado, destaca la estabilidad de las antocianinas monoméricas a lo largo del almacenamiento, las cuales contribuye con una ligera actividad antioxidante. Esta actividad antioxidante pudiera ser mejorada con extractos purificados, que darían una mayor funcionalidad a los alimentos a los que se incorporen.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Athanasios Valavanidis, Thomais Vlachogianni. (2013). Plant Polyphenols: Recent Advances in Epidemiological Research and Other Studies on Cancer Prevention. In Chapter 8, Editor(s): Atta-ur-Rahman, Studies in Natural Products Chemistry, Elsevier, Volume 39, p.p 269-295.
2. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT - Food Science and Technology, 28(1), 25-30.

3. Cerón-Montes G., San Martín-Martínez E., Yáñez-Fernández J., Quezada-Cruz M., Castro-Muñoz R. (2015). Preliminary purification of anthocyanins from blue corn by adsorption and electrophoresis, *Rev.Mex.Ing.Quim.*, Vol. 14, No.1, 99-108.
4. Charron C. S., Clevidence B. A., Britz S. J., Novotny J. A. (2015). Effect of dose size on bioavailability of acylated and nonacylated anthocyanins from red cabbage (*Brassica oleracea* L. Var. *capitata*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55(13), 5354–5362.
5. Dyrby M., Westergaard N., Stapelfeldt H. (2018). Light and heat sensitivity of red cabbage extract in soft drink model systems. *Food Chemistry*. 72(4),431–437.
6. Garzón G.A. (2008). Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: Revisión. *Acta biol. Colomb.*, Vol. 13 No. 3, 27-36.
7. Hassimoto, N.M.A.; Genovese, M.I.; Lajolo, F.M. (2015) Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables and commercial frozen fruit pulps. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 2928-2935, 2005.
8. He J, Giusti MM.(2010). Anthocyanins: natural colorants with health-promoting properties. *Annu Rev Food Sci Technol*.1:163-87.
9. Mazza, G., Miniati, E. (2018). Anthocyanins in fruits, vegetables and grain. CRC Press Inc. Boca Raton, Florida, 1–28.
10. Sigurdson GT, Tang P, Giusti MM. (2017). Natural Colorants: Food Colorants from Natural Sources. *Annu Rev Food Sci Technol*. Feb 28;8:261-280.
11. Delgado-Vargas, F. y Paredes-López, O. (2003). Natural Colorants for Food and Nutraceutical Uses. CRC Press, Boca Raton, Florida.
12. Guisti M. M., Wrolstad R.E. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible spectroscopy. C. P. in food analytical chem. John Wiley & Sons. F1.2.1-F1.2.13
13. Maria Isabel Landim Neves, Eric Keven Silva, Maria Angela A. Meireles. (2021). Natural blue food colorants: Consumer acceptance, current alternatives, trends, challenges, and future strategies. *Trends in Food Science & Technology*, Volume 112, pp. 163-173.
14. Pinela J, Prieto M, Pereira E, Jabeur I, Barreiro M.F, Barros L., Ferreira I.C. (2019) Optimization of heat-and ultrasound-assisted extraction of anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* calyces for natural food colorants. *Food Chemistry*, 275, pp. 309-321
15. Rodríguez-Amaya D.B. (2019) Natural Food Pigments and Colorants. In: Mérillon JM., Ramawat K. (eds) *Bioactive Molecules in Food*. Reference Series in Phytochemistry. Springer, Cham.
16. Wu X., Prior R. L. (2005). Identification and characterization of anthocyanins by high performance liquid chromatography-electrospray, ionization-tandem, mass spectrometry in common foods in the United States: Vegetables, nuts, and grains. *J. Agric. and Food Chem*. 53(8), 3101–3113.

## ÍNDICE DE AUTORES

- Aarland Rayn C. 132, 152, 261  
 Acevedo Hernandez Gustavo Javier 12, 27, 86, 132, 152, 261  
 Aguado Andrade Zaira Vianey 245  
 Aguirre Arroyo Estefania 173  
 Ake Canché Baldemar 282  
 Alcalá Escamilla Karla Itzél 127, 190, 291  
 Alcántar González Gabriel 364, 447, 479  
 Alejos de la Fuente José-Isidro 120  
 Almaraz Buendía Isaac 120, 442  
 Alvarado Ávila Laura Yavarik 127, 291  
 Alvarez Cortés Osvaldo 276  
 Ambríz García Demetrio Alonso 392, 463  
 Ángel Sahagún César Andrés 173  
 Aragón-Magadan Marco A. 235  
 Arechavaleta Velasco Miguel Enrique 127, 291  
 Arroyo Figueroa Gabriela 115, 331  
 Ávila Castillo Blas Rogelio 442  
 Ayala Pérez, Luis Amado 36  
 Azcárraga Salinas Brenda Yanin 286  
 Barajas Mendoza María Antonieta 296  
 Barrón Busch David 78  
 Basurto Gaytan Rebeca 217  
 Bello-Bello Jericó Jabín 360  
 Bernal Gudiño Alejandra 158  
 Betancur Ancona David Abraham 190  
 Bibbins Martínez Martha Dolores 286  
 Blancas Flores Gerardo 392  
 Buendía Valverde María de la Luz 452  
 Buendía-Valverde María de la Luz María 388, 424  
 Carballo-Sánchez Marco Polo 200  
 Carrillo-Parra Artemio 146  
 Casimiro Rodríguez María Guadalupe 115  
 Castellanos Hernández Osvaldo Adrián 12, 27, 86, 132, 152, 261  
 Castillo Adame Iliana Lizeth 36  
 Castillo-Morales Marisol 376  
 Castro Herrera Rigoberto 45  
 Castro-Ramos Job Jonathan 231  
 Castro-Rivera Rigoberto 231, 318  
 Centeno Parra Juan Carlos 331  
 Chan Chan Lerma Hanaiy 401  
 Chan Keb Carlos Alberto 282  
 Chávez-Díaz I. Fernando 235  
 Chávez-Simental Jorge Armando 146  
 Clarenc Aarland Rayn 12, 27, 86  
 Conejo Dávila Efraín 205  
 Contreras-Oliva Adriana 272, 340, 372, 376  
 Corona-Torres Tarsicio 388, 424  
 Cortés Espinosa Diana Verónica 286  
 Cortez Romero César 392  
 Cruz Cruz Carlos Alberto 344  
 Cruz-Cárdenas Carlos I. 235  
 Cruz-Izquierdo Serafín 388, 424  
 Díaz Pérez César 70, 195, 381  
 Dzul Cauich Jorge G. 115  
 Esparza-Arroyo Silvia E. 252  
 Espejel Blancas Lorena 485  
 Espinosa Alonso Laura Gabriela 45  
 Espinosa Cervantes Román 463  
 Feregrino-Pérez Ana A. 252  
 Feregrino-Pérez Ana Angélica 241  
 Fernández Lambert Gregorio 5, 335  
 Fernández Martínez María Carmen 485  
 Figueroa Saavedra Fernando 120  
 Flores-Gómez Carlos A. 252  
 Franco Hernández Marina Olivia 109  
 Gallegos Tintoré Santiago 190  
 García Figueroa Claudia 127, 291  
 García Hernández David Gilberto 78  
 García Herrera Axel Javier 105  
 García Morales Soledad 19  
 García Rodríguez Karina Lizett 12  
 García Santamaria Luis Enrique 335  
 García Vargas Sofía Angélica 93  
 Garnica Romo Ma. Guadalupe 276  
 Gasca Tirado José Ramón 381  
 Gaxiola Camacho Soila 323  
 Gervacio-Canales Agustín 99  
 Giles Antúnez, Adriana 109  
 Gómez Hernández Alejandro 307  
 Gómez Luna Blanca Estela 70, 381  
 Gómez Merino Fernando C. 424, 438, 479  
 Gómez Merino Fernando Carlos 272, 340, 344, 352, 356, 360, 364, 372, 376, 388, 433, 447, 452, 475  
 González Martínez Karla Ivonne 245  
 Gonzalez Tejada Lucero Alejandra 195  
 Gracida Rodríguez Jorge Noel 225  
 Gregorio Fernández Lambert 185  
 Gutiérrez Alcántara Eduardo Jahir 282  
 Gutiérrez Alcántara Jocelyn 282  
 Gutiérrez-Antonio Claudia 241  
 Guzmán Báez Gabriela Abigail 272, 352, 360  
 Hernández Carrillo Nallely J. 115  
 Hernández Carrillo Valeria 225  
 Hernández Tapia Vanesa Yeraldin 463  
 Hernández-Aragón Leonardo 364, 479  
 Hernández-Cázares Aleida Selene 272, 340, 372, 376  
 Hernández-Mora Alejandro Esli 272, 340, 372, 376  
 Hernández-Mora Esli Alejandro 360  
 Hernández-Navarrete Carlos E. 252  
 Hernández-Zaragoza Jesús Marcelino 152  
 Herrera Méndez Carlos Herán 331  
 Hidalgo-Contreras Juan Valente 360  
 Jaime Ferrer Jesús Salvador 411  
 Jiménez-González Beatriz Adriana 447, 475  
 Jiménez-Salgado Teresita 139  
 Juárez Hernández Estefania Odemaris 158  
 Juárez-Rangel Ana Patricia 231, 318  
 León Morales Janet María 19  
 Leos Rivas Catalina 78  
 Letechipía de León Consuelo 217, 307  
 Leura Quintana Jesús Eduardo 158  
 Linares González Yessica Alejandra 93  
 López Cornejo Claudia Isabel 19  
 López Gutiérrez Tomas Joel 282

- López Ramírez Varinia 457  
 López Ramos María del Carmen 282  
 López-Meza Verónica 261  
 Loza Rodríguez Hilda 392  
 Lozoya Pérez Nancy Edith 205, 457  
 Macías Sánchez Karla Lizbeth 158  
 Maldonado Arce Amir 401  
 Maldonado Pacheco Jobana Marleth 331  
 Maldonado-Peralta Ramiro 200  
 Martínez Contreras Rebeca Debora 93  
 Martínez Flores Héctor Eduardo 276  
 Martínez Téllez Miguel Ángel 323  
 Mateos-Nava Rodrigo A. 388, 424  
 Medina Godoy Sergio 45  
 Medina Saavedra Tarsicio 115, 331  
 Medrano Lango Fernanda Nayeli 411  
 Medrano-García, Jesus E. 132  
 Megchún García Juan Valente 307  
 Méndez-Zepeda Oscar 139  
 Mexicano Santoyo Lilia 331  
 Meza Nieto Martín 120, 442  
 Miranda Valenzuela Dévora Mariel 45  
 Moguel Ordoñez Yolanda Beatriz 127, 190, 291  
 Molina Díaz José Alejandro 401  
 Montalvo Romero Nayeli 5, 335  
 Montalvo-Aguilar Karim Hassam 231  
 Montero-Solis Flor María 99, 200  
 Montes Melchor Dulce Carolina 442  
 Montiel Rosales Aarón 5, 185, 335  
 Morales Edén 411  
 Morales García José Luciano 19  
 Morales Lara Laura 93  
 Morales Vargas Adán Topiltzin 70  
 Moreno Rivera María de Lourdes 109  
 Murillo Cuevas Félix David 185  
 Muro Medina Carlos Vladimir 19  
 Nakase Rodríguez Carlos Yossio 185  
 Navarro Maldonado María del Carmen 392, 463  
 Noriega Luna Berenice 105  
 Noriega-González Luis A. 252  
 Olivares Terrones Ruben Antonio 27  
 Ordaz-Chaparro Víctor M. 99  
 Orona Tamayo Domancar 205, 411, 457  
 Orozco Corona Dulce María 217, 307  
 Ortiz Caltempa Anabel 19  
 Ortiz-Sánchez Ixchel Abby 146  
 Pacheco Cantú Eugenia 59  
 Pacheco Flores Cutberto 59  
 Pacheco-Ortiz José Agustín 231, 318  
 Pámanes-Carrasco Gerardo Antonio 146  
 Peña Moreno Ricardo Darío 93  
 Peralta Ortiz J. Jesús Germán 442  
 Peralta Ortiz Jesús-Germán 120  
 Peralta Sánchez María Guadalupe 99, 352, 360, 368, 447, 475  
 Peralta Sánchez, Ma. Guadalupe 200, 429, 438  
 Pereda-Solis Martín Emilio 146  
 Pérez Balan Román Alberto 282  
 Pérez Linares Cristina 120  
 Pineda-Nieto Silvia A. 241  
 Purroy Vasquez Rubén 5  
 Puy Y Alquiza María Jesús 105  
 Quintana Obregón Eber Addi 200, 323  
 Quintana Rodríguez Elizabeth 205, 411, 457  
 Quintana-Obregón Eber A. 99  
 Quiroz Segoviano Teresita de Jesus 70  
 Rafael Martínez Patricia 115  
 Ramírez Antonio Víctor José 344, 356  
 Ramírez Granados Juan Carlos 195, 381  
 Ramírez Ramírez Francisco Javier 127, 291  
 Ramírez-Antonio Víctor José 433  
 Ramírez-Olvera Sara M. 479  
 Ramírez-olvera Sara Monserrat 340, 356, 364, 372, 376, 433  
 Ramos Martínez Miguel Ángel 442  
 Ramos-Garza Juan 235  
 Rico Rodríguez Miguel Ángel 225  
 Ríos-Barreto Yasbet 368, 429  
 Ríos-Posada Argelia 139  
 Rivas Morales Catalina 78  
 Rivera-Vargas Giovanna 99  
 Robinson Fuentes Virginia Angélica 245  
 Rodríguez Romero Angelica 318  
 Rodríguez Sahagún Araceli 12, 27, 86, 132, 152, 261  
 Romero-Rodríguez Angelica 231  
 Ruíz-Posadas Lucero del Mar 479  
 Ruíz-Ramírez Santiago 235  
 Salcedo Rodela Sebastián 485  
 Salinas Ruiz Josafhat 356, 433  
 San Miguel Chávez Rubén 429  
 San Martín Hernández César 99, 200, 447, 475  
 San Miguel-Chávez Rubén 368  
 Sánchez-Camarillo Ana Rosa 231  
 Sandoval Peraza Valentino Mukthar 190  
 Sandoval-Cancino Gabriela 235  
 Sandoval-Jiménez Laura B. 86  
 Saucedo-Veloz Crescenciano 479  
 Serafín Muñoz Alma Hortensia 105  
 Serkin Vladimir 93  
 Serrano Velarde Germán 296  
 Silva Aparicio Luis Enrique 217  
 Silva Aparicio Marisa 59  
 Soley Nava Berenice 286  
 Solís-Oba María Myrna 231, 318  
 Soliz Oba María Myrna 45  
 Soto González Daniela 457  
 Soto-Hernández Ramón Marcos 368, 429  
 Tapia Campos Ernesto 19  
 Tapia-Hernández Armando 139  
 Tavitas-Fuentes Leticia 364, 479  
 Tejeda Sartorius Olga 352, 368, 429, 447, 475  
 Tirado Torres David 282  
 Torres Cardona María-Guadalupe 120, 442  
 Torres Flores Nadia Issaí 352  
 Torres Flores Nadia Issaí 452  
 Torres-Flores Nadia I. 438  
 Trejo Téllez Libia Iris 272, 340, 344, 352, 356, 360, 364, 368, 372, 376, 388, 429, 433, 447, 452, 475  
 Trejo-Téllez Libia I. 424, 438, 479  
 Valdez Morales Maribel 45  
 Valencia Arredondo Jesús 485

Valencia Hernández Juan Antonio 225  
Valencia Posadas Mauricio 173  
Valenzuela Ortiz Griselda 323  
Vásquez Hernández Sugey 344  
Vazquez Avendaño José Roberto 392, 463  
Vázquez Marrufo, Gerardo 245  
Vázquez Martínez Juan 205, 457  
Vázquez Rivera Ana Guadalupe 381  
Vázquez-Hernández Ma. Cristina 252  
Vega Rodríguez Brenda Iliana 36  
Velázquez-Chávez Leticia de Jesús 146  
Veloz García Rafael Alejandro 70  
Villalba Villalba Ana Gloria 401  
Yáñez Fernández Jorge 485  
Zamora Espino Laura Gabriela 485  
Zelaya-Molina Lily X. 235  
Zermeño Zúñiga Stephany 296



# EDITORAS

MARÍA EUGENIA SÁNCHEZ MORALES

GLORIA VERÓNICA VÁZQUEZ GARCÍA

AMALIA MARTÍNEZ GARCÍA

CRISTINA E. SOLANO SOSA

EVA LILIANA RAMOS GUERRERO



ISBN OBRA COMPLETA  
TRABAJOS CIENTÍFICOS EN MÉXICO



ISBN TOMO II  
BIOTECNOLOGÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

