

DECLARACIÓN LEGAL

EDITORES:

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

Publicación electrónica

ISBN GENERAL 978-607-8358-86-1

Tomo II: Biotecnología y Ciencias Agropecuarias

ISBN 978-607-8358-88-5

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

Octubre de 2020



Miscelánea Científica 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 2020
León, Gto., México

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

Contenido

GRANA COCHINILLA: COLOR Y SU RELACIÓN ENTRE EL MANEJO POSCOSECHA Y PORCENTAJE DE ÁCIDO CARMÍNICO	5
EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE LOMBRICOMPOSTA EN LA CALIDAD DEL CULTIVO DE RÁBANO (<i>RAPHANUS SATIVUS</i> L.)	10
CARACTERIZACIÓN BACTERIOLÓGICA DE MUESTRAS DE SUELO CONTAMINADO CON HTP Y EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO EN PRESENCIA DE CONTAMINANTES	21
OPTIMIZACIÓN DE UN PROCESO DE EXTRACCIÓN DE MUCÍLAGO DE SEMILLAS DE <i>SALVIA HISPANICA</i> L.	32
INFLUENCIA DE FERTILIZACIÓN ORGÁNICA Y QUÍMICA SOBRE LA GERMINACIÓN Y DESARROLLO FOLIAR DE FRIJOL COMÚN (<i>PHASEOLUS VULGARIS</i> L.).....	39
EFFECTO DEL TE DE COMPOST EN TOMATE (<i>Lycopersicum esculentum</i> Mill.) BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO.	46
SILICIO EN EL CRECIMIENTO VEGETATIVO DE PLANTAS DE ARROZ MORELOS-A98.....	56
REDUCIENDO LA DOSIS EFECTIVA DEL CISPLATINO USANDO NANOPARTÍCULAS DE ORO COMO VEHÍCULO.....	61
CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES Y CLOROFILAS EN LA INDUCCIÓN FLORAL DE <i>Laelia anceps</i> POR EFFECTO DE ÁCIDO GIBERÉLICO EXÓGENO	69
EFFECTO DEL LANTANO EN EL ÁREA FOLIAR DE PLÁNTULAS DE TOMATE CON NUTRICIÓN DIFERENCIAL DE CALCIO	74
EL VERDADERO AMOR TÓXICO: EL TOLOACHE	79
EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE LOMBRICOMPOSTA EN LA CALIDAD Y COMPUESTOS CON ACTIVIDAD ANTIOXIDANTES EN LECHUGA (<i>Lactuca sativa</i> L.).....	90
ADN EXTRACELULAR ACTÚA COMO PATRÓN MOLECULAR ASOCIADO A DAÑO EN LA MICROALGA NEOCHLORIS OLEOABUNDANS.....	102
EFFECTO DE EXTRACTOS DE PIEL DEL HUESO Y CASCARA DE AGUACATE CRIOLLO SOBRE EL OSCURECIMIENTO DE LA PULPA DEL MISMO FRUTO.....	106
AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS PRESENTES EN SEMILLAS DE FRIJOL DEL ESTADO DE GUERRERO	114
ESTABLECIMIENTO DE UN SISTEMA DE MICROPROPAGACIÓN PARA UNA PLANTA MEDICINAL DEL GÉNERO <i>Lobelia</i> ORIGINARIA DE LA MESETA PURÉPECHA	123
USO DE INOCULANTES BACTERIANOS NATIVOS EN LA PRODUCCIÓN DE FRIJOL COMÚN EN LA REGIÓN DEL VALLE DEL GUADIANA.....	129
EFFECTO SINÉRGICO DE CERIO Y SACAROSA EN LA CALIDAD DE VIDA DE FLORERO DE <i>Eustoma grandiflorum</i>	135
CERIO MEJORA EL CRECIMIENTO RELATIVO DE MACOLLOS Y EL PESO DE BIOMASA FRESCA DE PLANTAS DE ARROZ.....	140

COMPARACIÓN DE CARACTERÍSTICAS DE CONFORMACIÓN LINEAL EN SIETE RAZAS DE CABRAS DE ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA.....	145
IDENTIFICACIÓN DE HIDROLASAS PEPTIDOGUCANO PRODUCIDAS POR BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS.	158
OPERACIÓN PILOTO DE LA PARED VERDE EN UPIIG	172
ANÁLISIS ESTADÍSTICOS PARA LA ELABORACIÓN DE UNA ALTERNATIVA DE ALIMENTO SALUDABLE A BASE DE NOPAL NATURAL COSECHADO EN LA REGIÓN CARBONÍFERA..	187
USO DE MICROORGANISMOS NATIVOS COMO PROBIÓTICOS DURANTE LA ENGORDA DE LOS CONEJOS.....	198
LA ADICIÓN DE AMARANTO, QUINUA Y HUAUZONTLE MEJORAN LA CALIDAD NUTRIMENTAL Y FUNIONAL DE UNA SOPA TIPO MINESTRONE.....	202
EFFECTO DEL SELENIO EN EL CRECIMIENTO INICIAL Y EL CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN PLANTAS DE FRIJOL (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	210
CERIO EN EL ESTATUS DE LOS MICRONUTRIMENTOS B, Mn Y Zn EN DIFERENTES ÓRGANOS DE TULIPÁN	218
EVALUACIÓN DE LA BIODEGRADACIÓN DEL HIDROGEL DE ACRILAMIDA/ACIDO ACRÍLICO ENTRECruzADO CON LIGNINA MODIFICADA UTILIZANDO <i>Pseudomonas putida</i> Y <i>Bacillus</i> sp.	223
EVALUACIÓN DEL DISEÑO HIDROLOGICO Y VERIFICACIÓN ACTUAL DE ALMACENAMIENTOS DE AGUA DE LLUVIA PARA USOS AGROPECUARIOS EN EL ESTADO DE COLIMA.....	229
OBTENCIÓN DE LOS COMPONENTES BIOACTIVOS DE LA PULPA RESIDUAL DEL BENEFICIO HÚMEDO DEL CAFÉ.....	233
CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE CEPAS DE <i>Azospirillum</i> sp. AISLADAS DE LOMBRICOMPOSTA.....	240
DESARROLLO Y FORMULACIÓN DE UNA POMADA CON POLVO, TIZANA Y ACEITE DE AZADIRACHTA INDICA (NEEM).....	244
COMPOSICIÓN PROXIMAL Y FITOQUÍMICA DE <i>Stenocactus multicosatus</i> SUBSP. <i>zacatecasensis</i> (CACTACEAE)	252
CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE MEZQUITE PROSOPIS LAEVIGATA DE CINCO LOCALIDADES DEL ESTADO DE GUANAJUATO.....	262
ANÁLISIS PARAMÉTRICO DE MELANINA DERIVADA DE CÁSCARA DE NUEZ	267
RENDIMIENTO DE FRIJOL (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) EN SUELOS BIORREMEDIADOS DEL VALLE DEL GUADIANA, DURANGO	280
FOSFITO Y ESTRÉS ABIÓTICO EN PIGMENTOS FOTOSINTÉTICOS EN CAÑA DE AZÚCAR César Antonio Casasola-Elizondo; Fernando Carlos Gómez-Merino; Gabriel Alcántar-González; Yolanda Leticia Fernández-Pavía; Libia Iris Trejo-Téllez.	285
DIVULGACIÓN DEL ESTUDIO CIENTÍFICO EN GENÉTICA DE LAS LEVADURAS INVOLUCRADAS EN LA ELABORACIÓN DEL MEZCAL.....	290

PESO FRESCO DE PLÁNTULAS DE CHILE POBLANO EXPUESTAS A METALES DE TRANSICIÓN	298
EVALUACION DE EXTRACTO DE OREGANO EN CULTIVO DE FRIJOL PINTO SALTILLO CONTRA TIZON DE HALO.....	303
CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES TOTALES EN CEMPASÚCHIL (<i>Tagetes erecta</i>) VAR. INCA EN RESPUESTA A DIFERENTES PORCENTAJES DE SOMBREADO	309
EVALUACIÓN DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN Y CONTAMINACIÓN EN MEDIO DE CULTIVO QUÍMICO Y ORGÁNICO EN LA PROPAGACIÓN <i>in vitro</i> DE DOS ESPECIES DE AGAVE	313
INMUNODETECCIÓN DE HONGOS FITOPATÓGENOS CON NANOPARTÍCULAS DE ORO ...	323
EL ALMACÉN MODIFICA EL CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS Y LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE PRODUCTOS DERIVADOS DE LA FRUTA DEL GARAMBULLO (<i>Myrtillocactus geometrizans</i>).....	330
DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA DE DIATOMEAS TERMÓFILAS AISLADAS DE TAPETES MICROBIANOS FORMADOS EN AGUAS TERMALES Y SU APLICACIÓN BIOTECNOLÓGICA.....	336
INCIDENCIA DE MICROORGANISMOS BENÉFICOS DEL SUELO EN EL RENDIMIENTO DE FRIJOL PINTO SALTILLO	345
GENERACIÓN DE MICROGREENS COMO PROPUESTA PARA DIVERSIFICAR EL CONSUMO DE CHÍA (<i>Salvia hispanica</i> L.)	351
CALIDAD NUTRICIONAL DEL FRIJOL PINTO SALTILLO EN CONDICIONES DE FERTILIZACIÓN QUÍMICA Y ORGÁNICA	357
CONCENTRACIÓN FOLIAR DE Ca, Mg Y S EN PLANTAS DE CHILE JALAPEÑO TRATADAS CON TALIO	362
EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE ALMIDONES DE TRES VARIEDADES DE CAMOTE (<i>Ipomoea spp.</i>) PARA SU UTILIZACIÓN EN LA ELABORACIÓN DE BIOPLÁSTICOS.....	366
MORFOMETRÍA DE FRUTOS Y SEMILLAS DE <i>PACHIRA AQUATICA</i> EN LA COMUNIDAD DE EL CAMARÓN, (VERACRUZ).....	379
EFFECTO DEL SUMINISTRO DE MAGNESIO Y DE LA APLICACIÓN DE LANTANO EN ÁREA FOLIAR Y LECTURAS SPAD DE PLÁNTULAS DE TOMATE.....	383
PRODUCCIÓN DE <i>METARHIZIUM ANISOPLIAE</i> EN RESIDUOS DE POLIETILENO DE ALTA DENSIDAD	388
USO DE CALOSTRO INOCUO COMO MEDIDA DE BIOSEGURIDAD APLICADA PARA LA CRIANZA EFICIENTE DE BECERRAS DE RAZAS LECHERAS	393
CARACTERIZACIÓN DE LODOS RESULTANTES DEL PROCESO DE LODOS ACTIVADOS DE LA PTAR NUMERO UNO TLALNEPANTLA, EN EL ESTADO DE MÉXICO, PARA UN POSTERIOR USO EN LA AGRICULTURA	398
VIABILIDAD DE POLEN, DENSIDAD Y TAMAÑO DE ESTOMAS EN AUTOTETRAPLOIDES Y DIPLOIDES DE <i>Physalis ixocarpa</i>	408
DEGRADACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DE PLÁSTICOS PARA SU REUSO EN EL MEJORAMIENTO DE SUELOS.....	419

APLICACIÓN ESPECIALIZADA EN EL CUIDADO DE ÁRBOLES FRUTALES CRECE CONMIGO	431
BIOFUNCIONALIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ORO PARA SU APLICACIÓN EN BIODETECCIÓN	440
NUTRICIÓN NITROGENADA EN LA CONCENTRACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES EN HOJAS E INFLORESCENCIAS DE CEMPASÚCHIL	447
CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES TOTALES CEMPASÚCHIL (<i>Tagetes erecta</i>) VAR. INCA EN RESPUESTA A DIFERENTES PORCENTAJES DE SOMBREADO	452
PROPIEDADES MECÁNICAS Y DEGRADACIÓN QUÍMICA DE PELÍCULAS ELABORADAS CON ALMIDÓN DE <i>S. edule</i> Y POLIVINIL ALCOHOL	463
FERTILIZACIÓN Y DESARROLLO <i>IN VITRO</i> DE EMBRIONES DE OVINO OBTENIDOS POR OPU Y TRANSPORTADOS DURANTE 7 HORAS.	470
ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE EXTRACTOS ETANOLICOS Y ACEITES ESENCIALES EN HONGOS PATOGENOS.....	479
EVALUACION DE EXTRACTO DE OREGANO EN CULTIVO DE FRIJOL PINTO SALTILLO CONTRA TIZÓN DE HALO.....	487
INDICE DE AUTORES	493

GRANA COCHINILLA: COLOR Y SU RELACIÓN ENTRE EL MANEJO POSCOSECHA Y PORCENTAJE DE ÁCIDO CARMÍNICO

Gabriela Arroyo Figueroa, Tarsicio Medina Saavedra, Ángel Alexis Cabrera Álvarez y Carlos Hernán Herrera Méndez

Universidad de Guanajuato.
gabiaf@yahoo.com.mx.

RESUMEN

El método de sacrificio usado en el manejo poscosecha del insecto grana cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa) podría afectar las características de este, como son su color y el porcentaje de ácido carmínico. La calidad de la grana cochinilla se mide tomando en cuenta diversos elementos de entre ellos, el tamaño, humedad, color, porcentaje de ácido carmínico, etc. Por lo que el objetivo de este trabajo fue analizar el color del insecto seco entero y molido en relación con las técnicas de sacrificio dentro del manejo poscosecha y el porcentaje de ácido carmínico. La metodología consistió en llevar a cabo cuatro métodos de sacrificio (cernido, asfixia, agua caliente y congelación), llevándolo posteriormente a un secador solar. Esto dentro de un invernadero de producción intensiva del insecto en Nopaltepec, México, durante el verano del 2019. Se tomaron muestras del insecto para cada técnica de sacrificio después del secado, se determinó el porcentaje de ácido carmínico, con el método espectrofotométrico. Se midió el color del insecto seco entero y molido, mediante un colorímetro marca Minolta CR 400 en la escala CIELab*. Como resultado se obtuvo que existen diferencias significativas en el porcentaje de ácido carmínico con respecto a la técnica de sacrificio ($P \leq 0.05$), obteniéndose mayor porcentaje de ácido carmínico en el método de congelación. Y por otro lado cada método de sacrificio arrojó un color diferente para la grana seca entera y molida. Observando que entre mayor es el porcentaje de ácido carmínico el color de la grana seca entera es más oscuro y el de la molida es más rojizo. Por lo que se concluyó que existe una relación entre el color de la grana cochinilla seca y molida con el método de sacrificio y el Porcentaje de ácido carmínico.

INTRODUCCIÓN

Color en la grana cochinilla: Se cree que la calidad del insecto depende del color y a su vez al precio de ésta, va relacionada con la calidad, por lo que es importante la medición del color, generalmente solo se valora mediante la vista (parte de pruebas organolépticas). Sin embargo, se requiere realizar una medición más precisa que de como resultado un valor determinado, ya que este pudiera ser un método para determinar la calidad del insecto sin necesidad de analizar el contenido de ácido carmínico. Actualmente los compradores y productores de la grana cochinilla se basan en el porcentaje de ácido carmínico que contienen el insecto para determinar la calidad de éste (Marrone, 2015).

Producción de la grana cochinilla: Por otro lado, se considera que el proceso de producción del insecto tiene influencia en la calidad del producto final (Casilla, 2012). Algunos autores consideran que tiene mucho que ver desde el hospedero para infestación (variedad, características de la penca, edad de la misma, etc); el tipo de pie de cría para la infestación; los métodos o técnicas de infestación; los diferentes tipos de producción del insecto, por ejemplo como lo es el uso de nopalotecas con pencas cortadas y colgadas; y las condiciones en el desarrollo del insecto tales como factores bióticos y abióticos, y finalmente la cosecha y el manejo poscosecha (como se recolecta, los métodos de sacrificio y los métodos de secado). Sin embargo, son pocos los trabajos referidos a estos temas, donde se pueda observar si existe o no influencia de cada uno de los puntos anteriores sobre la calidad y características de la grana cochinilla.

Por lo que el objetivo de este trabajo fue analizar el color del insecto seco entero y molido en relación con las técnicas de sacrificio dentro del manejo poscosecha y el porcentaje de ácido carmínico.

TEORÍA

Se considera importante hacer una medición técnica del color, mediante un colorímetro y a su vez analizar a que se debe el cambio de coloraciones y por lo tanto el cambio de calidad de la grana

cochinilla, esto para tener un mejor manejo de la producción que lleve a la obtención de un producto de calidad. 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 y en la Figura 2, una fotografía de la grana molida, de igual manera para las 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 aumentado la calidad se va haciendo más grisácea como es el caso de la calidad mediana (20-21% de ácido carmínico). Finalmente, para una calidad más alta el color se la grana seca es más plateada oscura 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 (Dahlgren, 1990). Para la grana molida en la figura 2, se observa que el color rojizo va aumentando conforme aumenta la calidad de la grana cochinilla. Sin embargo, generalmente solo se realiza la valoración del color por medio visual, 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 entera o molida sin necesidad de determinar el porcentaje de ácido carmínico.



Figura no. 1. Se muestra la grana cochinilla entera con sus tres calidades con su respectivo porcentaje de ácido carmínico (Molero y Herrera, 2013).

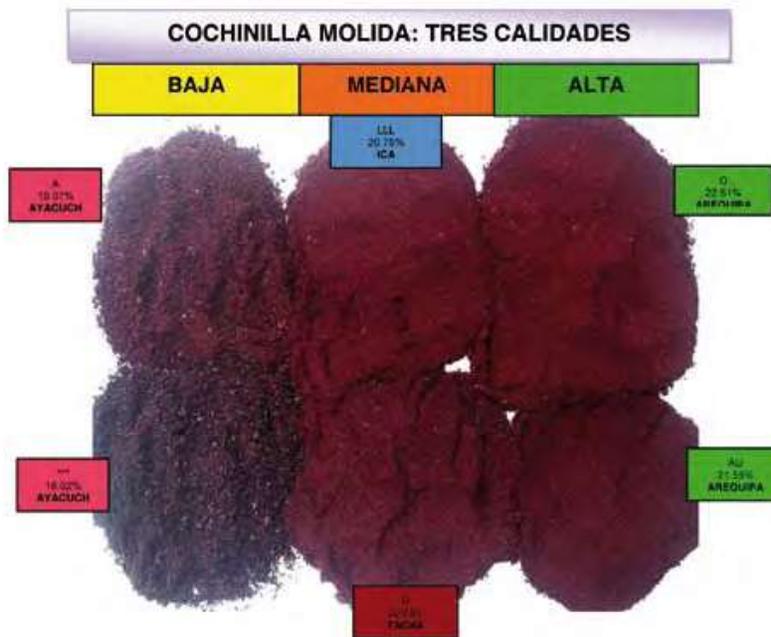


Figura no.2. Se muestra la grana cochinilla molida con las tres calidades con su respectivo porcentaje de ácido carmínico (Molero y Herrera, 2013).

PARTE EXPERIMENTAL

La metodología consistió en medir el color de cada una de las muestras obtenidas después del manejo poscosecha con los cuatro métodos de sacrificio (cernido, asfixia, agua caliente y congelación), llevándolo posteriormente a un secador solar. Esto dentro de un invernadero de producción intensiva del insecto en Nopaltepec, México, durante el verano del 2019. Se tomaron muestras del insecto por triplicado, para cada técnica de sacrificio después del secado, se determinó el porcentaje de ácido carmínico también por triplicado, con el método espectrofotométrico (Marmi6n, 1984). Se midi6 el color del insecto seco entero y molido, con el promedio de tres lecturas, mediante un color6metro marca Minolta CR 400 en la escala CIELab*. Es un sistema coordinado cartesiano definido por tres coordenadas colorim6tricas L^* , a^* y b^* , de magnitudes adimensionales (Michael *et al.*, 2003; Shanker y Vankar, 2007).

RESULTADOS

En la tabla no. 1, se observa el color obtenido en la grana cochinilla entera para los diferentes m6todos de sacrificio. Dado que la coordenada L^* nos muestra el nivel de claridad o luminosidad del color en la grana cochinilla entera, en un rango de 0-100, se puede decir que mientras m6s pr6xima a cero la coordenada L^* , m6s oscuro es el tono del color del insecto. En cuanto a la coordenada a^* , muestra la tendencia del color al rojo siendo n6meros mayores a cero o hacia el verde siendo n6meros menores a cero. Por tanto, mientras m6s positivo sea la coordenada en a^* el color de la grana cochinilla estar6 m6s cercano al color rojo (Shanker y Vankar, 2007; Michael *et al.*, 2003). Como la coordenada L^* representa la luminosidad, si el color es m6s claro u oscuro. Se observa el valor m6s oscuro para el m6todo de Congelaci6n ($L^*=55.07$). con una coloraci6n menos rojiza ($a^*=0.54$) y un color menos azul ($b^*=0.34$). Lo que sugiere una coloraci6n m6s plateada. Esto a comparaci6n de los otros m6todos de sacrificio, para el caso de la grana cochinilla entera. Por otro lado, al observar la tabla no. 3, se pude ver que el m6todo de sacrificio de congelaci6n presento el mayor valor del porcentaje de ácido carmínico ($23.5\pm 0.36\%$), lo que sugiere que efectivamente como

planteaban nuestros antepasados de que entre más plateada es la grana cochinilla entera el porcentaje de ácido carmínico es mayor (Dahlgren, 1990).

Tabla no.1. Coordenadas del color de la grana cochinilla entera

Grana Entera			
Secador Solar			
Métodos de Sacrificio	L*	a*	b*
Asfixia	52.72	3.05	-0.58
Congelación	55.07	0.54	0.32
Cernidor	48.32	0.82	0.34
Agua Caliente	41.01	2.16	0.59

En la tabla no.2, se observa las coordenadas de color obtenidas para la grana cochinilla molida. Recordando que la coordenada a*, entre más alta sea tiene una tendencia hacia el color rojo, por lo que se observa que los métodos de congelación y cernido presentan los valores más altos en la coordenada a*, es decir una coloración más rojiza. Es decir, para la grana cochinilla molida, entre más rojo es el color la cantidad de ácido carmínico es mayor (Tabla 3). Por lo que la calidad de la grana cochinilla puede ser evaluado por medio de un colorímetro, solo que es preciso determinar si se analiza la grana cochinilla entera o molida, ya que los resultados del color son diferentes.

Tabla no.2. Coordenadas de color para la grana cochinilla molida.

Grana Molida			
Secador Solar			
Métodos de Sacrificio	L*	a*	b*
Asfixia	6.19	19.99	5.84
Congelación	7.79	21.68	7.6
Cernido	5.72	22.05	6.53
Agua Caliente	4.81	12.95	3.26

En la tabla no. 3, se muestra el porcentaje de ácido carmínico obtenido para cada una de las muestras con los respectivos métodos de sacrificio y su desviación estándar. Se puede observar que el valor más alto lo presenta el método de congelación. Por lo tanto, se confirma que tiene que ver el manejo poscosecha con la calidad del insecto grana cochinilla, tal como es afirmado por algunos productores (Casilla, 2012).

Tabla no.3. Valores obtenidos del análisis del porcentaje de ácido carmínico para cada muestra de cada método de sacrificio.

Método de Sacrificio	% de ácido Carmínico
Cernidor	21.8±0.18
Asfixia	21.2±0.74
Agua Caliente	21.0±0.12
Congelación	23.5±0.36

CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos se considera importante para la grana cochinilla determinar el color, siendo fundamental ya que se pudo observar que existe una relación de este con el porcentaje de ácido carmínico. Por otro lado, se observó que también tiene relevancia el proceso de producción en este caso el manejo poscosecha, aunque se tendrían que realizar más pruebas para

las diferentes etapas del proceso para determinar cuál de las etapas del proceso tiene más relevancia.

BIBLIOGRAFÍA

1. Casilla García Martín Eloy. 2012. Asistencia técnica dirigida en manejo post cosecha de cochinilla. Ed. UNALM y Agrobanco servicios financieros para el Perú rural. Perú. Pp. 26 – 29.
2. Dahlgren B. 1990. La grana cochinilla. Editado por Instituto de Investigaciones Antropológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México. Pp. 341.
3. Manrrome Luciana. 2015. Tintes Naturales. Técnicas ancestrales en un mundo moderno. Ed. Dunken. Argentina. Pp. 89 – 90.
4. Marmion M. 1985. Handbook of U.S. colorants for foods, drugs, and cosmetic. Wiley interscience publication. Pp. 443.
5. Michael M. N., Tera F. M., Aboelanwar S. A. 2003. Colour measurements and colourant estimation of natural red dyes on natural fabrics using diferentes mordants. Focus on natural dyes. Colourage. Colour Publications (P) Ltd, Pp. 31-42.
6. Shanker R., Vankar P. S. 2007. Dyeing cotton, wool and silk with Hibiscus mutabilis (Gulzaba). Dyes and Pigments; 74: 464-469.

EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE LOMBRICOMPOSTA EN LA CALIDAD DEL CULTIVO DE RÁBANO (*RAPHANUS SATIVUS* L.)

Jimena Esther Alba Jiménez^{1*}, Idalia Berenice Galán Galán², Asalia Yucaidy Lima Silva³, Armando J. Martínez Chacón⁴, Miriam Rodríguez Olivarez², Irma Patricia Polanco Medina³, José Luis Chávez Servia⁵ y Elia Nora Aquino Bolaños⁶

¹CONACyT-Universidad Veracruzana, ²Instituto Tecnológico Superior de Xalapa, ³Universidad Veracruzana, ⁴Instituto de Neuroetología, Universidad Veracruzana, ⁵CIIDIR-Oaxaca, Instituto Politécnico Nacional, ⁶Centro de investigación y desarrollo de alimentos, Universidad Veracruzana
*jimena_tete@hotmail.com

RESUMEN

La agricultura es un sistema de manejo basado en el uso de insumos, maquinaria y energía fósil. Pero en el último siglo se ha modificado debido al crecimiento de la población y la demanda implícita que implica. Por ello, se han introducido tecnologías para aumentar el uso de los recursos naturales y aumentar la producción, utilizando fertilizantes químicos, los cuales se acumulan en el suelo, agua y atmósfera a pesar de su alto grado de toxicidad. En consecuencia, los suelos son más compactos, las raíces de las plantas son superficiales y hay menor desarrollo y crecimiento de biomasa. Una alternativa para evitar estos efectos es a partir de utilizar fertilizantes orgánicos como la lombricomposta para aumentar la eficiencia productiva y así aprovechar los residuos orgánicos. Por lo que el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la aplicación de lombricomposta como sustrato orgánico en el cultivo de rábano (*Raphanus sativus* L.). Se sembraron semillas de rábano en un sustrato conformado por 50% suelo y 50% de lombricomposta y como control las plantas crecieron en suelo. Se evaluó el rendimiento y las características morfológicas, parámetros fisicoquímicos, antioxidantes, actividad antioxidante, contenido de proteína, ácido ascórbico y determinación de la actividad enzimática de peroxidasa (POD). Uno de los resultados más relevantes fue el mayor rendimiento, en el tratamiento con lombricomposta. Además, los rábanos cosechados en el tratamiento con lombricomposta tuvieron mejores características de crecimiento en cuanto a la altura de la planta, número de hojas (8.6), diámetro del bulbo y el valor promedio de biomasa. Sin embargo, no hubo diferencias en los parámetros de color: luminosidad (L^*), cromaticidad (C^*) y ángulo de matiz (h°); pH, °Brix, SST, porcentaje de humedad y sólidos totales entre tratamientos en los rábanos procedentes de los dos grupos de plantas. El contenido de compuestos antioxidantes si varió, ya que los rábanos de las plantas con lombricomposta en contraste al grupo control fue mayor en contenido de polifenoles (2.19 y 0.28 mg EAG g^{-1} tf), flavonoides (2.19 y 0.28 mg EAG g^{-1} tf), en cáscara y bulbo respectivamente, y antocianinas (2.46 mg Eq. Cianidina-3-Glucósido g^{-1} tf). Finalmente, la capacidad antioxidante determinada en cáscara y bulbo (6.82 y 1.12 μ mol Eq. Trolox g^{-1} tf), la actividad antioxidante (16.2104 y 2.7215 μ mol Eq. Trolox g^{-1} tf), contenido de proteína (0.0034g Eq. Albúmina g^{-1} tf) y actividad enzimática de peroxidasa (60.99 UA POD g^{-1} proteína min^{-1}), fueron mayor en promedio en las plantas control, pero el contenido de ácido ascórbico (0.88 mg Eq. Ácido ascórbico g^{-1}) fue mayor en el tratamiento de lombricomposta. En conclusión, el contraste en la concentración de compuestos fenólicos, capacidad y actividad antioxidante en plantas sin tratamiento de lombricomposta (control) podría atribuirse al estrés causado por carencia de humedad y nutrientes edáficos. Por lo tanto, el uso de lombricomposta es una alternativa para mejorar el crecimiento, desarrollo, calidad y parámetros fisico-químicos en los frutos de rábano.

INTRODUCCIÓN

La agricultura es considerada como una de las actividades económicas, sociales y ambientales esenciales para el ser humano; provee de bienes naturales en forma de alimento, o de materias primas para otras industrias; además, forma parte del paisaje y aporta ventajas medioambientales en la conservación del suelo, preservando la biodiversidad y procurando una gestión sostenible de recursos naturales. Asimismo, supone unas de las actividades esenciales para el desarrollo económico y social de numerosas zonas rurales (OCDE, 2019).

Con el creciente aumento de la población, la agricultura se ha visto afectada drásticamente por la alta demanda de alimentos para atender las necesidades humanas. Debido a ello se han buscado

alternativas para incrementar la producción reduciendo tiempos de cosecha sin afectar la calidad de los alimentos, además de cuidar los suelos (Alonso, 2004).

La agricultura orgánica surge como una solución para proteger el medio ambiente y las diferentes especies de plantas y animales de los peligros de la agricultura convencional o moderna. Las formas de producir hortalizas de manera intensiva sobre sustratos orgánicos, favorece la obtención de altos rendimientos en los cultivos, que permitirá a los productores conservar los suelos, obtener ingresos adicionales y además constituir una fuente de empleo segura (Gómez *et al.*, 1999).

La lombricomposta es una fuente rica en nutrientes que aporta al cultivo los requerimientos necesarios para su desarrollo y crecimiento; es una estrategia de desarrollo sustentable que se fundamenta, no solo en un mejor manejo del suelo, sino también en un mayor valor comercial basado en principios ecológicos (Mazariegos, 2018).

El rábano es una hortaliza de gran importancia, debido a que está compuesta principalmente de ácido fólico, vitamina C y antocianinas; sin embargo, es un alimento perecedero, lo cual lo hace susceptible a plagas, enfermedades y pardeamientos, los cuales ocasionan daños en la calidad del cultivo que afectan directamente la producción y comercialización (Patil *et al.*, 2009).

TEORÍA

En los últimos años se ha incrementado el uso la agricultura ecológica, con el objetivo de producir alimentos libres de contaminantes químicos, con un alto valor nutricional y organoléptico. Estos sistemas contribuyen a la protección del medio ambiente, la reducción de los costos de producción y permiten obtener una renta digna a los agricultores (Reglamento CEE, 1991). El abono orgánico es un producto natural que tiene la capacidad de mejorar la fertilidad del suelo y por ende la producción y productividad de los cultivos.

Al respecto, Alonso (2004), reporta que el uso de fertilizantes orgánicos (composta, lombricomposta y biodigestados líquidos) mejoran el crecimiento, rendimiento y calidad de follaje del cultivo de cilantro (*Coriandrum sativum*, L.). Por su parte, Rizo (2011) reportó en cultivos de zanahoria, lechuga, rábano y cilantro, que los abonos orgánicos (Lombricomposta y Bocashi) presentan mayor número de plantas germinadas y mayor rendimiento.

Así mismo, Sol *et al.* (2016) reportan que la aplicación de lombricomposta a base de café y bagazo de caña en *Moringa oleifera* L., mejora su crecimiento vegetativo, incrementa el contenido de clorofila y aporta una mejor nutrición a la planta.

Es por ello, que el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la aplicación de lombricomposta como sustrato orgánico en la calidad del cultivo de rábano (*Raphanus sativus* L.).

DISEÑO EXPERIMENTAL

Se emplearon semillas de rábano "champion" (*Raphanus sativus* L.) de la marca comercial Hortaflor (México), las cuales se utilizaron para realizar un diseño experimental en el invernadero del Instituto Tecnológico Superior de Xalapa Unidad Xico, ubicado en el municipio de Xico, Veracruz (latitud de 19°25'77"N, longitud 97°00'26"O, y altitud de 1600 msnm), donde se realizó la siembra y cultivó la hortaliza. Para lo cual se prepararon dos zanjas (1 m de ancho x 1.5 m de largo x 0.40 m de altura), colocando en una de las zanjas el tratamiento con lombricomposta, el cual consistió de 50% suelo y 50% de humus de lombriz, y en la otra zanja se colocó el tratamiento control, el cual fue 100% suelo. A ambos sustratos se les realizó un análisis de suelo para poder tener referencia de sus componentes, los resultados se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Análisis de suelo de los tratamientos en suelo y con lombricomposta.

	Suelo	Lombricomposta
pH	4.95	8.30
Materia orgánica (%)	18.5	23.0
Acidez (cmol/Kg)	0.21	0.16
K (cmol/ Kg)	0.43	38.72
P (mg/kg)	0.44	176.10
Ca (cmol/ Kg)	2.56	9.77
N (%)	0.99	1.41
C (%)	14.89	17.28
C/N	15.0	12.0

La siembra se realizó colocando las semillas a una distancia de 5 x 20 cm entre cada hilera. La cosecha se llevó a los 38 días después de la siembra y fueron utilizados 10 rábanos por tratamiento para la determinación de los parámetros desarrollo, humedad, pH, sólidos solubles totales (SST), proteína, vitamina C, fenoles totales, flavonoides totales, antocianinas monoméricas, actividad antioxidante, capacidad antioxidante y la actividad de la enzima peroxidasa (POD).

MÉTODOS

Obtención de extractos

Extracto acuoso

Para determinar los °Brix y pH, se obtuvo un extracto de 10 g de rábano finamente picado, el cual se homogeneizó (DAIHA-Brand HG-IS-A, Gangwan, Korean) a 50 rpm por 1 min en 10 mL de agua destilada, fue filtrado y el filtrado fue utilizado para el análisis.

Extracto para proteína

Se pesó 1 g de rábano finamente picado con 6 mg de PVPP y se añadieron 25 mL de buffer KCL a pH 13. La muestra fue homogeneizada (DAIHA-Brand HG-IS-A, Gangwan, Korean) y posteriormente fue centrifugada a 4000 rpm durante 20 min a 10 °C (Hettich Zentrifuge Universal 32R Tuttlingen, Alemania). El sobrenadante fue utilizado para realizar el análisis.

Extracto para Vitamina C

Del bulbo del rábano sin cáscara, se obtuvo una muestra de 2 g de rábano y se añadieron 10 mL de ácido oxálico 25 mM, se homogeneizó (DAIHA-Brand HG-IS-A, Gangwan, Korean), y filtró para su posterior análisis.

Extracto etanólico

Para la determinación de polifenoles, flavonoides, antocianinas, capacidad y actividad antioxidante, se realizaron dos extractos: el primer extracto fue obtenido de 2 g de bulbo de rábano sin cáscara y el segundo extracto se obtuvo únicamente de la cáscara. Cada extracto fue homogeneizado (DAIHA-Brand HG-IS-A, Gangwan, Korean.) a 50 rpm durante 1 min con 10 ml de metanol al 80% (v/v), posteriormente, fueron centrifugados a 4000 rpm durante 20 min a 10 °C (Hettich Zentrifuge Universal 32R Tuttlingen, Alemania), se filtraron, y el sobrenadante fue analizado.

Extracto enzimático

Para el extracto enzimático se obtuvo una muestra de 1 g de rábano finamente picado con 0.1 g de PVPP y se añadieron 20 mL de amortiguador de fosfato de sodio 50 mM (pH 7) a 4 °C, se homogeneizó (DAIHA-Brand HG-IS-A, Gangwan, Korean.) a 50 rpm durante 1 min. Posteriormente, se centrifugó a 4000 rpm durante 20 min a 10 °C (Hettich Zentrifuge Universal 32R Tuttlingen, Alemania), se filtró, y el sobrenadante fue utilizado para realizar el análisis.

Parámetros

Desarrollo

Se seleccionaron 10 rábanos de cada tratamiento y se realizó un conteo del número de hojas; mediante un vernier digital, se tomaron medidas de altura (cm), longitud del bulbo (cm) y diámetro del bulbo (mm), y con la ayuda de una balanza digital (Ohaus Adventurer Pro AV212) se realizó el peso (g) por planta.

Color

Se determinó mediante un espectrofotómetro para sólidos (Konica Minolta CM-2600d, Osaka, Japón). Los parámetros evaluados fueron L^* , a^* , b^* , C^* y h° , donde L^* corresponde al valor de luminosidad en una escala del 0 al 100 que corresponde a negro y blanco, respectivamente. A su vez, a^* y b^* son coordenadas cromáticas, valores de a^* negativo a positivo indica verde a rojo; b^* negativo a positivo indica azul al amarillo. Mientras que C^* indica la cromaticidad, es decir, la pureza del color y h° o ángulo de matiz se refiere al tono.

Humedad y pH

El contenido de humedad se determinó mediante el uso de una termobalanza (VELAB VE-50-5 Illinois, USA) tomando 1 g de tejido de la muestra previamente cortada a una temperatura constante de 145 °C. El pH de los extractos del bulbo de los rábanos cosechados en los tratamientos fue medido mediante un potenciómetro digital (Hanna Instruments, modelo HI 8424) como lo indica la A.O.A.C. (1995).

Sólidos solubles totales (SST)

Se determinaron los sólidos solubles por medio de un refractómetro digital (ATAGO Palette digital refractometer, USA) y se reportó como °Brix. Las lecturas se realizaron por cuadruplicado para cada extracto de los tratamientos.

Determinación de proteína

El contenido de proteína fue medida por el método de Bradford (Bradford, 1976) para el cual se utilizó 0.5 mL del extracto obtenido con la solución amortiguadora pH 13 y se adicionó 0.5 mL de la solución de Bradford (azul de comassie). Se registró la absorbancia a una longitud de onda de 595 nm (JENWAY 6305, Sttafordshire, United Kingdom). Los resultados fueron expresados con las unidades de mg proteína g^{-1} bs.

Determinación de vitamina C

El contenido de vitamina C se cuantificó por el método de titulación descrito por Carvalho *et al.*, 1990, a partir de 2 mL de la muestra filtrada del bulbo del rábano sin cáscara y se adicionaron 9 mL de ácido oxálico y 1 mL de HCl 1 N. Posteriormente, se tituló con sal sódica (2,6-dicloroindofenol) hasta obtener un vire de incoloro a rosa, y se registró el volumen gastado. La cuantificación se realizó con una curva estándar de ácido ascórbico de 0.005 a 0.02 mg mL^{-1} . El resultado se expresó como mg de ácido ascórbico g^{-1} ff.

Fenoles totales

Los compuestos fenólicos se determinaron de acuerdo al método de Singleton y Rossi (1965). Agregando 0.4 μ L del extracto etanólico, 1 mL de agua destilada y 200 μ L del reactivo de Folin-Ciocalteu, dejándolo reposar 8 min. Posteriormente, se adicionó 2 mL de Na_2CO_3 al 7% (p/v) y 1.4 mL de agua destilada, se agitó en vortex y se reposó durante 1 hora. La absorbancia se midió a 750 nm en un espectrofotómetro marca JENWAY – 6305, y la unidad de registro fue mg EAG g^{-1} ff.

Flavonoides totales

Para la determinación de flavonoides se utilizó la metodología descrita por Zhishen *et al.* (1999). Se mezclaron 250 μ L del extracto de la muestra con 75 μ L de $NaNO_2$ al 5% (p/v), se agitó vigorosamente, y se añadieron 150 μ L de $AlCl_3$ al 10% y se incubó durante 5 min. Posteriormente, se adicionaron 500 μ L de NaOH 1 M y se adicionó agua destilada hasta alcanzar un volumen de 3

mL. La absorbancia se leyó a 510 nm en un espectrofotómetro de la marca JENWAY- 6305. Para la cuantificación se utilizó una curva estándar de (+) catequina ($0.01 - 0.5 \mu\text{g mL}^{-1}$), y la unidad se expresó en $\text{mg EC g}^{-1} \text{tf}$.

Antocianinas monoméricas

La determinación de antocianinas monoméricas en la muestra obtenida de la cáscara de rábano se realizó por el método de pH diferencial descrito por Giusti y Wrolstad (2001). Se utilizaron soluciones amortiguadoras de cloruro de potasio ajustado a pH 1 y acetato de sodio a pH 4.5, los cuales fueron adicionados a 600 μL de la muestra, llevándolos a un volumen final de 3 mL. La absorbancia se midió a una longitud de onda de 510 nm como absorbancia máxima en el intervalo visible de 420-700 nm con un blanco de metanol al 80% en un espectrofotómetro (Shimadzu UV-1800, Kyoto, Japan). El contenido de antocianinas monoméricas se reportó como mg de Cianidina-3-O-glucósido $\text{g}^{-1} \text{tf}$.

Actividad antioxidante

La determinación de actividad antioxidante, se realizó por el método 2,2-difenil-1-picrilhidracil o DPPH descrito por Brand-Williams *et al.* (1995). A 100 μL de cada extracto se adicionaron 2.9 mL del reactivo de DPPH, se incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Después del tiempo de incubación se midió la absorbancia a una longitud de onda de 750 nm. Para la cuantificación se realizó una curva estándar de Trolox (0.13 a $0.79 \mu\text{mol ETrolox mL}^{-1}$), los resultados se expresaron en $\mu\text{mol Eq Trolox g}^{-1} \text{tf}$.

Capacidad antioxidante

La determinación de capacidad antioxidante se realizó por el método descrito por Benzie y Strain (1999). El reactivo de FRAP mediante la mezcla amortiguadora de acetato (0.3 M pH 3.6), con una solución 10 mM de TPTZ a 10 mM (2, 4, 6 -tripirydylyl-s- triazine) en HCl 40 mM y una solución 20 mM de $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, en una proporción 10:1:1. Para realizar la reacción, a 100 μL de extracto se adicionaron 3 mL del reactivo de FRAP, posteriormente se incubó a 37°C en baño maría por 30 min. Después del tiempo de incubación se leyó en un espectrofotómetro (JENWAY 6305, Sttafordshire, United Kingdom) a 593 nm. La cuantificación de la actividad antioxidante se realizó mediante una curva estándar de Trolox (0.1 a $1 \mu\text{mol Eq. Trolox mL}^{-1}$) y la unidad de medición fue $\mu\text{mol Eq Trolox g}^{-1} \text{tf}$.

Peroxidasa (POD)

La actividad enzimática se determinó por el método descrito por Zhou *et al.* (2015), con algunas modificaciones. La mezcla de reacción fue medida con 100 μL de la solución de enzima cruda, 500 μL de guayacol 50 mM, 500 μL de peróxido de hidrógeno 0.1 M, 500 μL de agua destilada y 1.5 mL de amortiguador de fosfato de sodio 50 mM (pH 7.0). La mezcla fue mantenida a 25°C y el cambio en la absorbancia fue medido durante 3 min a 470 nm. La actividad fue expresada como unidades de actividad (UA) en la cual una unidad de POD fue definida como el cambio en una unidad de absorbancia por minuto.

Análisis estadístico

Las variables de respuesta fueron analizadas utilizando Modelos Lineales Generalizados (GLM), con un diseño bifactorial. Donde los factores analizados fueron el tratamiento con dos niveles: la composición del sustrato (tratamiento 50% lombricomposta y 50% suelo fértil), y el grupo control (100% suelo fértil); y el extracto con dos niveles (Cáscara y Bulbo). La medición de las variables de respuesta fue sobre unidades experimentales independientes con 2 réplicas por tratamiento por cuadruplicado ($n=16$). Las variables respuesta fueron transformadas a intervalos "ranqueo" (Conover e Iman 1981), para cumplir con los supuestos de distribución de error normal y homogeneidad de varianzas. Posterior al análisis, se realizó la conversión de los valores promedio e intervalos de confianza a su escala original. Los análisis fueron procesados en el software estadístico JMP 6 (SAS Institute Inc., Cary NC 1989-2007).

RESULTADOS

Desarrollo

En el rendimiento del cultivo, se obtuvo un mayor número de rábanos en lombricomposta (107) en comparación con el control (suelo) (27), presentando sólo un 33.5 % de defectos los rábanos de lombricomposta, mientras que los rábanos del grupo control un 77.3% (Figura 1). Estos resultados nos indican que el uso de lombricomposta ayudaría a incrementar la producción de rábano, disminuyendo pérdidas, e incrementando su comercialización.

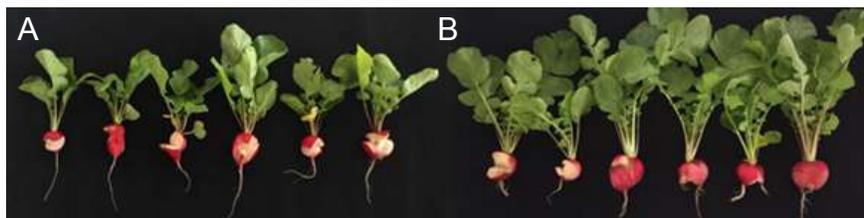


Figura 1. Defectos de rábanos cultivados en suelo (A) y defectos de rábanos cultivados en Lombricomposta (B).

En cuanto a la altura de la planta, no hubo diferencia entre tratamientos (Tabla 2). Khede *et al.* (2019) reportaron un comportamiento diferente en rábano (*Raphanus sativus* L.) cv. Japanese White, donde la altura de la planta fue mayor en los rábanos de lombricomposta en comparación con el control; mismo comportamiento fue reportado por Kumar y Gupta (2018), en rábano (*Raphanus sativus*). Por su parte, Moreno *et al.* (2005) reportaron en plantas de tomate un comportamiento similar a lo observado en este estudio, ya que la altura de planta no fue afectada por la aplicación de lombricomposta en combinación con arena.

Tabla 2. Variables del desarrollo vegetativo de rábanos cultivados en suelo y lombricomposta.

Parámetros	Control	Lombricomposta
Peso (g)	24.38±3.03 ^b	51.70±3.03 ^a
No. Hojas (Unidad)	7.2±0.33 ^b	8.6±0.33 ^a
Altura (cm)	24.13±0.89 ^a	25.94±0.89 ^a
Diámetro (mm)	30.99±1.26 ^b	41.53±1.26 ^a
Longitud (cm)	11.3±0.48 ^a	7.43±0.48 ^b

Valores promedio (± error estándar) con la misma letra no son significativamente diferentes ($P \leq 0.001$)

El número de hojas, diámetro del bulbo y peso de los rábanos con lombricomposta fue mayor en comparación con el control, mientras que la longitud del bulbo fue mayor en el grupo control (Tabla 2) (Figura 2). Kovshov y Iconnicov (2017) reportaron una similar tendencia en la variedad de rábano *Raphanus sativus* L. cv. "Sofit", donde el mayor diámetro y peso se obtuvo en el cultivo con biohumus, con un incremento de 43.55% y 17.7% con respecto al control. Así mismo, se ha reportado en otras variedades de rábano (*Raphanus sativus* L. cv. "Granát", "Japanese White") que el uso de diferentes tipos y proporciones de lombricomposta incrementa el diámetro y peso (Khede *et al.*, 2019; Kováčik *et al.*, 2018; Kumar y Gupta, 2018). Por su parte, Gómez *et al.* (2008) reportan una mayor longitud del bulbo (*Rhabanus sativus* L.) con un fertilizante orgánico de composta en relación con los rábanos sin abono orgánico, lo cual difiere a lo reportado en este estudio.

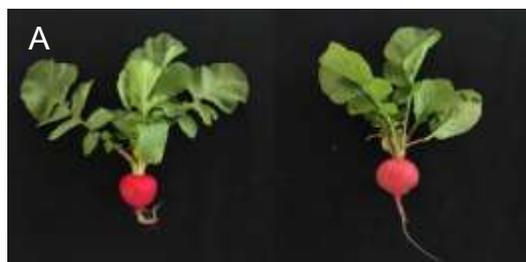


Figura 2. Rábano cultivado en Lombricomposta (A) y suelo (B).

El mayor número de hojas, diámetro del bulbo y peso observado en rábanos cultivados en lombricomposta, puede ser atribuido a la capacidad de retención de agua y nutrientes de los fertilizantes orgánicos (Jeavons, 2002). Además, uno de los componentes más importantes en la lombricomposta es el nitrógeno, que participa en el crecimiento y desarrollo de la planta, así como también favorece el incremento de la producción y ayuda a mejorar la repuesta ante diferentes tipos de estrés (Kishorekumar *et al.*, 2020).

Color, Humedad, pH y SST

En los parámetros de color, la luminosidad (L^*), cromaticidad (C^*) y ángulo de matiz (h°), así como el porcentaje de humedad y pH, no difirieron entre los tratamientos, mientras que los SST en rábanos del grupo control fue mayor en relación con los rábanos en lombricomposta (Tabla 3). Mientras que Khede *et al.* (2019) reportaron un mayor contenido de SST en rábano (*Raphanus sativus* L.) cv. Japanese White con lombricomposta en comparación con el grupo control. El mayor contenido de SST en rábano cultivado en suelo, podría ser atribuido a una acumulación de sustancias de reserva por una disminución en el porcentaje de humedad y tamaño de los bulbos (Khede *et al.*, 2019).

Tabla 3. Parámetros de color y fisicoquímicos de rábanos cultivados en suelo y lombricomposta.

Parámetros	Control	Lombricomposta
Luminosidad (L^*)	38.63±0.87 ^a	37.86±0.87 ^a
Cromaticidad (C^*)	28.97±1.36 ^a	29.58±1.36 ^a
Ángulo de matiz (h°)	22.64±1.46 ^a	22.38±1.46 ^a
Humedad (%)	97.75±2.20 ^a	97.25±2.20 ^a
SST (°Brix)	1.83±0.03 ^a	1.63±0.03 ^a
pH	6.1±0.05 ^a	6.24±0.05 ^a
Valores promedio (± error estándar) con la misma letra no son significativamente diferentes ($P \leq 0.001$)		

Proteína

El contenido de proteína no difirió entre los tratamientos (Figura 3A), presentando un valor promedio de 3.39 mg Eq. Albúmina g^{-1} tf el grupo control y 2.99 mg Eq. Albúmina g^{-1} tf los rábanos en lombricomposta. Estos valores son menores a lo reportado en *Raphanus sativus* L. var. "Pusa chetaki" con valor promedio de 7.97 m g^{-1} tf (Kapoor *et al.*, 2014).

Ácido ascórbico

El valor promedio del contenido de ácido ascórbico fue mayor en el grupo de rábanos que crecieron en lombricomposta (88.2486 mg Ác. Ascórbico 100 g^{-1} tf) respecto al grupo control (60.7541 mg Ác. Ascórbico 100 g^{-1} tf) (Figura 3B). Lo cual difiere a lo reportado por Kováčik *et al.* (2018) en rábano (*Raphanus sativus* L.) cv. "Granát" en diferentes combinaciones de lombricomposta, puesto que el contenido de ácido ascórbico fue mayor en el grupo control, además reportaron un valor promedio de 10.27-16.19 mg g^{-1} , lo cual es inferior a los reportado en este estudio. Liao *et al.* (2009) indicaron que aplicaciones de dosis pequeñas de nitrógeno pueden dar como resultado un aumento en el

contenido de vitamina C en las raíces y hojas de rábano, lo cual explicaría los resultados de este estudio.

Fenoles totales, flavonoides totales, antocianinas monoméricas y actividad antioxidante

El mayor contenido de fenoles totales, flavonoides totales, antocianinas monoméricas y actividad antioxidante se observó en el grupo control respecto al grupo de rábanos en lombricomposta (Figura 3C, D, E, F y G, respectivamente). Al respecto Kapoor *et al.* (2014) reportaron en rábano *Raphanus sativus* L. var. Pusa chetaki un intervalo de flavonoides totales de 10.29 a 17.61 mg 100 g⁻¹ tf y de antocianinas de 0.72 a 1.61 mg g⁻¹ tf, valores menores a los obtenidos en este estudio. Además, estos mismos autores reportaron que el incremento en el contenido de antocianinas es debido al estrés provocado por un incremento en las concentraciones de mercurio.

El menor contenido de fenoles, flavonoides, antocianinas y actividad antioxidante, registrado en los rábanos cultivados en lombricomposta, puede ser explicado por la menor actividad de la enzima fenilalanina amonio liasa (PAL), polifenol oxidasa (PPO) y algunas isoformas de peroxidasa (POD); las cuales son enzimas reguladoras clave para la biosíntesis de compuestos fenólicos de plantas y de la transcripción de muchos genes que codifican a PAL; dichas enzimas incrementan su actividad por efecto de condiciones ambientales adversas, como bajos niveles de nutrientes, particularmente N y microelementos metálicos (Ruiz *et al.*, 2003; Velickovic *et al.*, 2014; Wada *et al.*, 2014).

Peroxidasa (POD)

La actividad de POD fue 1.5 veces mayor en los rábanos del grupo control, respecto a los rábanos en lombricomposta (Figura 3H). Estos resultados indican un mayor estrés en los rábanos cultivos en suelo sin lombricomposta por una menor retención de agua y menor contenido de nutrientes, lo cual generó un incremento en las concentraciones de peróxido de hidrógeno (H₂O₂), principal sustrato de la enzima, provocando su mayor actividad (Levine *et al.*, 1994). Un comportamiento similar fue observado en rábano *Raphanus sativus*, 'Early Menu' expuestos a estrés por plomo, donde un incremento en los niveles de plomo generó mayor concentración de H₂O₂ y una mayor actividad de la enzima POD (Biteur *et al.*, 2011).

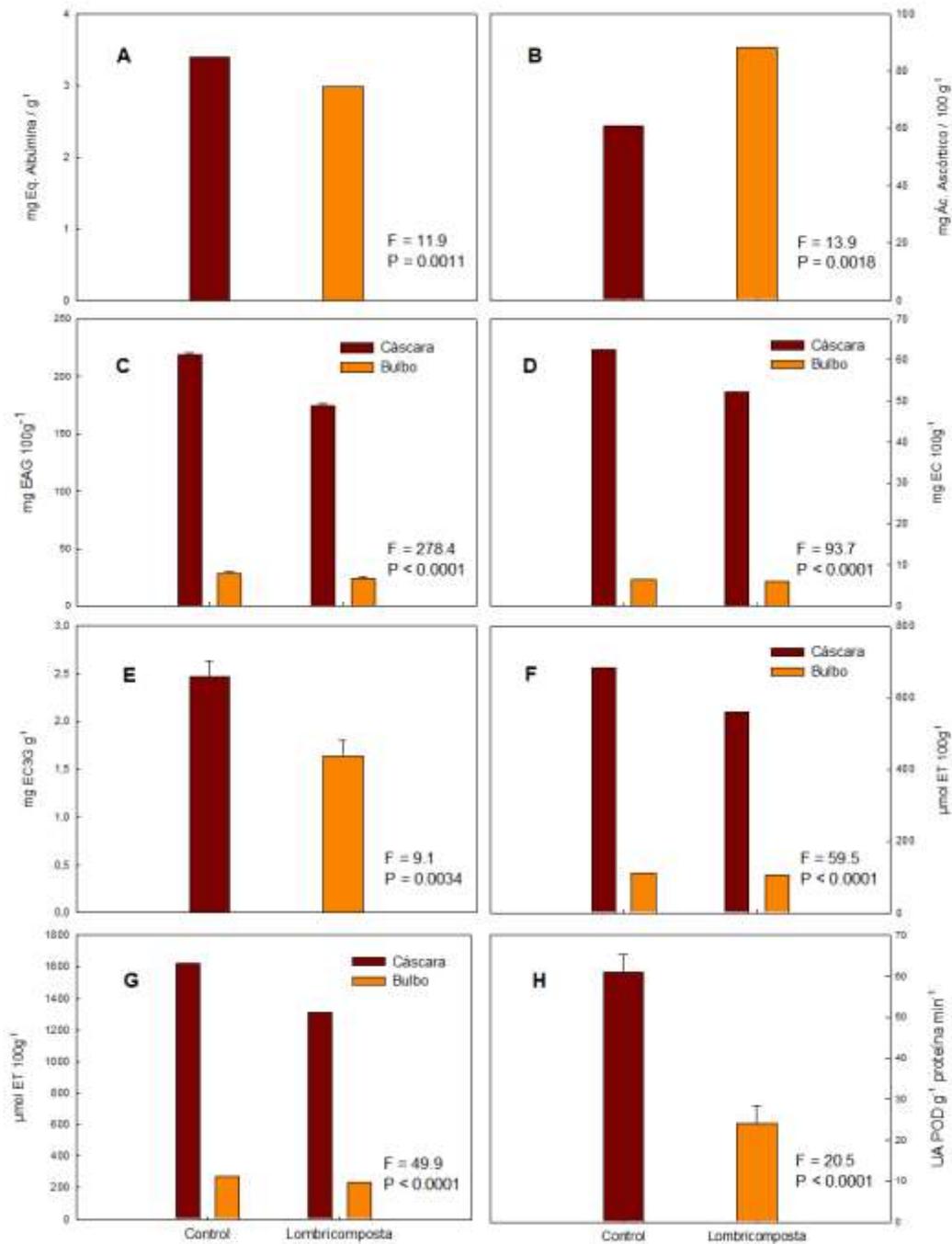


Figura 3. Contenido de proteína (A), Ácido ascórbico (B), Fenoles totales (C), Flavanoides totales (D), Antocianinas monoméricas (E), Actividad antioxidante (F), Capacidad antioxidante (G) y actividad de enzima POD (H) en rábanos cultivados en suelo y lombricomposta.

CONCLUSIONES

Los rábanos cultivados con lombricomposta presentaron mayor rendimiento, crecimiento y desarrollo; así como mejores características de calidad externa como longitud, altura, peso y número de hojas; además una menor actividad de POD. Por lo tanto, el uso de lombricomposta es una alternativa para mejorar significativamente el crecimiento, desarrollo y calidad del cultivo de rábano.

BIBLIOGRAFÍA

1. AOAC, "Official methods of analysis of AOAC International, Gaithersburg", MD. 1995.
2. A. Kumar, R. K. Gupta, "The effects of vermicompost on growth and yield parameters of vegetable crop radish (*Raphanus sativus*)", Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, Vol. 7, 2, 2018, pp. 589-592.
3. A. Levine, R. Tenhaken, R. Dixon, C. Lamb, "H₂O₂ from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response", Cell, Vol. 79, 4, 1994, pp. 583-593.
4. D. Kapoor, A. Rattan, V. Gautam, N. Kapoor and R. Bhardwaj, "24-Epibrassinolide Mediated Changes in Photosynthetic pigments and Antioxidative Defence System of Radish Seedlings under Cadmium and Mercury Stress", Journal of Stress Physiology & Biochemistry., Vol. 10, 3, 2014, pp. 110-121.
5. D. Zhou, L. Li, Y. Wu, J. Fan & J. Ouyang, "Salicylic acid inhibits enzymatic browning of fresh-cut Chinese chestnut (*Castanea mollissima*) by competitively inhibiting polyphenol oxidase", Food Chemistry, Vol. 171, 2015, pp. 19-25.
6. F. Benzie & J.J. Strain, "Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration", Methods in enzymology, Vol. 299, 1999, pp. 15-27.
7. F. Pilarte, "Función de los elementos esenciales en los cultivos", 2010.
8. G. Patil, M. C. Madhusudhan, B. Ravindra, K. Raghavarao, "Extraction, dealcoholization and concentration of anthocyanin from red radish", Chemical Engineerig and Processing-Process Intensification, Vol.48, 1, 2009, pp. 364-369.
9. G. Sol, O. A. Valdés, A. Pérez, "Efecto de la poda y fertilización orgánica en *Moringa oleífera* Lam. en la región centro de Veracruz, México", Revista Ciencia Administrativa, Vol. 1, 2016, pp. 101-121.
10. H. E. Rizo, "Comparación Nutricional de Cuatro Cultivos Utilizando Dos abonos Orgánicos", Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de Ciencia Biológicas y Ambientales, 2011.
11. J. Jeavons, "Cultivo Biointensivo de Alimentos. Ecology Action of the Midpeninsula", Willits, CA. E.E.U.U, 2002.
12. J.M. Ruiz, R.M. Rivero, I. Lopez, L. Romero, "Role of Ca²⁺ in metabolism of phenolic compounds in tobacco leaves (*Nicotiana tabacum* L.)", Plant Growth Regul, Vol. 41, 2003, pp. 173-177.
13. J. M. Velickovic, D. S. Dimitrijevic, S. S. Mitic, M. N. Mitic, D. A. Kostic, "The determination of the phenolic. Composition, antioxidative activity and heavy metals in the extracts of *Clendula officinalis* L. Adv. Technol, Vol.3, 2014, pp. 46-51.
14. J. Zhishen, T. Mengcheng, W. Jianming, "The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals", Food Chemistry, Vol. 64, 4, 1999, pp. 555-559.
15. K.C. Wada, K. Mizuuchi, A. Koshio, K. Kaneko, T. Mitsui, T. Kaneko, "Stress enhances the gene expression and enzyme activity of phenylalanineammonia-lyase and the endogenous content of salicylic acid to induce flowering in *pharbitis*", J. Plant Physiol, 2014, pp. 895-902.
16. K. Khede, A. Kumawat, D. Tembore, "Effect of Organic Manures, Fertilizers and their Combinations on Growth, Yield and Quality of Radish (*Raphanus sativus* L.) cv. Japanese White", International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, Vol. 8,3, 2019, pp. 400-405.
17. L. Gómez, M. Gómez, R. Schwentesius, "Producción y comercialización de las hortalizas orgánicas en México. En: Horticultura de exportación en tiempos de Globalización (El caso

- de las hortalizas, frutas y flores)", Universidad Nacional Autónoma de México, CIESTAAM, 1999.
18. M. Apunte, "Comportamiento agronómico de cinco hortalizas de raíz con tres abonos orgánicos en el centro experimental la playita", Universidad Técnica de Cotopaxi, Ecuador, 2013.
 19. M. Durán, "Organografía vegetal", Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Hidalgo 2012.
 20. M.M. Bradford, "A rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principles of protein-dye binding. Analytical Biochemistry", Vol. 72, 1976, pp. 248-25.
 21. M. M. Giusti, R. E. Wrolstad, "Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy", Current protocols in food analytical chemistry, F1.2.1-F1.2.13, 2001.
 22. N. Alonso, "Efecto de la aplicación de composta, lombricomposta y biodigestados líquidos en el crecimiento, rendimiento y calidad de follaje en el cultivo de cilantro (*Coriandrum sativum* L.)", Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila, 2004.
 23. N. Biteur, A. Aoues, O. Kharoubi, M. Sliman, "Oxidative Stress Induction by Lead in Leaves of Radish (*Raphanus sativus*) Seedlings", Notulae Scientia Biologicae., Vol. 3,4, 2011, pp. 93-99.
 24. Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos, "Agricultura", 2019.
 25. P. Kováčik P. Šalamún, S. Smoleň, M. Renčo, "Impact of vermicompost as component of growing medium on phytomass formation of radish (*Raphanus Sativus* L.)", Agriculture (Poľnohospodárstvo), Vol. 64, 3, 2018, pp. 106-115.
 26. R. A. Moreno, P. M. Valdés, L. T. Zarate, "Desarrollo de tomate en sustratos de vermicompost/arena bajo condiciones de invernadero", Agric. Téc., Vol. 65, 1, 2005, pp. 26-34.
 27. Reglamento (CEE) 2092/91 del Consejo, "Sobre la producción agrícola ecológica y su indicación en los productos agrarios y alimenticios", Diario Oficial nº L 198, 1991.
 28. R. Gómez, J. Lázaro, "Producción de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y rábano (*Rhabanus sativus* L.) en huertos biointensivos en el trópico húmedo de Tabasco", Universidad y ciencia, Vol. 24, 1, 2008.
 29. R. Kishorekumar, M. Bulle, A. Wany, and K. Jagadis Gupta. "An Overview of Important Enzymes Involved in Nitrogen Assimilation of Plants", En: Nitrogen Metabolism in Plants: Methods and Protocols, Kapuganti Jagadis Gupta, Methods in Molecular Biology, 2020, pp. 1.
 30. S. Mazariegos, "Lombricultura rústica como alternativa para el aprovechamiento de los desechos agropecuarios en los Ejidos Boquillas del Refugio y La Constancia, del municipio de Parras de la Fuente, Coahuila, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Coahuila, 2018, pp. 3-28.
 31. S. V. Kovshov D. A. Iconnicov, "Growing of grass, radish, onion and marigolds in vermicompost made from pig manure and wheat straw", Indian Journal of Agricultural Research, Vol. 51, 4, 2017, pp. 327-332.
 32. V. Singleton, J. Rossi, "Colorimetry of total phenolics with phosphomolybde phosphotungstic acid reagents", American Journal of Enology and Viticulture, Vol. 16, 1965, pp. 144-158.
 33. W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier, C. Berset, "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity", LWT- Food Science and Technology, Vol. 28, 1, 1995: 25-30.
 34. W.J. Conover, & R.L. Iman, "Rank transformations as a bridge between parametric and nonparametric statistics", The American Statistician, Vol. 35(3), 1981, pp. 124-129.
 35. Y. Liao, X. Rong, S. Zheng, Q. Liu, M. Fan, J. Peng, G. Xie, "Influences of nitrogen fertilizer application rates on radish yield, nutrition quality and nitrogen recovery efficiency", Front. Agric. China, Vol. 3, 2009, pp. 122-129.

CARACTERIZACIÓN BACTERIOLÓGICA DE MUESTRAS DE SUELO CONTAMINADO CON HTP Y EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO EN PRESENCIA DE CONTAMINANTES

Karina Huerta-Santos¹, Eire Reynaga-Delgado¹, Gilberto Velázquez-Juárez²

¹Departamento de Farmacobiología, ²Departamento de Química. Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías, CUCEI. Universidad de Guadalajara.
eire.rdelgado@academicos.udg.mx

RESUMEN

La contaminación de suelos causada por derrames de Hidrocarburos Totales de Petróleo (HTP) representa un serio problema ambiental. Las consecuencias de la contaminación con HTP son la afectación a la flora, fauna y los microorganismos del suelo; así como daños a los sistemas de producción, salud, economía de las poblaciones afectadas. Para la recuperación de suelos contaminados con HTP, la biorremediación se ha establecido como un tratamiento eficiente, económico, sustentable. El éxito de la biorremediación depende de la caracterización de los microorganismos del propio sitio contaminado, para posteriormente establecer las condiciones bajo las cuales estos organismos puedan utilizar la mayor cantidad de HTP como fuente de carbono. En este trabajo se recuperaron microorganismos de suelos contaminados con HTP proveniente de la colonia Santa Margarita de la Zona Metropolitana de Guadalajara con el objetivo de caracterizar a aquellos capaces de degradar residuos de hidrocarburos y determinar si eventualmente esos suelos podrían recuperarse mediante atenuación natural. Las muestras de suelo fueron recolectadas con tubos de plástico rígido (a manera de mini-nucleador). Para la recuperación de microorganismos, las muestras de tierra fueron sometidas a procesos de enriquecimiento, enriquecimiento selectivo, cultivo selectivo y pruebas bioquímicas y enzimáticas. Posteriormente se realizaron cinéticas de crecimiento en medios libres de carbono que contenían residuos de HTP, hexano y catecol, donde se evaluó la capacidad de adaptación a ambientes contaminados y metabolitos de HTP. Se recuperaron bacterias Gram negativas, predominantemente del género *Pseudomonas* así como hongos y levaduras. Se realizaron tres cinéticas de crecimiento bacteriano, una solo con las *Pseudomonas* recuperadas, otra de las bacterias Gram negativas en consorcio y por último una con todos los microorganismos recuperados, incluyendo las *Pseudomonas*. En cada cinética y por separado, la fuente de carbono consistió en residuos de HTP. Se realizaron además dos pruebas de viabilidad de crecimiento en hexano y catecol. *Pseudomonas* fue el microorganismo que presentó el mejor crecimiento y se mantuvo con la mayor carga microbiológica en todas las etapas de las cinéticas con HTP, además de mantenerse viable cuando estuvo en contacto con hexano y catecol. Las otras cepas recuperadas mostraron una buena adaptación a medios con HTP como fuente de carbono, además de degradar otros hidrocarburos como el catecol y hexano. Estos resultados son comparables a otros estudios realizados en espacios geográficos y climatológicos diferentes al seleccionado. Es necesario profundizar el estudio del metabolismo de las cepas en diferentes condiciones y concentraciones de HTP, ya sea como residuos, o como fracciones simples, para conocer más la capacidad biodegradadora de los entornos naturales que han sido afectados por la presión antropogénica.

INTRODUCCIÓN

De acuerdo con estadísticas de PEMEX^[1], durante el año 2017 se registraron 223 eventos relacionados a contaminación por hidrocarburos totales de petróleo (HTP) en el ambiente, de los cuales 47 se trataron de fugas y 176 derrames, siendo de estos últimos 163 en suelos y 13 en agua accidentales en el ambiente ocasionados por HTP (Figura 1) sin tomar en cuenta los derrames de tomas clandestinas. Por otro lado, la PROFEPA (Procuraduría Federal de Protección al Ambiente) durante el 2017 recibió 665 notificaciones de emergencias ambientales de las cuales 259 fueron provocadas por derrames en los suelos de hidrocarburos y otras sustancias químicas relacionadas en suelos.^[2]

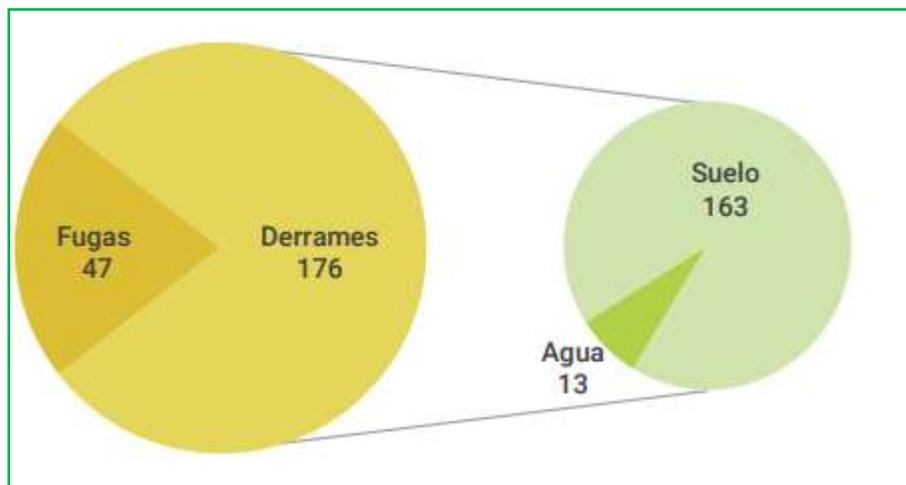


Figura 1. Estadísticas porcentuales de fugas Imagen tomada de^[1]

Las características fisicoquímicas en los hidrocarburos nos ayudan a conocer cómo afectan dichos componentes en el ambiente y de esta forma, decidir cómo gestionar algún método para remediar el medio contaminado. Para fines ambientales, la propiedad más importante a considerar es la solubilidad en agua. Una alta solubilidad promueve una mayor movilidad, y es menor la probabilidad de ser acumulativo, bioacumulativo, volátil y persistente.^[3]

La biorremediación se define como un proceso que se basa en mecanismos biológicos para reducir la concentración de contaminantes a un estado inocuo.^[4] El recurso indispensable en la biorremediación son los microorganismos ya que tienen la facultad de cambiar la naturaleza de los contaminantes ya que poseen enzimas con la capacidad de utilizar ese tipo de compuestos como fuente de energía.^[5] La Bioaumentación, es una técnica de biorremediación de suelos contaminados con HTP que consiste en la introducción de microorganismos específicos cuando los microorganismos nativos no cuentan con la capacidad suficiente para biodegradar los compuestos. Estos deben de tener una capacidad superior de biodegradar los contaminantes además de ser fáciles de cultivar, tengan un crecimiento rápido, tolerantes a concentraciones elevadas de contaminantes y tener una capacidad amplia de sobrevivir en diferentes condiciones ambientales.^[4] Las fracciones de HTP se biodegradan dependiendo de la afinidad de las bacterias hacia los compuestos disponibles, así como de la estructura y del peso molecular de los componentes. El orden de degradación de las diferentes fracciones de HTP sería entonces: Alcanos lineales > Alcanos ramificados > Aromáticos de bajo peso molecular > Ciclo alcanos.^[6]

Por lo expuesto anteriormente, es importante identificar y caracterizar la flora presente en sitios contaminados con HTP, dado que los tipos de microorganismos encontrados allí dependerán de las condiciones ambientales y geográficas; debido a esto, son capaces de crecer en este tipo de ambientes lo que los asocia a poseer una capacidad biorremediadora. A partir de lo anterior, esta flora puede ser caracterizada y utilizada para pruebas de degradación *in vitro* y posteriormente en ensayos más elaborados *in situ*, para recuperar suelos contaminados con HTP mediante mecanismos de bioaumentación.

Este trabajo tuvo como propósito identificar y caracterizar la flora bacteriana proveniente de suelos contaminados por HTP proveniente la colonia Santa Margarita de la Zona Metropolitana de Guadalajara con el objetivo de encontrar microorganismos con la capacidad de degradar hidrocarburos que puedan contribuir a la biorremediación de suelos contaminados.

TEORÍA

Se entiende por hidrocarburo a un grupo amplio de compuestos químicos que provienen del petróleo crudo, consisten en una mezcla de productos químicos que en su mayor parte contiene hidrogeno y carbono.^[7] Cuando los HTP son liberados al medio ambiente pueden causar diversos estragos en el ecosistema, por ejemplo algunas fracciones de HTP flotan en el agua desarrollando una película

superficial delgada y la parte pesada del HTP se sedimentara en el fondo del agua afectando al ecosistema que se encuentre en dicha agua como peces y los organismos que se encuentren en el fondo, sin embargo, algunos de esos organismos con bacterias y hongos tienen la capacidad de descomponer algunas fracciones de HTP.^[8]

En el ser humano, la exposición continua o frecuente a los HTP puede traer problemas en la salud del individuo expuesto; en la cual influyen muchos factores como dosis, duración y la forma de contacto con el HTP. No se tiene la certeza los efectos de HTP en general, si no de fracciones pequeñas de HTP como el benceno, tolueno y xileno. Estas fracciones pueden el sistema nervioso central (SNC).^[8]

La diversidad bacteriana que se encuentra en suelos contaminados por HTP son en su mayoría de tipo Gram negativas debido a que son más resistentes que las Gram positivas.^[9] Siendo *Pseudomonas*, *Acinetobacter* y *Serratia* algunos de los géneros de mayor importancia en la degradación de hidrocarburos. Existen diversos microorganismos dentro del hábitat natural del medio que poseen la capacidad de biodegradar compuestos como el HTP de manera natural; para que esta se puede llevar a cabo es necesario que existan las condiciones ambientales adecuadas en el medio como temperatura, fuentes de carbono, concentración del contaminante, entre otros. En el medio ambiente, los HTP son biodegradados por bacterias, levaduras y hongos o un consorcio de los mismos.^[10]

Las bacterias que tienen la capacidad de adaptarse y crecer en medios sólidos y líquidos con petróleo son consideradas como posibles oxidadores de hidrocarburos. De acuerdo a un estudio realizado en el 2002 por María Rivera se cree que poseen en su membrana un grupo específico de oxigenasa que este asociado con la producción de agentes de superficie; estos son compuestos que tienen una fracción hidrofílica y una hidrofóbica reduciendo la tensión superficial del medio acuoso aumentando así la solubilidad,^[11] de los HTP y por consecuencia la disponibilidad para la bacteria.^[12] Particularmente, el género *Pseudomonas* consume todo tipo de sustratos siendo capaz de degradar muchos tipos de compuestos orgánicos como azúcares y aminoácidos, alcoholes, hidrocarburos (alcanos de cadena ramificada), ácidos húmicos e inclusive algunos plaguicidas sintéticos;^[13] produce biosurfactantes que se utilizan para la limpieza de suelos contaminados con HTP o metales pesados y elabora enzimas. Las *Pseudomonas* son ecológicamente significativas en el suelo y agua y son los responsables de la degradación de muchos compuestos solubles que se derivan de la ruptura monomérica de materiales de plantas y animales en hábitat oxigenados.^[13]

La biorremediación de suelos contaminados con HTP, se basa en que la cadena respiratoria o transportadora de electrones de las células de los microorganismos, producirá una serie de reacciones óxido-reducción con la finalidad de obtener energía. La cadena comienza con un sustrato orgánico (en este caso HTP) que actúa como dador de electrones de modo que la actividad metabólica de la célula consume dicho compuesto.^[14] Los aceptores más utilizados con el oxígeno, nitratos, hierro (III), sulfatos y dióxido de Carbono. Si el oxígeno es utilizado como aceptor de electrones la respiración ocurrirá en condiciones aerobias y todos los procesos de biodegradación serán de tipo aerobio.^[14] Si utiliza Sulfatos o Dióxido de Carbono se produce en condiciones reductoras o anaerobias, y los procesos de biodegradación serán de tipo anaerobio.

La identificación y caracterización bacteriana con capacidad degradadora de HTP nos sirve para poder establecer las condiciones bajo las cuales se puede someter el tratamiento de biorremediación para poder obtener el mayor rendimiento posible.^[15]

PARTE EXPERIMENTAL

La hipótesis bajo la que se trabajo fue la siguiente: La recuperación de microorganismos bacterianos y fúngicos de suelos contaminados con HTP provenientes de Santa Margarita tienen la capacidad de crecer y adaptarse a medios adicionados con restos de diésel como fuente de Carbono.

Se recolectaron muestras de suelo de la calle Santa Mercedes, entre Avenida de Jesús y Avenida Acueducto, Santa Margarita, Zapopan, Jalisco, México. La recolección de muestra de suelo se realizó en lugares donde había restos de hidrocarburos en la superficie del empedrado y se encontrarán libres de humedad. Dichos sitios de muestreo fueron identificados desde la A hasta la G y un blanco de campo (Figura 2).

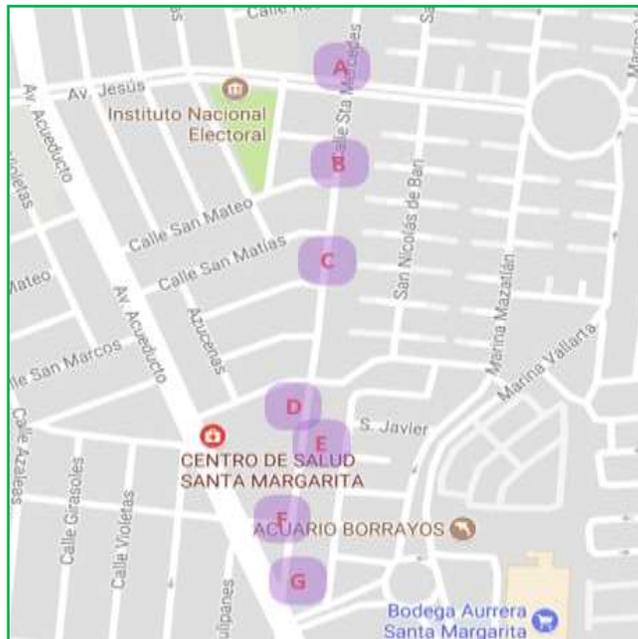


Figura 2. Sitios de recolección de la muestra. Imagen tomada desde Google Maps

Para la recolección de las muestras se emplearon tubos de plástico rígido (a manera de mini-nucleador), dicho tubo se enterró aproximadamente 5 cm de profundidad en cada uno de los sitios seleccionados para la recolección de la muestra. La tierra extraída se depositó en su respectiva bolsa de cierre rotulada. Este procedimiento se realizó por triplicado en cada sitio depositándose cada uno en una bolsa diferente (denominadas A, B y C). Cada muestra fue procesada por triplicado.

Enriquecimiento microbiano en las muestras de suelo

Por cada 10 g de muestra de suelo de cada bolsa se añadieron 90 mL de Agua Peptonada (AP) y se homogenizaron. Se filtró la solución obtenida y se transfirieron 10 mL a un matraz Erlenmeyer de 250 mL de capacidad conteniendo 200 mL de Caldo Soya Trypticaseína (CST) y otros 10 de la solución se transfirieron a otro matraz con 200 mL de Caldo Lactosado (CL). A partir del matraz con CST se realizaron diluciones seriadas 1:10 hasta llegar a una concentración cercana al patrón 0.5 de la escala de McFarland por turbidimetría. Se tomaron 0.1 mL de las últimas dos diluciones (5 y 6) para la inoculación en una caja Petri con medio Mueller-Hinton (AMH).

La técnica de siembra empleada fue Extensión en Superficie (ES) utilizando un asa de Digralesky metálica. Las cajas Petri inoculadas se incubaron 24 h a 30°C para realizar posteriormente el conteo de las células viables. Se inocularon además alícuotas de todos los matraces procesados en medios selectivos (Agar MacConkey, AMC; Agar Cetrimida, AC y Agar Dextrosa Papa, ADP), con la finalidad de identificarla microbiota genérica (Figura 3).

Las condiciones de incubación fueron de 24h con una temperatura de 30°C para los medios AMC y AC y de 4 a 5 días a 25°C el medio ADP. Una vez que concluyó el tiempo de incubación se realizó una descripción morfológica macroscópica de las colonias aisladas y tinción de Gram o de cinta adhesiva con azul de metileno para la identificación microscópica. Se continuó con pruebas enzimáticas de diferenciación (Oxidasa).

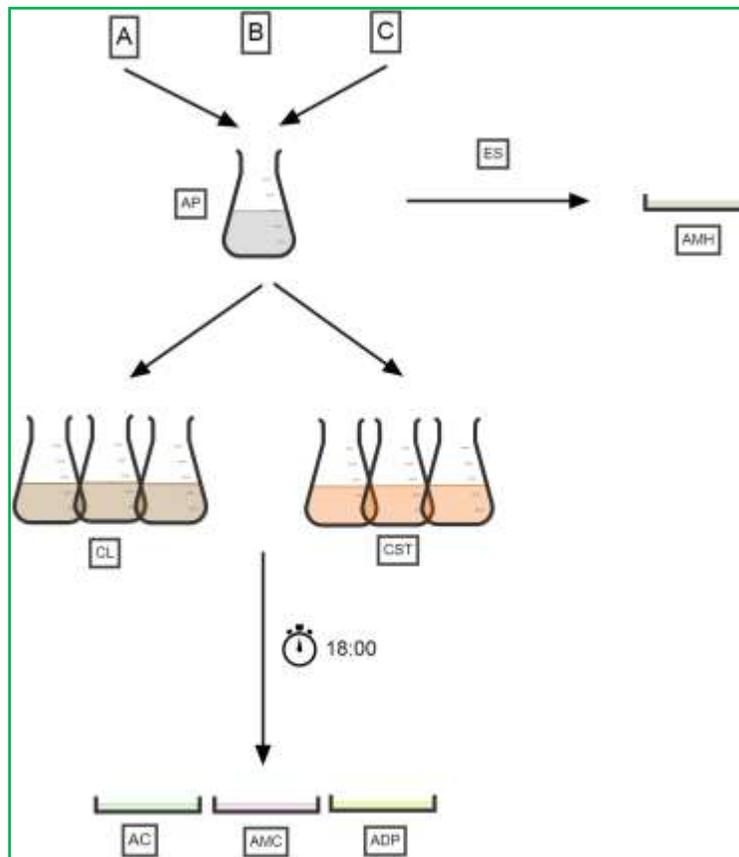


Figura 3. Diagrama general de recolección y tratamiento de muestra. Elaboración propia

Cinéticas de crecimiento microbiano

Se realizaron cinéticas de crecimiento microbiano utilizando las cepas aisladas con la finalidad de verificar si era posible el crecimiento de estos microorganismos en un medio de cultivo teniendo únicamente residuos de TPH como fuente de carbono. En total, se realizaron cuatro cinéticas: una de prueba con glucosa con una concentración del 2 % W/V, y tres con residuos de TPH al 2 % V/V (provenientes de un taller mecánico) en medio mínimo (MM, Robledo-Ortiz et al., 2010). Las cinéticas con residuos de TPH se realizaron de manera individual con: consorcio de bacterias Gram negativas, consorcio de *Pseudomonas* sp. y, por último; un consorcio de Gram negativas, *Pseudomonas* sp. y hongos respectivamente (denominado "pool").

Las cepas fueron previamente pre-adaptadas con la finalidad de acortar la fase de adaptación. Las lecturas de la DO de cada matraz cultivado se realizaron en un espectrofotómetro Jenway (Geneva) a una longitud de onda de 600 nm, usando como blanco agua destilada (Figura 4). Para obtener la concentración en UFC/mL a partir de la densidad óptica utilizó el estándar de turbidez 0.5 de la escala de MacFarland a 600 nm obteniéndose 0.72 como absorbancia, lo cual equivale a 1.5×10^8 UFC/mL; de ahí se hicieron las relaciones a las concentraciones obtenidas en cada uno de los tiempos de las cinéticas de crecimiento. Las lecturas de absorbancia obtenidas se utilizaron para la elaboración de gráficas de DO contra tiempo (en horas). Esta técnica se realizó para la cuantificación indirecta del crecimiento microbiano.

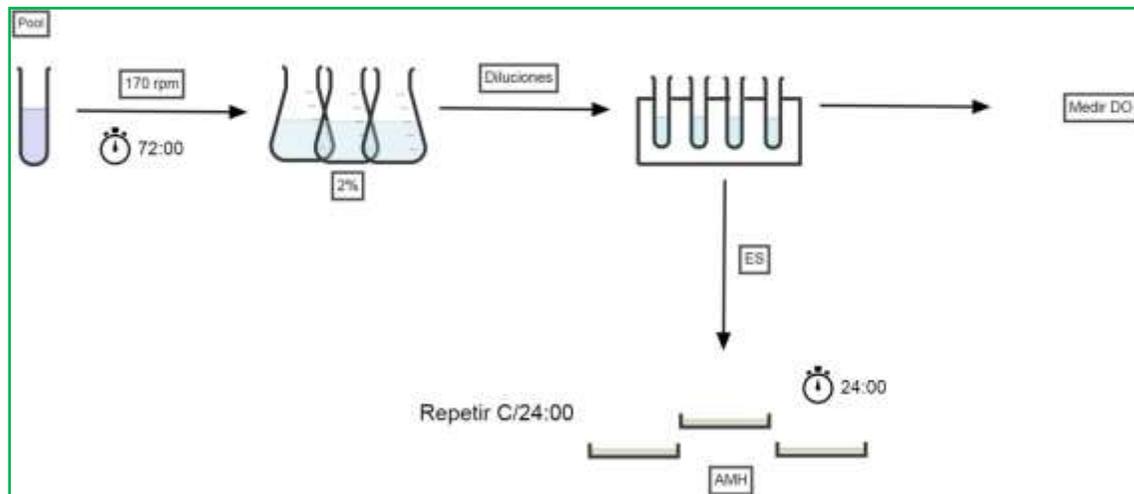


Figura 4. Diagrama Cinética del crecimiento bacteriano. Elaboración propia

Prueba rápida de crecimiento en catecol y hexano

Se llevaron a cabo pruebas de viabilidad y cultivabilidad en catecol y hexano de las bacterias Gram Negativas en MM agregando como fuente de carbono catecol y hexano. En Tubos Falcon™ con capacidad de 3 mL se agregaron 2 mL de MM y después se procedió a añadir diferentes concentraciones de Catecol y Hexano a cada tubo de acuerdo con la Tabla 1. Se tomó a partir de una UFC aislada de cada uno de los cultivos refrescados del grupo de bacterias Gram negativas y se inocularon en los tubos. Esta prueba se realizó de manera individual para cada cepa. Los tubos Falcon inoculados se colocaron en un Shaker a 100 rpm y 30 °C durante 72 h aproximadamente o hasta observar turbidez del cultivo en el tubo. Para corroborar que los microorganismos tuvieron la capacidad de crecer con esa fuente de C se realizó un cultivo, tomando una alícuota y depositándola en 3 mL de CST, posteriormente incubado de 24 h a 30 °C. Una vez transcurrida la incubación se observaron los tubos para ver si presentaban crecimiento (turbidez) indicando que las cepas eran viables.

Tabla 1. Concentración de solventes utilizada para prueba rápida de crecimiento en catecol y hexano

Solvente	Concentración (mg/mL)	Volumen añadido (µL)	Concentración final (mg/mL)
Hexano 1	65.5	500	16.375
Hexano 2	6.55	10	0.3275
Catecol 1	100	5	0.25
Catecol 2	10	5	0.025
Concentraciones tomadas de experimentos de Ayala (2019). Tabla, elaboración propia			

Las concentraciones de hexano y catecol utilizadas en esta investigación fueron las propuestas por Ayala, 2019.^[16] Estas concentraciones se basaron en el mínimo metabolizable reportado por otras bibliografías.

RESULTADOS

Recuperación, aislamiento e identificación microbiana

En los cultivos en los medios de enriquecimiento, se observó un incremento considerable en la carga microbiana después de la incubación, cultivadas en un medio que proporcionó los nutrientes

necesarios (Tabla 2). A tiempo cero la mayor carga microbiana fue de 1.9×10^7 UFC/g mientras que a las 18 h fue de 8×10^9 UFC/g. De acuerdo con las características de crecimiento en los medios de cultivo selectivos, se aislaron los microorganismos: *Proteus* sp., *E. coli*, *Pseudomonas* sp., *Serratia* sp. y *P. aeruginosa*. Fue aislada además una cepa de *Pseudomonas* con un comportamiento particular en AC. Esta cepa fue caracterizada molecularmente por Ayala (2019) como *Pseudomonas plecoglossicida*. Respecto al cultivo selectivo para hongos y levaduras en ADP, se aislaron las cepas de *Rhodotorula* sp., *Candida* sp., *Cladosporium* sp., y *Acremonium* sp.

Tabla 2. Conteo de UFC viables				
Bolsa	T ₀ por muestra recolectada		T ₁₈ por muestra recolectada	
	Dilución 5	Dilución 6	Dilución 8	Dilución 9
A	6.5×10^6 UFC/g	1.9×10^7 UFC/g	3.3×10^9 UFC/g	5×10^9 UFC/g
B	5.8×10^6 UFC/g	5×10^6 UFC/g	3.7×10^9 UFC/g	8×10^9 UFC/g
C	4.7×10^6 UFC/g	8×10^6 UFC/g	8×10^9 UFC/g	8×10^9 UFC/g
Promedio	5.6×10^6 UFC/g	1.06×10^7 UFC/g	2.6×10^9 UFC/g	7×10^9 UFC/g

Cinéticas de crecimiento en HTP

Las cinéticas se realizaron con la finalidad de ver si los microorganismos aislados de las muestras de suelo eran viables cuando se cultivan con residuos de HTP. Pero comparando previamente como crecen de forma normal cuando tienen glucosa como fuente de carbono. En la cinética con glucosa, en el tiempo cero se observó una diferencia de dos logaritmos entre cada de las metodologías de conteo (DO vs. UFC) y en los siguientes monitoreos se observan concentraciones entre 8 y 9 logaritmos. En la Figura 5, la línea verde que corresponde a la evaluación de la biomasa por medio de la DO se observó un ligero descenso en la absorbancia del tiempo 0 a las 96 h, pero se mantuvo prácticamente constante. Por otro lado, la cinética con cuenta directa de microorganismos (como UFC) el pico de mayor crecimiento microbiano se observó a las 24 h, con mantenimiento hasta las 48 h siendo este rango de mayor actividad metabólica de los microorganismos.

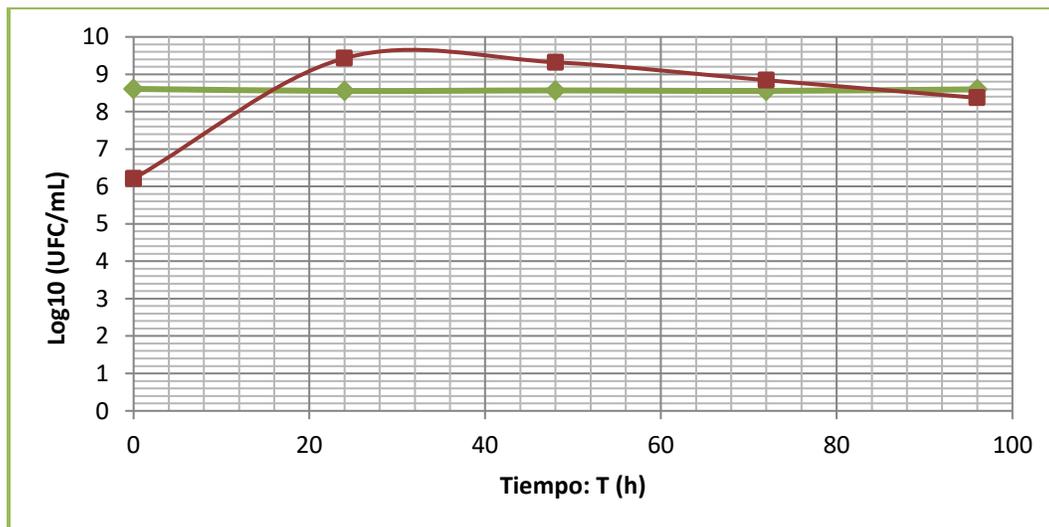


Figura 5. Cinética prueba con glucosa al 2%. Verde: Densidad óptica. Rojo: crecimiento bacteriano

Las cinéticas con residuos de HTP, realizada con bacterias del género *Pseudomonas*, fueron expresadas en términos de Log10UFC/mL. En la Figura 6, se muestra la similitud de las tendencias en los conteos de los microorganismos (tanto con la DO como cuenta viable), arrojando como

resultado que las *Pseudomonas* rescatadas tienen potencial para crecer en un medio con residuos de HTP siendo a las 24 h el pico máximo de crecimiento. Transcurridas las 96 h se observó un aumento en la población indicando que las bacterias se adaptaron a las condiciones que se desarrollaron pudiendo ser este el comienzo de la fase estacionaria.

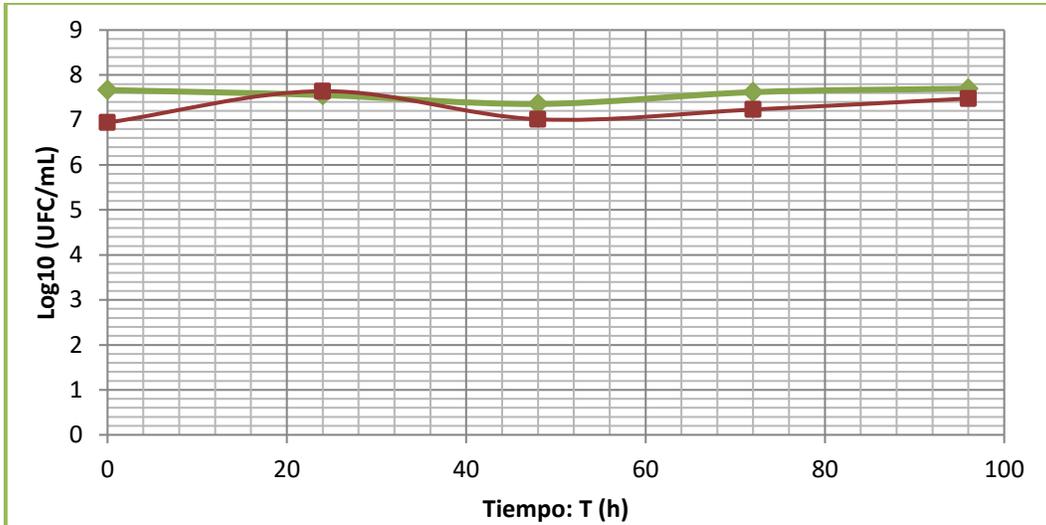


Figura 6. Cinética de crecimiento *Pseudomonas*. Verde: Densidad óptica. Rojo: Crecimiento bacteriano

En la cinética de consorcio (usando todos los microorganismos obtenidos del AMC y añadiendo a las *Pseudomonas sp.*), la DO del consorcio se mantuvo hasta las 96 h con una carga de células viables alta (DO min: 7.71; DO max: 8.0). Por otro lado, la cinética por cuenta viable muestra un crecimiento exponencial desde las 0 hasta las 48 h, manteniéndose sin incrementos después de las 72 h (Figura 7).

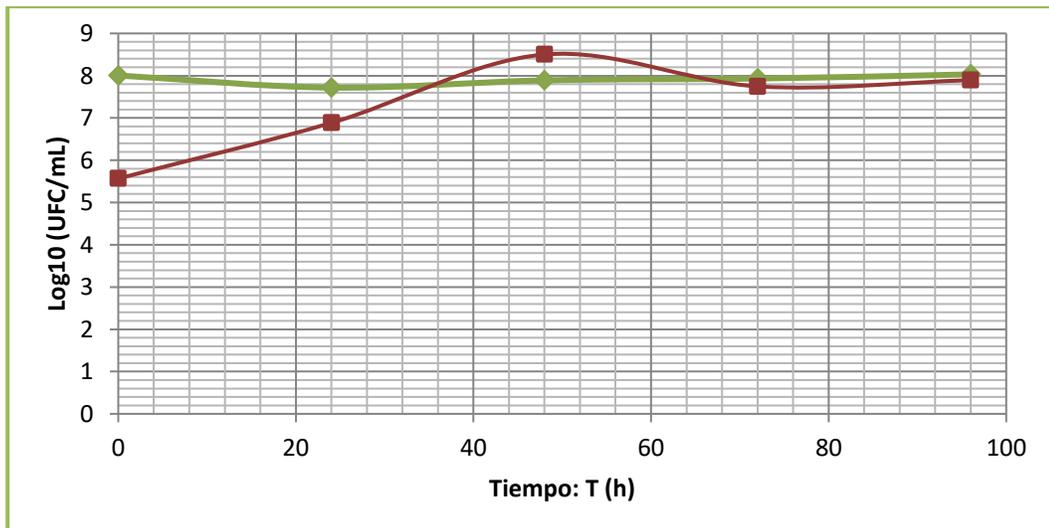


Figura 7. Cinética de crecimiento de hongos y bacterias en consorcio. Verde: Densidad óptica. Rojo: Crecimiento bacteriano

Narváez en el 2008 realizó un cultivo mixto bacteriano con cepas aisladas que se encontraron presentes en derramamientos de petróleo; dicha cinética mostró un crecimiento exponencial entre

los días cero y cinco que perduró hasta el séptimo día y a lo cual vino un descenso en la población celular luego hasta el día 9 el cual nuevamente incremento hasta el día 12; seguido de esto la población mixta entró en fase de declive hasta el día 21, la concentración siempre perduró entre los 6 y 9 logaritmos de concentración.^[17] Los resultados de este trabajo son muy similares a los obtenidos por este autor. En esta investigación se utilizaron no únicamente bacterias, fueron incluidos los hongos y levaduras aislados. Se sabe que los hongos no poseen la misma capacidad de degradar HTP como con otros residuos; sin embargo, si llegan a poder degradar este tipo de compuestos. A pesar de ello y debido a que se encuentran de manera natural en el medio ambiente del que fueron extraídos pueden tener una actividad importante con el metabolismo o degradación de los residuos que dejan las bacterias creando un ambiente de Comensalismo.

Viabilidad y cultivabilidad en catecol y hexano como fuentes de carbono

Se realizaron pruebas de viabilidad de las bacterias Gram Negativas en medio mineral (Composición tomada de Robledo Ortiz *et al.*, 2010^[18]), agregando como fuente de Carbono catecol y hexano con la finalidad de observar cuales de estas bacterias poseen la capacidad de mantenerse viables en este tipo de compuesto. En la Tabla 3 se muestran las cepas que mostraron un resultado positivo al colocarlas en hexano o catecol como única fuente de carbono. Las concentraciones usadas fueron Hexano 16.375 mg/mL (1) y 0.3275 mg/mL (2) y de Catecol 0.25 mg/dL (1) y 0.025 mg/dL (2). De las cepas que crecieron en catecol se repitió la prueba para confirmar su capacidad para utilizar el catecol como fuente de carbono. A dichas cepas se le realizaron ensayos de PCR para analizar la presencia de los genes en las diferentes cepas bacterianas, siendo de interés el gen *catA* (Catecol 1,2-dioxigenasa) que fue encontrado en A1, B2, G1, G5 y P4. Así como el gen *xylE* (Catecol 2,3-dioxigenasa) que se encontró en B2 y el gen *alkB* (Alcano 1-monooxigenasa) en A1.

Bacteria	Sustancia	Crecimiento	Bacteria	Solvente	Crecimiento
G1	Hexano 1	Positivo	P1	Catecol 1	Positivo
G1	Hexano 2	Positivo	P1	Catecol 2	Positivo
G1	Catecol 1	Positivo	P3/A1	Catecol 1	Positivo
G1	Catecol 2	Positivo	P3/A1	Catecol 2	Positivo
G4	Hexano 1	Positivo	P4	Hexano 1	Positivo
G4	Hexano 2	Positivo	P4	Hexano 2	Positivo
G4	Catecol 1	Positivo	P4	Catecol 1	Positivo
G4	Catecol 2	Positivo	P4	Catecol 2	Positivo
G5	Hexano 1	Positivo	P5/B2	Hexano 1	Positivo
G5	Catecol 1	Positivo	P5/B2	Hexano 2	Positivo
P1	Hexano 1	Positivo	P5/B2	Catecol 1	Positivo
P1	Hexano 2	Positivo	P5/B2	Catecol 2	Positivo

Por último; en el caso de las cepas P3 y P5 se enviaron los amplificados de 16S para su secuenciación al Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad (LANGEBIO), las secuencias de estos fragmentos se compararon contra la base de datos del NCBI (16S ribosomal RNA sequences), con lo cual se determinó el organismo filogenéticamente más cercano. La cepa P3, tiene un porcentaje de similitud de 96.66% con *Pseudomonas plecoglossicida*, mientras que P5 presenta un 93.73% de similitud con la misma especie (Ayala, 2019).

CONCLUSIONES

Las cepas recuperadas mostraron una buena adaptación a desarrollarse en un medio con HTP como fuente de carbono, además de degradar otros hidrocarburos como el catecol y hexano. El género *Pseudomonas* debido a su gran capacidad para degradar gran cantidad de sustratos de diferente

naturaleza puede jugar un papel muy importante en la biorremediación de suelos contaminados con HTP, se puede concluir que:

La carga microbiana que se encuentra en su entorno natural después de una incubación con los nutrientes y condiciones adecuadas se puede cultivar selectivamente y así asegurar una mayor recuperación de microorganismos.

El aislamiento e identificación de microorganismos nos sirve para encontrar cepas con capacidad potencialmente biorremediadora y conocer la microbiota de los suelos contaminados.

De las tres cinéticas realizadas con los microorganismos identificados presuntamente, la de *Pseudomonas* fue la que más estable y que con mayor carga microbiológica se mantuvo, resultados comparables en similitud con otros estudios expuestos.

Aunque todas las cepas se recuperaron de un suelo contaminado con HTP no todas poseen la capacidad de metabolizar dichos compuestos.

Es necesario profundizar el estudio del metabolismo de las cepas a diferentes condiciones y concentraciones para conocer más su capacidad de degradación de HTP.

BIBLIOGRAFÍA

1. PEMEX, "informe de sustentabilidad 2017," Ciudad de México, 2017.
2. PROFEPA, "Atiende PROFEPA emergencias ambientales y restauración de sitios contaminados hasta su total remediación | Procuraduría Federal de Protección al Ambiente | Gobierno | gob.mx," 2018. [Online]. Available: <https://www.gob.mx/profepa/prensa/atiende-profepa-emergencias-ambientales-y-restauracion-de-sitios-contaminados-hasta-su-total-remediacion>. [Accessed: 22-Oct-2018].
3. O. Ortíz, I. Ize, and A. Gavilán, "La restauración de suelos contaminados con hidrocarburos en México," *Gac. Ecológica ISSN 1405-2849*, vol. 69, no. Saval 1995, pp. 83–92, 2003.
4. M. Megharaj and R. Naidu, "Soil and brownfield bioremediation," *Microb. Biotechnol.*, vol. 10, no. 5, pp. 1244–1249, 2017.
5. National Research Council, *In Situ Bioremediation: When Does it Work?* Washington, D.C.: National Academies Press, 1993.
6. N. U. García Cruz and M. L. Aguirre Macedo, "Biodegradación de petróleo por bacterias: algunos casos de estudio en el Golfo de México," *Golf. México Contam. e impacto Ambient. diagnóstico y tendencias*, no. November, pp. 641–652, 2014.
7. ATSDR, "Resumen de Salud Pública: Hidrocarburos totales de petróleo," *Agency Toxic Subst. Dis. Regist. U.S. Dep. Heal. Hum. Serv.*, p. 6, 1999.
8. ATSDR, "ToxFAQs™ - Hidrocarburos totales de petróleo (Total Petroleum Hydrocarbons)," *Agency Toxic Subst. Dis. Regist. U.S. Dep. Heal. Hum. Serv.*, 2016.
9. M. Vázquez-Luna, A. Montiel-Flores, D. Vázquez-Luna, and M. F. Herrera-Tenorio, "impacto del petróleo crudo en suelo sobre la microbiota de vida libre fijadora de nitrógeno," *Trop. Subtrop. Agroecosystems*, vol. 13, pp. 511–523, 2013.
10. C. Guarino, V. Spada, and R. Sciarillo, "Assessment of three approaches of bioremediation (Natural Attenuation, Landfarming and Bioaugmentation – Assisted Landfarming) for a petroleum hydrocarbons contaminated soil," *Chemosphere*, vol. 170, pp. 10–16, 2017.
11. M. . Madigan, J. M. Martinko, D. Stahl, and D. . Clark, *Brock Biología de los Microorganismos*, 10ª. Prentice Hall-Pearson Education., 2004.
12. M. del C. Rivera-Cruz, R. Ferrera-Cerrato, V. Volke Haller, R. Rodríguez Vázquez, and L. Fernández Linares, "Adaptación y selección de microorganismos autóctonos en medios de cultivos enriquecidos con petróleo crudo," *Terra Latinoam.*, vol. 20, no. 4, 2002.
13. C. Wayens, "Estudio del potencial de degradación de los hidrocarburos por *Acinetobacter* sp. y *Pseudomonas putida* para su aplicación en la biorremediación de suelos contaminados Caroline," 2004.
14. M. E. Maroto Arroyo and J. M. Rogel Quesada, "Aguas Contaminadas Por Hidrocarburos," *GEOCIISA. Div. Protección Ambient. Suelos*, pp. 297–305, 2008.
15. A. H. A. Khan, M. Anees, M. Arshad, Y. S. Muhammad, M. Iqbal, and S. Yousaf, "Effects of

- illuminance and nutrients on bacterial photo-physiology of hydrocarbon degradation," *Sci. Total Environ.*, vol. 557–558, pp. 705–711, 2016.
16. C. Ayala, "Clonación de genes codificantes de catecol dioxigenasas y alcano monooxigenasas aislados de bacterias degradadoras de hidrocarburos," Universidad de Guadalajara, 2019.
 17. S. Narváez, M. Gómez, and M. Martínez, "Selección de bacterias con capacidad degradadora de hidrocarburos aisladas a partir de sedimentos del caribe colombiano," *Boletín Investig. Mar. y Costeras*, vol. 37, no. 1006, pp. 61–75, 2008.
 18. J. R. Robledo-Ortíz, D. E. Ramírez-Arreola, C. Gomez, O. González-Reynoso, and R. González-Núñez, "Bacterial immobilization by adhesion onto agave-fiber/polymer foamed composites," *Bioresour. Technol.*, vol. 101, no. 4, pp. 1293–1299, 2010.

OPTIMIZACIÓN DE UN PROCESO DE EXTRACCIÓN DE MUCÍLAGO DE SEMILLAS DE *SALVIA HISPANICA* L.

Juan Carlos Ramírez Granados, Blanca E. Gómez Luna, Adán Topiltzin Morales Vargas, José Ramón Gasca Tirado, Francisco de G. Cervantes Silva y Cristina A. Cornejo Pérez

Universidad de Guanajuato, Departamento de Ingeniería Agroindustrial de la División de Ciencias de la Salud e Ingenierías, Campus Celaya-Salvatierra.
jcramirez@ugto.mx

RESUMEN

La *Salvia hispanica* L. (chía) es una planta de la familia *Lamiaceae* originaria de México y Centroamérica que ahora se encuentra ampliamente distribuida por el mundo. Existen cerca de 7900 especies, de las cuales alrededor de 700 crecen en México. La chía es una planta de ciclo anual que puede alcanzar un metro de altura y típicamente posee hojas de 6 cm de largo por 4 cm de ancho. Estas plantas florecen en el verano y posteriormente desarrollan un fruto con semillas ovaladas de aproximadamente 1.7 mm de largo que contienen significativas cantidades de aceite, fécula y mucílago. Comúnmente, las semillas de chía son usadas como alimento o suplemento alimenticio para las personas. Por ejemplo, la harina de las semillas de chía es abundante en proteínas y se utiliza en la elaboración de panes y galletas. Además, de estas semillas se extrae un aceite rico en omega 3 que se consume como suplemento alimenticio. Las semillas de chía también se consumen enteras en bebidas refrescantes como el agua de limón. Si bien, los beneficios nutricionales y digestivos de las semillas de chía son reconocidos, nuestro interés se centra en darle valor agregado a su mucílago a través de un uso no-alimentario en el área de fotoprotección ya que es un polisacárido soluble en agua que retiene la humedad, lo cual puede ser útil en la fabricación de cosméticos tópicos. Más aún, en estudios previos se analizó la factibilidad de elaborar protectores solares para la piel con mucílago de chía como ingrediente activo y se demostró que este material de origen vegetal tiene capacidad para absorber radiación ultravioleta potencialmente dañina para la piel. Una de las principales ventajas del mucílago de chía usado como ingrediente activo en protectores solares es su inocuidad, lo cual lo hace más seguro para las personas, a diferencia de los fotoprotectores químicos que contienen ingredientes ligeramente tóxicos. El mucílago de las semillas de chía puede ser extraído mediante maceración química con agitación mecánica o con ultrasonido. En este trabajo se optimizó el rendimiento del proceso de extracción del mucílago de chía mediante maceración química con agitación mecánica. Para lo anterior, se determinó el rendimiento del mucílago de chía extraído a diferentes temperaturas de maceración y distintos volúmenes de solvente. Por una parte, se extrajo el mucílago a temperaturas de maceración que variaron de 30 a 55 °C con incrementos de 5 °C, obteniéndose el mayor rendimiento a 30 °C. Con respecto a la cantidad de solvente para la maceración, el máximo rendimiento de extracción se obtuvo para volúmenes iguales o superiores a 60 ml de agua por cada gramo de semillas de chía. La optimización del proceso de extracción permite obtener la mayor cantidad posible de mucílago de las semillas de chía, reduciendo su costo y haciendo más factible su uso en aplicaciones no-convencionales tales como la elaboración de protectores solares orgánicos de uso diario para la piel.

INTRODUCCIÓN

La chía (*Salvia hispanica* L.) es una especie anual que pertenece a la familia de las *Lamiaceae* que está constituida por 300 géneros y 7 subgéneros, con alrededor de 7900 especies.¹ Se ha cultivado en regiones tropicales y subtropicales, y ha sido conocida y utilizada como alimento, medicina y para la manufactura de pinturas por indios americanos y mexicanos rurales.²⁻⁵

Esta planta tiene una altura aproximada de 1.0 metros y sus tallos son ramificados, de sección cuadrangular con pubescencias cortas y blancas. Las hojas opuestas con bordes aserrados miden típicamente 6.0 cm de longitud y 4.0 cm de ancho. Las semillas son ovales, suaves, brillantes y miden entre 1.5 y 2.0 mm de longitud. Según la variedad, su color puede ser blanco o negro grisáceo con manchas irregulares que tienden a un color rojo oscuro.⁶ Estas semillas contienen cantidades importantes de aceite, fécula y mucílago. El mucílago consiste en células que se hinchan o se desintegran en fibrillas espirales delgadas cuando entran en contacto con agua.⁷⁻¹⁰ Este mucílago

es un polisacárido de alto peso molecular que contiene grupos hidroxilo y ácido carboxílico. El mucílago de chía es un tetrasacárido con una cadena principal compuesta por (1→4)- β -D-xilopiranosil, (1→4)- α -D-glucopiranosil, (1→4)- β -D-xilopiranosil con ramificaciones de 4-O-metil- α -D-ácido glucurónico en la posición 2 de β -D-xilopiranosil de la cadena principal.¹¹

El protocolo general de extracción del mucílago de chía consiste en sumergir las semillas en un solvente (*i.e.* agua) por un tiempo determinado.¹² Este procedimiento ha sido modificado por diferentes autores con el propósito de aumentar el rendimiento de la extracción sin alterar la composición química del extracto.

La maceración es un proceso de extracción sólido-líquido donde la materia prima posee una serie de compuestos solubles en el líquido de extracción que son los que se pretende extraer. El proceso de maceración genera dos productos que pueden ser empleados dependiendo de las necesidades de uso, el sólido ausente de esencias o el propio extracto. La naturaleza de los compuestos extraídos depende de la materia prima empleada, así como del líquido de extracción.¹³

A pesar de que existen estudios sobre la extracción del mucílago de chía, hacen falta más estudios que optimicen su rendimiento y simplifiquen la extracción. Por esto, el objetivo de este estudio es optimizar el proceso de extracción de polisacáridos en chía mediante maceración química con agitación mecánica. Este método consiste en etapas simplificadas para reducir los costos.

PARTE EXPERIMENTAL

En este trabajo se determinaron las condiciones a las que se obtiene más mucílago de chía durante su proceso de extracción mediante maceración química con agitación mecánica para optimizar su rendimiento de extracción, y al mismo tiempo sea económico y sustentable. Para esto, aquí se extrajo el mucílago a diferentes temperaturas de maceración y empleando distintos volúmenes de agua como solvente. Para las series de extracciones de mucílago se utilizaron porciones de 5 g de semillas de chía, agua destilada y agitación mecánica a 600 rpm.

En cada extracción de la primera serie de experimentos se empleó una temperatura de maceración distinta, comenzando en 30 °C y aumentándola en intervalos de 5 °C hasta terminar en 55 °C, por debajo de la temperatura a la cual el mucílago comienza a degradarse. El volumen de solvente fue de 300 ml para todos estos ensayos. Esta parte del proceso de optimización se esquematiza en la Figura 1.

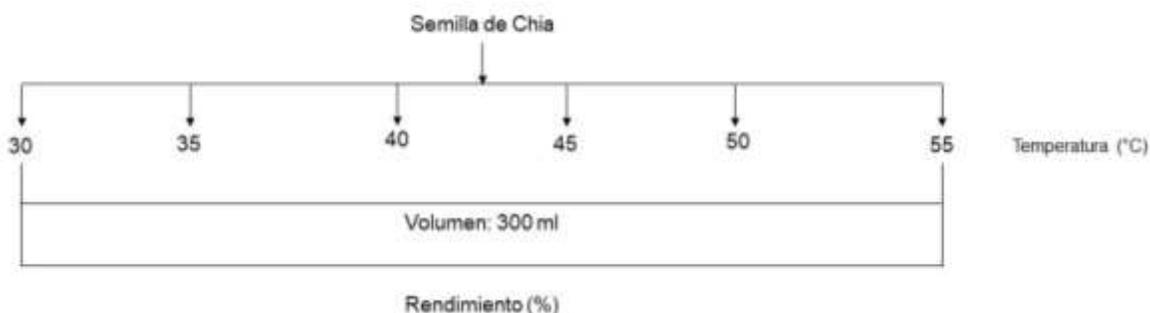


Figura 1. Optimización de la temperatura de maceración con volumen de solvente constante en el proceso de extracción de mucílago de chía.

En la segunda serie de extracciones se fue variando el volumen del solvente, comenzando con un volumen de 200 ml y aumentándolo en intervalos de 50 ml hasta 350 ml. La temperatura de maceración se fijó en 30 °C y permaneció constante en estos ensayos. Esta otra parte del proceso de optimización se esquematiza en la Figura 2.

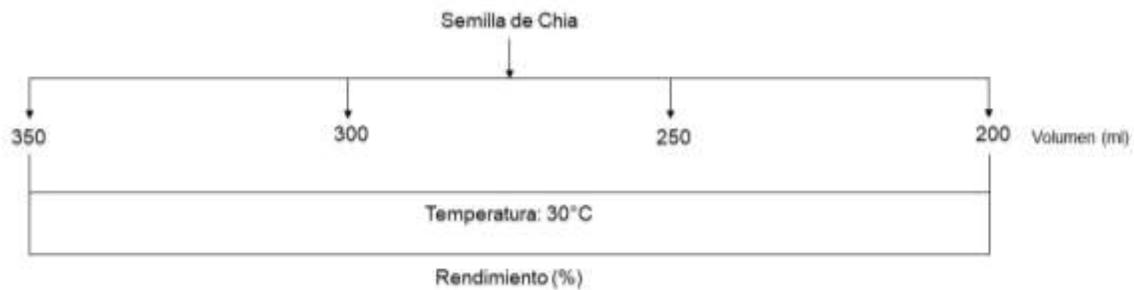


Figura 2. Optimización del volumen de solvente a temperatura de maceración constante en el proceso de extracción del mucílago de chíá.

Para la maceración química se pesaron 5 gramos de semillas de chíá secas y se colocaron en un vaso de precipitados. Después se añadió agua destilada en el volumen previamente definido en el diseño experimental. Luego, el vaso de precipitados se colocó en una placa con temperatura constante y se mantuvo a esa temperatura durante 45 minutos con agitación mecánica empleando un agitador magnético. En la Figura 3 se esquematiza la maceración química de las semillas de chíá.



Figura 3. Maceración química con agitación mecánica de las semillas de chíá.

Para separar el mucílago de la materia insoluble se empleó un sistema de filtración al vacío. Para esto, el agua y las semillas hidratadas se vertieron en un embudo de Buchner con gasas esterilizadas como filtro. Debido a la alta viscosidad de la alícuota fue necesario emplear una bomba de vacío para acelerar la filtración de las semillas y el mucílago.

Después del proceso de filtración se obtuvo una alícuota compuesta por mucílago disuelto en agua destilada. Mediante un proceso de evaporación fue posible eliminar el solvente y retener solamente el mucílago. Para implementar esta etapa se colocó la alícuota en la placa de calentamiento a 70 °C hasta evaporar toda el agua destilada.

Posteriormente, con una espátula se retiró el mucílago seco del vaso de precipitados. Luego se pulverizó el mucílago en un mortero hasta obtener una consistencia similar a una harina. Finalmente, el mucílago se pesó para determinar el rendimiento en cada ocasión. El proceso de extracción del mucílago de las semillas de chíá se esquematiza en la Figura 4.



Figura 4. Proceso de extracción del mucílago de semillas de chíá.

La secuencia general del proceso de extracción del mucílago de chíá se describe en el diagrama de flujo de la Figura 5.



Figura 5. Diagrama de flujo del proceso de extracción de mucílago de chíá.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se muestran los resultados de las extracciones de mucílago de chíá variando la temperatura de maceración y manteniendo constante el volumen del solvente.

Tabla 1. Rendimiento del proceso de extracción de mucílago de chía a diferentes temperaturas de maceración y manteniendo constante el volumen del solvente.

Peso de las semillas (g)	Volumen del solvente (ml)	Velocidad de agitación (rpm)	Temperatura de maceración (°C)	Mucílago extraído (g)	Rendimiento (%)
5.03	300	600	30	0.16	3.18
5.00	300	600	35	0.14	2.80
5.02	300	600	40	0.15	2.99
5.01	300	600	45	0.14	2.79
5.01	300	600	50	0.13	2.59
5.00	300	600	55	0.13	2.60

En la Figura 6 se observa que el rendimiento de la extracción disminuye ligeramente a medida que se incrementa la temperatura de maceración, obteniéndose un rendimiento máximo de 3.18% a 30 °C.

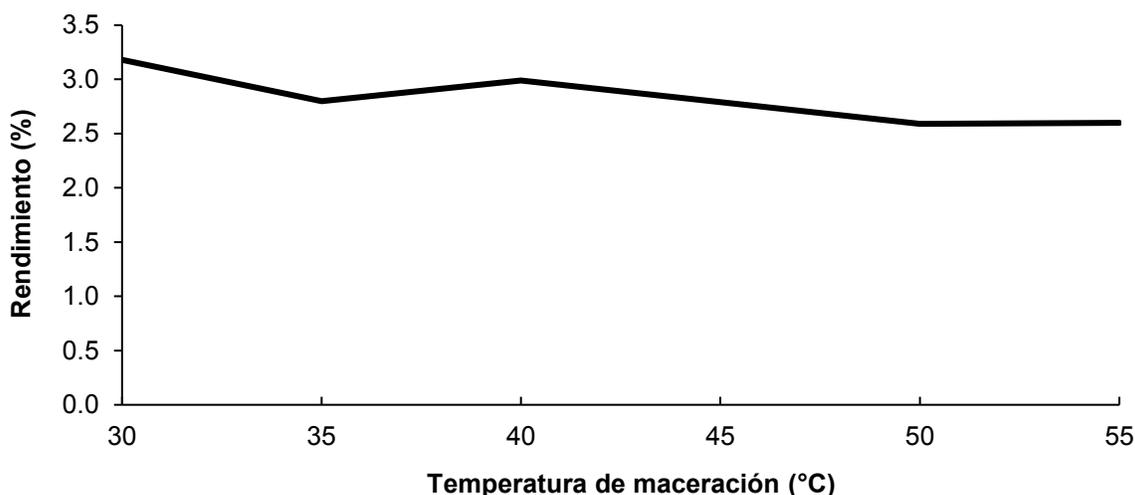


Figura 6. Variación del rendimiento del mucílago de chía extraído a diferentes temperaturas de maceración.

En la Tabla 2 se muestra los resultados de las extracciones de mucílago de chía utilizando diferentes volúmenes de agua destilada como solvente y manteniendo la temperatura de maceración constante.

Tabla 2. Rendimiento del proceso de extracción del mucílago de chía para distintos volúmenes de solvente y temperatura de maceración constante.

Peso de las semillas (g)	Volumen del solvente (ml)	Velocidad de agitación (rpm)	Temperatura de maceración (°C)	Mucílago extraído (g)	Rendimiento (%)
5.00	200	600	30	0.12	2.40
5.00	250	600	30	0.14	2.80
5.03	300	600	30	0.16	3.18
5.00	350	600	30	0.15	3.00

Aquí se observa que el rendimiento de la extracción se incrementa a medida que el volumen del solvente va de 200 a 300 ml. En este caso, volúmenes de solvente mayores a 300 ml no aumentaron significativamente la cantidad de mucílago extraído.

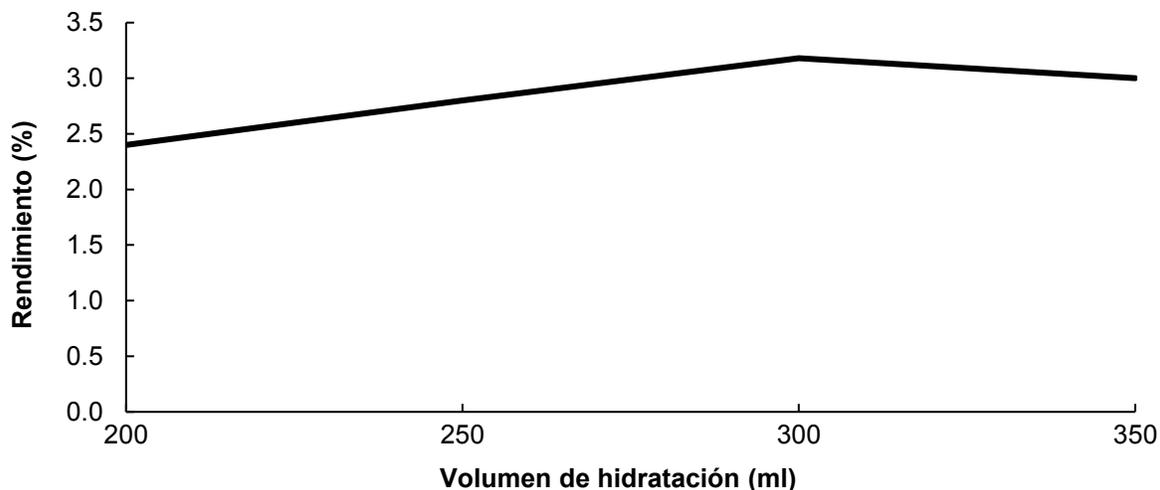


Figura 7. Variación del rendimiento del mucílago de chíá extraído con diferentes volúmenes de solvente y temperatura de maceración constante.

De acuerdo con la Figura 7, el rendimiento óptimo se obtuvo utilizando 300 ml de agua destilada para hidratar 5 gramos de semillas de chíá. Es decir, el volumen de solvente óptimo es de 60 ml por cada gramo de semillas de chíá.

CONCLUSIONES

Para maximizar el rendimiento del proceso de extracción del mucílago de chíá es fundamental controlar la temperatura de maceración y el volumen de solvente utilizado para hidratar las semillas. De acuerdo con los resultados obtenidos, se encontró que la temperatura de maceración óptima es de 30 °C; mientras que el volumen de solvente óptimo es de 60 ml por cada gramo de semillas de chíá secas. La optimización de este proceso de extracción hace que el mucílago de chíá sea económicamente más accesible e incrementa la posibilidad de emplearlo en aplicaciones no-convencionales tales como la fotoprotección de la piel. Además, se daría valor agregado a este material de origen vegetal y a los productos que lo contengan.

BIBLIOGRAFÍA

1. O. A. Di Sapio, M. Bueno, H. Busilacchi, M. Quiroga & C. Severin, "Caracterización Morfoanatómica de Hoja, Tallo, Fruto y Semilla de *Salvia hispanica* L. (*Lamiaceae*)", Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, Vol. 11, 3, 2012, pp. 249-268.
2. H. G. Rodríguez Vallejo, "Mucílago de semillas de chíá como sustituto de grasas convencionales en galletas", Tesis de maestría, Universitat Politècnica de València, Valencia, 2019.
3. C. A. Silva Sánchez, "Evaluación técnica comercial del aprovechamiento de la semilla de chíá (*Salvia hispanica*) para la elaboración de productos alternos", Tesis de licenciatura, Universidad de las Américas, Quito, 2015.
4. E. N. Guiotto, "Aplicación de subproductos de chíá (*Salvia hispanica* L.) y girasol (*Helianthus annuus* L.) en alimentos", Tesis doctoral, Universidad Nacional de la Plata, Buenos Aires, 2014.

5. M. L. Martínez, M. A. Marín, C. M. Salgado, J. Revol, M. C. Penci, & P. D. Ribotta, "Chia (*Salvia hispanica* L.) oil extraction: Study of processing parameters", *Food Science and Technology*, Vol. 47, 2012, pp. 78-82.
6. R. Ayerza & W. Coates, "Protein and oil content, peroxide index and fatty acid composition of chia (*Salvia hispanica* L.) grown in six tropical and sub-tropical ecosystems of South America", *Tropical Science*, Vol. 3, 44, 2004, pp. 131-135.
7. S. C. Orifici, M. I. Capitani, M. C. Tomás & S. M. Nolasco, "Efecto del método de secado del mucílago de chíá (*Salvia hispanica* L.) sobre sus propiedades fisicoquímicas y funcionales", En *VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos*, Córdoba, 2016.
8. L. Muñoz & M. C. Zúñiga, "Propiedades físico-químicas y funcionales del mucílago de semilla de chíá", *Investigación, Ciencia y Universidad*, Vol. 2, 2, 2018.
9. A. E. Arias Jaramillo, & D. C. Delgado Moreira, "Efecto de tres condiciones de extracción en las propiedades físico-químico del mucílago de chíá (*Salvia hispánica* L.)", Tesis de licenciatura, Universidad de las Américas, Quito, 2016.
10. A. J. P. Maurtua, H. H. A. Luis, P. R. J. Carlos, J. E. H. Mavila, W. H. Quispe, A. T. Espinoza & F. R. P. Escalante, "Determinación de la tecnología de extracción del mucílago de la semilla de chíá (*Salvia hispanica* L.) y evaluación de sus propiedades funcionales/Determination of the extraction technology of the chia seed mucilage (*Salvia hispánica* L.) and evaluation of its functional properties", *Brazilian Journal of Development*, Vol. 6, 2, 2020, pp. 7894-7910.
11. K. Y. Lin, J. R. Daniel, & R. L. Whistler, "Structure of chia seed polysaccharide exudate", *Carbohydrate Polymers*, Vol. 23, 1, 1994, pp. 13-18.
12. A. Ziolkovska, "Laws of flaxseed mucilage extraction", *Food Hydrocolloids*, Vol. 26, 1, 2012, pp. 197-204.
13. G. Fernaroli's, "Handbook of flavor ingredients", Vol. I, CRC Press, New York, 1975.

INFLUENCIA DE FERTILIZACIÓN ORGÁNICA Y QUÍMICA SOBRE LA GERMINACIÓN Y DESARROLLO FOLIAR DE FRIJOL COMÚN (*PHASEOLUS VULGARIS* L.)

Erika Cecilia Gamero Posada, Sonia Valdez Ortega, Ixchel Abby Ortiz Sánchez*, Oscar Gilberto Alaniz Villanueva, Javier Saucedo Rodríguez y Marín Bonilla Murillo

Tecnológico Nacional de México campus Valle del Guadiana

*ixchel.os@vguadiana.tecnm.mx

RESUMEN

El Estado de Durango sobresale en la generación de variedades de frijol común con alto impacto productivo y comercial en México. La Biotecnología ha abierto posibilidades en lo concerniente a la aplicación de microorganismos benéficos para la promoción del crecimiento de los cultivos, aspecto que cobra cada día mayor auge debido al incremento en la demanda de alimentos y a la búsqueda de alternativas agrícolas sustentables. El presente proyecto tuvo como objetivo evaluar la influencia de un biofertilizante hecho a base la bacteria promotora de crecimiento vegetal (BPCV) *Azospirillum spp.*, nativa de la región del Valle del Guadiana, sobre la germinación y el desarrollo foliar de un cultivo de frijol común de temporal a cielo abierto, en comparación con el uso de fertilización química convencional. En Julio-Noviembre de 2019 se estableció una parcela experimental de Frijol Pinto Saltillo en la región del Valle del Guadiana, Durango, en la que se dispuso un diseño en bloques al azar y se evaluaron cuatro tratamientos: el primero (AZ) fue una suspensión de *Azospirillum spp.* (4.3×10^{11} UFC/mL); el segundo (AZ-FQ50%) se trató de la misma suspensión bacteriana combinada con una dosis de fertilizante químico al 50%; el tercero (FQ100%) fue un fertilizante químico con dosis al 100%; en el cuarto tratamiento (TA) no se llevó a cabo la fertilización. Se evaluó la influencia de cada tratamiento sobre la germinación a los 7-13 días después de la siembra (DDS), y posteriormente sobre el desarrollo foliar, a través de la medición de la altura de tallo y follaje, a los 14, 21, 28, 35, 41 y 49 DDS. En lo que se refiere a la germinación, el análisis de los datos mostró que no existe diferencia significativa ($p > 0.05$) entre aquellos tratamientos en los que se inoculó la semilla al momento de la siembra (AZ y AZ-FQ50%) y los tratamientos en los que no se inoculó la semilla (FQ100% y TA). En lo que respecta a la altura de tallo y follaje, se observó diferencia significativa entre los tratamientos ($p \leq 0.05$), siendo el combinado (AZ-FQ50%) y el químico (FQ100%) los que fomentan el desarrollo de los tallos y follajes más altos a los 49 DDS, sin haber diferencia estadística entre ellos; las plantas tratadas únicamente con fertilizante orgánico (AZ) se ubican en segundo lugar, y las que no fueron fertilizadas mostraron los tallos y follajes más cortos. Los resultados indican que la aplicación de biofertilizantes con base en cepas nativas de *Azospirillum spp.* incrementan el desarrollo foliar de frijol común, aunque no influyen en el tiempo de su germinación, experimentos que se sugiere repetir debido a que las lluvias durante el ciclo evaluado fueron escasas. La utilización de BPCV representa una alternativa sustentable y económica para los agricultores y ganaderos de la región, debido a que se puede reducir hasta en un 50% la aplicación de fertilizantes nitrogenados de síntesis química.

INTRODUCCIÓN

En Durango la producción de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) es una de las actividades económicas de mayor importancia alimenticia, social y ecológica. A pesar de lo anterior, la producción de grano de frijol se realiza en zonas áridas y semiáridas, donde la disponibilidad de agua es limitada y las pérdidas de rendimiento son comunes (INIFAP, 2017).

En esta región se siembra 1 millón de hectáreas (ha) y se obtienen 491,000 ton de grano de frijol, lo cual representa 50 % de la producción nacional (INIFAP, 2017). En el estado de Durango se siembra 14 % de la superficie nacional cultivada con frijol y se obtiene 11 % del grano producido en México (INIFAP, 2017). En 2015, en Durango se sembraron 253,000 ha con frijol y se produjeron 111,000 ton de grano (SIAP-SAGARPA, 2017). En el estado, el cultivo de frijol es considerado como una de las actividades de mayor importancia alimenticia, social y económica. Además, el cultivo del frijol cumple con una importante función ecológica debido a su capacidad para fijar nitrógeno atmosférico y con ello mejorar la fertilidad del suelo. Por su importancia, el frijol es considerado por los

productores como un cultivo que proporciona los alimentos y beneficios económicos que contribuyen a mejorar el nivel de vida de la población duranguense.

El suelo es un elemento clave para el mantenimiento de la vida sobre la Tierra. Además de ser el principal soporte de la vegetación, la infraestructura y el hábitat de la biodiversidad, participa de manera esencial en el funcionamiento de cualquier ecosistema. Sin embargo la degradación de éste, es un fenómeno presente en todo el mundo, teniendo diferentes niveles e impactos en la sociedad. Uno de los principales efectos negativos de la degradación del suelo es la reducción de la capacidad de producir alimentos para toda la población, problema que está dado por la contaminación de los suelos con químicos como insecticidas, herbicidas y fertilizantes (Acuña et al., 2001).

El uso de biofertilizantes a base de bacterias como las del género *Azospirillum spp.*, que son consideradas como fijadoras de nitrógeno, y al ser aisladas de la rizósfera, sirven como inoculantes para las semillas, además estas bacterias devuelven gran cantidad del nitrógeno inorgánico del suelo a la atmósfera. Según Okon y Vanderleyden (1997), dentro de los mecanismos de acción directos de estas bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) sobre las plantas, se encuentran el mejoramiento de la germinación, el desarrollo del sistema radical, la nutrición mineral y la fitoestimulación (utilización del agua), parámetros observados en varias especies de los géneros *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, entre otros.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la influencia de un biofertilizante hecho a base la bacteria promotora de crecimiento vegetal (BPCV) *Azospirillum spp.*, nativa de la región del Valle del Guadiana, sobre la germinación y el desarrollo foliar de un cultivo de frijol común de temporal a cielo abierto en el ciclo de siembra 2019, en comparación con el uso de fertilización química convencional.

TEORÍA

El frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), es un cultivo que se ha extendido prácticamente en todo el mundo y es considerado como parte de la dieta básica debido a su aporte nutricional (24.7% de proteína, 69.4% de carbohidratos y 1.7% de lípidos) de una gran parte de la población (SAGARPA-CONACyT, 2018). En México, el frijol es la cuarta especie más importante, con base en la superficie utilizada para su cultivo y se sitúa únicamente después del maíz, pastos y sorgo (SAGARPA-CONACyT, 2018).

En el estado de Durango la producción de frijol es una de las actividades económicas y sociales más importantes (Estrada, 2018). En el ciclo Primavera-verano 2019, se sembraron con frijol 172, 414 hectáreas y se obtuvo una producción de 13,201 toneladas; se obtuvo un rendimiento promedio de 313 kg ^{-ha} (INFOSIAP-SAGARPA, 2019). Las áreas más importantes para la producción de frijol de temporal en Durango se encuentran en los municipios de Cuencamé, Guadalupe Victoria, Pánuco de Coronado, Peñón Blanco, Poanas, Vicente Guerrero, Canatlán e Indé. El clima predominante de las áreas productoras de frijol es el templado, con régimen de lluvias en verano (350 a 535 mm), la temperatura media anual es de 15.8 a 17.7°C y la altitud oscila entre 1,700 y 2,100 metros. Los suelos de las áreas productoras de frijol en Durango se clasifican como Regosoles, Xerosoles Redzina y Feozem. Las áreas con alto potencial de rendimiento se ubican en los municipios de Canatlán, Vicente Guerrero, Guadalupe Victoria y sur de Cuencamé, donde en años con suficiente precipitación bien distribuida se puede obtener hasta 1,800 kilogramos por hectáreas. Las áreas de mediano y bajo potencial están distribuidas en todos los municipios donde se cultiva frijol. Cuando la precipitación es abundante (más de 450 mm) y con buena distribución durante el ciclo biológico del cultivo, se incrementa el rendimiento en todas las áreas productoras (SAGARPA, 2015).

Durante el periodo de cultivo, el frijol puede ser afectado por múltiples factores adversos que reducen el rendimiento, como la sequía y las enfermedades causadas por patógenos de la raíz y foliares que disminuyen hasta 50% los rendimientos, lo que ha obligado a investigadores a desarrollar nuevas estrategias que permitan estabilizar la producción y contribuir a la competitividad del frijol (Van Bruggen et al., 1986).

Para mejorar la productividad del cultivo se requiere la aplicación de una estrategia de producción integral en la que se incorporen los diferentes componentes tecnológicos y métodos generados por la investigación agrícola relacionados a la reducción de los riesgos climáticos, la estabilidad productiva y el aprovechamiento sustentable de los recursos dentro de un ambiente desfavorable.

La FAO (1995) ha señalado que la solución del problema de la producción de alimentos dependerá del aumento de la productividad de las tierras y considera que los fertilizantes juegan un importante papel dentro de la producción de insumos. Por tal motivo, la producción mundial de fertilizantes minerales se incrementó sostenidamente entre los años 1985-1989 (de 139,6 a 158,3 millones de toneladas) y se observó cierta disminución entre los años 1990-1994 (de 152,9 a 131,5 millones de toneladas), debido al elevado consumo de energía fósil para su producción, el aumento de los precios y la toma de conciencia a nivel mundial sobre la necesidad de proteger el medio ambiente; no obstante, existió una recuperación de la producción de estos insumos a partir de 1995, motivado ello fundamentalmente por la reducción de los precios de los fertilizantes.

Lo anterior ha traído consigo un deterioro notable en la calidad del medio ambiente, incluyendo el agua, el suelo y el aire, comprometiendo la salud de las poblaciones considerablemente.

Una alternativa es el uso de productos biológicos que permitan producir alimentos inocuos para la salud humana y amigables con el medio ambiente, lo que se traduce en sistemas agrícolas sustentables, esto es, sistemas que permitan mantener los recursos necesarios para sostener la creciente población mundial a largo plazo, sin poner en peligro los recursos naturales para las futuras generaciones.

Un gran número de artículos científicos se describen los efectos que provoca la bacterización con diferentes cepas de *Azospirillum*, medido en el aumento de peso seco total, contenido de nitrógeno de hojas, granos y brotes, floración y aparición temprana de la espiga, número de espigas y granos en estas, peso y tamaño del grano, altura de la planta y tamaño de la hoja, índice de área foliar y tasa de germinación. Además, se han observado efectos marcados sobre el sistema radical, que incluyen incrementos en el número de raíces por planta, en el número y la longitud de las raíces laterales, las cuales incrementan el volumen radical (Parra y Cuevas, 2001) y aumento en el peso seco de la raíz, número, densidad y aparición temprana de los pelos radicales.

Específicamente en Cuba, durante los últimos años ha sido investigado el efecto de *Azospirillum* sobre varios cultivos. La aplicación al arroz de esta bacteria a razón de 20 L/ha (10^8 ufc/mL) con nitrógeno inorgánico muestra que es posible ahorrar el 25 % del fertilizante nitrogenado y obtener rendimientos agrícolas similares a los obtenidos con la aplicación de la dosis completa de nitrógeno (Parra y Cuevas, 2001).

En experimentos realizados en macetas utilizando la bacterización con *Azospirillum brasilense* se demostró el efecto beneficioso que tuvo la bacteria sobre el cultivo del arroz, ya que se pudo ahorrar el 33 % del fertilizante nitrogenado y un momento de su aplicación (Parra y Cuevas, 2001).

A pesar de los resultados positivos obtenidos a nivel mundial en varios cultivos utilizando la bacterización con *Azospirillum*, la incidencia de estos no ha sido lo suficientemente frecuente. El principal problema de la mayoría de los experimentos de campo e invernadero realizados hasta el momento es la respuesta inconsistente de la planta a la inoculación prescindiendo de las especies de plantas.

Graham (1990) en su revisión de problemas en la nodulación y fijación de nitrógeno en frijol, consigna lo siguiente: a) existe una amplia variación entre genotipos en fijación simbiótica de N_2 (de tres a 125 kg ha⁻¹), donde los cultivares de hábito indeterminado trepador son más eficientes; b) hay un progreso en el desarrollo de variedades con alta capacidad en fijación biológica del nitrógeno, a través del mejoramiento genético utilizando métodos de selección recurrente; c) se han identificado cepas de bacterias fijadoras de nitrógeno, altamente efectivas a través de un rango variable de condiciones de suelo y clima; d) los factores ambientales, como acidez (menor de 4.5), toxicidad de aluminio y manganeso y disponibilidad de fósforo en el suelo, temperatura ambiente y competencia con cepas nativas, afectan significativamente la capacidad de nodulación y fijación biológica del nitrógeno por el frijol.

En el desarrollo de esta biotecnología, es importante entender los factores ambientales y biológicos que afectan la simbiosis. Un conocimiento integral de la triada bacteria-planta-ambiente permitiría definir estrategias que conduzcan a la selección de variedades y cepas de *Azospirillum* con alta fijación de nitrógeno y tolerantes a diferentes factores del ambiente.

Es deseable realizar estudios previos de las poblaciones de microorganismos y fertilidad del suelo, todo esto con la finalidad de elaborar biopreparados eficientes y con grandes probabilidades de éxito

para probar su efectividad como biofertilizante sobre cultivo de frijol de la variedad Pinto Saltillo, una de las consumidas en el Estado de Durango.

PARTE EXPERIMENTAL

Los trabajos fueron llevados a cabo en Julio-Noviembre 2019 en una parcela a campo abierto del Tecnológico Nacional de México campus Valle del Guadiana, para evaluar estadísticamente la germinación y el desarrollo foliar y del tallo en la planta de frijol común, bajo tratamiento de fertilización química y orgánica (Cuadro 1). El primer tratamiento (AZ) fue una suspensión de la cepa A8 de *Azospirillum spp.* (4.3×10^{11} UFC/mL); el segundo (AZ-FQ50%) se trató de la misma suspensión bacteriana combinada con una dosis intermedia de fertilizante (20N-30P-00K); el tercero (FQ100%) fue una dosis completa de fertilizante químico (40N-60P-00K); en el cuarto tratamiento (TA) no se llevó a cabo ningún tipo de fertilización.

Cuadro 1. Diseño Experimental

Tratamiento	Descripción	Dosis
AZ	Cepa A8 de <i>Azospirillum spp.</i>	(4.3×10^{11} UFC/mL)
AZ-FQ50%	A8 + Fertilización química	A8 4.3×10^{11} UFC/mL + 20N-30P-00K
FQ100%	Fertilización química	40 N-60 P-00 K
TA	Testigo absoluto	0

Como todo el trabajo se realizó a campo abierto se decidió hacer el diseño experimental en bloques al azar, debido a las pendientes y gradientes de composición química, principalmente. Se establecieron cuatro bloques con la disposición mostrada en el Cuadro 2. Cada bloque se dividió en parcelas de 4 m x 4 m separadas entre sí por pasillos de 1 m. Los bloques y los tratamientos dentro de ellos fueron aleatorizados.

El cepa A8 de *Azospirillum spp.* se aisló y se reprodujo en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal del mismo Instituto Tecnológico, a partir de raíz de *Amaranthus hypocondriacus* en la etapa de "grano lechoso". Los inoculantes crecidos en caldo nutritivo por 60 h a 28 °C y luego separados y lavados por centrifugación, se diluyeron en 20 L de agua corriente, alcanzando una concentración de 4.3×10^{11} UFC/mL, medida por espectrofotometría de luz UV a 660 nm.

Cuadro 2. Disposición espacial del Diseño Experimental

FQ100%	TA
AZ-FQ50%	AZ
TA	AZ-FQ50%
AZ	FQ100%
Bloque 4	Bloque 1
AZ-FQ50%	AZ
TA	FQ100%
AZ	AZ-FQ50%
FQ100%	TA
Bloque 2	Bloque 3

La siembra se realizó el día 26 de julio de 2019 de manera manual, y en los tratamientos AZ y AZ-FQ50% se realizó la inoculación de la semilla, embebiéndola en suspensión de *Azospirillum spp.* durante 10 minutos con agitación constante, tiempo después del cual se sembraron 2 semillas por pocillo, a 5 cm de profundidad y a una distancia de 10 cm entre planta para garantizar la germinación, es decir 80 semillas por surco, esperando obtener al menos 40 plantas por surco y 200 plantas por tratamiento. La semilla para los tratamientos FQ100% y TA no fue inoculada. Posteriormente, la aplicación de los tratamientos se realizó con mochila de aspersión, directamente en el suelo, justo

sobre la siembra o sobre el tallo de las plantas, procurando dejar perfectamente empapado. Se realizaron dos aplicaciones posteriores a la siembra, una a los 15 DDS (días después de la siembra) y otra a los 35 DDS.

Las evaluaciones tanto de germinación como de desarrollo foliar y de tallo, se realizaron en el cuadrante central de cada tratamiento (1 m x 1 m), para evitar el efecto "orilla", abarcándose en total 20 plantas que fueron seguidas a lo largo de todo el experimento, etiquetándolas individualmente. A los 7-13 DDS se observó la emergencia de cada planta para evaluar la germinación, y a los 14, 21, 28, 35, 42 y 49 DDS se realizó la medición de la altura de tallo y de la planta completa (tallo y follaje), utilizando regla Vernier o cinta métrica metálica. Los datos fueron procesados en el paquete computacional InfoStat, y se les realizó un análisis no paramétrico de Friedman con un grado de significancia de 0.05.

RESULTADOS

En el Cuadro 3 se puede observar que la inoculación de la semilla previa a la siembra, no influyó en el tiempo de germinación, ya que los tratamientos no muestran diferencia significativa ($p > 0.05$) en el número de plantas emergidas entre los 7 y 13 DDS. Este resultado coincide con los de Roldan et al. (2003), quienes reportan que a pesar de observar un aumento en el número de semillas que germinan al ser inoculadas con BPCV, este no fue estadísticamente significativo con respecto a semillas no inoculadas. Sin embargo, se ha reportado que las rizobacterias tienen la capacidad de producir sustancias fisiológicamente activas que estimulan el crecimiento vegetal, tales como ácido indolacético, giberelinas y citoquininas, que juegan un importante rol en la interrupción del letargo seminal, lo cual trae consigo una predisposición prematura de la germinación (Vázquez y Torres, 1995). Por tal motivo, es recomendable la repetición de los experimentos para la corroboración de los resultados. Cabe hacer mención que el cultivo de frijol en el Estado de Durango durante el ciclo 2019, se vio seriamente afectado por la baja precipitación acumulada (428.8 mm) en el municipio de Durango (CONAGUA, 2020).

Cuadro 3. Germinación y altura de plantas de Frijol Pinto Saltillo sometido a tratamientos de fertilización en condiciones de temporal durante el ciclo 2019, en el Valle del Guadiana, Durango.

Variable	Tratamiento			
	AZ (4.3×10^{11} UFC/mL)	AZ-FQ50%	FQ100%	TA
Germinación (7-13 DDS)	2.63 ^A	2.00 ^A	2.75 ^A	2.63 ^A
Altura foliar (49 DDS)	1.95 ^{C,D}	3.37 ^A	2.90 ^B	1.78 ^D
Altura de tallo (49 DDS)	1.88 ^{B,C}	3.37 ^A	3.03 ^A	1.73 ^C

Se muestran medias de rangos. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Por otra parte, en lo que respecta a la altura de tallo y follaje, se observó diferencia significativa entre los tratamientos ($p \leq 0.05$), siendo el combinado (AZ-FQ50%) y el químico (FQ100%) los que fomentan el desarrollo de los tallos y follajes más altos a los 49 DDS, sin haber diferencia estadística entre ellos; las plantas tratadas únicamente con fertilizante orgánico (AZ) se ubican en segundo lugar, y las que no fueron fertilizadas mostraron los tallos y follajes más cortos (Cuadro 3). Chacón et al. (2004) determinaron la influencia de la inoculación con BPCV (entre las que se encontraban *Azospirillum spp.*) sobre parámetros morfológicos, fisiológicos y de fijación de nitrógeno en diferentes condiciones del cultivo del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.); sus resultados mostraron la superioridad de los tratamientos de inoculación, difiriendo significativamente con el tratamiento testigo, al evaluar la altura y peso fresco del área foliar incluido el tallo de las plantas, en los diferentes estadios.

Se puede observar (Figuras 1 y 2) que al principio todos los tratamientos presentaron un crecimiento similar, sin embargo al paso de los días y de las aplicaciones de los tratamientos, a partir de los 28 DDS el FQ100% Y AZ-FQ50% se disparan en crecimiento tanto de tallo (Figura 1), como de follaje (Figura 2); mientras AZ y TA se mantienen constantes y con poco crecimiento, pero al final, como ya se esperaba, el TA es el que menor crecimiento obtuvo en cuanto a crecimiento de tallo y foliar (Figuras 1 y 2), lo cual muy probablemente se puede ver afectado en el rendimiento ya que la planta al tener menos hojas y masa foliar realiza menos fotosíntesis y tiene escasas de nutrimentos.

Las gráficas de las Figura 1 y 2 muestran como las plantas reaccionaron a cada tipo de tratamiento, lo que era evidente es que la aplicación química sería la mejor, sin embargo se notó en campo y se corroboró luego del análisis de los datos, que la mezcla AZ-FQ 50% es más eficiente en cuanto a crecimiento foliar y crecimiento de tallo, además de ser un tratamiento que permite la reducción a la mitad las dosis de agroquímicos y se beneficia el suelo al agregar microorganismos fijadores de nitrógeno y potenciadores del crecimiento vegetal, como lo es *Azospirillum spp*.

Acuña et al. (2001) obtuvieron resultados similares, al validar la técnica de inoculantes en frijol con cepas nativas de *Rhizobium spp.* eficientes en fijación de nitrógeno en Centroamérica, concluyendo que la respuesta del frijol a la inoculación es variable de sitio a sitio, pero que en el 80% de ellos, el rendimiento se vio aumentado con el uso de inoculantes o inoculantes + dosis intermedias de fertilización química, aumentando con ello también las ganancias económicas.

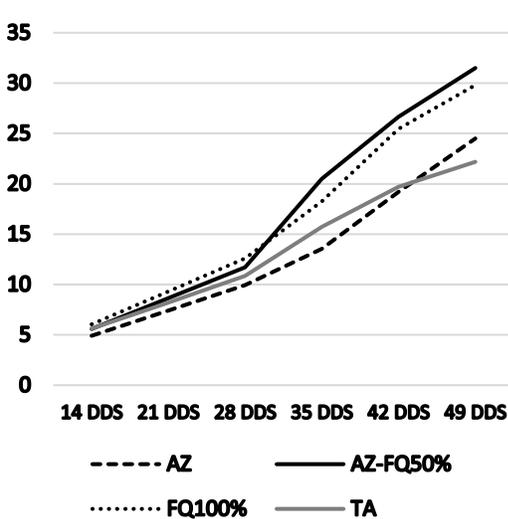


Figura 1. Cinética de crecimiento de tallo (cm)

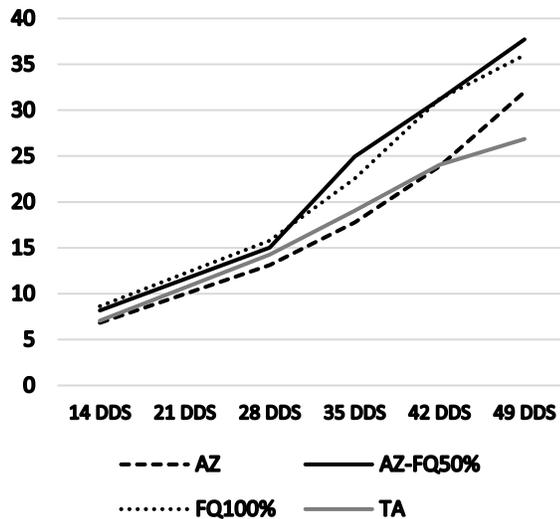


Figura.2 Cinética de desarrollo foliar (cm)

CONCLUSIONES

Los resultados indican que la aplicación de biofertilizantes con base en cepas nativas de *Azospirillum spp.* incrementan el desarrollo de tallo y foliar de frijol común, aunque no influyen en el tiempo de su germinación. La utilización de BPCV representa una alternativa sustentable y económica para los agricultores y ganaderos de la región, debido a que se puede reducir hasta en un 50% la aplicación de fertilizantes nitrogenados de síntesis química. La aplicación de *Azospirillum spp.* sobre el cultivo de frijol común ayudó a que la planta fija nitrógeno y se mantuviera nutrida para su desarrollo, sin embargo al mezclarse con fertilización química el beneficio fue mayor, ya que la planta crece más en menor tiempo y logra desarrollar masa foliar, lo cual es de suma importancia ya que entre más hojas existe mayor actividad fotosintética tendrán las plantas. El aplicar este biofertilizante nos garantiza una planta sana y además se reduce la contaminación y se mejora el suelo, que es lo que

en la actualidad se está buscando producir de manera sustentable y amigable para el medio ambiente.

BIBLIOGRAFÍA

1. Acuña, O., Rodríguez, E., Llano, A., Calderón, V.R., Flores, G., Viana, A., Lépiz, R. (2001). Validación técnica de inoculantes en frijol con cepas de *Rhizobium* eficiente en fijación de nitrógeno en Centroamérica. *Agronomía mesoamericana* 12(1). P.p. 25 – 31.
2. Chacón R. D., Torres G. R., Pérez N. C. (2004) Influencia de rizobacterias diazotróficas sobre el cultivo del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). Universidad Central “Martha Abreu” de las Villas. Trabajo de Tesis. P.p. 27-38
3. Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). Consultado en mayo 2020. Históricos 2019. (<https://smn.conagua.gob.mx/tools/DATA/Climatolog%C3%ADa/Pron%C3%B3stico%20clim%C3%A1tico/Temperatura%20y%20Lluvia/PREC/2019.pdf>)
4. Estrada F., A. C. (2018). Rendimiento y calidad de grano en líneas mejoradas de frijol cultivadas en Durango. Tesis de Licenciatura. Instituto Tecnológico del Valle del Guadiana (ITVG). Villa Montemorelos, Dgo, Méx. P.p. 50
5. Graham P., Apolitano C., Ferrera R., Halliday J., Lépiz R., Menéndez O., Rios R., Saito S., Viteri S., (1981). The international bean inoculation trials (IBIT). *In*: Graham P., Harris S., eds. *Biological Nitrogen Fixation. Technology for Tropical Agriculture*. CIAT, Cali, Colombia.
6. Graham P. (1990). Problemas de la nodulación y la fijación de nitrógeno en *Phaseolus vulgaris* L. Una reevaluación. *Terra*, Vol. 8, Número Especial. p. 71-82.
7. Instituto Nacional De Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). (2017). *Agenda Técnica Agrícola Durango y la Laguna*. Ciudad De Mexico: Publicaciones INIFAP.
8. Okon, Y. y J. Vanderleyden. (1997). Root associated *Azospirillum* species can stimulate plants. *ASM News* 63 (7): P.p. 366 – 370
9. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). (1995). *Manual técnico de la fijación del nitrógeno*. Roma. pp: 10-35.
10. Parra, Y., Cuevas, F. (2001). Potencialidades de *Azospirillum* como inoculante para la Agricultura. *Cultivos Tropicales*, 2001, vol. 23, no. 3, p. 31-41
11. SAGARPA-CONACyT. (2018). Fondo Sectorial de Investigación en Materias, Agrícola, Pecuaria, Acuicultura, Agrobiotecnología y Recursos Fitogenéticos. P. p. 72-73.
12. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (INFOSIAP). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. (SAGARPA). (2017). Anuario estadístico de la producción agrícola. Documento consultado en línea Mayo de 2020. <https://www.gob.mx/siap>
13. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (INFOSIAP). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. (SAGARPA). (2019). Anuario estadístico de la producción agrícola. Documento consultado en línea. 14 de enero de 2020. http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/AvanceNacionalCultivo.do
14. Torres G. R., Pérez N. C., Suárez C. N. (2003). Influencia de la inoculación de rizobacterias sobre la germinación de semillas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) Centro Agrícola, año 30, no.2, abril-junio. P.p. 53-60
15. Van Bruggen A. H. C., Whalen C. H., Arneson P.A. (1986). Emergence, growth, and development of dry bean seedlings in response to temperature, soil moisture, and *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 76:568-572.
16. Vázquez E. y Torres S. (1995): *Fisiología Vegetal*. Ed. Pueblo y Educación, La Habana Cuba, pp. 278-455.

EFECTO DEL TÉ DE COMPOST EN TOMATE (*LYCOPERSICUM ESCULENTUM* MILL.) BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO.

Oscar Gilberto Villanueva¹, Beatriz Betancourt Chaidez² y José Natividad Uribe Soto³

¹Instituto Tecnológico del Valle del Guadiana, ² Instituto Tecnológico del Valle del Guadiana,

³Instituto Politécnico Nacional-CIIDIR Durango.

ita1_72@hotmail.com

RESUMEN

En México, el tomate es la principal hortaliza, genera cuantiosos ingresos, empleos y un alto valor nutritivo para la dieta. El uso indiscriminado de fertilizantes convencionales afecta al suelo en el que se cultiva, parte de los nutrientes son lixiviados con la lluvia y/o sistemas de riego, contaminando cuerpos de agua superficiales así como los mantos freáticos. Esto obliga a buscar alternativas de nutrición vegetal, que no generen un impacto ambiental, como lo son los biofertilizantes que contribuyen a mejorar las características físicas, químicas y biológicas del suelo. Ante este escenario, el propósito del presente trabajo fue evaluar el efecto de tres dosis de té de compost y un fertilizante convencional en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). El trabajo se realizó en el área de invernaderos del CIIDIR-IPN Unidad Durango. Estableciéndose bajo un diseño experimental completamente al azar con doce repeticiones. Donde las variables evaluadas fueron: desarrollo de planta, rendimiento y calidad de fruto, pruebas bromatológicas de fruto, al igual que pruebas microbiológicas para cuantificar UFC/g-suelo de microorganismos presentes en el suelo. Los datos se evaluaron con un ANOVA, y se aplicaron pruebas de medias Tukey. Los resultados obtenidos muestran diferencias significativas, las plantas más desarrolladas se obtuvieron con el tratamiento 4 con 2.95 m. de altura. El rendimiento mayor con 432.06 g. se muestra en el tratamiento testigo con fertilización convencional. Los valores promedio de UFC/g-suelo se observó un aumento de bacterias, hongos y actinomicetos, conforme se aplicó el té de compost. Si bien en los casos de mayor desarrollo y rendimiento se obtuvieron con el tratamiento de fertilización convencional, los tratamientos con té de compost muestran rendimientos y tamaños de fruto atractivos comercialmente y promovió el aumento de los microorganismos en el suelo, lo que permite recomendar el uso del té de compost ya que con el tiempo enriquecer los procesos biogeoquímicos del suelo mejorando sus condiciones en beneficio de la fertilidad del mismo.

INTRODUCCION

El *Solanum lycopersicum*, es el nombre científico de la hortaliza mundialmente conocida como tomate, el prefijo "ji" del término jitomate, indica rojo en lengua náhuatl. Existe una gran variedad de especies como: bola, cherry o cereza, guaje o saladette, jitomatillo (SACSA, 2017).

El tomate es una de las especies hortícolas más importantes, genera divisas, fuentes de empleo y un alto valor nutritivo para la dieta. Es la hortaliza que ocupa la mayor superficie sembrada en todo el mundo. De las diversas hortalizas que se explotan a nivel nacional, el tomate es la más importante, tanto por su superficie de siembra, como por el valor de su producto; además es una planta que tiene un rango de adaptabilidad muy amplio ya que se cultiva en clima templado y tropical de casi toda la república Mexicana (López, 2003).

La producción de tomate bajo condiciones de invernadero va en aumento, y con ello el uso de pesticidas químicos, fungicidas, herbicidas y fertilizantes que proporcionan la nutrición necesaria para obtener grandes volúmenes de producto final. Lo anterior implica, acumulación de residuos contaminantes en frutos, elevados costos de producción y daño ambiental potencial. La fertilización orgánica se distingue como una alternativa a la producción más limpia de cultivos. Así mismo, al utilizar insumos de bajo costo, se reducen los costos de producción (Tobar, 2016).

Una de las deficiencias en la aplicación de la tecnología de fertilizantes orgánicos, es la falta de evidencias demostrables al agricultor, de los efectos benéficos de estos insumos en la agricultura.

Por lo cual, en el presente trabajo se propuso la evaluación de diferentes dosis de Té de composta para la producción de tomate, comparado con un testigo fertilizado de forma convencional, lo anterior como una alternativa que implica menor impacto en los recursos de producción, suelo-agua-

medioambiente, desde la perspectiva de las ventajas del uso de materiales orgánicos que ofrecen evitar la contaminación de los medio de producción, así como promover la actividad microbiana.

PARTE EXPERIMENTAL

El presente proyecto de investigación se llevó a cabo en el área de invernaderos del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Durango, ubicado en las siguientes coordenadas: N24° 06' 03", W 103° 56' 10". Con altitud de 1870 msnm. El clima está clasificado como (Bs1k), semiseco templado con lluvias en verano, temperatura media anual 17.7° y precipitación media anual de 480 mm. Temperaturas máxima y mínima de 38°C y -5° respectivamente. Con domicilio en calle Sigma #109, fraccionamiento 20 de noviembre II.

El estudio se estableció bajo un diseño experimental completamente al azar con cuatro tratamientos y doce repeticiones. En el Cuadro número uno, se describen los tratamientos. 1, 2 y 3 corresponden al preparado de Té de composta con: composta, roca fosfórica, harina de roca, melaza y agua mezclados en un bio-reactor con capacidad de 200 litros, de los cuales el tratamiento 1 corresponde a la dosis de 200L/ha; el tratamiento 2 son 400 L/ha; el tratamiento 3, 600 L/ha y el tratamiento 4, fungiendo como testigo, corresponde a la fertilización tradicional.

Cuadro 1 Tratamientos establecidos

Tratamiento	Dosis
T1	200L/ha
T2	400L/ha
T3	600L/ha
Testigo	Fertilización Inorgánica

Se estableció en una superficie de 250 m², en el cual previamente se habían realizado algunas labores culturales, que fueron barbecho, rastreo, nivelación y se establecieron 4 camas, a doble hilera con una separación entre cama y cama de 1.7 m (de centro a centro de cada cama), las líneas con una separación de 40 cm y la distancia entre planta y planta de 40 cm.

Una vez que la plántula presento tres pares de hojas verdaderas y una altura de 12 a 15 cm. se trasplanto manualmente.

Antes de realizar el trasplante primero se sumergió la charola que contenía la plántula en un recipiente con agua limpia para humedad el cepellón y facilitar la extracción de la plántula contenida en la charola. En seguida, en la cama de trasplante, se realizaron orificios con una profundidad de 10 cm aproximadamente, después se prosiguió con la colocación de la plántula en los orificios previamente preparados dándole un pequeño apretón para que quede firme la plántula para evitar burbujas con aire y sin llegar a compactar demasiado el suelo y la raíz de la misma.

El tutorado se llevó a cabo después del trasplante cuando la planta presento alrededor de 25 a 30 cm de altura; para dar soporte a la planta durante su ciclo productivo.

La poda fue esencial a lo largo de todo el ciclo, consistió en la eliminación de los brotes o chupones que salieron de las axilas de las hojas del tallo. Durante esta actividad se cuidó no cortar el brote apical que contiene el punto de crecimiento.

La fertilización para el testigo se realizó de acuerdo a los requerimientos del cultivo de tomate de crecimiento indeterminado, utilizando 2.1 – 0.7 – 4.4 – 2.3 y 0.4 Kg ton⁻¹ de N, P₂O₅, K₂O, Ca y Mg respectivamente, para la elaboración de la solución nutritiva se utilizaron: ácido nítrico, ácido fosfórico, cloruro de potasio, nitrato de calcio, fosfato mono amónico, sulfato de magnesio y micronutrientes, grado fertilizante, aplicados en disoluciones a través de un inyector tipo Ventury de $\frac{3}{4}$ de pulgada.

El Té de composta es el extracto liquido de composta que contiene microorganismos benéficos y nutrientes que le aportan a los cultivos vitalidad y fuerza para poder hacer frente a enfermedades y plagas, fortalece el sistema inmunológico de las plantas.

Para la elaboración del Té de composta, se utilizó un biorreactor, el cual cuenta con bomba de aire, que se encarga de inyectar oxígeno para la facilitación de la reproducción de bacterias aerobias, así como un termostato que mantiene una temperatura entre 22°-32°.

La implementación de un catalizador, en este caso se usó melaza, permite la proliferación de microorganismos benéficos que descomponen la composta así como de los minerales que se suministran, dejándolos de manera asimilable para las plantas.

Una vez que está en funcionamiento el biorreactor, es importante prestar atención al tamaño adecuado de la burbuja con el fin de proporcionar una alta concentración de oxígeno en el agua.

El proceso de fermentación dura entre de 4 a 7 días, esto depende del momento que desaparezcan las burbujas lo cual nos indicó la maduración del material.

Se aplicó el Té de composta de lunes a viernes, en el sistema de riego por goteo.

Las aplicaciones foliares fueron de coadyuvantes ABIocre-C® y ABIocre-C.MYN® los miércoles y viernes.

El invernadero en donde se realizó el presente estudio es de tipo pasivo, por ello las condiciones de temperatura y humedad relativa se controlaron de forma mecánica durante todo el ciclo del cultivo, con la apertura y cierre de ventilas para proteger el cultivo. Esto con la finalidad de mantener dentro del invernadero condiciones de clima cercana a la óptima.

Se realizaron análisis bromatológicos para la obtención de materia seca, humedad, proteína, grasa, ceniza y fibra cruda por la técnica de Tejada (1983).

Los análisis microbiológicos se realizaron de acuerdo al Manual de laboratorio de ecología microbiana (Soto, 1996) haciendo una comparación cuantitativa de poblaciones microbianas a través de diluciones seriadas.

Los datos obtenidos de las diferentes variables de respuesta se procesaron mediante el análisis de varianza (ANOVA) con el 95% de probabilidad y se aplicaron pruebas de media Tukey (α 0.05) utilizando el Software SPSS versión 22.

RESULTADOS

A continuación se muestran los resultados del análisis bromatológico.

Cuadro 2. Resultados del análisis bromatológico

Tratamiento	% Humedad	% MS	% Proteína	% Grasa	% Ceniza	% F.C
1	90.25	9.07	0.98	0.25	0.35	0.98
2	90.92	9.08	1.07	0.25	0.35	1.38
3	91.63	8.36	0.98	0.17	0.39	1.04
Testigo	91.03	8.96	1.07	0.25	0.38	2.51
			0.088			

En donde MS= materia seca F.C= Fibra cruda.

En relación al análisis bromatológico, el Cuadro 2, nos muestra que el tratamiento 3 contiene mayor humedad, seguido del tratamiento testigo, las menores humedades se encuentra en los tratamientos 1 y 2 los resultados están de acuerdo a Sánchez (2012), el cual menciona que los productos orgánicos tienen más consistencia debido a una menor cantidad de agua y una mayor cantidad de nutrientes. El mayor porcentaje de materia seca se observa en los tratamientos 1 y 2 con 9.07 y 9.08, respectivamente, mientras que el menor porcentaje se obtiene en el tratamiento 3. Los tratamientos 1, 2 y 3, correspondientes a té de composta, aparecen con mayor porcentaje de proteína que el tratamiento químico con 0.98, 0.98, 1.07, respectivamente y el menor porcentaje se muestra en el tratamiento 4, con un 0.088 %. En la grasa los tratamientos 1, 2 y testigo mantienen los mismos porcentajes mientras que en el tratamiento 3 se obtiene el más bajo. La ceniza se muestra en mayor porcentaje en el tratamiento 3, seguido del tratamiento 4 y es igual en los tratamientos 1 y 2. La fibra cruda se observa en mayor porcentaje en el tratamiento testigo, seguido del tratamiento 2, 3 y 1,

respectivamente. Bajo condiciones normales de cultivo, los frutos de tomate contienen en promedio 94% de agua, 1% de proteína cruda y 0,6% de minerales, expresados como cenizas (Casierra *et al.*, 2007).

A continuación, se muestran los valores promedio de UFC/g suelo de las mediciones, donde se observó un aumento de microorganismos conforme se aplicó el té de composta.

Los microorganismos del suelo liberan compuestos promotores del crecimiento vegetal (Fracchia, 2002). Forman parte de la materia orgánica e intervienen en los procesos de mineralización de nutrientes (Acuña *et al.* 2006). Fijan nitrógeno atmosférico, descomponen residuos orgánicos y aportan nutrientes al suelo (Hernandez *et al.* 2005).

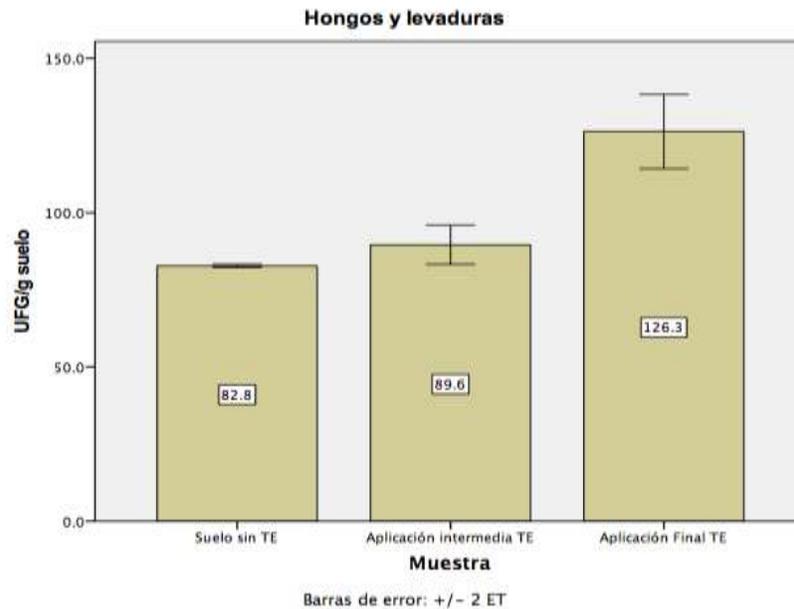


Figura 4 Hongos y levaduras

De acuerdo a la prueba de rango múltiple de Duncan ($p < 0.05$) en la variable hongos y levaduras, al inicio del experimento sin la presencia del té de composta en el suelo se cuantificaron 82.8 UFC/g suelo, en la primera aplicación del biofertilizante se observó un incremento con 89.6 UFC/g suelo y en la aplicación final incrementó con 126.3 UFC/g suelo. Autores como Fracchia-Sebastian, (2002) reportan que los hongos aportan la mayor biomasa microbiana al suelo. Otros autores como Sevillano *et al.* (2006) mencionan que la posibilidad de que predominen los hongos o el grupo bacterias actinomicetos depende de las condiciones del suelo, especialmente del pH y del contenido de humedad. Autores como Fracchia -Sebastian, (2002), señalan que algunos hongos pueden asimilar entre el 30 y 50% del carbono presente en la materia orgánica que descomponen, sintetizan compuestos polifenólicos, contribuyendo a la formación de la materia orgánica. Promueven la agregación de partículas, mejorando la estructura del suelo, lo que favorece una mejor aireación del mismo que beneficia el crecimiento vegetal.

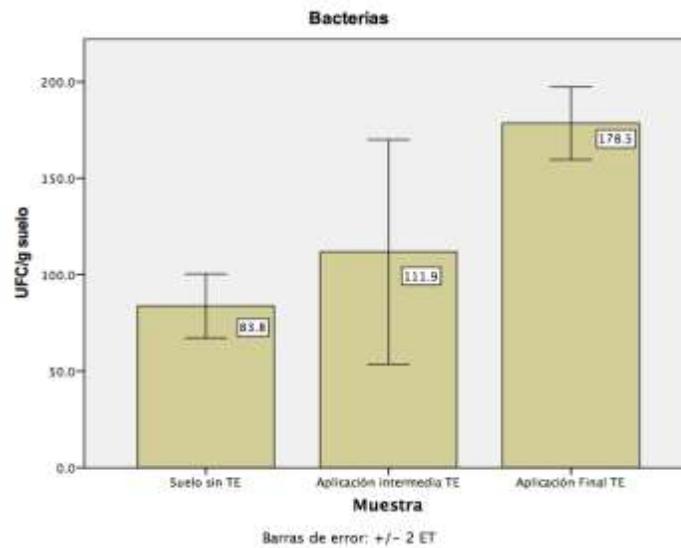


Figura 5 Bacterias

De acuerdo a la prueba de rango múltiple de Duncan ($p < 0.05$) en la variable bacterias totales, al inicio del experimento sin la presencia del té de composta en el suelo se cuantificaron 83.8 UFC/g suelo, en la primera aplicación se observó un incremento con 119.9 UFC/g suelo y en la aplicación final hubo un incremento considerable con 178.5 UFC/g suelo. Autores como Aguilar *et al.* (2003), señalan que las ventajas de incrementar bacterias en el suelo, son que al asociarse con las plantas aumentan su crecimiento y desarrollo, también las protegen contra microorganismos patógenos. Otros autores como Julca *et al.* (2006), mencionan que las bacterias son las encargadas de la oxidación del amoníaco a nitratos y descomponen la materia orgánica. Autores como Acuña, (2006) reporta que las bacterias descomponen y mineralizan los residuos orgánicos. Mediante su metabolismo liberan sustancias como enzimas, proteínas, reguladores de crecimiento, metabolitos secundarios y algunos nutrientes. Los beneficios en los cultivos son el incremento de raíces y una contribución de elementos para el desarrollo y producción.

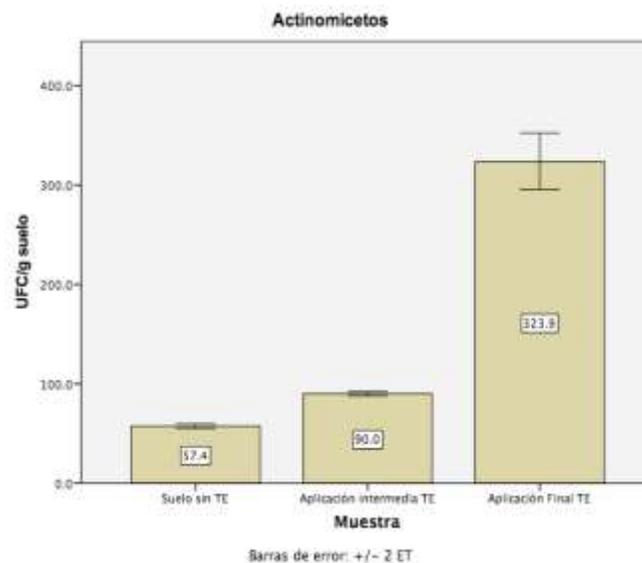
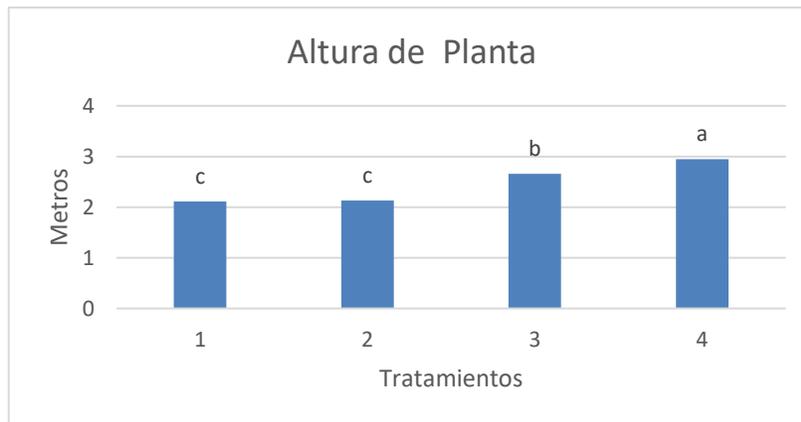


Figura 6 Actinomicetos

De acuerdo a la prueba de rango múltiple de Duncan ($p < 0.05$) en la variable actinomicetos totales al inicio del experimento sin la presencia del té de composta en el suelo se cuantificaron 57.4 UFG/g suelo, en la primera aplicación intermedia se observó un incremento con 90.0 UFG/g suelo y en la aplicación final hubo un incremento considerable con 323.9 UFC/g suelo. Autores como Loaiza *et al.* (2013) menciona que los actinomicetos son fijadores de nitrógeno, producen metabolitos secundarios, degradan la materia orgánica y promueven el crecimiento vegetal. Otros autores como Jimenez, (2010) señala que controlan patógenos, producen sideróforos, ácido indol acético, giberelinas y solubilizan fosfatos.

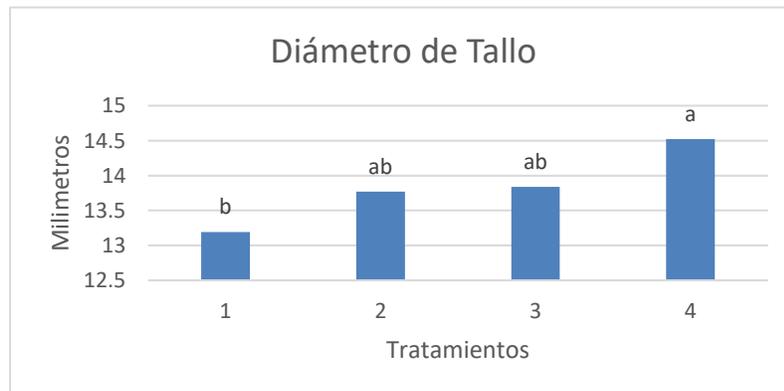
A continuación se muestran los resultados del análisis de varianza en cuanto a las variables de crecimiento y desarrollo de la planta.

Dentro de los estudios estadísticos realizados a las variables de respuesta, en todos los casos se observan diferencias, en el caso de Altura de planta, longitud de hoja, y frutos por racimo con diferencias altamente significativas y es significativa en el caso del diámetro de tallo. El uso de bacterias fijadoras de nitrógeno ayudan a la planta a llevar a cabo los procesos metabólicos y fisiológicos de tal forma que pueden expresar su máximo potencial genotípico y fenotípico que se ve reflejado en un mejor desarrollo de la planta, mayor cantidad de raíces, tallos y ramas más gruesas, hojas más turgentes, mayor cantidad y tamaño de frutos (Rosas, 2015).



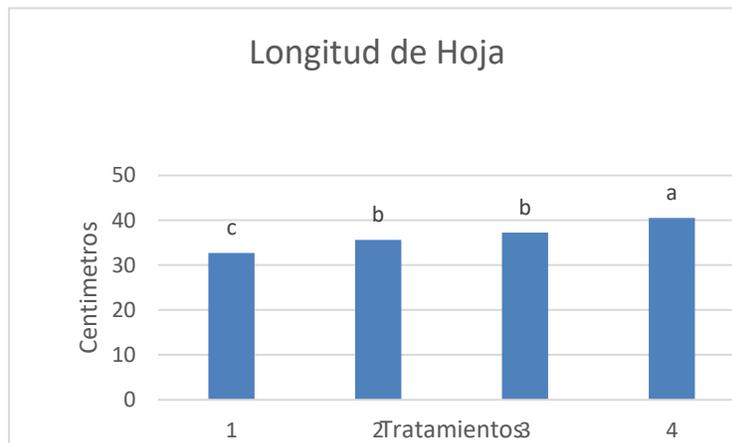
Gráfica 1 Altura de planta

Se observa en la Gráfica 1, que el tratamiento cuatro, correspondiente al testigo, promovió las plantas más altas, con una media de (2.95 m), en seguida el tratamiento tres, que corresponde a la dosis alta de té de composta, mostró una altura 9.8% menor que el tratamiento cuatro con una media de (2.66 m), y los tratamientos uno (2.11 m) y dos (2.13 m), sin diferencias estadísticas presentaron las altura menores con la media más baja en el tratamiento uno.



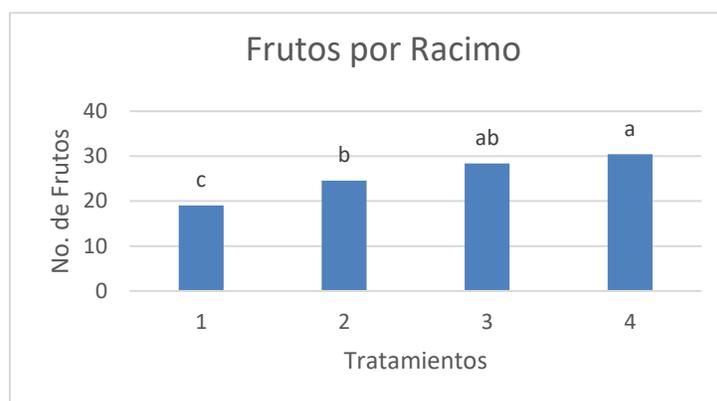
Gráfica 2 Diámetro de Tallo

La comparación de medias de la Gráfica 2, permite observar que el tratamiento cuatro (14.52 mm) es el que mostró plantas más gruesas. Los tratamientos dos (13.77 mm) y tres (13.84 mm) no presentan diferencia estadísticas, mientras que el tratamiento uno (13.19 mm) tuvo la media más baja.



Gráfica 2 Longitud de Hoja

La Gráfica 3, muestra los resultados del estudio de comparación de medias de la longitud de hoja, en la cual se puede observar que el tratamiento que presentó las hojas más largas es el cuatro (40.54 cm) 12% mayor que el tratamiento tres que es el que le sigue. Los tratamientos tres y dos no son diferentes estadísticamente quedando con (37.24 cm) y (35.63 cm) respectivamente. En el tratamiento uno se registran las hojas de menor longitud con valores medios de (32.73 cm).



Gráfica 3 Frutos por racimo

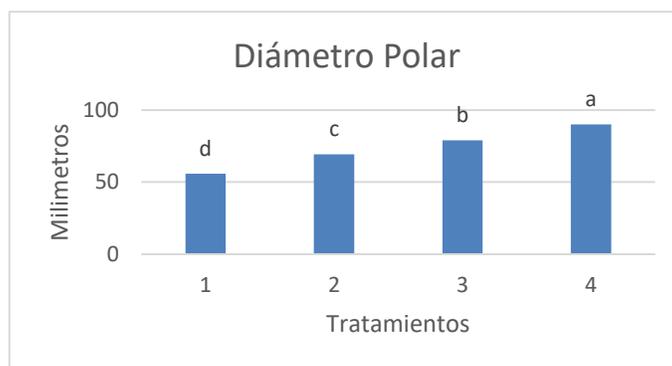
Como se mencionó anteriormente, para el presente estudio se tomaron en cuenta para su análisis cinco racimos, de manera tal que para la variable frutos por racimo se encontró que el tratamiento cuatro con (30.40) frutos, promovió el mayor número de frutos por racimo presentando la media más alta con 6.08 frutos y el tratamiento tres, el cual es estadísticamente igual al testigo, con 5.67 frutos por racimo, los tratamientos con los valores medios más bajos fueron el uno (19.06) 3.8 y dos (24.58) con 4.9 frutos, como se muestra en la gráfica 4.

A continuación se muestran los resultados del análisis de varianza y las pruebas de medias para las variables diámetro polar, diámetro ecuatorial, rendimiento y grados brix.

Con base en los resultados del análisis de varianza, se observa que existe diferencia altamente significativa en las variables de diámetro polar, diámetro ecuatorial y rendimiento, en el caso de la

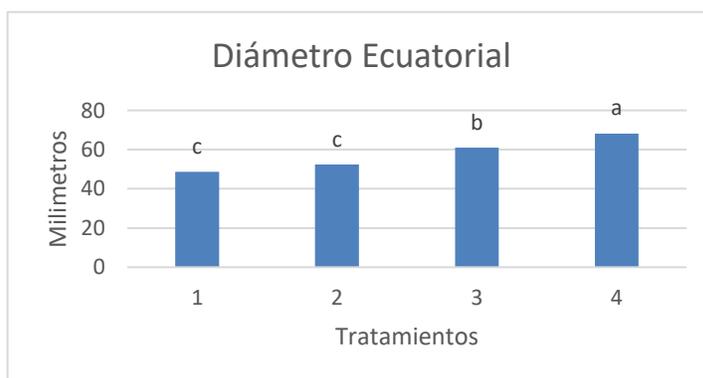
variable grados brix no se observan diferencias estadísticas. Para diferenciar las medias de las variables de respuesta entre los tratamientos, se realizaron análisis de comparación de medias Tukey con el 95% de confianza.

De los resultados obtenidos de las variables anteriormente mencionadas se muestra, que el tratamiento inorgánico obtuvo los valores más altos con respecto a las dosis de té de composta. Rangel *et al.* (2011), obtuvo mayores rendimientos con la solución inorgánica con respecto a las fuentes orgánicas, pero estas últimas se mostraron como una buena alternativa económica para la obtención de resultados muy aceptados de cosecha. En el mismo sentido Rodríguez *et al.* (2009) en su trabajo obtuvo que no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos para las variables de rendimiento y calidad, recomendando al final del estudio que los tratamientos orgánicos son una alternativa económica para el agricultor.



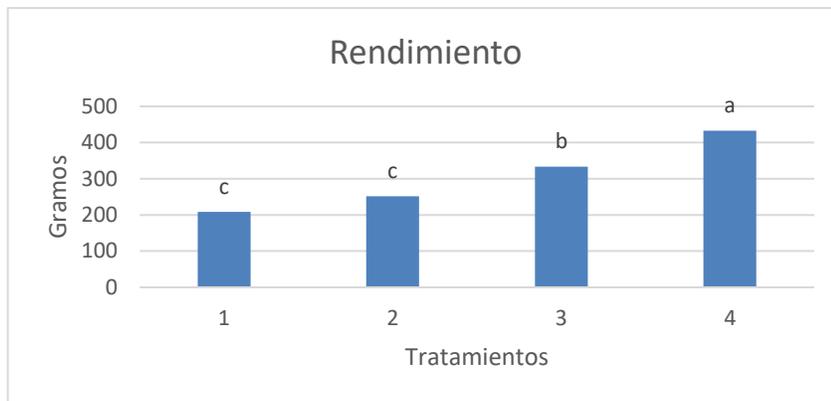
Grafica 4 Diámetro Polar

Para la variable diámetro polar se puede observar en la Gráfica 5, que el tratamiento que muestra los frutos más grandes con una media de (90.13 mm) es el cuatro, seguido del tratamiento tres (79.04 mm), en el tratamiento dos se registró con (69.27 mm), y por último se observan los frutos más pequeños en el tratamiento uno con (55.76 mm).



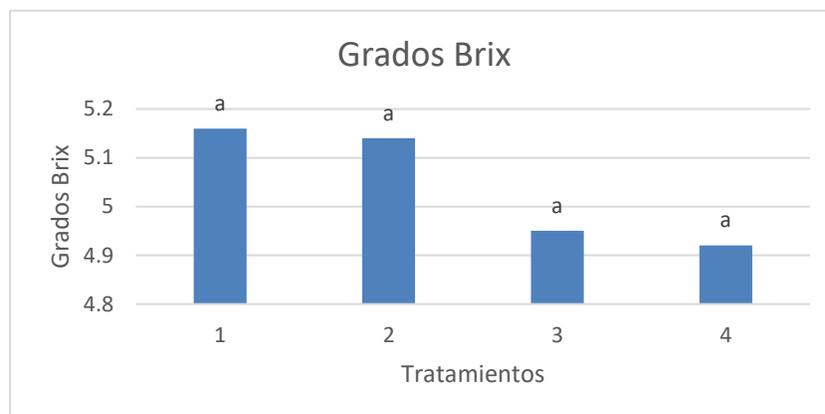
Grafica 5 Diámetro ecuatorial

En la Gráfica 6, se muestra los valores medios de la variable diámetro ecuatorial, esta prueba de medias muestra una vez más que la media más alta se presentó en el tratamiento cuatro con (68.21), seguido del tratamiento tres con (60.94), en el caso de los tratamientos uno y dos no se observan diferencia estadísticas quedando con valores de (48.66) y (52.34), respectivamente.



Grafica 6 Rendimiento

La Grafica 7, muestra los valores medios de la variable rendimiento, y en ella se observa, en cuanto a esta variable, que el tratamiento con la media más alta fue el cuatro con (432.92 gr.), tomando en cuenta que el ciclo completo se cosecharon 12 racimos el rendimiento es de 14.0 kg m²⁻¹. En seguida se observa el tratamiento tres con (333.46gr.) 10.8 kg m²⁻¹ y para los tratamientos dos (251.25gr.) y el tratamiento uno con (208.20 gr.), en estos últimos no se observan diferencias estadísticas con rendimientos de 8.14 kg m²⁻¹ y 6.75 kg m²⁻¹, respectivamente.



Grafica 7 Grados Brix

Como se observa en la Grafica 8, no se muestran diferencias significativas en cuanto a la variable de Grados Brix, que es la cantidad de azúcar presente en el fruto. Sin embargo cabe mencionar que todos los tratamientos, se encuentran dentro de los requerimientos tanto para la industria como su consumo en fresco para este parámetro.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos de las pruebas implementadas, se puede concluir que el uso del té de composta promovió:

- Incremento en la microbita microbiana
- Promovió plantas vigorosas
- Reducir el uso de fertilizantes químicos

El tratamiento químico obtuvo los rendimientos más altos, sin embargo en los tratamientos con té de composta se tienen tamaños de fruto aceptables en el mercado.

El uso del té de composta, a pesar de no tener en este estudio los elementos de un análisis beneficio-costos, sentimos que representa una alternativa de nutrición más económica y con criterios de producción sustentables, permitiendo disminuir los costos de producción pues ya que es muy conocido que en los últimos años se ha reducido la rentabilidad de los productores debido, entre

otras cosas, a los precios de los fertilizantes que han ido a la alza al cotizarse en dólares. Así mismo se sabe que el uso indiscriminado de fertilizantes químicos disminuye la respiración, transpiración, fotosíntesis de la planta y, en suelos con poca materia orgánica, promueven la destrucción de los microorganismos benéficos del suelo, contrario a los resultados obtenidos en el presente estudio.

BIBLIOGRAFIA

1. Acuña, O., Peña, W., Serrano, E., Pocasangre, L., Rosales, F., Delgado, E., . . . Perez Moreno, J. (2006). *La importancia de los microorganismos en la calidad y salud de suelos*. . ACROBAT.
2. Casierra Posada, F., Pachon, C., & Medina, R. (2007). Analisis bromatologico en frutos de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill) afectados por salinidad. *U.D.C.A Actualidad & Divulgacion Cientifica*, 95-104.
3. Fracchia, S. (2002). *Hongos saprotrofos del suelo como*. Buenos Aires: Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.
4. Hernandez, I. T. (1983). *Manual de laboratorio para analisis de ingredientes utilizados en la alimentacion animal*. Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias.
5. Julca Otiniano, A., Meneses Florian, L., Blas Sevillano, R., & Bello Amez, S. (2006). *La materia organica, importancia y experiencia en su uso en la agricultura*. Idesia(Arica).
6. López, R. R. (2003). *Universidad Autonoma Agraria Antonio Narro*. Obtenido de <http://www.uaaan.mx/DirInv/Rdos2003/ingenieria/rendphaseol.pdf>
7. Rosas, D. R. (2015). *Biofertilizantes: La solucion a la productividad en el campo*. Texcoco.
8. SACSA. (17 de Octubre de 2017). Obtenido de <http://www.gruposacsa.com.mx/tomate-o-jitomate/>
9. Tobar, V. (2016). *Determinacion del efecto de un fertilizante organico liquido para el cultivo de tomate Solanum Lycopersicum como alternativa ecologica de fertilizacion, en el municipio de Chachagui*. San Juan de Pasto: Universidad Nacional Abierta y a Distancia "UNAD".

SILICIO EN EL CRECIMIENTO VEGETATIVO DE PLANTAS DE ARROZ MORELOS-A98

Sara Monzerrat Ramírez-Olvera¹, Fernando Carlos Gómez-Merino¹, Libia Iris Trejo-Téllez¹, Lucero del Mar Ruíz-Posadas¹, Gabriel Alcántar-González¹, Crescenciano Saucedo-Veloz¹, Leonardo Hernández-Aragón², Leticia Tavitas-Fuentes².

¹Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Km 36.5 Carretera México-Texcoco. 56230 Montecillo, Texcoco, Estado de México. ²Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Zacatepec. E-mail: ramirez.sara@colpos.mx

RESUMEN

El silicio (Si) es un metaloide, y es el segundo elemento más abundante en la corteza terrestre, después del oxígeno. Su aplicación a plantas ha mostrado efectos benéficos en diversas especies tanto monocotiledóneas como dicotiledóneas, en condiciones normales y bajo estrés biótico o abiótico. En este contexto, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la aplicación de 0, 1 y 2 mM Si en el crecimiento de plantas de arroz (*Oryza sativa*) cv. Morelos A-98. Las semillas utilizadas en esta investigación se obtuvieron del banco de germoplasma del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Las cuales germinaron en oscuridad por 3 d, y se colocaron en luz natural por 11 d. Posteriormente se transfirieron a un sistema hidropónico en solución Magnavaca (1 mM KCl, 1.5 mM NH₄NO₃, 1 mM CaCl₂ 2H₂O, 45 μM KH₂PO₄, 200 μM MgSO₄ 7H₂O, 500 μM Mg(NO₃)₂ 6H₂O, 155 μM MgCl₂ 6H₂O, 11.8 μM MnCl₂ 4H₂O, 33 μM H₃BO₃, 3 μM ZnSO₄ 7H₂O, 0.8 μM CuSO₄ 5H₂O, 1 μM NaMoO₄ 2H₂O y 77 μM Fe-EDTA) por 7 d. Después, se reemplazó por solución Yoshida (1.43 mM NH₄NO₃, 1.00 mM CaCl₂ 2H₂O, 1.64 mM MgSO₄ 7H₂O, 1.32 mM K₂SO₄, 320 μM NaH₂PO₄, 100 μM Fe-EDTA, 7.99 μM MnCl₂ 4H₂O, 0.15 μM ZnSO₄ 7H₂O, 0.15 μM CuSO₄ 5H₂O, 0.08 μM (NH₄)₆Mo₇O₂₄ 4H₂O y 1.39 μM H₃BO₃). A los 14 después del trasplante (ddt), se adicionaron los tratamientos junto a la solución nutritiva, los que consistieron en 0, 1, 2 mM Si a partir de SiO₂. A los 35 ddt las plantas se retiraron de la solución nutritiva y se registró la altura de vástago longitud de raíz, número de macollos y peso de biomasa fresca. Después las plantas se colocaron en una estufa de aire forzado por 72 °C por 72 h, y se registró el peso de biomasa seca. Finalmente, se calculó la altura, longitud de raíz y biomasa relativa, así como el crecimiento relativo de macollos, tomando como 100% el crecimiento obtenido en el tratamiento testigo (sin aplicación de Si). Con los datos se realizó un análisis de varianza y prueba de comparación de medias (Duncan, 0.05). La altura de vástago y longitud relativa de raíz, así como el crecimiento relativo de macollos y peso de biomasa seca de plantas no se modificó bajo los tratamientos 1 y 2 mM Si, en relación con el tratamiento testigo. Mientras que la adición de 1 mM Si mejoró significativamente el peso relativo de biomasa fresca, sin observar efectos significativos con la concentración 2 mM. La aplicación de Si a plantas de arroz Morelos A-98, no modifica la altura de vástago, la longitud de raíz, el número de macollos y el peso de biomasa seca, e incrementa el peso de biomasa fresca.

INTRODUCCIÓN

El arroz (*Oryza sativa*) es un cultivo de suma importancia para la población mundial (Seck *et al.*, 2012). Actualmente es el tercer cereal más producido en el mundo, precedido por el maíz y el trigo (FAOSTAT, 2020). Además, el arroz es fuente de carbohidratos, proteínas, aminoácidos, hierro y vitaminas de importancia en la dieta humana (Seck *et al.*, 2012). Por tanto, es un cultivo estratégico en la seguridad alimentaria, y contra la desnutrición (Beyer, 2010).

México se ubica en el número 20 en el consumo de arroz en el mundo (AMIS, 2020). Actualmente se produce en los estados de Campeche, Nayarit, Michoacán, Veracruz, Colima, Jalisco, Tamaulipas, Tabasco, Morelos, Chiapas, Guerrero y el Estado de México (SIAP, 2020). Sin embargo, la producción nacional no abastece la alta demanda del grano, por tanto, México se encuentra en la posición número diez, de los países como mayor importación de arroz, cuyas importaciones para el año 2017, superaron en 4.45 veces la producción nacional (AMIS, 2020).

Por lo que es necesario buscar alternativas que mejoren las características de la planta para incrementar el rendimiento (Fageria, 2007), donde la nutrición vegetal es de suma importancia. En particular los elementos benéficos, los cuales, a pesar de no ser considerados esenciales,

promueven el crecimiento y mejoran las características de las plantas, dentro de este grupo se encuentra el silicio (Si) (Trejo-Téllez *et al.*, 2016).

El Si es metaloide sólido de color gris oscuro, brillante de apariencia metálica, y compone el 25.7% de la corteza terrestre, siendo el segundo elemento más abundante después del oxígeno (Daub y Seese, 1996). Su aplicación ha mejorado la altura de trigo (*Triticum aestivum*) (Abro *et al.*, 2009); la longitud de raíz de arroz (*Oryza sativa*) (Chen *et al.*, 2011), y borraja (*Borago officinalis*) (Torabi *et al.*, 2012); el peso de biomasa fresca y seca de plantas canola (*Brassica napus*), algodón (*Gossypium hirsutum*), trigo (Mehrabanjoubani *et al.*, 2015), y tomate (*Solanum lycopersicum*) (Zhang *et al.*, 2018). Sin embargo, son pocos los estudios de su efecto en cultivos mexicanos de arroz. Por tal motivo el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la aplicación de 0, 1 y 2 mM Si en el crecimiento de plantas de arroz cv. Morelos A-98

PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal

Semillas de arroz cv. Morelos A-98 se utilizaron en esta investigación, las cuales se obtuvieron del banco de germoplasma del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), unidad Zacatepec, Morelos, México.

Método de cultivo y tratamientos

Las semillas se germinaron en medio Murashige & Skoog suplementado con agarosa al 3%, y se colocaron en oscuridad por 3 d, posteriormente a luz natural por 11 d. A los 14 d de edad las plantas se transfirieron a un sistema hidropónico con solución nutritiva Magnavaca (1 mM KCl, 1.5 mM NH_4NO_3 , 1 mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 45 μM KH_2PO_4 , 200 μM $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 500 μM $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 155 μM $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 11.8 μM $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 33 μM H_3BO_3 , 3 μM $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.8 μM $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 1 μM $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ y 77 μM Fe-EDTA) por 7 d. Después, se reemplazó por solución Yoshida (1.43 mM NH_4NO_3 , 1.00 mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 1.64 mM $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1.32 mM K_2SO_4 , 320 μM NaH_2PO_4 , 100 μM Fe-EDTA, 7.99 μM $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0.15 μM $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.15 μM $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0.08 μM $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ y 1.39 μM H_3BO_3). A los 14 días después del trasplante (ddt), se adicionaron los tratamientos junto a la solución nutritiva, los que consistieron en 0, 1, 2 mM Si a partir de SiO_2 .

Determinación de variables de crecimiento

A los 35 ddt las plantas se retiraron de la solución nutritiva y se registró la altura de vástago, longitud de raíz, número de macollos y peso de biomasa fresca. Después las plantas se colocaron en una estufa de aire forzado (HCF-125, Riessa, México) por 72 °C por 72 h, y se registró el peso de biomasa seca en una balanza analítica (Ohaus, Adventurer™ Pro, USA). Finalmente, se determinaron la altura, longitud de raíz y biomasa fresca y seca de planta; asimismo, se estimó la biomasa relativa, así como el crecimiento relativo de macollos, tomando como 100% el crecimiento obtenido en el tratamiento testigo (sin aplicación de Si).

Análisis estadístico

Con los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza y prueba de comparación de medias (Duncan, 0.05), con el paquete estadístico SAS 9.3 (SAS Institute, 2011).

RESULTADOS

La aplicación de Si a plantas ha mostrado promover la elongación celular, lo que se refleja en un aumento de tamaño (Hossain *et al.*, 2002). Se ha reportado que el tratamiento con ácido silícico a plantas en semillero de arroz cv. Koshihikari, promueve la elongación celular, estimulando el crecimiento (Mohammad *et al.*, 2002). Sin embargo, los resultados de esta investigación no mostraron efectos significativos en la altura relativa de plantas (Figura 1a).

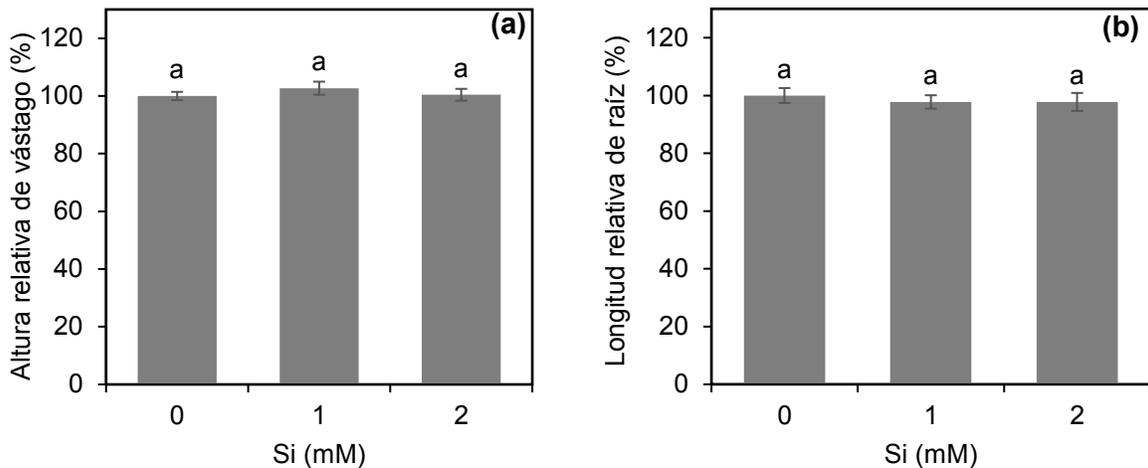


Figura 1. Altura relativa de vástago (a) y longitud relativa de raíz (b) de plantas de arroz tratadas con 1 y 2 mM Si. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas entre tratamientos (Duncan, $P \leq 0.05$).

La longitud relativa de raíz, no se modificó significativamente bajo ningún tratamiento evaluado (Figura 1b). En contraparte, se ha reportado que la aplicación de 1.5 mM Na_2SiO_3 a plantas de borraja incrementó significativamente la longitud de raíz (Torabi *et al.*, 2012). Así también, el tratamiento con 2.5 mM K_2SiO_3 a plantas de tomate aumentó la longitud y volumen de raíz (Zhang *et al.*, 2018). El número de macollos es uno de los factores clave en el rendimiento de arroz (Wang y Li, 2011). Sin embargo, la aplicación de 1 y 2 mM Si, no modificó significativamente el crecimiento relativo de macollos (Figura 2).

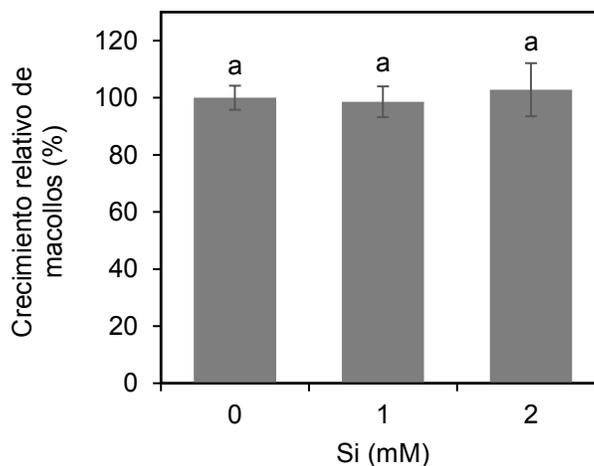


Figura 2. Crecimiento relativo de macollos de plantas de arroz tratadas con 1 y 2 mM Si. Medias \pm DE con letras distintas indican diferencias estadísticas entre tratamientos (Duncan, $P \leq 0.05$).

El peso de biomasa fresca es un indicador indirecto del contenido de agua presente en el tejido, en esta investigación el peso relativo de biomasa fresca aumentó en 11.64% con el tratamiento 1 mM Si (Figura 3a). De manera coincidente se ha informado que la aplicación de Si mejora el contenido de agua, al incrementar la expresión de proteínas acuaporinas, así como la conductancia hidráulica de la raíz (Chen *et al.*, 2018).

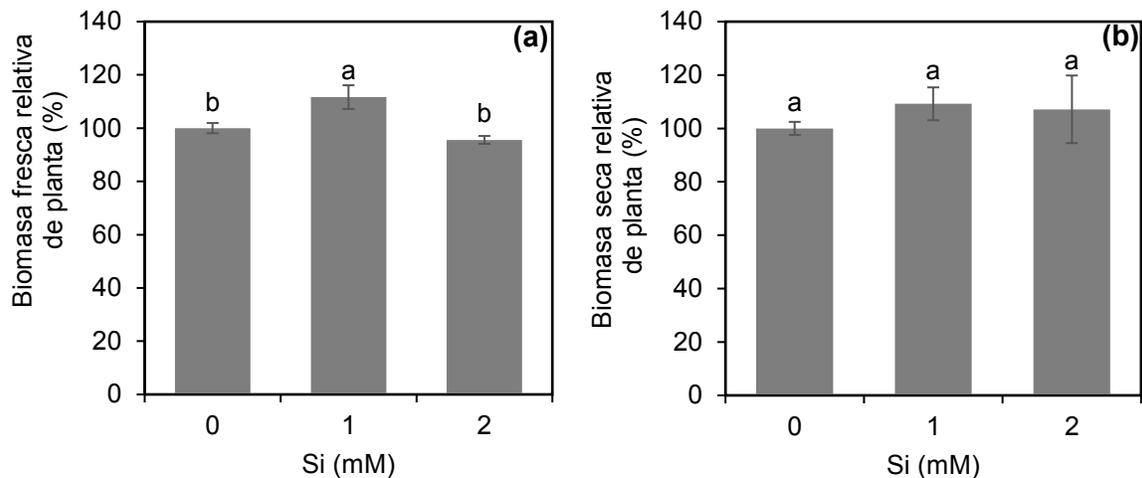


Figura 3. Biomasa fresca relativa (a) y biomasa seca relativa (b) de plantas arroz tratadas con 1 y 2 mM Si. Medias \pm DE con letras distintas en cada figura indican diferencias estadísticas entre tratamientos (Duncan, $P \leq 0.05$).

El Si mejora la transmisión de luz en las hojas, lo que indirectamente se relaciona con la fotosíntesis y se refleja en un aumento de la biomasa seca (Detmann *et al.*, 2012). En contraparte, los resultados de esta investigación no mostraron efectos significativos en el peso relativo de biomasa seca de planta, después de la aplicación de 1 y 2 mM Si (Figura 3b).

CONCLUSIONES

El tratamiento con 1 y 2 mM Si a plantas de arroz Morelos A-98, durante el crecimiento vegetativo, no modifica la altura relativa de planta, la longitud relativa de raíz, el crecimiento relativo de macollos, así como el peso relativo de biomasa seca de planta. En tanto, que la concentración 1 mM Si, mejora el peso de biomasa fresca de planta.

BIBLIOGRAFÍA

1. AMIS, 2020, "The Agricultural Market Information System (AMIS)", Disponible en <http://www.amis-outlook.org/>. Consultado mayo 2020.
2. D. Chen, S. Wang, L. Yin, X. Deng, "How does silicon mediate plant water uptake and loss under water deficiency?", *Front Plant Sci.* Vol. 9, 2018, pp. 281.
3. F. Torabi, A. Majd, S. Enteshari, "Effect of exogenous silicon on germination and seedling establishment in *Borago officinalis* L.", *J. Med. Plant Res.* Vol. 10, 2012, pp. 1896-1901.
4. FAOSTAT, 2020, "Food and agriculture organization corporate statistical database". Disponible en <http://www.fao.org/faostat/en/#home>. Consultado mayo 2020.
5. K. C. Detmann, W. L. Araújo, S. C. Martins, L. M. Sanglard, J. V. Reis, E. Detmann, F. M. DaMatta, "Silicon nutrition increases grain yield, which, in turn, exerts a feed-forward stimulation of photosynthetic rates via enhanced mesophyll conductance and alters primary metabolism in rice", *New Phytol.* Vol. 196, 3, 2012, pp. 752-762.
6. L. I. Trejo-Téllez, F. C. Gómez-Merino, G. Alcántar-González, "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, 2016, pp. 59-101.
7. M. T. Hossain, R. Mori, K. Soga, K. Wakabayashi, S. Kamisaka, S. Fujii, T. Hoson, "Growth promotion and an increase in cell wall extensibility by silicon in rice and some other Poaceae seedlings", *J. Plant Res.* Vol. 65, 1, 2002, pp. 23-27.
8. N. K. Fageria, "Yield physiology of rice", *J. Plant Nutr.* Vol. 30, 6, 2007, pp. 843-879.

9. P. A. Seck, A. Diagne, S. Mohanty, M. C. Wopereis, "Crops that feed the world 7: Rice", *Food Secur.* Vol. 4, 1, 2012, pp. 7-24.
10. P. Beyer, "Golden Rice and 'Golden' crops for human nutrition", *New Biotechnol.* Vol. 27, 5, 2010, pp. 478-481.
11. P. Mehrabanjoubani, A. Abdolzadeh, H. R. Sadeghipour, M. Aghdasi, "Silicon affects transcellular and apoplastic uptake of some nutrients in plants", *Pedosphere* Vol. 25, 2, 2015, pp. 192-201.
12. S. A. Abro, R. Qureshi, F. M. Soomro, A. A. Mirbahar, G. S. Jakhar, "Effects of silicon levels on growth and yield of wheat in silty loam soil", *Pak. J. Bot.* Vol. 41, 3, 2009, pp. 1385-1390.
13. SAS Institute, "Statistical Analysis System version 9.3, User's Guide", Cary, NC. 2011.
14. SIAP, 2020. "Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera", Disponible en <https://www.gob.mx/siap>. Consultado enero 2020.
15. T. H. Mohammad, M. Ryuji, S. Kouichi, W. Kazuyuki, K. Seiichiro, F. Shuheji, Y. Ryoichi, H. Takayuki, "Growth promotion and an increase in cell wall extensibility by silicon in rice and some other Poaceae seedlings", *J. Plant Res.* Vol. 115, 2002. pp. 23-27.
16. W. Chen, X. Yao, K. Cai, J. Chen, "Silicon alleviates drought stress of rice plants by improving plant water status, photosynthesis and mineral nutrient absorption", *Biol. Trace Elem. Res.* Vol. 142, 1, 2011, pp. 67-76.
17. W. G. Daub, W. S. Seese, "Química", Editorial Pearson Educación, Séptima edición. Naucalpan de Juárez, Estado de México, México. 1996, p. 560.
18. Y. Wang, J. Li, "Branching in rice", *Curr. Opin. Plant Biol.* Vol. 14, 1, 2011, pp. 94-99.
19. Y. Zhang, S. H. I. Yu, H. J. Gong, H. L. Zhao, H. L. Li, Y. H. Hu, Y. C. Wang, "Beneficial effects of silicon on photosynthesis of tomato seedlings under water stress", *J. Integr. Agric.* Vol. 17, 10, 2018, pp. 2151-2159.

REDUCIENDO LA DOSIS EFECTIVA DEL CISPLATINO USANDO NANOPARTÍCULAS DE ORO COMO VEHÍCULO.

Marco Antonio González-López¹, Elena Marcia Gutiérrez-Cardenas², Cristhían Sánchez-Cruz³ y José de Jesús Olivares-Trejo³

¹Cátedra-CONACYT. Unidad de Oncología Torácica. Instituto Nacional de Cancerología

²Departamento Atención a la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Xochimilco.

³Posgrado en Ciencias Genómicas, Universidad Autónoma de la Ciudad de México.

marconyqfb@yahoo.com.mx

RESUMEN

El cáncer es la segunda causa de muerte mundial con 8.8 millones de muertos en 2019. El diagnóstico temprano, tamizaje, tratamiento y cuidados paliativos son necesarios. Sin embargo los tratamientos actuales, como la quimioterapia, radioterapia y cirugía, son muy agresivos. Se continúa administrando cisplatino a pacientes con tumores sólidos. El cisplatino actúa como un agente alquilante con afinidad al DNA. Al unirse a los residuos de guanina y citosina impide los procesos de replicación y transcripción del material genético teniendo como resultado la muerte celular por apoptosis. Lamentablemente el cisplatino es incapaz de diferenciar entre células normales y cancerosas por lo que elimina a ambas. Además se ha documentado que las células cancerosas pueden desarrollar resistencia a este fármaco. Por otro lado, este anticancerígeno tiene serios efectos secundarios sobre el paciente como náuseas, vómito y nefrotoxicidad. Ante esta situación es necesario buscar nuevas alternativas de tratamiento que permitan reducir o eliminar los efectos secundarios y así mejorar la calidad de vida de los pacientes y sus familias. La nanotecnología ofrece soluciones al diseñar, construir, funcionalizar estructuras del tamaño de entre 1 y 100 nanómetros. Tiene diversas aplicaciones en la nanomedicina, bioseñalización, separación biológica, imagenología molecular y en terapia de cáncer. Sin embargo tiene limitaciones, en algunos casos las nanopartículas pueden llegar a ser, por sus componentes, tóxicas, no selectivas e inestables. Las nanopartículas de oro son importantes debido a la facilidad de su síntesis y su estabilidad química. Así, se han utilizado en señalamiento, en imagenología y como acarreador de fármacos por su baja toxicidad. El objetivo de esta investigación fue sintetizar una nanopartícula de oro que tenga la capacidad de transportar el cisplatino y liberarlo en las células cancerosas. Material y métodos, las nanopartículas (Np) fueron sinterizadas por reducción química, Se sintetizó una Np de oro (AuNp), otra cubierta de polietilén glicol (AuNpPEG) y una más con CisPt (AuNpPEGCisPt), fueron caracterizadas por UV/VIS, FTIR, TEM, DLS, SEM y EDS, posteriormente se determinó el efecto citotóxico (IC₅₀) sobre líneas celulares cancerosas a través de ensayos de MTT, se determinaron las diferencias entre las diferentes Np administradas mediante un análisis ANOVA. Resultados, encontramos que la IC₅₀ del CisPt para las células de cáncer cervicouterino (HeLa) fue de aproximadamente 69.2±3.2 µg/mL y la IC₅₀ de las NpAuPEGCisPt fue de 104.5±7.0 µg/mL, en el caso de células de cáncer gástrico (AGS) se utilizaron 286.5±2.5 µg/mL de CisPt y 97.2±5.4 µg/mL de NpAuPEGCisPt para obtener la misma IC₅₀. Conclusiones, la cantidad de AuNpPEGCisPt administrada es menor si se compara con el CisPt porque la Np contiene solamente un 7% de CisPt lo que disminuye hasta 10 veces la cantidad administrada de este anticancerígeno.

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial el aumento de los casos de cáncer es alarmante, datos de la Organización mundial de la Salud (OMS 2020) indican que en el año de 2018 hubo aproximadamente 9.6 millones de muertes debidas a esta enfermedad⁸. El tipo de cáncer que causa más muertes a nivel mundial es de pulmón, seguido por el de hígado y estómago. En cuanto a México, según datos del INCan, la principal causa de muerte a nivel general es el cáncer de pulmón, en el caso de las mujeres la principal causa de muerte es el cáncer de seno y el cervicouterino, en el hombre es el de próstata seguida por el de pulmón⁸.

TEORIA

El cáncer se considera como una enfermedad multifactorial por lo que puede desencadenarse por factores ambientales como la exposición a ciertos compuestos y biológicos como la carga genética⁸. Desde este punto de vista se ha documentado que el cáncer es un cúmulo de mutaciones que le confieran a la célula la capacidad de crecer de manera descontrolada y no responder a los puntos de control que se realizan en el ciclo celular, además adquiere la habilidad de auto regularse mediante la expresión de receptores capaces de actuar sin la necesidad de recibir un estímulo por parte de algún factor de crecimiento, de igual manera estas células escapan de la respuesta inmune y de las señales de muerte celular programada⁴. Su constante crecimiento les obliga a desarrollar vasos sanguíneos con la finalidad de abastecerse de los nutrientes necesarios para su alta tasa de metabolismo. En última instancia su desmedido crecimiento provoca que las células puedan desprenderse de su nicho primario y viajar a través del torrente sanguíneo e invadir otras zonas donde desarrollaran cáncer metastásico⁸.

El cáncer es una enfermedad para la cual hay diferentes tratamientos, este se basa en el tipo de cáncer y el estadio en el cual se encuentra, en términos generales los tratamientos son la cirugía, la radioterapia y la quimioterapia². Se pueden realizar combinación de los tratamientos. En cuanto a la quimioterapia esta se basa en la administración de fármacos y compuestos que tienen la finalidad de limitar el crecimiento de las células cancerosas¹. Sin embargo al tratarse de células, estas cuentan con la habilidad de resistir el tratamiento lo que provoca que el paciente recaiga y la enfermedad se torne más seria. Además existen los efectos secundarios no deseados lo que conllevan a una mala calidad de vida para el paciente. Se puede observar que a pesar de que se cuenta con el tratamiento para el cáncer, los casos no disminuyen, por el contrario se pronostica que para el año 2040 se tengan aproximadamente 16.3 millones de muertes por esta enfermedad⁸.

Ante esta situación es necesario buscar nuevas formas de administrar los fármacos ya existentes, porque se ha visto que estos tienen el efecto que se desea pero pueden llegar a generar resistencia^{6,7} y efectos secundarios^{3,5}. Es por ello que nos hemos enfocado a disminuir la dosis efectiva del compuesto cisplatino, con la finalidad de que ante una dosis disminuida las células cancerosas no desarrollen resistencia y además evitar los efectos secundarios que conllevan las dosis que actualmente se administran pero sin perder su efecto terapéutico.

Para lograr este fin nos hemos enfocado en la nanotecnología, la nanotecnología se dedica al diseño y manipulación de la materia a nivel de átomos o moléculas, con fines industriales o médicos.

PARTE EXPERIMENTAL

Síntesis de nanopartículas.

El método que se empleó para la síntesis de nanopartículas de oro (AuNp) fue por reducción química. En primer lugar se puso a calentar, en una relación 1:10 una solución 0.01 M de ácido tetracloroaurico con agua miliQ, se dejó calentando hasta hervir, en este momento se adicionaron 18 mL de citrato de sodio 38.88 mM y se dejó hirviendo durante 15 minutos, al término de este tiempo se puso a enfriar a temperatura ambiente y se conserva a 4°C hasta su uso. Posteriormente se obtuvieron las AuNp cubiertas de poli etilen glicol (AuNpPEG), una tercer nanopartícula fue obtenida al mezclar AuNp mas PEG y cisplatino (AuNpPEGCisPt).

Cultivo celular.

Las líneas celulares cancerosas que se trabajaron fueron HeLa, AGS y C6. Las células obtenidas se emplearon para interactuar con las nanopartículas y determinar la IC₅₀.

Se partió de muestras congeladas. En una caja de cultivo de 25 cm² se adicionarán 5 mL de medio de cultivo (DMEM Medio Eagle modificado de Dulbecco) suplementado con suero fetal bovino al 10% y se depositaron 1x10⁶ células, se incubarán a 37°C y CO₂ al 5%.

Determinación de la IC₅₀.

Esta metodología nos permitió conocer la dosis a la cual las nanopartículas eliminan a las células cancerosas. En cajas de ELISA de 96 pozos se depositaron 4X10⁴ células, se dejaron adaptar toda la noche. Posteriormente se agregaron cantidades crecientes de las nanopartículas sintetizadas AuNps, AuNpPEG y AuNpPEGCisPt (62.5, 125, 250, 500 and 1000) mg/mL. El control negativo

consistió en solamente crecer las células de cada tipo de cáncer en el medio de cultivo, el control positivo se realizó con CisPt el cual se administró a dosis crecientes (62.5, 125, 250, 500 and 1000) mg/mL. Al cabo de un día de interacción se determinó el efecto citotóxico mediante un ensayo de reducción metabólica del MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol).

Caracterización de las nanopartículas sintetizadas

Las diferentes nanopartículas fueron caracterizadas por espectrometría de UV/VIS, espectrometría de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR), Microscopia Electrónica de Transmisión (TEM), Microscopia de barrido con espectroscopía de dispersión de energía de rayos X (SEM/EDS) y Dispersión Dinámica de Luz (DLS).

Espectroscopia de luz ultravioleta/luz visible (UV/VIS)

El análisis se realizó en el equipo SPECTROstar nano BMG labtech, en una cubeta de cuarzo se depositaron 50 mL de cada nanopartícula y se analizó a una longitud de onda de entre 200 y 800 nm.

Espectroscopia Infrarroja con transformada de Fourier (FTIR)

50 mL de cada nanopartícula fueron analizadas en el equipo Two Perkin Elmer, los intervalos de longitud de onda empleados fueron 4000cm^{-1} a 400cm^{-1} con una resolución de 1.0cm^{-1} .

Microscopia Electrónica de Transmisión (TEM)

Se emplearon placas de cobre cubiertas de formvar, el equipo empleado fue el Transmission Electron Microscope Philips Tecnai-10. Con una aceleración de 100 kV, el tamaño de nanopartícula se determinó con el programa Soft Imaging System analySIS 3.0.

Microscopia Electrónica de barrido con Espectro de Energía Dispersiva (SEM/EDS)

Para determinar la microestructura y la composición atómica y química de las nanopartículas sintetizadas. Las muestras se depositaron en una placa de aluminio de 7 X 12 mm y se depositaron en la cámara de vacío del equipo Hitachi SU5000 SEM. La distancia entre la muestra y la fuente de electrones fue de 10 cm. La energía utilizada fue de 20keV. Se determinó el tamaño de las nanopartículas con el programa Image J versión 1.52^a.

Tamaño hidrodinámico y Potencial Z.

La técnica de Dispersión Dinámica de la Luz (DLS) se empleó para determinar el tamaño de partícula y los valores del índice de polidispersión(PDI), se obtuvo el potencial Z de las diferentes nanopartículas. Las muestras fueron resuspendidas en H₂O, medio de cultivo DMEM con suero al 10% y medio de cultivo DMEM sin suero. Los análisis se realizaron en el equipo Malvern Instrument ZS90.

Análisis estadístico.

Los datos presentados fueron obtenidos por triplicado y se determinó la desviación estándar. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y un análisis comparativo por medio de la prueba Tukey. Los valores menores a 0.05 se consideraron significantes. El análisis estadístico se realizó con el programa GraphPad Prism versión 6.00 para Windows, GraphPad Software, La Jolla California USA, www.graphpad.com.

RESULTADOS

Las AuNp tienen un espectro UV/VIS a 519 nm, las AuNpPEG de 523 nm y las AuNpPEGCisPt de 525 nm (figura 1).

Se determinó el tamaño hidrodinámico, potencial Z e índice de polidispersividad de las nanopartículas. Las nanopartículas tienden a formar aglomerados cuando se encuentran disueltas en H₂O y en medio DMEM con suero fetal bovino al 10%, el potencial Z es de aproximadamente de 1mV. Por el otro lado las diferentes nanopartículas que se encontraban en medio DMEM con suero

fetal bovino al 10% también tendieron a formar aglomerados pero de menor tamaño y el potencial también fue cercano a 1 mV (tabla 1).

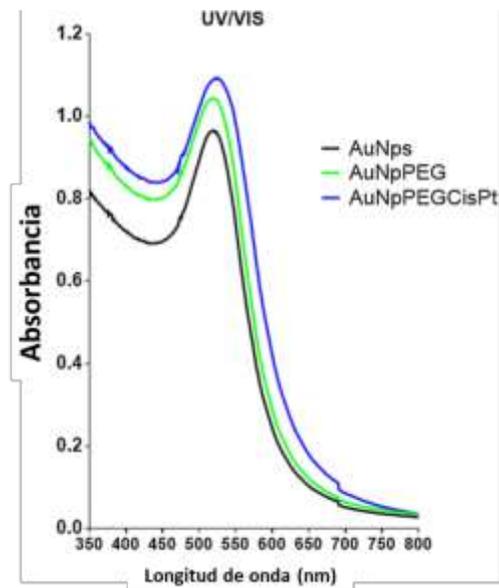


Figura 1. Espectroscopia UV/VIS de las diferentes nanopartículas sintetizadas.

Table 1. Características hidrodinámicas de las diferentes nanopartículas sintetizadas.

Nanopartículas	Tamaño (nm) ± DS	PDI ± DS	Potencial Zeta (mV) ± DS
AuNps (H ₂ O)	371.3 ± 144.6	0.566 ± 0.290	0.826 ± 0.641
AuNpPEG (H ₂ O)	149.5 ± 16.61	0.219 ± 0.008	-1.23 ± 0.218
AuNpPEGCisPt (H ₂ O)	594.1 ± 323.8	0.623 ± 0.326	0.738 ± 0.803
AuNps (sin suero)	1942 ± 402.9	0.992 ± 0.014	0.172 ± 0.606
AuNpPEG (sin suero)	101.6 ± 40.97	0.197 ± 0.042	-0.007 ± 0.012
AuNpPEGCisPt (sin suero)	147.7 ± 114.1	0.447 ± 0.201	-0.0097 ± 0.008
AuNps (con suero)	55.12 ± 5.023	0.650 ± 0.11	0.044 ± 0.099
AuNpPEG (con suero)	49.08 ± 0.51	0.531 ± 0.006	-0.014 ± 0.017
AuNpPEGCisPt (con suero)	67.52 ± 31.78	0.344 ± 0.131	-0.078 ± 0.06

Las nanopartículas sintetizadas fueron analizadas por espectrometría infrarroja para determinar si existía una unión entre AuNp, AuNpPEG y el CisPt y de esta manera formar la AuNPPEGCisPt. A través del FTIR. Las muestras se encontraron disueltas en H₂O por lo que se observa una gran señal entre 3300 y 3500 cm⁻¹. La unión entre AuNp y PEG se observa a través de las uniones C=O del PEG a 1634 y 1633 cm⁻¹, así como los grupos CH a 2152 cm⁻¹. Los puentes de H se observan a 3570 y 3200 cm⁻¹. El CisPt se observa por la uniones Pt-N dentro de la AuNpPEGCisPt a 3945, 3458, 3418, 615, 599, 560 y 518 cm⁻¹ (figura 2)

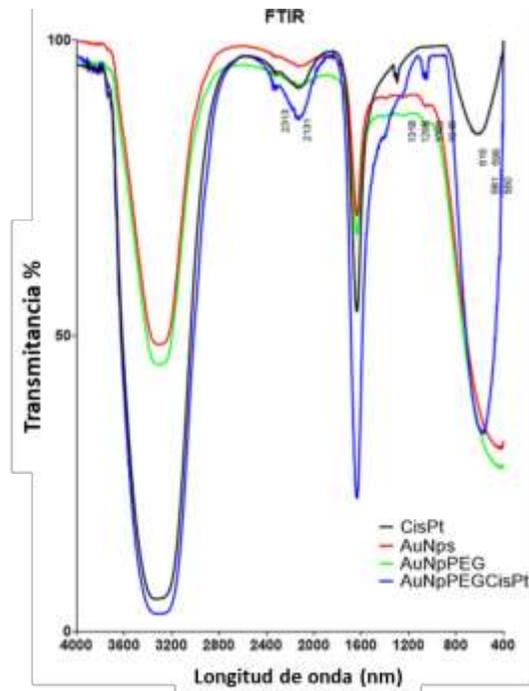


Figura 2. Espectroscopia Infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) de las diferentes nanopartículas sintetizadas (AuNp, AuNpPEG y AuNpPEGCisPt) y el cisplatino (CisPt).

Las nanopartículas sintetizadas tienen forma esférica. AuNp tiene un diámetro de 8.6 ± 1.97 nm, AuNpPEG de 9.5 ± 1.24 nm y AuNpPEGCisPt of 10 ± 1.76 nm (figura 3).

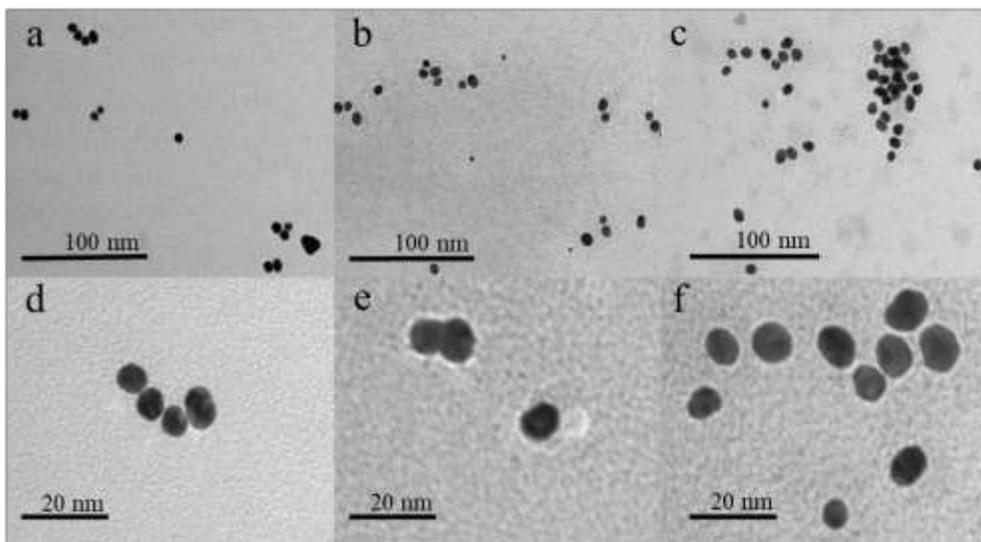


Figura 3. Microscopia Electrónica de Transmisión. a y d AuNp, b y c AuNpPEG, c y f AuNpPEGCisPt. a–c X65000, d–f X210000.

A través de la SEM/EDS determinamos la concentración y contenido de cada nanopartícula sintetizada (figura 4).

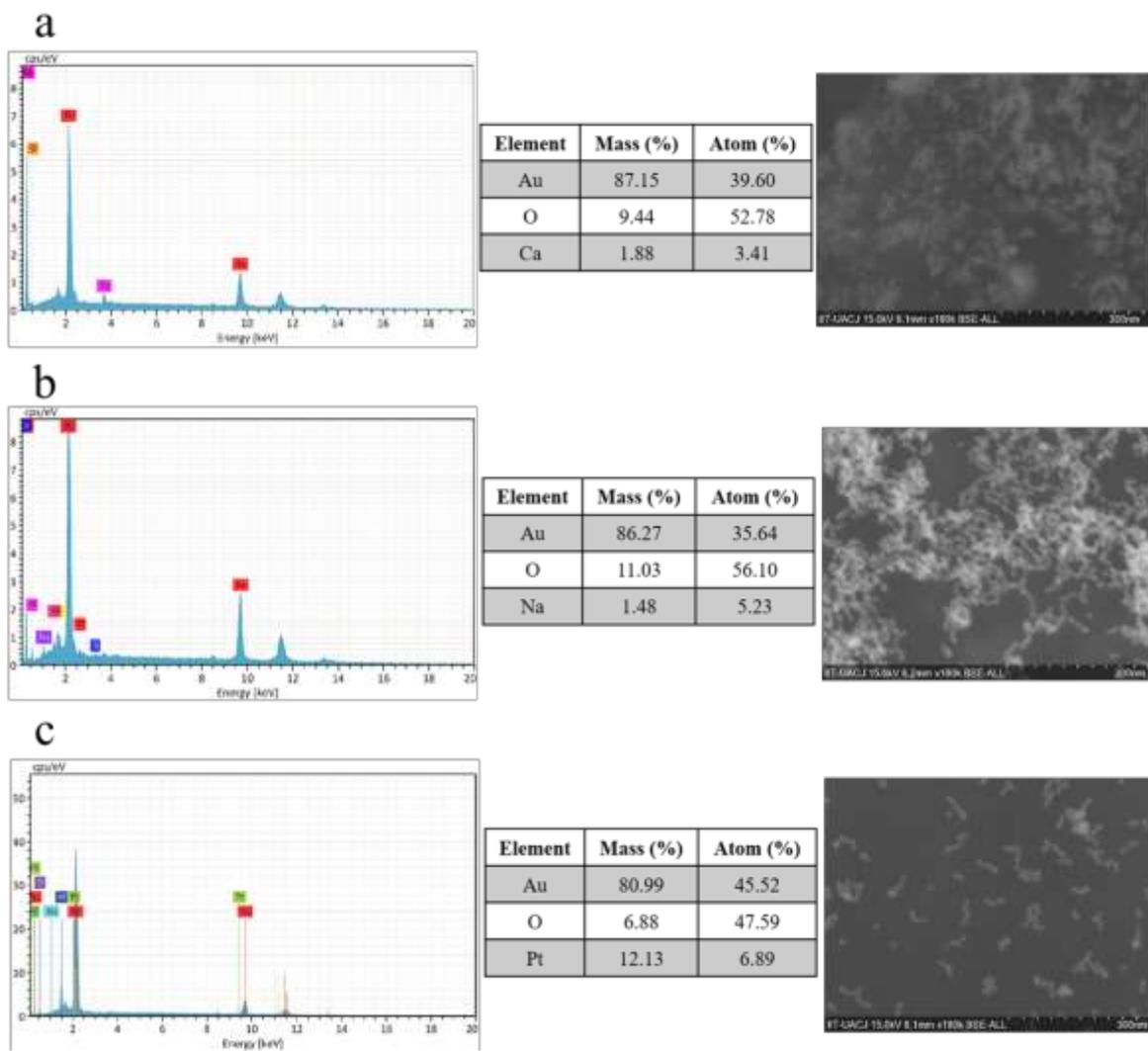


Figura 4. Microscopia Electrónica de barrido con Espectro de Energía Dispersiva (SEM/EDS). a AuNP, b AuNPPEG y c AuNPPEGCisPt.

Finalmente se determinó el efecto citotóxico de AuNP, AuNPPEG y AuNPPEGCisPt sobre las líneas celulares de cáncer cervicouterino (HeLa), cáncer gástrico (AGS) y glioblastoma (C6). El CisPt se utilizó como control positivo. A través de los ensayos de MTT determinamos que tanto AuNP como AuNPPEG no tienen un efecto citotóxico sobre las diferentes líneas celulares analizadas (figura 5 a, b y c). En cuanto a AuNPPEGCisPt se determinó que tuvo un efecto citotóxico a diferentes dosis, esto dependiendo de la célula cancerosa probada. En el caso de las células HeLa la IC_{50} encontrada fue de $104.5 \pm 7.0 \mu\text{g/mL}$, para las células C6 fue de $76.5 \pm 5.0 \mu\text{g/mL}$ y para las células AGS fue de $97.2 \pm 5.4 \mu\text{g/mL}$. Mientras tanto el control (CisPt) se encontraron los siguientes valores, para las células HeLa la IC_{50} fue de $69.2 \pm 3.2 \mu\text{g/mL}$, para las células AGS de $286.5 \pm 2.5 \mu\text{g/mL}$ y para las células C6 fue de $379.3 \pm 3.0 \mu\text{g/mL}$ (figura 5 y tabla 2).

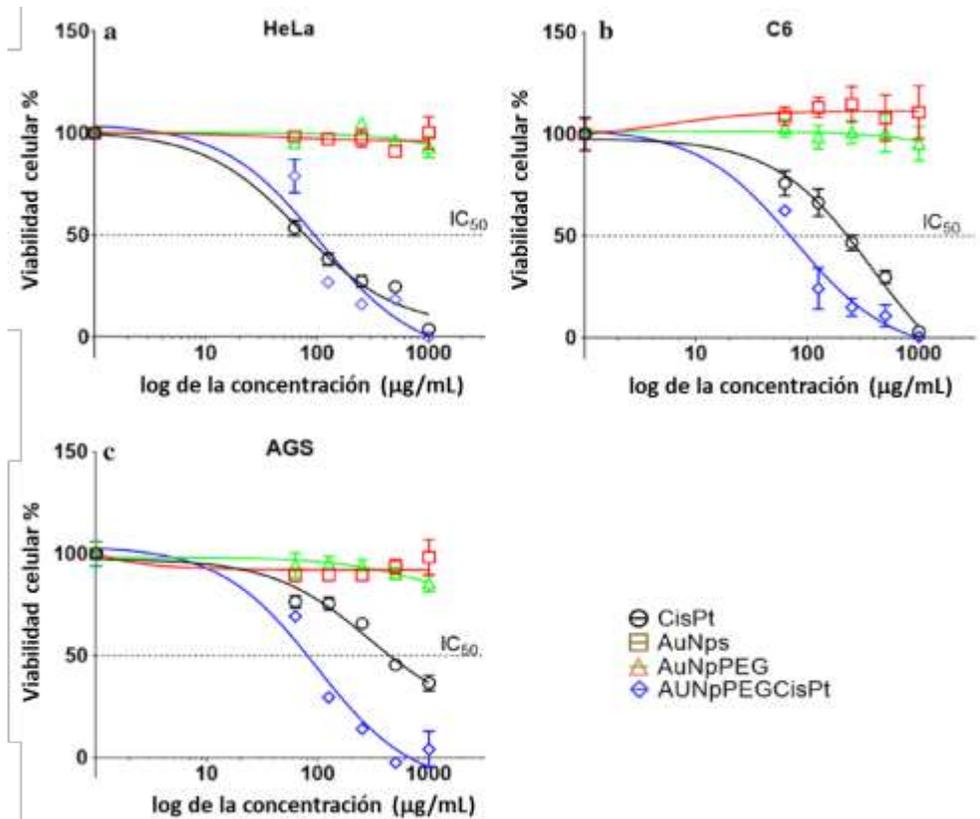


Figura 5. Viabilidad celular. a, células HeLa, b, células C6 y c, células AGS.

Tabla 2. IC₅₀ del CisPt y de la AuNpPEGCisPt sobre las líneas celulares cancerosas.

Linea celular	CisPt	AuNpPEGCisPt	CisPt inside the AuNpPEGCisPt
	IC ₅₀ mg/mL		
HeLa	69.2±3.2	104.5±7.0	7.31
C6	379.3±3.0	76.5±5.0	5.35
AGS	286.5±2.5	97.2±5.4	6.80

CONCLUSIONES

Desarrollamos una técnica para la elaboración de AuNp tipo core-shell la cual fue funcionalizada con PEG y CisPt, determinamos que la NpAuPEGCisPt contiene una baja concentración de CisPt sin embargo esta cantidad es suficiente para conseguir una IC₅₀ por debajo de la cantidad necesaria si se emplea al CisPt por sí solo. Creemos que esta diferencia se debe a que el CisPt se encuentra dentro de la AuNpPEG lo que le permite atravesar de manera libre por la célula cancerosa y evitar los mecanismos de defensa de la célula como es la unión del CisPt al glutatión, es decir la AuNpPEG le sirve para enmascarar su paso por el citoplasma lo que le permite llegar de manera activa al núcleo de la célula y llevar a cabo su efecto citotóxico a nivel del núcleo sobre el material genético y desencadenar su muerte celular por apoptosis. Esta investigación nos muestra como la nanotecnología es una herramienta valiosa al momento de administrar al CisPt en menores dosis

pero sin perder su efecto terapéutico, lo que podría traducirse en un mejor tratamiento para los pacientes y de esta manera evitar los efectos secundarios no deseados. Nuestro siguiente objetivo es darle a nuestra AuNpPEGCisPt el carácter de teranóstica para así aumentar su especificidad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ahmad S (2017) Kinetic aspects of platinum anticancer agents. *Polyhedron* 138(14):109-124. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2017.09.016>
2. Alcantar NA, Aydil ES, Israelachvili JN (2000) Polyethylene glycol-coated biocompatible surfaces. *J Biomed Mater Res* 51(3):343-351. [https://doi.org/10.1002/10974636\(20000905\)51:3%3C343::AIDJBM7%3E3.0.CO;2-D](https://doi.org/10.1002/10974636(20000905)51:3%3C343::AIDJBM7%3E3.0.CO;2-D)
3. Alkilany AM, Murphy CJ (2010) Toxicity and cellular uptake of gold nanoparticles: what we have learned so far?. *J Nanopart Res* 12(7):2313-2333. <https://dx.doi.org/10.1007%2Fs11051-010-9911-8>
4. Astolfi L, Ghiselli S, Guaran V, Chicca M, Simoni E, Olivetto E, Lelli G, Martini A (2013) Correlation of adverse effects of cisplatin administration in patients affected by solid tumours: a retrospective evaluation. *Oncol Rep* 29(4):1285-1292. <https://dx.doi.org/10.3892%2For.2013.2279>
5. Brown SD, Nativo P, Smith JA, Stirling D, Edwards PR, Venugopal B, Flint DJ, Plumb JA, Graham D, Wheate NJ (2010) Gold nanoparticles for the improved anticancer drug delivery of the active component of oxaliplatin. *J Am Chem Soc* 132(13):4678-84. <https://doi.org/10.1021/ja908117a>
6. Lin J, Zhang H, Chen Z, Zheng Y (2010) Penetration of lipid membranes by gold nanoparticles: insights into cellular uptake, cytotoxicity, and their relationship. *ACS Nano* 28(9):5421-9. <https://doi.org/10.1021/nn1010792>
7. Lowry GV., Hill RJ., Stacey H, Rawle AF., Hendren Ch, Klaessig F, Nobbmann U, Sayre P, Rumble J (2016) Guidance to improve the scientific value of zeta-potential measurements in nanoEHS.: *Environ. Sci.: Nano*.3, 953–965. <https://doi.org/10.1039/C6EN00136J>
8. World Health Organization (WHO). <http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cancer>. Accessed 29 Enero 2020.

CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES Y CLOROFILAS EN LA INDUCCIÓN FLORAL DE *LAELIA ANCEPS* POR EFECTO DE ÁCIDO GIBERÉLICO EXÓGENO

Olga Tejeda-Sartorius¹, Yasbet Ríos-Barreto¹, César A. Casasola-Elizondo¹, Libia Iris Trejo-Téllez¹

Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Texcoco, Estado de México, México.
Correo-e: olgats@colpos.mx

RESUMEN

La aplicación exógena de ácido giberélico puede tener efectos en la inducción floral de orquídeas, a través de diferentes rutas y fenómenos fisiológicos, pero existe poca investigación al respecto. Se analizó el efecto de ácido giberélico exógeno en la concentración de azúcares y clorofilas en hoja de *Laelia anceps*, y su posible participación en la inducción floral, analizando para ello, el estado reproductivo (ER) y la estructura de crecimiento (EC), potencialmente inductiva a floración. Se aplicaron diferentes dosis de ácido giberélico (AG) a la planta vía foliar en horarios vespertinos: 0.0, 0.4, 0.6, 0.8 y 1 g L⁻¹. Se realizó un experimento factorial considerando las cinco concentraciones de ácido giberélico; así como dos estados reproductivos: con y sin floración previa; además de dos estructuras de crecimiento: hoja actual (HAAct, que proviene del brote de crecimiento anual) y la anterior (HAnt, el que dio origen al crecimiento actual). El tratamiento que mostró la mayor concentración de azúcares fue con 0.8 g L⁻¹ (19.7 mg g⁻¹) en relación con el tratamiento donde no se aplicó AG (8.212 mg g⁻¹). Asimismo, la concentración estadísticamente mayor de clorofilas *a* y *b* se presentó con la dosis de 0.6 g L⁻¹ (1.34 y 0.60 mg mL⁻¹) de AG en relación con el tratamiento sin AG (0.74 y 0.22 mg mL⁻¹). El análisis de factores mostró que las diferentes dosis de AG₃ tuvieron efecto significativo en las concentraciones de azúcares y clorofilas. Asimismo, la EC fue estadísticamente diferente para la concentración de azúcares y clorofila *b*, en donde la HAnt tuvo mayores concentraciones (17.07 mg g⁻¹ y 0.49 mg mL⁻¹) en comparación con la HAAct (10.26 mg g⁻¹ y 0.38 mg mL⁻¹). El ER no afectó significativamente ninguna de las variables evaluadas. Se concluye las diferentes dosis de AG₃ influyen en la concentración de azúcares y clorofilas *a* y *b* en hoja. Asimismo, la hoja de crecimiento anterior aporta mayores concentraciones de azúcares y clorofilas a la hoja de crecimiento actual. Se infiere que estos resultados pueden tener influencia en la inducción a floración de *Laelia anceps*.

INTRODUCCIÓN

Los reguladores de crecimiento de las plantas (PGRs, por sus siglas en inglés) reciben atención desde hace décadas, y han sido usados exitosamente para modificar la floración de muchas especies de orquídeas: giberelinas (GAs), auxinas, citoquininas, ácido abscísico, entre otros (Hew y Clifford, 1993; Matsumoto, 2006).

Las giberelinas son responsables de la regulación de muchos procesos de desarrollo de las plantas, incluyendo los principales estados de floración (Kozłowska *et al.*, 2007). En algunos casos, la aplicación de GAs puede ser inefectiva para inducir floración, pero en plantas de día largo, el ácido giberélico (GA₃) puede tener diferentes efectos, según las especies (Kozłowska *et al.*, 2007). Así, algunos reportes indican que el GA₃ está asociado con la inducción a floración de varias especies de orquídeas (Cardoso *et al.*, 2010); entre éstas *Miltoniopsis* (Matsumoto, 2006), *Brassocattleya* (Cardoso *et al.*, 2010) y *Phalaenopsis* (Cardoso *et al.*, 2012).

La floración es un proceso que consume mucha energía, por lo que lograr que el tiempo correcto de la emisión de yemas para inducción floral coincida con la mejor situación fisiológica, es crucial para el mantenimiento de las especies a través de la propagación sexual (Wang *et al.*, 2019).

Los carbohidratos son importantes biomoléculas que son fuentes de energía en organismos vivos. Los componentes estructurales de las células están hechos en buena parte de carbohidratos. Durante el crecimiento y desarrollo de plantas, los fotoasimilados producidos por las hojas fuente, son trasladados hacia diferentes demandas para su utilización y acumulación (Wang *et al.*, 2008). En dicho proceso, la fotosíntesis y los pigmentos implicados en ella, como las clorofilas, juegan un papel crucial (Kozłowska *et al.*, 2007; Li y Xu, 2014).

En una población de orquídeas de crecimiento simpodial en etapa reproductiva, destinada a cultivo ornamental, y donde la forma de multiplicación vegetativa del material es por división de plantas, el

estrés que padece el material trasplantado puede afectar negativamente la floración subsecuente, aun cuando la planta madre que le dio origen haya estado en etapa reproductiva. Por lo anterior, se investigó el efecto de la aplicación de ácido giberélico exógeno en *Laelia anceps* y su efecto en la concentración de azúcares y clorofilas en hoja, y su posible participación en la inducción floral, analizando para ello, el estado reproductivo (ER) y la estructura de crecimiento (EC), potencialmente inductiva a floración.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron plantas de *Laelia anceps* adultas. El material se colocó en macetas de 1 L de capacidad. Como sustrato se empleó una mezcla con: 60% corteza de pino (Vigoro®), 20% zeolita; 20% turba (CP:Z:T; v:v:v).

Para estimulación de brotes vegetativos, las plantas se mantuvieron en condiciones de invernadero y con fertilización quincenal con NPK (20:20:20, Foresta®) y Pack Hard®, a dosis de 2 g L⁻¹ y 2 mL L⁻¹, respectivamente.

Para tratamiento inductivo a floración, cuando los brotes vegetativos tuvieron un tamaño de 15 cm de longitud promedio, y cuya diferenciación de hoja y pseudobulbo era apenas visible (para disminuir riesgo de inducción floral), se introdujeron en una cámara de crecimiento controlado (lámparas luz LED roja y azul, proporción 90:10%), con un flujo de fotones fotosintéticos (FFF) de 120 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, con fotoperiodo 12/12 h, y temperatura 28/12 ± 1 °C.

Las plantas se dejaron dos días en adaptación en la cámara de crecimiento, para distribuir, posteriormente, tratamientos con diferentes dosis de ácido giberélico (AG₃), (Gibiotin®): 0.0, 0.4, 0.6, 0.8 y 1 g L⁻¹. Las diferentes dosis se aplicaron mediante aspersiones foliares de 30 mL por planta, en horarios vespertinos. La aplicación sin AG₃ fue con agua destilada únicamente. En este periodo, todas las plantas recibieron fertilización con Phytosphos-K® (10-21-36) a dosis de 1 g L⁻¹.

Se realizó un experimento factorial donde los factores de estudio fueron el AG₃ (con cinco niveles previamente descritos), el estado reproductivo de las estructuras bajo análisis [inducidas (I X I) y no inducidas (NI X NI)], y estructura de crecimiento [hoja anterior (HAnt) que dio origen a la hoja actual) y la hoja actual (HAact)].

Con los datos obtenidos se realizó análisis de varianza y prueba de comparación de medias por Tukey ($P \leq 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el análisis de los factores de estudio se obtuvo que las diferentes dosis de AG₃ tuvieron efectos significativos en las concentraciones de azúcares y clorofilas; asimismo, la hoja, como parte de la estructura de crecimiento (EC), tienen un efecto significativo en la concentración de azúcares y de clorofila b (Cuadro 1).

Cuadro 1. Nivel de significancia de los factores de estudio: dosis de AG₃, estado reproductivo y estructura de crecimiento, así como su interacción, en la concentración de azúcares y de clorofilas en hoja de *Laelia anceps*.

Factores de estudio	Azúcares	Clorofila a	Clorofila b
AG ₃ (AG)	0.0229 *	0.0286 *	0.0010 *
Estado reproductivo (ER)	0.1122 ns	0.6318 ns	0.4411 ns
Estructura de crecimiento (EC)	0.0019 *	0.0759 ns	0.0485 *
AG × ER	0.0560 ns	0.0562 ns	0.1485 ns
AG × EC	0.7824 ns	0.2669 ns	0.4320 ns
ER × EC	0.3978 ns	0.2486 ns	0.3185 ns
AG × ER × EC	0.3863 ns	0.1048 ns	0.3120 ns

* = significativo ($P \leq 0.05$); ns = no significativo ($P > 0.05$).

Se obtuvo una concentración significativamente mayor de azúcares con la dosis de aplicación exógena de 0.8 g AG₃ L⁻¹, en relación con el tratamiento sin el regulador de crecimiento (19.7 vs 8.21 mg g⁻¹) (Figura 1). En general se observa que todas las concentraciones de AG₃ tienden a promover mayor concentración de azúcares (13 mg g⁻¹, concentración promedio), aunque no todas mostraron diferencias estadísticas.

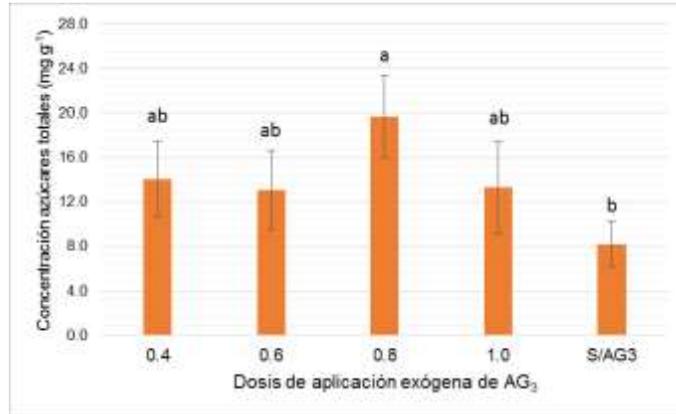


Figura 1. Concentración de azúcares (mg g⁻¹) en hoja de *Laelia anceps* por efecto de diferentes concentraciones de ácido giberélico (AG₃). Barras ± DE con letras diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos (Tukey, P ≤ 0.05). S/AG₃= sin ácido giberélico.

También se observó significancia estadística por mayor concentración de clorofila a (1.34 µg mL⁻¹) por efecto de AG₃ con la dosis de 0.6 g L⁻¹, así como de clorofila b, por acción de las dosis de 0.4 (0.55 µg mL⁻¹) y 0.6 g L⁻¹ (0.60 µg mL⁻¹), en comparación con el tratamiento sin AG₃ (0.75 y 0.23 mg mL⁻¹, de clorofilas a y b, respectivamente) (Figura 2).

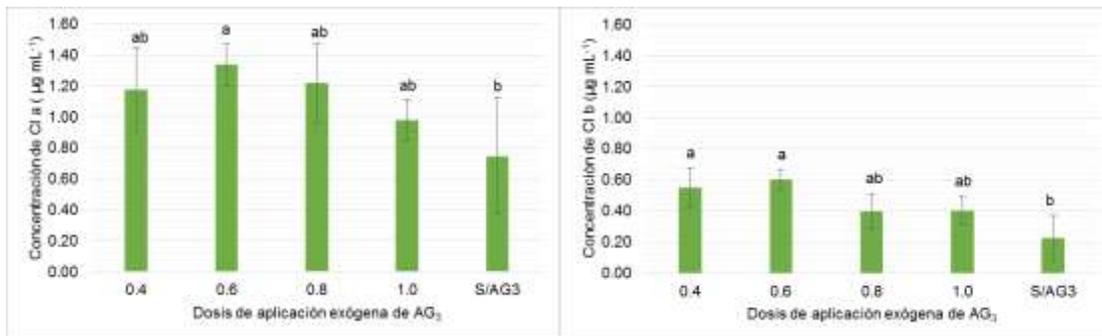


Figura 2. Concentración de clorofilas a y b (µg mL⁻¹) en hoja de *Laelia anceps* por efecto de diferentes concentraciones de ácido giberélico (AG₃). Barras ± DE con letras diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos (Tukey, P ≤ 0.05). S/AG₃= sin ácido giberélico.

La hoja de crecimiento anterior (HAnt), tiene mayor concentración de azúcares que la hoja actual (HAct) (Cuadro 2). Es probable que la HAct presenta menor concentración de azúcares, por: i) su probable utilización en la inducción de la floración (plantas I X I), ya que éste es un fenómeno demandante de mucha energía (Wang *et al.*, 2019); y ii) falta de niveles de estos carbohidratos en las plantas NI X NI. Se observó entonces que las plantas I X I tienen menor concentración de azúcares que las no inducidas (NI X NI), si bien la diferencia estadística no es significativa (datos no mostrados). De la misma manera, en azúcares, la HAnt tuvo mayor concentración de clorofila b, respecto a la de la HAct (Cuadro 2).

Cuadro 2. Concentración de azúcares y de clorofilas en hoja de *Laelia anceps*, por efecto de la estructura de crecimiento: anterior y actual (HAnt y HAct).

Niveles de estudio	Azúcares	Clorofila a	Clorofila b
	(mg g ⁻¹)	(mg mL ⁻¹)	
HAnt	17.07 a	1.20 a	0.49 a
HAct	10.26 b	0.98 a	0.38 b

Medias con letras distintas en cada columna y factor de estudio indican diferencias estadísticas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Los azúcares juegan un papel muy importante en la vida de las plantas, las cuales han desarrollado un eficiente sistema de percepción y transmisión de señales inducidas por baja o alta disponibilidad de azúcares. Cambios en la concentración de azúcares afectan, entre otras cosas, el crecimiento vegetativo y la floración (Ciereszko, 2018).

Las giberelinas (GAs) estimulan respuestas fisiológicas en las plantas y alteran el metabolismo de la fuente-demanda a través de su efecto en la fotosíntesis y formación de la demanda (Iqbal *et al.*, 2011). Asimismo, Kozłowska *et al.* (2007) señalaron que las giberelinas pueden tener una fuerte influencia en la carga del floema y la regulación de la síntesis de sacarosa, y consecuentemente, en la actividad fotosintética. Los resultados obtenidos en el presente trabajo concuerdan con los autores, al observarse un incremento en la concentración de azúcares y clorofilas (como medida indirecta de la fotosíntesis) por acción de diferentes dosis de AG₃.

CONCLUSIONES

Diferentes dosis de ácido giberélico, en el rango de 400 a 800 mg L⁻¹, principalmente, incrementan la concentración de azúcares totales y clorofilas *a* y *b* en hoja. Asimismo, la hoja de crecimiento anterior aporta mayores concentraciones de azúcares y clorofilas a la hoja de crecimiento actual. Estos resultados pueden tener implicaciones en la inducción a floración de *Laelia anceps*.

BIBLIOGRAFÍA

1. C. S. Hew and P.E. Clifford. "Plant growth regulators and the orchid cut-flower industry". *Plant Growth Regulation*. 1993. 13:231-239.
2. C-Y. Wang, C-Y. Chiou, H-L. Wang, R. Krishnamurthy, S. Venkatagiri, J. Tan and K-W. Yeh. "Carbohydrate mobilization and gene regulatory proWle in the pseudobulb of *Oncidium* orchid during the flowering process". 2008. *Planta*. 227:1063-1077.
3. Ciereszko. "Regulatory roles of sugars in plant growth and development". *Acta Soc. Bot. Pol.* 2018. 87 (2):1-13.
4. J. C. Cardoso, E. O. Ono and J. D. Rodrigues. "Gibberellic acid and water regime in the flowering induction of *Brassocattleya* and *Cattleya* hybrid orchids". 2010. *Horticultura Brasileira*. 28: 395-398.
5. J. C. Cardoso, E. O. Ono and J. D. Rodrigues. "Gibberellic acid in vegetative and reproductive development of *Phalaenopsis* orchid hybrid genus". *Horticultura Brasileira*. 2012. 30: 71-74.
6. M. Kozłowska, M. Rybus-Zajac, J. Stachowiak and B. Janowska. "Changes in carbohydrate contents of *Zantedeschia* leaves under gibberellin-stimulated flowering". *Acta Physiol. Plant.* 2007. 29:27-32.
7. N. Iqbal, R. Nazar, M. Iqbal, R. Khan, A. Masood and N. A. Khan. "Role of gibberellins in regulation of source-sink relations under optimal and limiting environmental conditions". 2011. *Curr. Sci.* 100(7):998-1007.
8. S-L. Wang, K. K. Viswanath, C-G. Tong, H. R. An, S. Jang and F-C. Chen. "Floral induction and flower development of orchids". *Front. Plant Sci.* 2019. 10:1258.

9. T. K. Matsumoto, "Gibberellic acid and benzyladenine promote early flowering and vegetative growth of *Miltoniopsis* orchid hybrids". *HortScience*. 2006. 41(1): 131-135.
10. X. Li and K. Xu. "Effects of exogenous hormones on leaf photosynthesis of *Panax ginseng*". *Photosynthetica*. 2014. 52 (1): 152-156.

EFFECTO DEL LANTANO EN EL ÁREA FOLIAR DE PLÁNTULAS DE TOMATE CON NUTRICIÓN DIFERENCIAL DE CALCIO

Beatriz Adriana Jiménez-González¹, Regina Ortega-Martínez¹, Libia Fernanda Gómez-Trejo², Fernando C. Gómez-Merino³, Sara Monzerrat Ramírez Olvera³, Olga Tejeda-Sartorius³, Libia I. Trejo-Téllez³

¹Universidad Autónoma Chapingo, Depto. de Suelos

¹Universidad Autónoma Chapingo, Depto. de Parasitología Agrícola

²Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo

ramirez.sara@colpos.mx

RESUMEN

El lantano (La) es un elemento perteneciente al grupo de las tierras raras que ha mostrado tener efectos benéficos en plantas superiores cuando es suministrado en bajas concentraciones. Asimismo, se ha reportado que este elemento benéfico puede mitigar efectos negativos de factores de estrés. En esta investigación se evaluó el efecto que tienen tres niveles de La (0, 15 y 30 mM) con dos estatus de nutrición cálcica (suficiente y deficiente) en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) var. El Cid. Para lo anterior se condujo experimento factorial 3 x 2 (seis tratamientos), donde cada tratamiento tuvo seis repeticiones. Una plántula constituyó cada unidad experimental. Las plántulas fueron establecidas en un sistema hidropónico de raíz flotante con solución nutritiva de Steiner. En el caso de plantas deficientes en Ca solo se suministró el 50% de la concentración de este elemento, mientras que para la suficiencia de Ca se abasteció al 100% de la concentración de Steiner. Las plántulas fueron tratadas durante 20 días. Posteriormente, se evaluó el área foliar por plántula y las lecturas SPAD. Con los resultados obtenidos se hizo análisis de varianza y prueba de comparación de medias (Tukey, 0.05). El área foliar fue afectada en forma significativa por el estatus de Ca y la concentración de La. Plantas deficientes en Ca tuvieron menor área foliar que aquellas suficientes en Ca en 22.19%. Por otra parte, se observó que, el efecto principal de La fue negativo, aunque no significativo, dado que, su concentración en la solución nutritiva se relacionó de manera inversa con el área foliar. El efecto negativo del La en el área foliar se observó tanto en plantas suficientes como en deficientes en Ca. Sin embargo, al analizar el efecto de interacción de los factores de estudio se observa que la magnitud en la reducción del área foliar por efecto del La fue menor en plantas deficientes en Ca que en las suficientes en Ca, particularmente con la dosis 30 mM La, con reducciones del orden de 20.58% y 24%, respectivamente, en comparación con el tratamiento correspondiente sin La en cada nivel de Ca. Se concluye que el efecto del La en las dosis evaluadas, si bien es negativo en el área foliar de plántulas de tomate, la magnitud de la reducción es menor cuando la planta se encuentra sometida a estrés por deficiencia de Ca.

INTRODUCCIÓN

El grupo de los elementos de las tierras raras está constituido por 17 elementos; de éstos 15 son lantánidos [desde el lantano (La) hasta el lutecio (Lu)], además del escandio (Sc) y el itrio (Y). A pesar de su nombre, realmente estos elementos no son raros en la composición de la corteza terrestre; si bien difieren en abundancia, el encontrado en mayor concentración es del cerio (Ce); asimismo, se ha estimado que el 80% de los depósitos de éstos están formados por La, Ce, praseodimio (Pr) y neodimio (Nd) (Handoko y Sanjaya, 2018).

Como ya se indicó, el La es un elemento de tierras raras (REE), éste ha sido considerablemente estudiado debido a su amplia aplicación en numerosos campos con una posible acumulación en el medio ambiente. En particular, este elemento es conocido por su potencial para estimular el crecimiento de las plantas dentro de un marco de respuesta hormética bifásica (Agathokleous et al., 2018). La hormesis es un proceso mediante el cual el tratamiento con una dosis baja de un agente químico o de un factor ambiental, dañino a dosis altas, induce efectos benéficos y/o adaptativos a nivel celular o en un organismo (López-Diazguerrero et al., 2013). Por tanto, los elementos benéficos como el La no son esenciales para completar el ciclo de vida exitoso de la planta (Alcántar et al., 2016). Asimismo, además de considerarse la dosis de elementos benéficos como el La, sus efectos son dependientes de condiciones específicas como las causadas por factores de estrés abiótico y

biótico, donde puede estimular mecanismos de resistencia o promover una mayor eficiencia en la absorción y uso de nutrimentos (Gómez-Merino y Trejo-Téllez, 2018).

Por otro lado, el calcio (Ca) es un elemento esencial en plantas superiores. Entre sus funciones, su rol como segundo mensajero es de gran interés dado que definen las respuestas de las plantas en respuesta a factores de estrés (Alcántar *et al.*, 2016).

Por lo anterior, este estudio evaluó el efecto del suministro de La en plantas de tomate var. Cid con dos estatus de nutrición cálcica; al ser el Ca un elemento esencial para plantas superiores, el nivel deficiente de este macronutriente representa una condición de estrés. Las variables respuesta evaluadas fueron el área foliar y las lecturas SPAD.

MATERIALES Y MÉTODOS

En este estudio se trabajó con plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*) var. El Cid de 60 días de edad que fueron obtenidas de la siembra directa de semillas en un almácigo conteniendo turba como sustrato. Las plántulas fueron trasplantadas a un sistema hidropónico de raíz flotante donde fueron tratadas por 20 días con los tratamientos que a continuación se describen.

Se condujo un experimento factorial 3 x 2, donde los factores de estudio y los niveles de éstos fueron: 1) concentración La en la solución nutritiva en tres niveles: 0, 15 y 30 mM y 2) estatus de nutrición cálcica en dos niveles: suficiente y deficiente, que consistió en incluir en la solución nutritiva de Steiner (Steiner, 1984), la concentración de Ca al 100% y 50%, respectivamente. La fuente de La utilizada fue $\text{LaCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Sigma Aldrich). La concentración del resto de los nutrimentos permaneció sin cambio. El arreglo factorial indicado dio, por tanto, origen a seis tratamientos. Cada uno tuvo seis repeticiones y una plántula constituyó cada unidad experimental. Posterior a los 20 días de tratamiento, se evaluó el área foliar por plántula utilizando un integrador de área foliar (LI-COR, LI-3000A, EEUU) así como las lecturas SPAD en hojas recientemente maduras (Minolta SPAD-502, Japón). Con los resultados obtenidos se hizo análisis de varianza y prueba de comparación de medias (Tukey, 0.05) usando el software SAS (SAS, 2011).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Área foliar

En este estudio, el área foliar de las plántulas de tomate solo fue influenciada de manera significativa por el estatus de Ca como se observa en el Cuadro 1. La deficiencia de Ca en tomate reduce el área foliar; asimismo, causa necrosis en hojas jóvenes; además, en casos extremos, en la etapa productiva la pérdida del rendimiento es significativa (Adams y Holder, 1992).

Cuadro 1. Significancia estadística de los factores de estudio y su interacción en el área foliar de plántulas de tomate var. Cid.

Parámetro estadístico	Fuentes de variación		
	Concentración de La (CLa)	Estatus de Ca (ECa)	CLa x La
Pr > F	0.1010 *	0.0119 *	0.8912 ns
Coefficiente de variación	27.95		

*=Significativo al 5%; ns=no significativo al 5%.

Si bien el factor de estudio La no tuvo influencia en el área foliar, se observa una relación negativa entre esta variable y la concentración de La en la solución nutritiva; dosis de 15 y 30 mM La tuvieron menor área foliar que el testigo en 11.9 y 22.5%, respectivamente (Cuadro 2). Probablemente en fase de plántula en tomate, las dosis de La evaluadas son altas y por tanto causan efectos negativos.

Cuadro 2. Área foliar de plántulas de tomate var. Cid en función de la concentración de La (CLa) en la solución nutritiva y de la interacción de la CLa y el estatus de nutrición Ca (ECa).

Varia-ble	Concentración de La en la solución nutritiva (mM)					
	0	15	30			
Área foliar (cm ²)	331.7±45.4a	292.3±43.1a	257.1±42.6a			
Varia-ble	Interacción de los factores de estudio ECa x CLa					
	Deficiencia de calcio			Suficiencia de Ca		
	0 mM La	15 mM La	30 mM La	0 mM La	15 mM La	30 mM La
Área foliar (cm ²)	289.2 ±46.7a	252.4±50.6a	229.7±42.5a	374.2±35.5a	332.3±23.6a	284.6±41.7a

Medias ± DE con la misma letra por fila indican que no hay diferencias estadísticas significativas (Tukey, 0.05).

Por otra parte, al analizar los resultados de área foliar en función de la interacción de los factores de estudio (Cuadro 2), se observa que tanto con deficiencia como con suficiencia de Ca el La reduce esta variable. Sin embargo, la magnitud en la reducción del área foliar por efecto del La fue menor en plantas deficientes en Ca que en las suficientes en Ca, particularmente con la dosis 30 mM La, con decrementos del orden de 20.58% y 24%, respectivamente, en comparación con el tratamiento correspondiente sin La en cada nivel de Ca. Lo anterior podría indicar que, si bien las dosis de La resultaron altas bajo las condiciones de estudio, su efecto es modificado cuando se tiene un factor de estrés como es el caso de la deficiencia de Ca (Gómez-Merino y Trejo-Téllez, 2018).

En lo que respecta al estatus de Ca, se tuvo que plantas suficientes en este macronutriente incrementó el área foliar por plántula en 28.5%, respecto a plantas Ca deficientes (Figura 1).

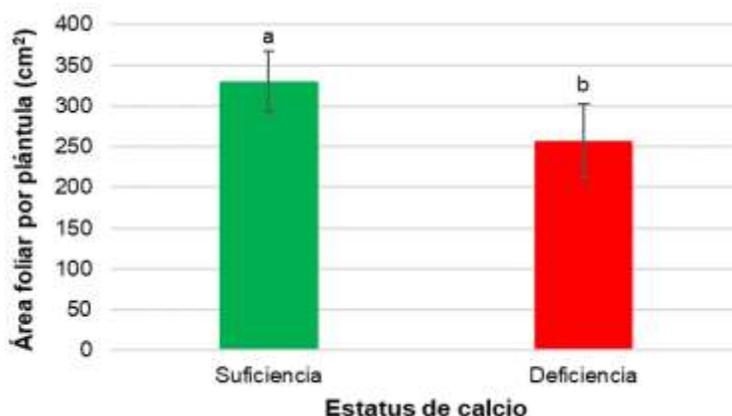


Figura 1. Área foliar de plántulas de tomate var. Cid con dos estatus de calcio. Medias ± DE con letras distintas indican diferencias estadísticas (Tukey, 0.05).

Lecturas SPAD

Los factores de estudio y su interacción no tuvieron efectos significativos en los valores de lecturas SPAD medidas en hojas de plántulas de tomate (Cuadro 3).

Cuadro 3. Significancia estadística de los factores de estudio y su interacción en las lecturas SPAD de plántulas de tomate var. Cid.

Parámetro estadístico	Fuentes de variación		
	Concentración de La (CLa)	Estatus de Ca (ECa)	CLa x La
Pr > F	0.6883 ns	0.4130 ns	0.7530 ns
Coefficiente de variación		10.98	

ns=no significativo al 5%.

Tendencia creciente, pero no significativa en las lecturas SPAD se observó con el aumento de la concentración de La en la solución nutritiva; asimismo, plantas deficientes en Ca mostraron un ligero incremento en esta variable (Cuadro 4). Los incrementos en valores de lecturas SPAD pueden interpretarse como aumentos en la concentración foliar de clorofila. Incrementos en clorofila en plantas cultivadas bajo estrés abiótico han sido previamente reportados (Alaei, 2011; Khayatnezhad *et al.*, 2011), y se ha concluido que representa una estrategia de tolerancia la planta. En maíz bajo sequía, más de la mitad de los genotipos resistentes al estrés tuvieron mayor contenido de clorofila (Khayatnezhad *et al.*, 2011).

En lo que respecta a la interacción no existen tendencias que puedan relacionarse con las concentraciones de La en combinación con los estatus de nutrición cálcica (Cuadro 4).

Cuadro 4. Área foliar de plántulas de tomate var. Cid en función de la concentración de La en la solución nutritiva y de la interacción de la concentración de La (CLa) y el estatus de nutrición Ca (ECa).

Variable	Concentración de La en la solución nutritiva (mM)					
	0	15	30			
Lecturas SPAD	49.5±4.1a	50.0±1.5a	51.4±1.6a			
Parámetro	Estatus de nutrición cálcica					
	Suficiente	Deficiente				
Lecturas SPAD	49.5±3.2a	51.0±2.0a				
Variable	Interacción de los factores de estudio ECa x CLa					
	Deficiencia de calcio			Suficiencia de Ca		
	0 mM La	15 mM La	30 mM La	0 mM La	15 mM La	30 mM La
Área foliar (cm ²)	50.4±2.9a	49.9±1.6a	52.9±0.9a	48.5±5.3a	50.2±1.5a	49.9±1.8a

Medias ± DE con la misma letra por fila indican que no hay diferencias estadísticas significativas (Tukey, 0.05).

CONCLUSIONES

Se concluye que el efecto del La en las dosis evaluadas, si bien es negativo en el área foliar de plántulas de tomate, la magnitud de la reducción es menor cuando la planta se encuentra sometida a estrés por deficiencia de Ca. Asimismo, al representar un factor de estrés, se incrementan ligeramente los valores de las lecturas SPAD, sin ser estos aumentos significativos, como una respuesta fisiológica a esta condición.

BIBLIOGRAFÍA

1. Steiner. "The universal nutrient solution", in: ISOSC Proceedings 6th International Congress on Soilless Culture, The Netherlands. 1984. pp. 633-649.
2. D. Handoko, and E. Sanjaya. "Characteristics and genesis or rare earth element (REE) in western Indonesia". 2017. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science. 2018. 118: 012077.

3. E. Agathokleous, M. Kitao, and E. J. Calabrese. "The rare earth element (REE) lanthanum (La) induces hormesis in plants". *Environ. Pollut.* 2018. 238: 1044-1047.
4. F. C. Gómez-Merino, and L. I. Trejo-Téllez. "The Role of Beneficial Elements in Triggering Adaptive Responses to Environmental Stressors and Improving Plant Performance", in: S. Vats (ed.). *Biotic and Abiotic Stress Tolerance in Plants*. Springer Nature. Singapore Pte. Ltd. 2018. pp. 167-172.
5. G. Alcántar-González, L. I. Trejo-Téllez, y F. C. Gómez-Merino. "Nutrición de Cultivos". Segunda Edición. Editorial Colegio de Postgraduados. 2016.
6. M. Khayatnezhad, R. S. Gholamin, H. Jamaatie-Somarin, and R. Zabihie-Mahmoodabad. "The leaf chlorophyll content and stress resistance relationship considering in Corn cultivars (*Zea mays* L.)". *Adv. Environ. Biol.* 2011. 5(1): 118-122.
7. N. E. López-Diazguerrero, V. Y. González-Puertos, R. J. Hernández-Bautista, A. Alarcón-Aguilar, A. Luna-López, y M. Königsberg-Fainstein. "Hormesis: lo que no mata, fortalece". *Gac. Méd. Mé.* 2013. 149: 438-447.
8. P. Adams, and R. Holder. "Effects of humidity, Ca and salinity on the accumulation of dry matter and Ca by the leaves and fruit of tomato (*Lycopersicon esculentum*)". *J. Hortic. Sci.* 1992. 67: 137-142.
9. SAS. "SAS Institute Inc., SAS/STAT Users Guide". Version 9.3. SAS Institute Inc., Cary, N. C., USA. 2011.
10. Y. Alaei. "The Effect of Amino Acids on Leaf Chlorophyll Content in Bread Wheat Genotypes under Drought Stress Conditions". *Middle-East J. Sci. Res.* 2011. 10(1): 99-101.

EL VERDADERO AMOR TÓXICO: EL TOLOACHE

Abril Alondra Barrientos-Bonilla*, Susana Bautista-Hernández, Jorge Alberto Domínguez-Guillén, María Fernanda Hernández-Hernández, Eder Yaveth Reyes-Cruz, Óscar Antonio Sánchez-Aguirre.

Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad Veracruzana
Av. Luis Castelazo Ayala s/n, Col. Industrial Ánimas, Xalapa, Veracruz., C.P. 91190, México.
Autor de correspondencia* abilondra@hotmail.com

RESUMEN

La *Datura stramonium* conocida desde el México prehispánico como “Toloache” es un tipo de arbusto originario de América y Asia, que crece en zonas templadas y subtropicales hasta un metro de altura, posee hojas ovaladas dentadas, así como flores blancas acampanadas. Esta especie es capaz de adaptarse a todo tipo de suelos, principalmente en suelos húmedos y ricos en nitratos. Se le atribuye la cualidad de generar enamoramiento, sin embargo, es una planta muy peligrosa, que tiene propiedades medicinales (de alto riesgo) y no es capaz de producir “amor verdadero”. Suele ser confundida con *Datura innoxia* la cual se creía que era inofensiva, sin embargo, posee efectos similares a la *D. stramonium*. Otra especie con la que es confundida es con floripondio (*Brugmansia arborea*) la cual es altamente tóxica. Con el objetivo de identificar las bases científicas que le atribuyen su supuesta capacidad de enamoramiento y otras propiedades hemos realizado una revisión bibliográfica en bases indexadas. La costumbre dicta que el toloache logra un enamoramiento irremediable en quien lo consume. El “entoloachado” se vuelve más dócil en la vida en pareja, pero en realidad sufre intoxicación, aturdimiento y confusión, en otras palabras “un amor tóxico”. El toloache tradicionalmente se usó para tratar el asma, bronquitis, artritis, picaduras de serpiente, hinchazón, dolor de muelas, y desparasitante al usar sus hojas, flores y semillas en infusiones, pomadas o compresas. No obstante, administrado crónicamente, como cuando se usa para en enamoramiento, genera daño neurológico e incluso la muerte. Aun así, preparados o la hierba como tal se venden en los mercados, pero realmente ¿qué es lo que ocasiona el toloache? El “amor” que produce la planta se atribuyen a dos alcaloides responsables del carácter dócil: la escopolamina y la hiosciamina. Ambas se absorben rápidamente en el organismo y actúan casi de manera inmediata, produciendo dilatación de las pupilas, taquicardia, dificultad para respirar, síntomas que a veces se atribuyen al enamoramiento, pero además también generan relajación muscular, alucinaciones, delirio, vómitos, defectos en la memoria y aprendizaje, así como la muerte. Por lo que el toloache es incapaz de generar amor, por el contrario, tiene efectos perjudiciales si se toma con la finalidad de generar un enamoramiento, genera un “amor tóxico”. Con lo anterior ¿Qué tan bueno o malo puede ser el utilizar esta planta? ¿Hasta dónde llega el deseo de estar con una persona sin respetar su autonomía? en faltar al respeto de su dignidad como ser humano y a su derecho de elegir. Hemos de hacer hincapié en que al proporcionar esta planta a una persona se atenta contra su integridad, puesto que distorsiona su capacidad de juicio, de inteligencia, anula su libertad de elección y minimiza la voluntad, es un acto inmoral, que se contrapone contra la esencia de libertad del ser humano.

INTRODUCCIÓN

Datura stramonium mejor conocida como toloache es un tipo de arbusto originario de América y Asia, que crece en zonas templadas y subtropicales. Contiene una gran cantidad de metabolitos entre los cuales destacan la presencia de los alcaloides Escopolamina y Hiosciamina. El toloache ha sido utilizado en diversos grupos nativos en la zona del norte en México, así como en el sur de Estados Unidos de América, sus principales usos son como planta medicinal, y como planta mística en diversos ritos, con la finalidad de adquirir visiones y lograr un estado de trance (Carod, 2015) esto último han hecho que el toloache juegue un papel muy importante en el misticismo y en las creencias populares por sus propiedades “mágicas”, se cree que durante la edad media las “brujas” lo usaban en sus para “volar” que en realidad era un viaje psicodélico (Saracco, 2015).

Dentro de estas propiedades mágicas también se encuentra su supuesta capacidad de generar enamoramiento o amor cuando uno de los enamorados lo consume en forma de té; en esta revisión abarcamos aspectos como su botánica, propiedades fitoquímicas y biológicas, toxicología y

hacemos una reflexión de cómo han contribuido en la creencia sobre su capacidad de generar enamoramiento o “un amor toxico”.

METODOLOGÍA

Con el objetivo de identificar las bases científicas que le atribuyen su supuesta capacidad de enamoramiento y otras propiedades, hemos realizado una revisión bibliográfica en las bases indexadas de Pubmed, Google académico, EBSCOhost, CONABIO y en libros de acceso online utilizando como tópicos los términos *Datura stramonium*, toloache, efectos de los extractos del toloache. La inclusión de los textos se basó en temas del toloache, sus características biológicas farmacognósticas y usos tradicionales.

RESULTADOS

Datura stramonium mejor conocida como “Toloache” es una planta ruderal que crece en todo tipo de suelos, principalmente arenosos húmedos y ricos en nitratos (Villaseñor y Espinosa, 1998). Como se observa en la figura 1 a nivel nacional su mayor producción es en el centro del país, pero se puede encontrar en casi toda la República Mexicana (Miranda *et al.*, 2016).

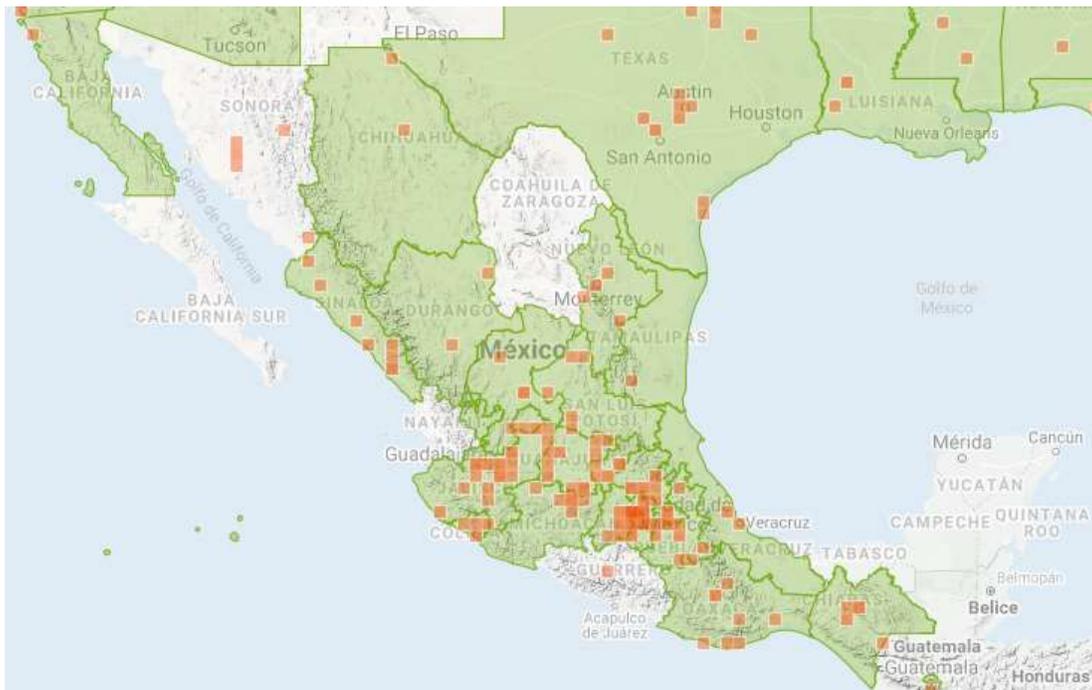


Figura 1. Poblaciones de *Datura stramonium* en México. Obtenido de la base de datos Naturalista (2020), CONABIO.

Además de toloache dentro del país también se conoce como chayotillo, frizillo, tapete, tlapa, tlaquoal, estramonio y hierba del diablo. El toloache pertenece obviamente al reino de las plantas, en la tabla 1 podemos observar su clasificación taxonómica con mayor detalle. Se trata de una planta que puede medir hasta 1 m de alto, posee un solo tallo y pocas ramas. La figura 2 nos muestra que sus hojas son ovadas dentadas de 5 a 15 cm de largo y de 4 a 10 cm de ancho. Sus flores son solitarias en las bifurcaciones del tallo y crecen erectas con pedicelos de 5 a 7 mm de largo; posee un cáliz tubular de 2.5 a 3.5 cm de largo con 5 lóbulos triangular acuminados de 5 a 7 mm de largo, el tubo circunciso se encuentra cerca de la base, decíduo y dejando un cuello acrescente de 5 a 7

mm de ancho; tiene una corola blanca o púrpura-azul pálida, infundibuliforme, de 6 a 9 cm de largo con lóbulos extendidos de 8 a 10 mm de largo. El fruto de esta especie es una cápsula erecta, ovoide de 2.5 a 3.5 cm de diámetro, glabra, seca y subleñosa en estado maduro con numerosas espinas fuertes, agudas de hasta de 1 cm de largo, la cual posee semillas negras/café de 3 a 3.5 mm de largo (Rzedowski y Rzedowski, 2010; Espinosa y Sarukhán, 1997).

Tabla 1. Clasificación taxonómica de *Datura stramonium*

Reino	<i>Plantae</i>
Subreino	<i>Traqueobionta</i>
Superdivisión	<i>Spermatophyta</i> (Plantas con semillas)
División	<i>Magnoliophyta</i> (Plantas con flor)
Clase	<i>Magnoliopsida</i> (Dicotiledóneas)
Subclase	<i>Asteridae</i>
Orden	<i>Solanales</i>
Familia	<i>Solanaceae</i>
Género	<i>Datura</i>
Especie	<i>D. Stramonium</i>

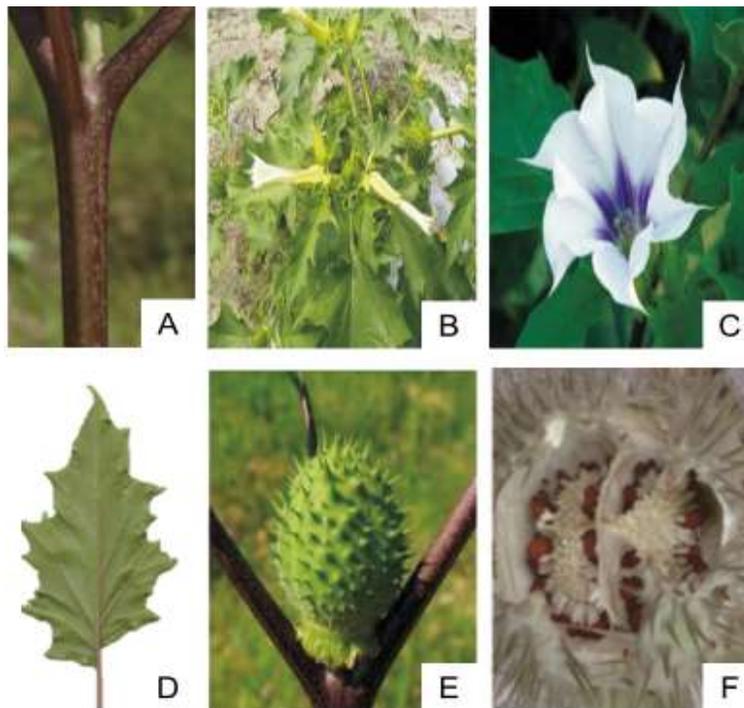


Figura 2. Planta de Toloache. A) Tallo, B) Arbusto, C) Flor, D) Hojas ovaladas dentadas, D) Fruto de *D. stramonium* (exterior), E) Fruto de *D. stramonium* (interior). Modificado de Gaire y Subedi (2013) y Soni, *et al.*, (2012).

Fitoquímica y actividad biológica

La composición química del toloache se ha estudiado desde 1930 y se ha comprobado la presencia de al menos 60 compuestos químicos, destacando los alcaloides (Bazaoui *et al.*, 2011; Lousnasmaa and Tamminem, 1993) y otros metabolitos como saponinas, taninos, esteroides, flavonoides, fenoles y glucósidos (Shagal *et al.*, 2012). Dentro de los alcaloides que produce, los principales son la hiosciamina y la escopolamina, además de alcaloides menores como tigloidina, aposcopolamina y atropina (Soni, *et al.*, 2012).

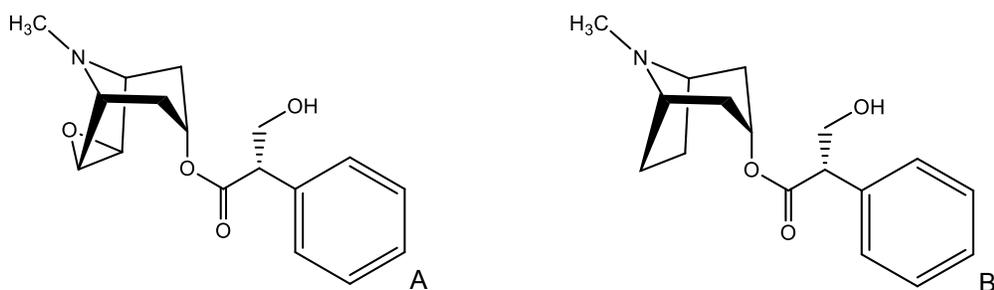


Figura 3. Principales alcaloides aislados en las hojas de *D. stramonium*. A) Escopolamina y B) Hiosciamina. Elaboración propia en el software ChemBioDraw Versión 12.0.

La síntesis de alcaloides en la planta comienza desde las primeras dos semanas después de la germinación, la concentración en las semillas varía según las condiciones ambientales y estación del año, siendo mayor en Verano (Bazaoni, *et al.*, 2011). De manera general las raíces contienen Escopolamina, Hiosciamina y Ésteres diglósicos. En las hojas predominan la Escopolamina, así como trazas de Hiosciamina y Atropina. Toda la planta contiene hasta 0.25% de alcaloides derivados de Tropano (Huerta, 2000). El principal componente es la Escopolamina, las hojas contienen 0.25%, las semillas 0.12%, los tallos 0.05% y las raíces 0.1%. La hiosciamina se encuentra 0.4% en hojas, 0.2% en tallos y en raíces un 0.1%. La Hiosciamina predomina en las hojas adultas, mientras la Escopolamina en las hojas tiernas (Farm, 2006). La tabla 2 muestra de manera más detallada algunos de los metabolitos que se han encontrado en el toloache.

Tabla 2. Metabolitos identificados en *D. stramonium*

Parte usada	Extracto o compuesto	Método de identificación	Metabolito(s) identificados	Referencia
Semillas	Ácido sulfúrico al 3%	GC/ MS	3 β -Tigloiloxitropano, Apotropoiloxitropano, Aposcopolamina, Hiosciamina, Escopolamina, Tropinona, Tropina, Pseudotropina	Berkov <i>et al.</i> , 2006
Semillas	Metanol-acetonitrilo 80:20	Espectrometría de masas	Apoatropina, hidroxipoatropina, Atropina, Escopolamina, Hidroxiatropina	Elbazaoui <i>et al.</i> , 2009
Raíz	Ácido sulfúrico al 3%	Cromatografía de gases / espectros de masas (GC/ MS)	Hiosciramina, Higrina, Tropinona, Tropina, Pseudotropina, 3,6-ditigloiloxitropano, 7-Hidroxi-3,6-ditigloiloxitropano, 7-Hidroxitigloiloxitropano, 6-Hidroxi-3-tigloiloxitropano, 3 α -Hidroxi-6-tigloiloxitropano, 7-Hidroxi-6-propioniloxi-3-tigloiloxitropano.	Berkov <i>et al.</i> , 2006
Hojas	Ácido sulfúrico al 3%	GC/ MS	Hiosciramina, Escopolamine, Tropinona, Tropina, Pseudotropina, 7-Hidroxi-3,6-ditigloiloxitropano, 3-Apotropoiloxitropano, 7-Hidroxi-6-propioniloxi-3-tigloiloxitropano.	Berkov <i>et al.</i> , 2006
Hojas	Extracciones por reacciones ácido-base	Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)	Atropina y escopolamina.	Castillo <i>et al.</i> , 2019
Hojas	Etanol	Ensayos cualitativos	Trazas de saponinas, taninos, trazas de glucósidos.	Banso y Adeyemo, 2006
Hojas	Acuoso	Ensayos cualitativos	Carbohidratos, taninos, fenoles, saponinas, glucósidos esteroidales	Shobha, <i>et al.</i> , 2014
Flores	Metanol-acetonitrilo 80:20	GC/MS	Tropina, Escopina, Apoatropina, Escopolina, escopolamina, Aposcopolamina, Atropina, 3-Fenilacetoxitropano, 3-(2'-Fenilpropioniloxi)tropano,	Bazaoui <i>et al.</i> , 2011

El toloache ha sido conocido como una planta medicinal y como planta alucinógena en todo el mundo debido a la riqueza de los metabolitos que posee (Das *et al.*, 2012). Se ha definido su uso terapéutico usando una dosis de 60 a 185 mg del polvo proveniente de las hojas y 60 a 120 mg del polvo de las semillas (Gaire y Subedi, 2013). De manera general se ha usado tradicionalmente para tratar problemas gastrointestinales, artritis, mordeduras de serpientes, picaduras de insectos, asma, hematomas, hemorroides, dolores en la ciática, reumatismo, enfermedad de Parkinson, bronquitis, dolor de muelas, alopecia, descongestión nasal y como desparasitante (Al-Snafi., 2017; Babaali, *et al.*, 2017; Gaire y Subedi, 2013; Das *et al.*, 2012), además, toda la planta posee propiedades antiinflamatorias y estimulantes del sistema nervioso central (Das *et al.*, 2012). La tabla 3 muestra a detalle la actividad biológica que se han obtenido de *D. stramonium*.

Tabla 3. Reportes de actividad biológicas de *D. stramonium*

Actividad antioxidante					
Parte usada	Extracto o compuesto	Modelo experimental	Dosis	Resultado	Referencia
Raíz	Metanol	DPPH	12.5, 25, 50, 100, 200 y 400 µg / ml	Se encontró que la IC ₅₀ del extracto de raíz I era de 13,47 y µg / ml	Belayneh <i>et al.</i> , 2019
Actividad antiinflamatoria					
Parte usada	Extracto o compuesto	Modelo experimental	Dosis	Resultado	Referencia
Hojas	Etanol	Rata Wistar	200 mg/kg	Inhibición del edema en un 45% en comparación con el grupo control.	Gupta <i>et al.</i> , 2010
Actividad antimicrobiana					
Parte usada	Extracto o compuesto	Modelo experimental	Dosis	Resultado	Referencia
Hojas	Etanol	Difusión en agar y determinación de la concentración mínima inhibitoria	Diluciones del 5, 10, 15, 20, 25 y 30% peso/volumen del extracto.	Actividad antibacterial contra <i>P. aeruginosa</i> , <i>K. pneumonia</i> y <i>E. coli</i> .	Banso y Adeyemo, 2006
Hojas	Acuoso	Método de difusión en disco	N.D.	Actividad antibacterial <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Klebsiella</i> .	Shobha, <i>et al.</i> , 2014
Mezcla de hojas, flores y fruto	Acetona	Ensayo de microdilución para la determinación de la concentración mínima inhibitoria	1.25 a 2.5 mg/mL	Actividad antimicótica contra <i>Penicillium expansum</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus parasiticus</i> , <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Trichoderma harzianum</i> , <i>Phytophthora nicotiana</i> , <i>Pythium ultimum</i> y <i>Rhizoctonia solani</i>	Mdee <i>et al.</i> , 2009
Actividad anti proliferativa					
Parte usada	Extracto o compuesto	Modelo experimental	Dosis	Resultado	Referencia
Semilla	Metanol	Células de adenocarcinoma (MCF-7)	113.05 µg/ml	Actividad citotóxica detectada por el ensayo de MMT.	Iqbal <i>et al.</i> , 2017
Actividad antidiabética					
Parte usada	Extracto o compuesto	Modelo experimental	Dosis	Resultado	Referencia
Raíz	Metanol	Ratones albinos suizos	100, 200 y 400 mg / kg	Disminución de los niveles de glucosa en sangre.	Belayneh <i>et al.</i> , 2019
Otras actividades					
Parte usada	Extracto o compuesto	Modelo experimental	Dosis	Resultado	Referencia
Semilla y hojas	Etanol	Larvas y huevos de ácaros	86.25 mg/L	Función de plagicidad y acaricida.	Gaire y Subedi, 2013
Hojas	Etanol	Larvas y mosquitos	86,25, 16,07 y 6,25 mg	Repelente hasta por 2 h y actividad larvicida	Swathi <i>et al.</i> , 2012

N.D.= No descrito

Seguridad al usar toloache y su toxicidad

La Escopolamina, la Hioscina y sus derivados son altamente usados en la práctica clínica, ejemplo de ello son medicamentos como el Bromhidrato de escopolamina que se utiliza en la anestesia para reducir la salivación excesiva, las secreciones del tracto respiratorio y prevención de náuseas y vómitos *post* operatorios (Comité de Medicamentos de la Asociación Española de Pediatría, 2015); y el Butilbromuro de hioscina mejor conocido como buscapina que es usado como tratamiento de espasmos gastrointestinales, genitourinario y de las vías biliares (Tytgat, 2007).

Sin embargo, la planta y sus derivados están contraindicados en personas con glaucoma o sospecha de glaucoma, íleo paralítico, estenosis pilórica, próstata inflamada, arritmias taquicárdicas y edema pulmonar agudo de igual manera no se recomienda durante el embarazo ya que podría provocar daños permanentes al feto (Al-Snafi, 2017). De acuerdo con la literatura, los casos que presentan intoxicación por reacciones medicamentosas pocas veces inducen a la muerte pues se administra vía intravenosa fisostigmina, un inhibidor de acetilcolinesterasa que funciona como antídoto (Le Garff *et al.*, 2016). Cuando se trata de intoxicación por ingesta de semillas o partes de la planta, el tratamiento son medidas de descontaminación gastrointestinal, a través del lavado gástrico dentro de las primeras 4 horas *post* ingesta, seguido de la administración de carbón activado (Saracco, 2015).

Los síntomas por intoxicación incluyen estado de alteración mental, enrojecimiento, retención urinaria, sacudidas mioclónicas, ataxia, alteración de la memoria a corto plazo, desorientación, confusión, alucinaciones, psicosis, agitación, convulsiones, dilatación anormal de la pupila con inmovilidad del iris, visión borrosa, intolerancia a la luz, sequedad de boca y mucosas, sed extrema, taquicardia, náuseas, vómitos, disminución de los ruidos intestinales, dificultad para tragar, dificultad para hablar, aumento de la temperatura, hipertensión, pérdida de conciencia, coma y en última estancia la muerte (Al-Snafi, 2017; Gaire y Subedi, 2013).

El uso del toloache y sus derivados a llevado a la necesidad de estudios sobre su toxicidad en modelos *in vivo* e *in vitro*, donde se han realizado tratamientos agudos, subagudos y crónicos del toloache o sus metabolitos y han permitido establecer que las dosis letales para un adulto van de 15 a 100 g de la hoja y 15 a 25 g de la semilla (Al-Snafi, 2017). La tabla 4 indica algunos hallazgos en un modelo murino y uno *in vitro*

Tabla 4. Toxicidad del toloache y sus derivados

Tratamiento	Modelo experimental	Parte del toloache o metabolito estudiado	Dosis empleada	Resultados	Referencia
Agudo (menos de 3 semanas)	Rata Wistar	Alcaloides totales de las semillas	100 mg/kg	Disminución de la función hepática y renal, alteraciones bioquímicas, aumento en el conteo de eritrocitos, leucocitos, hemoglobina y hematocrito a las 24 h.	Bouzidi, <i>et al.</i> , 2011
Subagudo (4 semanas)	Rata Wistar	Alcaloides totales de las semillas	100 mg/kg	No mortalidad ni signos de toxicidad.	Bouzidi, <i>et al.</i> , 2011
Crónico (120 días)	Rata Wistar	Atropina Escopolamina	4.2 mg/kg 1.6 mg/kg	No hay mortalidad, pero si disminución del peso del hígado y función hepática. Alteración de los niveles séricos de creatinina, y de parámetros hematológicos con la dosis de 200 mg/kg.	Bouzidi, <i>et al.</i> , 2011
Crónico (5 semanas)	Rata Wistar	Extracto etanoico de las hojas	50 y 200 mg/kg		Bouzidi, <i>et al.</i> , 2011
Agudo (7 días)	Bioensayo de germinación de semillas y crecimiento vegetal	Extracto acuoso de hojas y flores (6,3 µg de atropina + 6,3 µg de escopolamina)	20 ml de cada extracto por caja Petri.	Potencial alelopático en la germinación y crecimiento de plantas.	Butnariu, 2012

El amor y el toloache

Muchos piensan que el amor viene del corazón, pero lo cierto es que se origina en el cerebro mediante un desarreglo de neurotransmisores ocasionado por nuestro afecto hacia un ser que termina por embarcarnos en una aventura llena de felicidad y problemas, pero este desarreglo también puede ser producido por factores externos a otro ser, como es el caso del toloache. En México, a esta planta se le ha atribuido el supuesto poder de enamorar a la pareja, tras administrarlo en forma de un té, elaborado con las hojas, se cree lograr un enamoramiento irremediable. El “entoloachado” (quién consume o ingiere el té) se vuelve más dócil en la vida de pareja, pero en realidad sufre intoxicación, aturdimiento y confusión, en otras palabras, como aquí lo llamamos “un amor tóxico”. Por mínima que se la dosis administrada, sino es regulada por un experto de la salud, es suficiente para generar daño neurológico e incluso la muerte (Juárez, 2019). Aun así, comercialmente se encuentra en los mercados locales como hierba o en forma de preparado, pero realmente ¿qué es lo que ocasiona el toloache?

El “amor” que produce la planta se atribuyen a sus principales alcaloides: la Escopolamina y la Hiosciamina. Ambas se absorben rápidamente en el organismo y actúan casi de manera inmediata, produciendo dilatación de las pupilas, taquicardia y dificultad para respirar, síntomas que a veces suceden cuando se ve al ser amado, pero además también generan relajación muscular, alucinaciones, delirio, vómitos, defectos en la memoria y aprendizaje, y en casos severos, la muerte (CITVER, 2017; Huerta, 1998). Por lo que el toloache es incapaz de generar cariño, por el contrario, tiene efectos perjudiciales que generan un “amor tóxico”.

Cuando una persona está enamorada solemos decirle “Te dieron Toluache”, Lejos de la verdad, el toloache es una de las plantas más usadas para atraer “el amor”, además es una de las plantas más peligrosas como hemos mencionado. Sus efectos sobre el sistema nervioso emulan los efectos de los neurotransmisores del amor como son: dopamina, norepinefrina y serotonina. Sin embargo, la sobredosis puede comenzar con excitación y terminar en muerte. Lo que se sabe hasta ahora, es que el Toloache ha sido una planta satanizada por los efectos que genera, y ha sido vinculada con magia y hechicerías para atraer el amor, desde la época prehispánica, como un filtro de amor tentador, pero que elimina la libertad de elección, pues el amor es un sentimiento que se debe desarrollar por voluntad, libre de coacción para tener verdadera certeza de los afectos que recibimos y damos (Revista de Divulgación Instituto de Biotecnología, 2019).

Las plantas no pueden crear ni inducir ni perpetuar un amor, aparentemente sólo confunden al cerebro. Por lo tanto, se puede decir que lo popularmente aceptado no siempre es correcto y que tomar Toloache es más un acto malvado y egoísta que de amor.

CONCLUSIONES

El toloache (*Datura stramonium*), si bien es una planta con alto potencial para su uso médico, es incapaz de lograr su efecto más popularmente conocido, “generar amor” (añadiendo, además, que tiene efectos perjudiciales si se toma con la finalidad de “enamorar”, produciendo, en todo caso, un “amor tóxico”). Por lo anterior, lo idóneo es plantearse las preguntas subsiguientes: ¿Qué tan bueno o malo puede ser el utilizar esta *Solanaceae*? ¿Hasta dónde puede llegar el deseo de “estar” con una persona sin respetar su autonomía y libre decisión? Esta última cuestión no es válida, puesto que se ha de hacer hincapié en que, al proporcionar esta planta a una persona, se atenta contra su integridad al faltar al respeto a su dignidad como ser humano y al derecho de elegir, puesto que distorsiona su capacidad de juicio y de inteligencia, anula su libertad de elección y minimiza la voluntad. Es, por tanto, un acto inmoral, que se contrapone a la esencia del libre albedrío del ser humano, además de ser también antiético en el aspecto biomédico.

AGRADECIMIENTOS

Nos gustaría expresar nuestro sincero agradecimiento a CONACYT por el otorgamiento de las becas de estudio de posgrado para Abril Alondra Barrientos Bonilla (1000344), Susana Bautista Hernández (824169), Jorge Alberto Domínguez Guillén (1009452), María Fernanda Hernández Hernández (824246), Eder Yaveth Reyes Cruz (824260) y Óscar Antonio Sánchez Aguirre (784066).

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaramos que no existe conflicto de interés.

BIBLIOGRAFÍA

1. Banso and S. Adeyemo. “Phytochemical screening and antimicrobial assessment of *Abutilon mauritianum*, *Bacopa monnifera* and *Datura stramonium*”. *Biokemistri*, 18(1) 2006.
2. Bazaoui, M.A. Bellimam, A. Soulaymani. “Nine new tropane alkaloids from *Datura stramonium* L. identified by GC/MS”. *Fitoterapia* 82 (2), 2011, pp.193–197.
3. Bouzidi, N. Mahdeb, N. Kara. “Toxicity studies of alkaloids of seeds of *Datura stramonium* and synthesis alkaloids in male rats”. *J Med Plants Res*, 5(15), 2011, pp. 3421-3431
4. Elbazaoui, H. Stambouli, M.A. Bellimam, and A. Soulaymani. “Determination of tropane alkaloids in seeds of *Datura stramonium* L. by GC/MS and LC/MS”. *Ann. Toxicol. Anal*, 21(4), 2009, pp.183-188.

5. K. Gupta, N.K. Ahirwae, N. Shinde, M. Choudhary, Y.S. Rajput, and A. Singh, "Phytochemical Screening and Antimicrobial Assessment of Leaves of *Adhatoda vasica*, *Azadirachta indica* and *Datura stramonium*". *UK Journal of Pharmaceutical and Biosciences* 1(1), 2013, pp.42-47.
6. Miranda-Pérez, G. Castillo, J. Hernández-Cumplido, P. L Valverde, M. Borbolla, L. Cruz, y J. Núñez-Farfán, "Natural selection drives chemical resistance of *Datura stramonium*", *PeerJ*, 4, 2016, e1898.
7. S. Saracco. "Intoxicación por *Datura stramonium*: serie de tres casos", *Acta toxicológica argentina*, 23(2), 2015, pp. 83.88.
8. B.P. Gaire and L. Subedi, "A review on the pharmacological and toxicological aspects of *Datura stramonium* L.", *J integr med.* 11(2), 2013, pp. 73-79.
9. Huerta, "El toloache: ¿magia, ciencia o superchería?", *CONABIO. Biodiversitas*, 19, 1998, pp. 11-14.
10. Juárez, "Lo que no sabías del toloache", *UNAMirada a la ciencia*, 2019, http://www.unamiradaalaciencia.unam.mx/download/pdf_prensa/unamirada_705.pdf
11. Centro de Información Toxicológica de Veracruz, "Guía de diagnóstico y tratamiento de intoxicación por *Brugmansia* y *Datura* (*Escopolamina*)" *CITVER*, 2017, <https://www.ssaver.gob.mx/citver/files/2016/08/Gu%C3%ADa-de-diagn%C3%B3stico-y-tratamiento-de-intoxicaci%C3%B3n-por-Brugmansia-y-Datura-Escopolamina.pdf>
12. Comité de Medicamentos de la Asociación Española de Pediatría. "Pediamecum" Edición 2015. ISSN 2531-2464. Disponible en: <https://www.aeped.es/comite-medicamentos/pediamecum/escopolamina>. Consultado el 11/05/2020.
13. CONABIO, "Naturalista (Base de datos)" Obtenido de: <https://www.naturalista.mx/taxa/55854-Datura-stramonium>
14. Babaali, J. Roeb, M. Hammache y J. Hallmann, "Nematicidal potential of aqueous and ethanol extracts gained from *Datura stramonium*, *D. innoxia* and *D. tatula* on *Meloidogyne incognita*", *Journal of Plant Diseases and Protection*, 124(4), 2017, pp. 339-348.
15. Le Garff, et al., "Forensic features of a fatal *Datura* poisoning case during a robbery", *Forensic science international* 261, 2016, pp. e17-e21.
16. E.I. Bazaoui, A., Bellimam, M.A., Soulaymani, "Nine new tropane alkaloids from *Datura stramonium* L. identified by GC/MS", *Fitoterapia* 82 (2), 2011, pp. 193–197.
17. Espinosa, J. Sarukhán, "Manual de Malezas del Valle de México", Universidad Nacional Autónoma de México, Fondo de la Cultura Económica, 1997, pp. 407.
18. J. Carod-Artal, "Hallucinogenic drugs in pre-Columbian Mesoamerican cultures", *Neurología (English Edition)* 30 (1), 2015, pp. 42-49.
19. Castillo, A. Calahorra-Oliart, J. Núñez-Farfán, P.L. Valverde, J. Arroyo, L.L. Cruz, and R. Tapia-López. "Selection on tropane alkaloids in native and non-native populations of *Datura stramonium*". *Ecology and evolution*, 9(18), 2019, pp. 10176–10184.
20. G. Rzedowski, J. Rzedowski, "Flora fanerogámica del Valle de México", Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. 2010, pp. 654-655.
21. G. Shobha, C. Soumya, K.S. Shashidhara, and M. Vinutha, "Phytochemical Profile, Antibacterial and Antidiabetic Effects of Crude Aqueous Leaf Extract of *Datura stramonium*", *Pharmacophore*, Vol. 5 (2), 2012, pp. 273-278.
22. G.N. Tytgat, "Hyoscine butylbromide: a review of its use in the treatment of abdominal cramping and pain" *Drugs*,67(9), 2007, pp. 1343-57
23. J.D. Kirtikar, B.D. Basu, "Plantas medicinales indias". Allahabad: Lalit Mohan Basu, 1994. pp. 1229-1231.
24. L.K. Mdee, P. Masoko, and J.N. Eloff, "The activity of extracts of seven common invasive plant species on fungal phytopathogens". *South African Journal of Botany*, 75(2), 2009, pp. 375-379.
25. M. Butnariu. "An analysis of *Sorghum halepense*'s behavior in presence of tropane alkaloids from *Datura stramonium* extracts". *Chemistry Central journal*, 6(1), 2012, pp. 75.
26. M. Lounasmaa y T. Tamminen, "The Tropane Alkaloids" in *The Alkaloids: Chemistry and Pharmacology* (Ed. Prefacio, Edited by Geoffrey A. Cordell1993), Chapter 1 pp. 1–114.

27. M.H. Shagal, U.U. Modibbo, A.B. Liman, "Justificación farmacológica para el uso etnomédico del extracto de corteza de tallo de estramonio *Datura* en el tratamiento de enfermedades causadas por algunas bacterias patógenas", *Int Res Pharm Pharmacol* 2 (1), 2012, pp.16-19.
28. P. D. A. E. Al-Snafi, "Medical importance of *Datura fastuosa* (syn: *Datura metel*) and *Datura stramonium* - A review" *IOSR Journal of Pharmacy (IOSRPHR)*, 7(2), 2017, PP. 43-58.
29. P. Lorenzo, J. Ladero, J. Leza, I. Lizasoain, "Drogodependencias: Farmacología, Patología, Psicología, Legislación. 3a Ed. Madrid: Médica Panamericana; 2009.
30. P. Soni, A. A Siddiqui, J. Dwivedi y V. Soni, "Pharmacological properties of *Datura stramonium* L. as a potential medicinal tree: an overview", *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 2(12), 2012, pp.1002–1008.
31. Revista de Divulgación Instituto de Biotecnología. "Biotecnología en movimiento". Instituto de Biotecnología UNAM. 20, 2019
32. R. Villaseñor, G. Espinosa, "Catalogo de malezas de México", Universidad Nacional Autónoma de México, Consejo Nacional Consultivo Fitosanitario, Fondo de la Cultura económica, 1998, 449 p.
33. S. Berkov, R. Zayed, and T. Doncheva, "Alkaloid patterns in some varieties of *Datura stramonium*". *Fitoterapia*, 77(3), 2006, pp. 179-182.
34. S. Chollet, Y. Papet, P. Mura, and B. Brunet, "Détermination des teneurs en atropine et scopolamine de différentes espèces sauvages et ornementales du genre *Datura*", *Ann Toxicol Anal.* 22(4), 2010, pp. 173-179.
35. S. Das, P. Kumar, S.P. Basu, "Artículo de revisión sobre fitoconstituyentes y potenciales terapéuticos de *Datura stramonium* linn", *J Drug Del Therap.* 2 (3), 2012, pp.24–27.
36. S. Gupta, M. Raghuvanshi, D. Jain. "Comparative studies on anti-inflammatory activity of *Coriandrum Sativum*, *Datura stramonium* and *Azadirachta Indica*". *Asian J Exp Biol Sci.* 1(1), 2010, pp. 151–154.
37. S. Iqbal, C. Sivaraj y K. Gunasekaran. "Antioxidant and Anticancer Activities of Methanol Extract of Seeds of *Datura stramonium* l". *Free Radicals & Antioxidants*, 7(2) 2017.
38. S. Khanra, C. R. J. Khess, and N. Srivastava, "Chronic non-fatal *Datura* abuse in a patient of paranoid schizophrenia: a case report", *Addictive behaviors* 43, 2015, pp.39-41.
39. S. M. Farm, "Solanaceas, Trio del delirio", *Revista de Asociación Cordobesa de Farmacéuticos homeopáticos*, 2006.
40. S. Swathi, G. Muruganathan, SK Ghosh, AS Pradeep. "Larvicidal and repellent activities of ethanolic extract of *Datura stramonium* leaves against mosquitoes". *Int J Pharm Phytochem Res.* 4(1), 2012, pp. 25–27.
41. Y. M Belayneh, Z. Birhanu, E.M. Birru y G. Getenet. "Evaluation of in vivo antidiabetic, antidiyslipidemic, and in vitro antioxidant activities of hydromethanolic root extract of *Datura stramonium* L. (Solanaceae)". *Journal of experimental pharmacology*, 11, 2019, pp. 29–38.

EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE LOMBRICOMPOSTA EN LA CALIDAD Y COMPUESTOS CON ACTIVIDAD ANTIOXIDANTES EN LECHUGA (*LACTUCA SATIVA* L.).

Jimena Esther Alba Jiménez^{1*}, Flor Nataly Lozano Villalba², Evelin Lizbeth Armenta Romero³, Armando J. Martínez Chacón⁴, Miriam Rodríguez Olivarez⁵, Irma Patricia Polanco Medina³, José Cruz Carrillo Rodríguez⁶ y Elia Nora Aquino Bolaños⁷.

¹CONACyT-Universidad Veracruzana; ²Instituto Tecnológico Superior de Xalapa; ³Universidad Veracruzana; ⁴Instituto de Neuroetología, Universidad Veracruzana; ⁵Instituto Tecnológico Superior de Xalapa; ⁶Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca; ⁷Centro de investigación y desarrollo de alimentos, Universidad Veracruzana.

*jimena_tete@hotmail.com

RESUMEN

México tiene amplia variedad de climas y suelos que lo sitúa un país con mayor producción de hortalizas aunque estas requieren de condiciones específicas de temperatura, humedad y nutrientes. Pero el uso de diversos agroquímicos para mejorar la producción y rendimiento degradan y contaminan del suelo y agua subterránea. De ahí la importante de aplicar de técnicas de cultivo que contribuyan a mejorar la calidad de las hortalizas y reducir los efectos nocivos al ambiente. El fertilizante orgánico como la lombricomposta, aporta mayor contenido de macro y micronutrientes que contribuyen al mejor crecimiento y desarrollo de la planta. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la aplicación de lombricomposta sobre la calidad del cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* L.). Semillas de lechuga fueron sembradas en suelo con y sin lombricomposta y se midieron características morfológicas, parámetros fisicoquímicos, contenido de ácido ascórbico, antioxidantes, actividad antioxidante, proteína y la actividad de la enzima polifenol oxidasa (PPO). Los resultados muestran que la lombricomposta reduce el tiempo de cosecha de 103 a 73 días, y el rendimiento y desarrollo mejora al crecer en lombricomposta, además de que los parámetros de color luminosidad, cromaticidad y ángulo de matiz también mejoran. Pero la humedad y contenido de sólidos solubles totales fue mayor en las lechugas cultivadas sin lombricomposta y el pH no difirió entre los tratamientos. El contenido de proteína (0.0108 g Eq. Albúmina bovina g⁻¹ tejido fresco (tf)), ácido ascórbico (3.74 mg ác. Ascórbico g⁻¹ tf), polifenoles (2.28 mg EAG g⁻¹ tf), flavonoides (2.14 mg ECat g⁻¹ tf), capacidad antioxidante (10.5 μmol Eq. Trolox g⁻¹ tf), actividad antioxidante (15.6 μmol Eq. Trolox g⁻¹ tf) y actividad enzimática de la PPO (50.57 PPO g⁻¹ proteína min⁻¹) fue mayor en las plantas de lechuga que no crecieron en lombricomposta. Esto podría deberse a que las lechugas no alcanzaron su crecimiento óptimo, además al presentar mayor actividad en PPO, podría ser indicativo de que las plantas estuvieron sometidas a un estrés por falta de agua y nutrientes necesarios para su crecimiento y desarrollo. Por lo tanto, el tratamiento con lombricomposta podría ser una alternativa para producir lechugas en un menor tiempo y con mejores características de calidad.

INTRODUCCIÓN

La agricultura es una de las actividades económicas más importantes y destacadas en México. La diversidad de climas y suelos le han permitido el cultivo de diferentes especies de plantas consumibles, como las hortalizas, las cuales requieren de condiciones específicas de temperatura, humedad y nutrientes para lograr un adecuado desarrollo. La lechuga *L. sativa* es especie que se usan como hortaliza de mayor producción en México y ocupa el noveno lugar a nivel mundial, además se produce en 22 estados de la República Mexicana, siendo los principales productores Guanajuato, Zacatecas y Puebla (SADER, 2017). Es importante indicar que se conocen aproximadamente 800 géneros y 20000 especies de lechuga (Rubatzky & Yamaguchi, 1997), de los cuales la baby leaf, escarola, orejona y romana son las más producidas (SIAP, 2018). Además, es una herbácea anual, cuyo ciclo de cultivo es de aproximadamente 100 días dependiendo la variedad y época de año (Luna, 2012). También se puede destacar que la lechuga contiene un alto porcentaje de agua y es rica en minerales como potasio, fosforo, hierro y calcio, además de ser rica en vitamina A y C, los cuales se concentran principalmente en las hojas (Rubatzky & Yamaguchi, 1997),

asimismo contiene compuestos fenólicos, que en conjunto con la vitamina C, proporcionan actividad antioxidante a diferentes tipos de estrés (Barberán & Espín, 2001; Smirnov *et al.*, 2000).

Por otro lado, las técnicas convencionales para el cultivo de lechuga requieren el uso de diversos agroquímicos que contribuyen a mejorarlo, además de protegerlo contra plagas y enfermedades. Sin embargo, provocan degradación de los suelos y contaminación del agua subterránea, debido a que inducen a la salinización, concentración excesiva de minerales y compuestos carcinógenos (FAO, 2002).

Una alternativa para evitar que los suelos pierdan materia orgánica es la utilización de fertilizantes orgánicos, como la lombricomposta, la cual aporta un mayor contenido de macronutrientes, micronutrientes y humedad contribuyendo al crecimiento y desarrollo de la planta (Prado, 2013). Es importante indicar que la lombricomposta, consiste en la digestión de la materia de origen vegetal, animal o mixto por lombrices, a lo que se le denomina humus (Román *et al.*, 2013). Este abono tiene la propiedad de mejorar el enriquecimiento del suelo, la asimilación de nutrientes, la retención de humedad, además de proporcionar mayor resistencia a patógenos y enfermedades que puedan afectar los cultivos (Félix, 2008).

TEORÍA

La lombricomposta es una de las técnicas más antiguas de cultivo, que contribuye de manera importante en la nutrición de los suelos, mejorando el rendimiento y calidad de los alimentos, sin la necesidad de agroquímicos (Félix, 2008). Al respecto Rizo (2011), reportó en cultivos de zanahoria, lechuga, rábano y cilantro, que los abonos orgánicos (lombricomposta y Bocashi), presentan mayor germinación y rendimiento. Por su parte Olivares (2012), reportó para el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* L.), en condiciones en las que la aplicación de composta y lombricomposta a partir de estiércol de ganado vacuno lechero, contiene una cantidad de nitrógeno similar a lo que aporta un fertilizante nitrogenado inorgánico, y además indican la mejora en el contenido de calcio y magnesio, y mantiene las mejores condiciones de los microorganismos en el suelo. Asimismo, Sofo *et al.* (2016) reportaron que la aplicación de una fertilización orgánica a partir de diferentes tipos de estiércol de animal en *Lactuca sativa* L., var. 'Maravilla de Verano', incrementa el contenido de macronutrientes como nitrógeno, magnesio, azufre, sodio y aluminio, así aumenta el rendimiento y un balance mineral de la planta. Mientras que el contenido de compuestos fenólicos y flavonoides en la fertilización convencional incrementa; estos autores lo atribuyeron a condiciones de estrés, en las plantas, por déficit de minerales en el suelo. Por lo anterior, el objetivo del estudio fue evaluar la aplicación de lombricomposta sobre la calidad y compuestos con actividad antioxidante del cultivo de lechuga *L. sativa*.

MÉTODO

Diseño experimental

Con semillas de lechuga orejona *L. sativa* marca comercial "Hortaflo" (Francia), se realizó un diseño experimental en el invernadero del Instituto Tecnológico Superior de Xalapa Unidad Xico, ubicado en el municipio de Xico, Veracruz (latitud de 19°25'77"N, longitud 97°00'26"O, y altitud de 1600 msnm), donde se germinó y cultivo la hortaliza. Para lo cual se prepararon dos zanjas (1 m de ancho x 1.5 m de largo x 0.40 m de altura), colocando en una de las zanjas el tratamiento con lombricomposta, el cual consistió de 50% de suelo y 50% de humus de lombriz (Olivares-Campos *et al.*, 2012), y en la otra zanja se colocó el tratamiento el control, el cual fue 100% suelo. A ambos substratos se les realizó un análisis de suelo para tener referencia de sus componentes, los resultados se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Análisis de suelo de los tratamientos en suelo y con lombricomposta.

	Suelo	Lombricomposta
pH	4.95	8.30
Materia orgánica (%)	18.5	23.0
Acidez (cmol/Kg)	0.21	0.16
K (cmol/ Kg)	0.43	38.72
P (mg/kg)	0.44	176.10
Ca (cmol/ Kg)	2.56	9.77
N (%)	0.99	1.41
C (%)	14.89	17.28
C/N	15.0	12.0

Para la germinación de las semillas *L. sativa*, se colocaron en una charola de germinación de 200 cavidades, la cual se dividió 50/50 con relación a los tratamientos con y sin lombricomposta. Después del brote de la semilla, cuando la planta tuvo de 3 a 4 hojas, después de la fase de hojas cotiledóneas, y una longitud de 3 a 4 cm, se realizó el trasplante. En esta fase, las plantas se ubicaron a una distancia de 20 x 20 cm entre cada una de ellas. A partir de cosecha de las plantas, que crecieron con y sin lombricomposta, se obtuvieron las hojas para la determinación de los parámetros: desarrollo, humedad, pH, sólidos solubles totales (SST), proteína, vitamina C, fenoles totales, flavonoides totales, actividad antioxidante, capacidad antioxidante y la actividad de la enzima polifenol oxidasa (PPO).

MÉTODOS

Extracto acuoso

Para determinar los °Brix y pH, se obtuvo un extracto de 2 g de las hojas de lechuga finamente picada, la cual se homogenizó (DAIHA-Brand HG-IS-A, Gangwan, Korean) a 50 rpm por 1 min en 8 mL de agua destilada, después se filtró y el filtrado fue utilizado para el análisis.

Extracto para proteína

Se pesó 1 g de lechuga con 6 mg de PVPP y se le añadieron 25 mL de buffer KCL a pH 13, la muestra fue homogeneizada (DAIHA-Brand HG-IS-A, Gangwan, Korean) y posteriormente fue centrifugado a 4000 rpm durante 20 min a 10 °C (Hettich Zentrifuge Universal 32R Tuttlingen, Alemania). El sobrenadante fue utilizado para realizar el análisis.

Extracto para Vitamina C

De las hojas de lechuga se obtuvo una muestra de 2 g y se le añadieron 10 mL de ácido oxálico 25 mM, se homogeneizó (DAIHA-Brand HG-IS-A, Gangwan, Korean), y se filtró para su posterior análisis.

Extracto etanólico

Para la determinación de polifenoles, flavonoides, capacidad y actividad antioxidante, el extracto fue preparado con 2 g de lechuga finamente picada, el cual fue homogeneizado (DAIHA-Brand HG-IS-A, Gangwan, Korean.) a 50 rpm durante 1 min con 10 mL de etanol al 80% (v/v). Posteriormente, se centrifugó a 4000 rpm durante 20 min a 10 °C (Hettich Zentrifuge Universal 32R Tuttlingen, Alemania), se filtró, y el sobrenadante fue analizado.

Extracto enzimático

Con otro grupo de hojas de lechuga se obtuvo una muestra de 2 g finamente picada con 0.2 g de PVPP y se le añadieron 20 mL de amortiguador de fosfato de sodio 50 mM (pH 7) a 4 °C, se homogeneizó (DAIHA-Brand HG-IS-A, Gangwan, Korean) a 50 rpm durante 1 min. Posteriormente, se centrifugó a 4000 rpm durante 20 min a 10 °C (Hettich Zentrifuge Universal 32R Tuttlingen, Alemania), se filtró y se le realizó el análisis.

Desarrollo vegetativo

Se seleccionaron 10 lechugas de cada tratamiento, y se realizó un conteo del número de hojas, y mediante un vernier digital se tomaron medidas de ancho (cm), longitud (cm), y con una balanza digital (Ohaus Adventurer Pro AV212) se realizó el peso (g) por planta.

Color

Se determinó mediante un espectrofotómetro para sólidos (Konica Minolta CM-2600d, Osaka, Japón). Los parámetros evaluados fueron L^* , a^* , b^* , C^* y h° , donde L^* corresponde al valor de luminosidad en una escala del 0 al 100 que corresponde a negro y blanco, respectivamente. A su vez, a^* y b^* son coordenadas cromáticas, valores de a^* negativo a positivo, indica verde a rojo; b^* negativo a positivo, indica azul a amarillo. Mientras que C^* indica la cromaticidad, es decir, la pureza del color y h° o ángulo de matiz se refiere al tono.

Humedad y pH

El contenido de humedad se determinó mediante el uso de una termobalanza (VELAB VE-50-5 Illinois, USA), tomando 1 g de tejido de la muestra previamente cortada a una temperatura constante de 145 °C. El pH de los extractos de las hojas de lechugas cosechadas en los tratamientos fue medido mediante un potenciómetro digital (Hanna Instruments, modelo HI 8424) como lo indica la A.O.A.C. (1995).

Sólidos solubles totales (SST)

Se determinaron los sólidos solubles con un refractómetro digital (ATAGO Palette digital refractometer, USA) y se reportó como °Brix. Las lecturas se realizaron por cuadruplicado para cada extracto de los tratamientos.

Determinación de proteína

El contenido de proteína fue medida por el método de Bradford (Bradford, 1976), para el cual se utilizó 0.5 mL del extracto obtenido con la solución amortiguadora pH 13 y se adicionó 0.5 mL de la solución de Bradford (azul de comassie). Se registró la absorbancia a una longitud de onda de 595 nm (JENWAY 6305, Sttafordshire, United Kingdom), y los resultados fueron expresados en unidades de mg proteína g^{-1} tf.

Determinación de vitamina C

El contenido de vitamina C se cuantificó por el método de titulación descrito por Aćamović-Djoković (2011), con algunas modificaciones. A partir de 2 mL de la muestra filtrada de lechuga y se adicionaron 9 mL de ácido oxálico y 1 mL de HCl 1 N. Posteriormente, se tituló con sal sódica (2,6-dicloroindofenol) hasta obtener un vire de incoloro a rosa, y se registró el volumen gastado. La cuantificación de ácido ascórbico se realizó con una curva de calibración de 0.005 a 0.02 mg mL^{-1} , y se expresó en mg de ácido ascórbico g^{-1} tf.

Fenoles totales

Los compuestos fenólicos se determinaron de acuerdo al método de Singleton y Rossi (1965). Agregando 0.4 μL del extracto etanólico, 1 mL de agua destilada y 200 μL del reactivo de Folin-Ciocalteu, dejándolo reposar 8 min. Posteriormente, se adicionó 2 mL de Na_2CO_3 al 7% (p/v) y 1.4 mL de agua destilada, se agitó en vortex y se reposó durante 1 hora. La absorbancia se midió a 750 nm en un espectrofotómetro marca JENWAY-6305. La unidad de registro fue mg EAG g^{-1} tf.

Flavonoides totales

Para la determinación de flavonoides se utilizó la metodología descrita por Zhishen *et al.* (1999). Se mezclaron 250 μL del extracto de la muestra con 75 μL de $NaNO_2$ al 5% (p/v), se agitó vigorosamente, y se añadieron 150 μL de $AlCl_3$ al 10% y se incubó durante 5 min. Posteriormente, se adicionaron 500 μL de NaOH 1 M y se adicionó agua destilada hasta alcanzar un volumen de 3 mL. La absorbancia se leyó a 510 nm en un espectrofotómetro de la marca JENWAY- 6305. Para la

cuantificación se utilizó una curva estándar de (+) catequina ($0.01 - 0.5 \mu\text{g mL}^{-1}$), y la unidad se expresó en $\text{mg EC g}^{-1} \text{tf}$.

Actividad antioxidante

La determinación de la actividad antioxidante, se realizó por el método 2,2-difenil-1-picrilhidracil o DPPH descrito por Brand-Williams *et al.* (1995). A $100 \mu\text{L}$ de cada extracto se adicionaron 2.9 mL del reactivo de DPPH, se incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Después del tiempo de incubación se midió la absorbancia a una longitud de onda de 750 nm . Para la cuantificación se realizó una curva estándar de Trolox (0.13 a $0.79 \mu\text{mol ETrolox mL}^{-1}$), y los resultados se expresaron en $\mu\text{mol Eq Trolox g}^{-1} \text{tf}$.

Capacidad antioxidante

La determinación de capacidad antioxidante se realizó por el método descrito por Benzie y Strain (1999). El reactivo de FRAP se preparó mediante la mezcla amortiguadora de acetato ($0.3 \text{ M pH } 3.6$), con una solución 10 mM de TPTZ a 10 mM ($2, 4, 6$ -tripirydil-s- triazine) en $\text{HCl } 40 \text{ mM}$ y una solución 20 mM de $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{ H}_2\text{O}$, en una proporción $10:1:1$. Para la reacción, a $100 \mu\text{L}$ de extracto se adicionaron 3 mL del reactivo de FRAP, posteriormente se incubó a 37°C en baño maría por 30 min , después se registró con un espectrofotómetro (JENWAY 6305, Staffordshire, United Kingdom) a 593 nm . La cuantificación de la actividad antioxidante se realizó mediante una curva estándar de Trolox (0.1 a $1 \mu\text{mol Eq. Trolox mL}^{-1}$), y la unidad de medición fue $\mu\text{mol Eq Trolox g}^{-1} \text{tf}$.

Polifenol oxidasa (PPO)

La actividad enzimática se determinó por el método descrito por Zhou *et al.* (2015), con algunas modificaciones. La actividad fue medida con 2 mL de amortiguador de fosfato 0.01 M ($\text{pH } 6.5$), $900 \mu\text{L}$ de catecol (1%) como sustrato y $100 \mu\text{L}$ del extracto enzimático. La mezcla fue mantenida a 25°C y el cambio en la absorbancia fue medido durante 3 min a 420 nm . La actividad fue expresada como unidades de actividad (UA) en la cual una unidad de PPO fue definida como el cambio en una unidad de absorbancia por minuto.

Análisis estadístico

Las variables de respuesta fueron analizadas utilizando Modelos Lineales Generalizados (GLM), con un diseño unifactorial. Donde el factor analizado fue el tratamiento con dos niveles: la composición del sustrato (tratamiento 50% lombricomposta y 50% tierra, y el grupo control 100% suelo). La medición de las variables de respuesta fue sobre unidades experimentales independientes con 2 réplicas por tratamiento por cuadruplicado ($n=16$). Las variables respuesta fueron transformadas a intervalos "rankeo" (Conover e Iman, 1981), para cumplir con los supuestos de distribución de error normal y homogeneidad de varianzas. Los análisis fueron procesados en el software estadístico JMP 6 (SAS Institute Inc., Cary NC 1989-2007).

RESULTADOS

Desarrollo

Las lechugas cultivadas en lombricomposta completaron su ciclo de cultivo en 73 días, mientras que las lechugas cultivadas en sólo suelo fueron cosechadas a los 103 días, éstas no alcanzaron las características de una lechuga bien desarrollada (Figura 1). En otros cultivos, como el tomate, se ha reportado que los factores determinantes en el tamaño del fruto son el efecto del sustrato, la luz y el agua, lo cual afectan al rendimiento y producción de la plantación (Ávila & Ruales, 2016).



Figura 7. A) Lechuga cultivada en lombricomposta, B) Lechuga cultivada en suelo.

La altura, ancho y peso de las lechugas con lombricomposta fue mayor en comparación con el grupo control, mientras que el número de hojas no difirió entre los tratamientos (Tabla 2). Puebla (2012), reportó una altura promedio óptima menor de lechuga *Lactuca sativa* (25 a 28.8 cm), en contraste a lo reportado en este estudio. Por su parte Polat *et al.* (2008), reportan un peso similar (248.4 g) en lechuga tipo iceberg, fertilizada bajo un sistema orgánico. Mientras que el número de hojas es similar a lo que indica Vásquez (2015) para las variedades de lechuga Bergam'S Green, Sargasso y Lucy Brown con valores de entre 13 a 19 hojas por planta, respectivamente.

Tabla 2. Variables del desarrollo vegetativo de plantas de lechuga cultivadas en suelo y lombricomposta.

Parámetros	Control	Lombricomposta
Peso (g)	8 ± 8.10 ^b	234 ± 8.10 ^a
No. Hojas (Unidad)	14 ± 0.68 ^a	18 ± 0.68 ^a
Altura (cm)	10 ± 0.48 ^b	33 ± 0.48 ^a
Ancho de hoja (cm)	4 ± 4.78 ^b	16 ± 4.78 ^a
Valores promedio (± error estándar) con la misma letra no son significativamente diferentes (P ≤ 0.001)		

Los valores promedio más altos para el peso, altura y ancho observados fueron en plantas expuestas a lombricomposta, esto se atribuye al mayor contenido de materia orgánica, que mejora la capacidad de retención de agua y nutrientes (Jeavons, 1991). Además, del mayor contenido de nitrógeno observado, el cual es un importante compuesto que participa en el crecimiento y desarrollo de la planta, ayudó a incrementar su producción y mejorar la respuesta ante diferentes tipos de estrés (Kishorekumar *et al.*, 2020).

Color

Los parámetros de color fueron diferentes entre los tratamientos, ya que el valor de L* fue menor en la lechuga cultivada en suelo sin lombricomposta, lo que indica hojas más oscuras. Además, el parámetro C*, registró, en las plantas que crecieron en lombricomposta, un valor de 25.7, más alto al de las plantas del grupo control (19.31). El mismo patrón de respuesta se registró en el índice de matiz h°, ya que se observó una tonalidad más verde en el grupo tratado que con respecto a las plantas sin lombricomposta (Tabla 3). En este sentido, Analuisa (2019) evaluó el color en lechuga crespa (*Lactuca sativa* L.) e indicó valores menores de L*= 41.01 y C*=14.92, y un valor más alto de h° (127.94), a lo reportado en este estudio.

Tabla 3. Parámetros de color en hojas de lechuga cultivadas en suelo y lombricomposta.

Parámetros	Control	Lombricomposta
Luminosidad (L*)	43.06 ± 0.56 ^b	45.06 ± 0.56 ^a
Cromaticidad (C*)	19.31 ± 0.58 ^b	25.7 ± 0.58 ^a
Ángulo de matiz (h°)	108 ± 0.24 ^b	112 ± 0.24 ^a
Valores promedio (± error estándar) con la misma letra no son significativamente diferentes (P ≤ 0.001)		

Humedad, sólidos solubles totales y pH

El porcentaje de humedad fue mayor en lechugas cultivadas en lombricomposta (98%) en contraste con las plantas sin tratamiento (94%) (Tabla 4). Estos valores coinciden con lo reportado por Carrillo (2016), para la lechuga de tipo repollo, con un intervalo de porcentaje de humedad de 94 a 98%. La diferencia observada en humedad podría deberse a la mejor retención de agua en el suelo con lombricomposta (Félix, 2008) incrementando su disponibilidad para la planta. Para el contenido de sólidos solubles totales (SST), se registró que las lechugas sin tratamiento tienen un mayor valor (3.09 °Brix), en contraste a las plantas que crecieron en lombricomposta (1.4 °Brix) (Tabla 4). Estos valores son similares a lo reportado por Carrillo (2016), ya que las lechugas de tipo repollo tuvieron valores de 2.73 a 5.17 °Brix. Mientras el pH no difirió entre los tratamientos (Tabla 4). Por su parte, Polat *et al.* (2008) reportó un valor similar de pH (6.08) en lechugas iceberg tratadas con fertilizantes orgánicos.

Tabla 4. Parámetros fisicoquímicos en hojas de lechuga cultivada en suelo y lombricomposta.

Parámetros	Control	Lombricomposta
Humedad (%)	94 ± 0.93 ^b	98 ± 0.93 ^a
SST (°Brix)	3.09 ± 0.03 ^a	1.45 ± 0.03 ^b
pH	5.9 ± 0.002 ^a	5.9 ± 0.002 ^a
Valores promedio (± error estándar) con la misma letra no son significativamente diferentes (P ≤ 0.001)		

Proteína

El mayor contenido de proteína se registró en las plantas que crecieron en el suelo sin lombricomposta (Figura 2A). Lo cual es similar a lo reportado por Raigón *et al.* (2019), para lechugas *Lactuca sativa* L. que fueron desarrolladas en un cultivo ecológico, puesto que los valores que los autores presentan, están dentro del intervalo de 0.0055 a 0.0098 g⁻¹ ff.

Ácido Ascórbico

En el contenido de ácido ascórbico también fue mayor en promedio, en el grupo de lechugas que crecieron en suelo sin lombricomposta (Figura 2B). Lo cual es diferente a lo observado por Papathanasiou *et al.* (2012), en 5 variedades de lechuga (*Lactuca sativa* L.) ('Bionda lenta a montare', 'Verde degli ortolani', 'Santa Anna', 'Gentilina' y 'Black Seed Simpson'), puesto que la concentración de vitamina C no fue afectada por la adición de vermicomposta al suelo durante primavera e invierno, reportando un intervalo de 0.162 a 0.099 mg g⁻¹, inferior a lo reportado en este estudio. Mientras que Suyarno (2010), indicó que la concentración de vitamina C incrementa en lechuga (*Lactuca sativa* L.) cultivada en vermicomposta. Por su parte, López (2014), reportó que la concentración de vitamina C en lechuga (*Lactuca sativa* L.) tiene en promedio un valor de 0.078 mg g⁻¹ ff, lo cual es inferior a lo reportado en este estudio.

Fenoles totales, flavonoides totales y actividad antioxidante

El mayor contenido de fenoles y flavonoides totales se observó en el grupo de plantas que no tuvieron lombricomposta con un promedio de 2.29 mg EAG g⁻¹ ff y 2.1498 mg EC g⁻¹ ff, respectivamente, en

contraste con las plantas en lombricomposta ($0.65 \text{ mg EAG g}^{-1} \text{ tf}$ y $1.06 \text{ mg EC g}^{-1} \text{ tf}$, respectivamente) (Figura 2C y D). Al respecto, Kapoulas *et al.* (2017), reportaron que cuando la lechuga *longifolia* se cultiva con fertilizante orgánico, el contenido de fenoles totales disminuye, reportando un valor de $0.20 \text{ mg EAG g}^{-1} \text{ tf}$, menor a lo observado en este estudio en el tratamiento en lombricomposta. Pero Llorach *et al.* (2008), reportaron en lechuga *Lactuca sativa* L., un intervalo de 0.18 a $5.7 \text{ mg EAG g}^{-1} \text{ tf}$ y de flavonoides totales de 0.008 a $2.84 \text{ mg g}^{-1} \text{ tf}$, valores parecidos a los obtenidos en este estudio en condiciones de lombricomposta. En cuanto a la actividad y capacidad antioxidante, el promedio fue mayor en las plantas del grupo control (10.5 y $15.6 \mu\text{mol Eq. Trolox g}^{-1} \text{ tf}$, respectivamente), en contraste con las plantas que crecieron en lombricomposta ($2.1 \mu\text{mol}$ y $5.1 \mu\text{mol Eq. Trolox g}^{-1} \text{ tf}$, respectivamente) (Figura 2E y F).

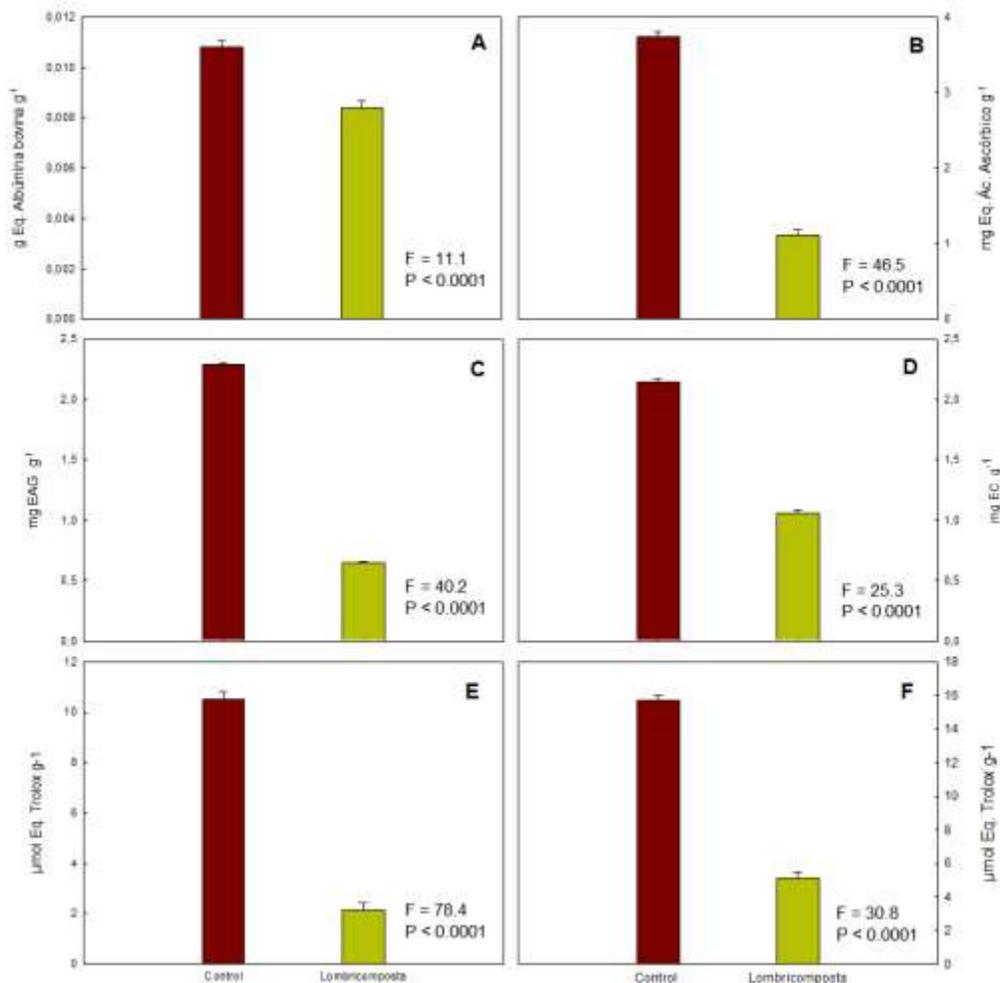


Figura 8. Cambios en el contenido promedio (\pm error estándar) de proteína (A), ácido ascórbico (B), fenoles totales (C), flavonoides totales (D), actividad antioxidante (E) y capacidad antioxidante (F) en hojas de lechuga cultivada en suelo y lombricomposta.

El comportamiento observado en el contenido de fenoles, flavonoides, actividad y capacidad antioxidante, podrían indicar mayor actividad de las enzimas fenilalanina amonio liasa (PAL), polifenol oxidasa (PPO) y algunas isoformas de peroxidasa, las cuales son reguladoras clave para la biosíntesis de compuestos fenólicos de plantas y de la transcripción de muchos genes que codifican a PAL, actividad que suele ocurrir por efecto de condiciones ambientales adversas, como

bajos niveles de nutrientes, particularmente N y microelementos metálicos (Ruiz *et al.*, 2003; Velickovic *et al.*, 2014; Wada *et al.*, 2014). Además, Gershenzon (1984), indicó que el estrés por bajo nivel de nitrógeno, así como puede provocar un menor crecimiento y rendimiento en las plantas, podría conducir a la desaminación de fenilalanina por la actividad catalítica de PAL, y así producir una mayor cantidad de compuestos fenólicos. Lo cual explicaría los resultados obtenidos en este estudio.

Polifenol oxidasa (PPO)

Las plantas de lechuga que crecieron en el suelo sin lombricomposta obtuvieron mayor actividad enzimática de PPO (Figura 3). Esta respuesta podría atribuirse a la deficiencia de nutrientes en lechugas del grupo control, debido a un incremento en el contenido de compuestos fenólicos que sirven como sustrato para activar la enzima PPO. Al respecto, Cakmak y Römheld (1997), reportaron que una deficiencia de boro, en hojas de girasol (*Helianthus annuus*), incrementa la actividad de la enzima polifenoloxidasas. Asimismo, Martins y Mourato (2006), indicaron que el estrés por bajas concentraciones de cobre, en hojas de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill., cv. Hynema) cultivadas en soluciones hidropónicas, genera una mayor actividad de PPO.

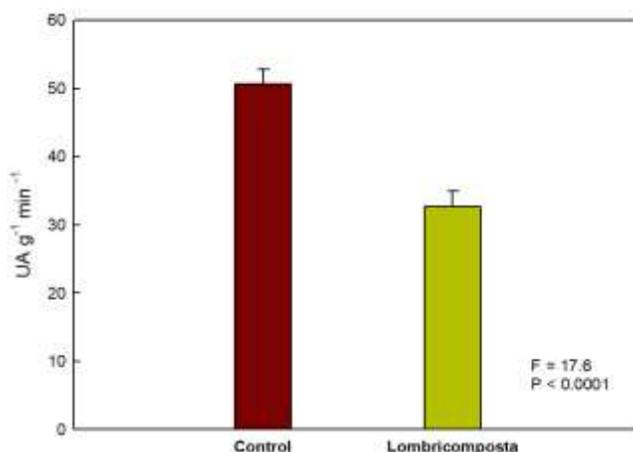


Figura 9. Actividad enzimática promedio (\pm error estándar) de PPO en hojas de lechuga cultivadas en suelo y lombricomposta.

CONCLUSIONES

Las plantas de lechuga cultivadas en lombricomposta tuvieron un mayor crecimiento y desarrollo, menor tiempo para la cosecha, mejores parámetros de calidad externa como color, altura de la planta, ancho de la hoja, número de hojas y peso de la lechuga. Así mismo una menor actividad de la enzima PPO, por lo que se propone como una buena alternativa para usarse como sustrato en lechuga orejona (*Lactuca sativa* L.).

BIBLIOGRAFÍA

1. AOAC, "Official methods of analysis of AOAC International, Gaithersburg", MD. 1995.
2. Sofo, B. Lundegårdh, A. Mårtensson, M. Manfra, G. Pepe, E. Sommella, M. De Nisco, G.C. Tenore, P. Campiglia, A. Scopa, "Different agronomic and fertilization systems affect polyphenolic profile, antioxidant capacity and mineral composition of lettuce", *Scientia Horticulturae*, Vol. 204, 2016, pp. 106-115.
3. López, "Reducción de la fertilización sintética con composta y optimización del riego sobre la pudrición del tallo (*Fusarium spp.*) del maíz en Sinaloa", *Scientia Agropecuaria*, Vol. 5,3, 2014, pp. 121-133.

4. Olivares, "Lombricomposta y composta de estiércol de ganado vacuno lechero como fertilizantes y mejoradores de suelo", *Universidad y ciencia*, Vol. 28,1, 2012, pp. 27-37.
5. Zhou, L. Li, Y. Wu, J. Fan & J. Ouyang, "Salicylic acid inhibits enzymatic browning of fresh-cut Chinese chestnut (*Castanea mollissima*) by competitively inhibiting polyphenol oxidase", *Food Chemistry*, Vol. 171, 2015, pp. 19-25.
6. Polat, H. Demir & A.N. Onus, "Comparison of some yield and quality criteria in organically and conventionally- grown lettuce", *African Journal of Biotechnology*, Vol. 7,9, 2008, pp. 1235- 1239.
7. FAO, "Perspectivas para el medio ambiente", *Agricultura mundial hacia los años 2015-2030*, Informe resumido, 2002, pp. 75-77
8. F. Benzie & J.J. Strain, "Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration", *Methods in enzymology*, Vol. 299, 1999, pp. 15-27.
9. F. Papathanasiou, I. Papadopoulos, I. Tsakiris and E. Tamoutsidis, "Vermicompost as a soil supplement to improve growth, yield and quality of lettuce (*Lactuca sativa* L.)", *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 2012, Vol.10(2), pp. 677-682.
10. G. Aćamović-Djoković, R. Pavlović, J. Mladenović, M. Djurić, "Vitamin C content of different types of lettuce varieties", *Acta Agriculturae Serbica*, Vol. XVI, 32, 2011, pp. 83-89.
11. G.E. Carrillo, "Determinación microbiológica y de metales pesados en lechuga de repollo (*Lactuca sativa*), expendidos en los diferentes mercados del distrito metropolitano de Quito", Tesis, Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito. Ecuador. 2016.
12. H.E. Rizo, "Comparación Nutricional de Cuatro Cultivos Utilizando Dos abonos Orgánicos", Tesis de Licenciatura, Universidad de Guadalajara, México, 2011.
13. Cakmak, , and V. Römheld, "Boron deficiency-induced impairments of cellular functions in plants", *Plant and Soil*, Vol. 193, 1997, pp. 71-83. <https://doi.org/10.1023/A:1004259808322>.
14. J.A. Félix, R.R. Sañudo, G.E. Rojo & R. Martínez, "Importancia de los abonos orgánicos", *Ra Ximhai*, Vol. 4, 1, 2008. Pp. 57-67.
15. J. Ávila & J. Ruales, "Influencia del estrés luminoso e hídrico en la postcosecha, propiedades físico-químicas y estimación de la capacidad antioxidante del tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.) Genotipo gigante amarillo", *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, Vol. 17, 1, 2016, pp. 30-40.
16. J. Jeavons, "Cultivo Biointensivo de Alimentos. Ecology Action of the Midpeninsula", Willits, CA. E.E.U.U, 2002.
17. J.M. Ruiz, R.M. Rivero, I. Lopez, L. Romero, "Role of Ca²⁺ in metabolism of phenolic compounds in tobacco leaves (*Nicotiana tabacum* L.)", *Plant Growth Regul*, Vol. 41, 2003, pp. 173-177.
18. J.M. Velickovic', D.S. Dimitrijevic', S.S. Mitic', M.N. Mitic', D.A. Kostic', "The determination of the phenolic. Composition, antioxidative activity and heavy metals in the extracts of *Clendula officinalis* L. *Adv. Technol*, 3, 2014, pp. 46-51.
19. J. Gershenzon, "Changes in the levels of plant secondary metabolites under water and nutrient stress. In: Timmermann, B.N., Steelink, C., Loewus, F.A. (Eds.), *Phytochemical Adaptations to Stress*", Springer, New York, 1984 pp. 273-320.
20. J.G. Vásquez, "Evaluación agronomica de cinco variedades de lechuga (*Lectuca sativa* L.) en tres ciclos de siembra consecutivos, en San Miguel de la Tigra, San Carlos, Alajuela, C.R.", Instituto Tecnológico de Costa Rica, Costa Rica, 2015.
21. J. Jeavons, "La composta", En: *Cultivo biointensivo de alimentos, ECOLOGY ACTION of de MID-PENINSULA*, 1991, pp. 39.
22. J. Prado García. 2013. *Manual de lombricompostaje de pulpa del café para los cafecultores de la región Otomí-Tepehua de Hidalgo*. Innova y Renueva. pp. 10.
23. J. Zhishen, T. Mengcheng, W. Jianming, "The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals", *Food Chemistry*, Vol. 64, 1999, pp. 555-559.

24. L.L. Martins and M.P. Mourato, "Effect of Excess Copper on Tomato Plants: Growth Parameters, Enzyme Activities, Chlorophyll, and Mineral Content", *Journal of Plant Nutrition*, Vol. 29, 2006, pp. 2179-2198.
25. K.C. Wada, K. Mizuuchi, A. Koshio, K. Kaneko, T. Mitsui, T. Kaneko, "Stress enhances the gene expression and enzyme activity of phenylalanine ammonia-lyase and the endogenous content of salicylic acid to induce flowering in pharbitis", *J. Plant Physiol*, 2014, pp. 895-902.
26. M.A. Analuisa, "Evaluación de técnicas de preservación de hortalizas de IV gama: lechuga (*Lactuca sativa* L.), tomate cherry (*Solanum lycopersicum*) y zanahoria (*Daucus carota*)", Tesis de licenciatura. Universidad Técnica de Amabato, Ecuador, 2019.
27. M.A. Olivares-Campos, A. Hernández-Rodríguez, C. Vences-Contreras, J.L. Jáquez-Balderrama, and D. Ojeda-Barrios, "Lombricomposta y composta de estiércol de ganado vacuno lechero como fertilizantes y mejoradores de suelo", *Universidad y ciencia*, Vol. 28, 2012, pp. 27-37.
28. M.D. Raigón, M. Figueroa, M.D. García, S. Soler, J. Prohens, "Variación en la composición química y características organolépticas de una colección de variedades tradicionales de lechuga procedentes de cultivo ecológico", *Actas de Horticultura*. 62, 2019, pp. 155-156.
29. M. Luna, "Influencia de los factores pre y postcosecha en la calidad de la lechuga IV Gama", Tesis de doctorado, Universidad de Murcia, España, 2012.
30. M.M. Bradford, "A rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principles of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*", Vol. 72, 1976, pp. 248-25.
31. N. Kapoulas, A. Koukounaras & Z. Ilic, "Nutritional quality of lettuce and onion as companion plants from organic and conventional production in north Greece", *Scientia Horticulturae*, Vol. 219, 2017, pp. 310-318.
32. N. Smirnoff & G.L. Wheeler, "Ascorbic acid in plants: biosynthesis and function", *Critical Reviews in Plant Sciences*, Vol. 19,4, 2000, pp. 267-290.
33. O. Puebla, "Aplicación de composta, micorriza (*Glomus intraradices*) y ácidos húmicos en la producción de lechuga (*Lactuca sativa*)", Tesis de grado, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, México, 2012.
34. P. Román, M.M. Martínez, & A. Pantoja, *Manual de compostaje del agricultor: Experiencias en América Latina*, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2013, pp. 11.
35. R. Kishorekumar, M. Bulle, A. Wany, and K. Jagadis Gupta. "An Overview of Important Enzymes Involved in Nitrogen Assimilation of Plants", En: *Nitrogen Metabolism in Plants: Methods and Protocols*, Kapuganti Jagadis Gupta, *Methods in Molecular Biology*, 2020, pp. 1.
36. R. Llorach, "Characterisation of polyphenols and antioxidant properties of five lettuce varieties and escarole", *Food Chemistry*, Vol. 108, 3, 2007, pp. 1028-1038.
37. SADER, "Producción agrícola", Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, 2017.
38. SIAP, "*Lactuca sativa* L: tipos y variedades que se producen en México", Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, 2018.
39. T. Barberán & J.C. Espín, "Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables", *Science of Food and Agriculture*, Vol. 81, 2001, pp. 853-876.
40. V.E. Rubatzky, & M. Yamaguchi, "Lettuce and Other Composite Vegetables. In: *World vegetables: principles, production, and nutritive values*" Second edition, Springer Science & Business Media, 1997, pp. 333. DOI: 10.1007/978-1-4615-6015-9.
41. V.L. Singleton, & J.A. Rossi, "Colorimetry of total phenolic compounds with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents", *American Journal of Enology and Viticulture*, Vol. 16, 1965, 144-158.
42. W. Brand-Williams, M.E. Cuvelier, C.L.W.T. Berset, "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity", *LWT-Food Science and Technology*, Vol. 28(1), 1995, pp. 25-30.
43. W.J. Conover, & R.L. Iman, "Rank transformations as a bridge between parametric and nonparametric statistics", *The American Statistician*, Vol. 35(3), 1981, pp. 124-129.

44. Yacobus Sunaryo, "Effect of vermicompost and bokashi on nutrient content of mustard green and lettuce", International Seminar on Horticulture to support Food Security, 2010, pp. A136-A140.

ADN EXTRACELULAR ACTÚA COMO PATRÓN MOLECULAR ASOCIADO A DAÑO EN LA MICROALGA *NEOCHLORIS OLEOABUNDANS*.

Stephanie Mavíael Rodríguez-Rodríguez¹, Ivette Cornejo-Corona², Varinia López-Ramírez³, Domancar Orona-Tamayo¹ y Elizabeth Quintana Rodríguez¹

¹Dirección de soluciones tecnológicas e investigación, CIATEC. León, Guanajuato.

²Department of Biochemistry & Biophysics Texas A&M University, College Station, TX, USA.

³Tecnológico Nacional de México/ITS de Irapuato, Irapuato, Guanajuato, México.

equintana@ciatec.mx

RESUMEN

Los mamíferos, insectos, plantas y hongos poseen un mecanismo conservado para responder a algún tipo de daño; sea biótico o abiótico. Los patrones moleculares asociados a daño (por sus siglas en inglés, DAMPs) actúan como activadores generales del sistema inmune a través de redes de señalización elaboradas, como flujos de calcio, cascadas de quinasas, especies reactivas de oxígeno (ROS) y vías de señalización de oxilipina. Los DAMPs comunes que se han estudiado incluyen ATP extracelular, sacarosa extracelular, proteínas, péptidos y ADN extracelular (eDNA). Sin embargo, el conocimiento de la respuesta al daño en microalgas es escaso. A pesar de que las microalgas han sido sometidas a diferentes tipos de estrés abiótico para inducir la producción de metabolitos de interés, se conoce en menor medida la respuesta a DAMPs. El propósito de este trabajo fue analizar el efecto del ADNe en la microalga *Neochloris oleoabundans* como un DAMP reconocido en animales y plantas. *N. oleoabundans* es una microalga que en respuesta a estrés acumula lípidos. Con el fin de dilucidar el efecto metabólico en respuesta al ADNe, evaluamos la acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS), carbohidratos, proteínas y polifenoles totales. Particularmente, evaluamos el efecto del ADNe en la producción de lípidos como marcador de estrés. Los resultados mostraron que *N. oleoabundans* presenta capacidad de respuesta al ADNe con la activación de ROS intracelular a los 30 minutos de tratamiento. Mientras, que los lípidos y polifenoles se acumularon después de 24 horas y a las 48 h, los cultivos mostraron más del doble de lípidos en comparación al control. Aunque se desconoce el mecanismo de defensa en las microalgas, mostramos evidencia fisiológica de que *N. oleoabundans* es capaz de reconocer el ADNe como DAMP de manera conservada; tal como, en otros organismos. Es así como este trabajo abre una ventana para estudiar el potencial de los DAMPs en microalgas para ser evaluados como una herramienta biotecnológica para la producción de metabolitos.

INTRODUCCIÓN

Las microalgas son organismos unicelulares microscópicos que miden desde 0.2 - 200 μm , fotosintéticos lo que les permite captar nutrientes para su crecimiento mismos que pueden transformar en productos como: lípidos, carbohidratos, proteínas, y metabolitos como polifenoles, carotenoides, entre otros (1). Dichos productos han tenido interés para su aprovechamiento en la industria de antibióticos, cosméticos, o como alimento para peces y producción de biodiesel. Existen diversas especies de microalgas que en condiciones normales de crecimiento acumulan un alto porcentaje de lípidos. Tal es el caso de la microalga *Neochloris oleoabundans*, la cual puede acumular hasta un 80% de lípidos en relación a su peso en condiciones de estrés (2). La composición bioquímica de las microalgas puede variar en función de las condiciones ambientales, entre las que se incluyen condiciones de estrés; tal como, alteraciones en el déficit de nutrientes, salinidad, pH del medio y factores abióticos como temperatura e intensidad luminosa (1). *N. oleoabundans* es una especie de microalga verde de agua dulce, aislada de dunas de arena en Arabia Saudita se ha evaluado su tolerancia al estrés por salinidad, sequía y altas temperaturas, además de presentar una alta tasa de crecimiento. *N. oleoabundans* es un modelo ampliamente utilizado por su capacidad de respuesta a condiciones de estrés y el almacenamiento de lípidos (2,3). Aunque las microalgas han sido ampliamente utilizadas para la producción de metabolitos de interés poco se sabe acerca de la percepción de estas al estrés.

TEORÍA

En plantas, mamíferos y otros organismos vivos, se conocen factores bióticos que desencadenan una respuesta de estrés tales como herbívoros, patógenos e incluso ADN (4). Sin embargo, estos organismos cuentan con elementos endógenos indicadores de daño (por sus siglas en inglés Damage Associated Molecular Pattern, DAMP), que ayudan a percibir moléculas propias deslocalizadas y fragmentadas desencadenando el auto reconocimiento del daño ocasionando una resistencia a patógenos y herbívoros con respuestas como acumulación de especies reactivas del oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés Reactive Oxygen signaling), flujos de Ca^{2+} y la activación de cascadas de señalización mediadas por proteínas cinasas, MAPKS (5,6). En plantas, se han identificado diversos DAMPs; tal como, ATP extracelular (ATPE), DNA EXTRACELULAR (EDNA), sacarosa, proteínas y sus fragmentos (4,5). El DNA es una molécula de importancia en los seres vivos y su presencia en el espacio extracelular es una señal inequívoca de daño que activa diversas rutas de defensa (7). La acumulación de ROS en cualquier organismo vivo deberá ser contrarrestada por un mecanismo de defensa celular para eliminar el exceso de oxidantes, utilizando una variedad de depuradores tanto enzimáticos como no enzimáticos tales como flavonoides, carotenoides y polifenoles, siendo estos últimos metabolitos secundarios de gran relevancia en plantas, que intervienen en su crecimiento, morfología y defensa contra plagas y depredadores (8). En microalgas, las respuestas a DAMPs o a cualquier tipo de estrés biótico no ha sido completamente estudiado en microalgas. Por tal razón, en este trabajo se examinó la respuesta de un cultivo de la microalga *N. oleoabundans* a EDNA evaluándose respuestas tempranas como producción de ROS y tardías como acumulación de lípidos y polifenoles. Las respuestas a DAMPs tienen un amplio potencial de aplicación biotecnológico en las microalgas para ser utilizados como inductores de una variedad de productos de alto valor agregado; tales como, antioxidantes, antibióticos, cosméticos, biocombustibles, entre otros. Esta investigación, es un acercamiento para entender las respuestas innatas de las microalgas y como estas son compartidas entre los organismos vivos. Además, de abrir una ventana para el uso de DAMPs en microalgas en la producción de metabolitos de interés.

PARTE EXPERIMENTAL

Cultivos de la microalga *N. oleoabundans* se desarrollaron utilizando como medio de mantenimiento el medio Bold bajo condiciones de laboratorio en fotobiorreactores de vidrio borosilicato de alta transparencia, a una temperatura de 20 a 27°C, con un fotoperiodo de 12 horas luz/oscuridad. El cultivo se recolectó por centrifugación, el precipitado se transfirió a un mortero con N_2 líquido para triturar las células, posteriormente las células se conservaron a -20°C hasta su uso. La extracción de DNA se llevó a cabo mediante el uso del reactivo DNAzol (9). Este DNA fue sometido a sonicación para su ruptura en fragmentos de menor tamaño durante 20 minutos, a una potencia de 10 W manteniendo las muestras en frío. Mediante electroforesis se verificó la integridad de las muestras de DNA integro; así como, las muestras de DNA fragmentado. La concentración de DNA se cuantificó mediante el uso de un espectrofotómetro QUAWELL (Q5000 UV-VIS). Para inducir los cultivos de la microalga *N. oleoabundans*, se utilizó una concentración de 3.1 ng/ml. Se determinó el contenido de carbohidratos, proteínas, lípidos, clorofila y polifenoles en muestras inducidas con eDNA a las 24 y 48 horas después de la aplicación. Para lípidos totales se utilizó el método de Bligh y Dyer (10). La cuantificación de proteínas se realizó empleando el método de Lowry (Hidrólisis alcalina) y de carbohidratos totales por el método Fenol-sulfúrico (Hidrólisis ácida) y para clorofila total se tomaron 2 ml del cultivo inducido (11,12). La determinación de polifenoles se realizó mediante el método Folin-Ciocalteu (13).

RESULTADOS

Se encontró que los carbohidratos y proteínas analizados en los cultivos inducidos no mostraron cambios significativos con respecto a los cultivos no inducidos con DNA (Figura 1). Se ha descrito que las condiciones adversas disminuyen la tasa de producción de biomasa y por ende los carbohidratos, lípidos, proteínas y clorofila pueden verse afectados. Sin embargo, en este estudio no se encontró tal efecto. Por otro lado, la concentración de clorofila tampoco se vio afectada por la condición de estrés (Figura 1). La clorofila es un pigmento que cumple una función de suma importancia para la absorción de luz que mediante una serie de reacciones permitirá la formación de

energía para la producción de biomasa y metabolitos. Al no haber ningún cambio, en la producción de este pigmento, el crecimiento de la microalga no parece haber sido afectado, al igual que la producción de carbohidratos y proteínas, los cuales son necesarios para el buen funcionamiento de la célula. En el caso de los lípidos, se observó que los cultivos inducidos con eDNA aumentaron significativamente la acumulación de estas biomoléculas encontrándose mayor acumulación a las 24 horas después de la inducción (Figura 2). En la microalga *N. oleabundans* la acumulación de lípidos es una señal de estrés. Mientras que, para los polifenoles, se encontró una tendencia en la que las muestras inducidas con DNA extracelular presentaron mayor contenido de polifenoles totales. Lo anterior sugiere que la respuesta de la microalga al daño parece ser similar a los reportes de percepción de daño en plantas en cuanto a la acumulación de polifenoles como moléculas que ayudan a contrarrestar el estrés oxidativo generado por el daño celular.

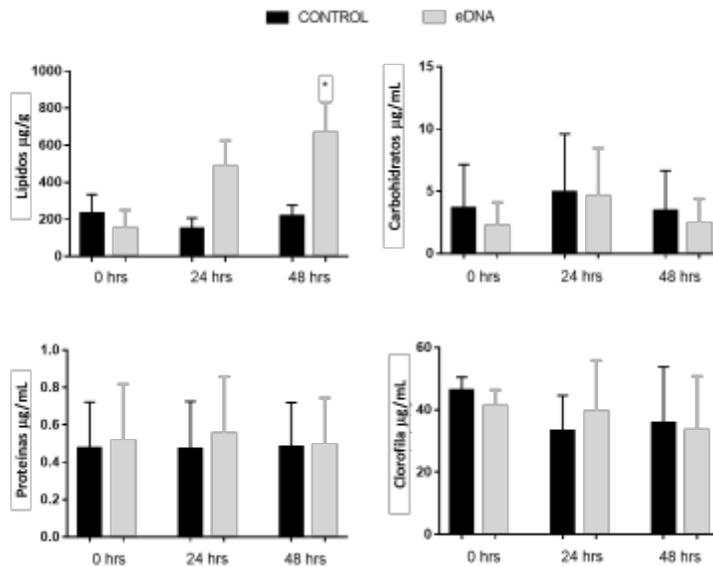


Figura 1. Respuesta a la inducción por eDNA en cultivos de *N. oleabundans* en el contenido de carbohidratos, lípidos, proteínas y clorofila. Los datos muestran la media y la desviación estándar (n=3), anova (*p<0.05).

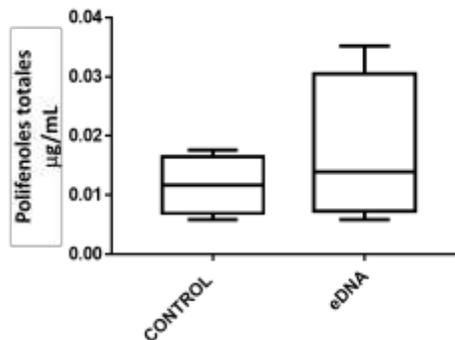


Figura 2. Efecto de eDNA en el contenido de polifenoles totales. Los datos muestran la media y la desviación estándar (n=3).

CONCLUSIONES

La microalga *N. oleoabundans* fue capaz de responder al ADN extracelular como una señal de daño observada en la acumulación de lípidos intracelulares como un marcador de estrés en este género de microalgas. Además, se encontró la acumulación de polifenoles como una respuesta a estrés.

BIBLIOGRAFÍA

1. Sigamani S, Natarajan H. A Review on Potential Biotechnological applications of Microalgae. *J Appl Pharm Sci*. 2016 Aug 30;6:179–84.
2. Li Y, Horsman M, Wang B, Wu N, Lan C. Effects of Nitrogen Sources on Cell Growth and Lipid Accumulation of Green Alga *Neochloris oleoabundans*. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2008 Oct 1;81:629–36.
3. Carreres B, De Jaeger L, Springer J, Schaap P, Eggink G, Martins dos Santos V, et al. *Neochloris oleoabundans* is worth its salt: Transcriptomic analysis under salt and nitrogen stress. *PLoS One*. 2018 Apr 13;13:e0194834.
4. Quintana-Rodriguez E, Duran-Flores D, Camacho-Coronel X, Heil M. Damage-associated molecular patterns (DAMPs) as future plant vaccines that protect crops from pests. *Sci Hortic (Amsterdam)*. 2018;
5. Gallucci S, Maffei ME. DNA Sensing across the Tree of Life. *Trends Immunol [Internet]*. 2017;38(10):719–32.
6. Arimura G-I, Ozawa R, Maffei ME. Recent advances in plant early signaling in response to herbivory. *Int J Mol Sci*. 2011;12(6):3723–39.
7. Heil M. Commentary on Grandellis et al. 2019: suggesting endogenous DNA as further player in the plant immune response to DOTAP. *Planta*. 2019;250(1):391–3. 8.
8. Duran-Flores D, Heil M. Damaged-self recognition in common bean (*Phaseolus vulgaris*) shows taxonomic specificity and triggers signaling via reactive oxygen species (ROS). *Front Plant Sci*. 2014;5:585.
9. Chomczynski P, Mackey K, Drews R, Wilfinger W. DNAzol®: A reagent for the rapid isolation of genomic DNA. *Biotechniques*. 1997 Apr 1;22:550–3.
10. Bligh ELG, Dyer WJA. A Rapid Method of Total Lipid Extraction And Purification. *Can J Biochem Physiol*. 1959 Sep 1;37:911–7.
11. Aguilar-Rivera N, Canizales-Leal MJ. Cinética de la hidrólisis ácida de la cascarilla de cebada. *Rev Mex Ing Química*. 2004;3(3):257–63.
12. Gaviria PAR, Cayón G. Efecto de *Mycosphaerella fijiensis* sobre la fisiología de la hoja de banano. *Agron Colomb*. 2008;26(2):256–65.
13. Martínez-Cruz O, Paredes-Lopez O. Phytochemical profile and nutraceutical potential of chia seeds (*Salvia hispanica* L.) by ultra high performance liquid chromatography. *J Chromatogr A*. 2014;1346:43–8.

EFFECTO DE EXTRACTOS DE PIEL DEL HUESO Y CASCARA DE AGUACATE CRIOLLO SOBRE EL OSCURECIMIENTO DE LA PULPA DEL MISMO FRUTO.

Perla Esmeralda Escalona Rueda¹, Heriberto Sánchez Martínez² Guadalupe Herrera Hernández³
Gabriela Medina Ramos² y Salvador Horacio Guzmán Maldonado³

¹ Tecnológico Nacional de México en Celaya. Av. Tecnológico s/n. Celaya, Guanajuato.

² Universidad Politécnica de Guanajuato. Av. Universidad Norte s/n Juan Alonso de Cortazar, Guanajuato.

³ Laboratorio de Alimentos Funcionales. Campo Experimental Bajío del Centro de Investigación Regional del Centro (INIFAP) Km 6.5, Carretera Celaya-San Miguel Allende, Celaya, Gto. 14030319@itcelaya.edu.mx

RESUMEN

La raza Mexicana de aguacate dio origen al tipo criollo que presenta una gran variedad en tamaño, color y sabor; por ejemplo, hay aguacates negros cuya cascara es tan delgada que se consume junto con la pulpa. Comonfort, Gto., ha producido históricamente este tipo de aguacate; sin embargo, a partir del 2017 se empezó a introducir aguacate Hass en este municipio que ha provocado el desplazamiento y desaparición gradual del aguacate criollo. Para evitar esta pérdida, se planteó la necesidad de proponer usos alternativos para promover y explotar dicho recurso. En este trabajo, se usó pulpa, piel del hueso y piel del fruto de seis tipos de aguacate criollo, dos de color verde y cuatro negros. Los materiales fueron seleccionados por su alto rendimiento y buena aceptación de sabor de acuerdo a los productores de Comonfort. Se seleccionaron dos materiales sobresalientes por su alto contenido de fenoles y alto nivel de capacidad antioxidante para preparar extractos etanólicos de la piel del hueso y la piel del fruto para evaluar su efecto inhibitorio sobre el color oscuro de la pulpa, que se desarrolla con el tiempo. La piel del hueso presentó un bajo contenido de fenoles solubles y taninos condensados y no se detectaron antocianinas; sin embargo, su capacidad antioxidante fue hasta 15 veces mayor que la de la fresa, fruta que presenta la mayor capacidad antioxidante de una larga lista de frutas y verduras¹. La piel del hueso de los tipos Pata Pichón y Landin-3, ambos de color negro, presentaron la mayor capacidad antioxidante. Con respecto al contenido de compuestos fenólicos de la piel del aguacate, los tipos Landin-3 y NNN (negro, negro, negro) presentaron hasta 61 veces más fenoles que la fresa¹, pero bajos contenidos de taninos y flavonoides. Con respecto a la capacidad antioxidante TEAC, de los seis materiales bajo estudio, los tipos Pata de pichón y NNN presentaron 91 y 38 veces, respectivamente, mayor nivel que la fresa.¹ Al probar el efecto inhibitorio de extractos de la piel de aguacate y piel del fruto de Pata de Pichón y NNN en diferentes proporciones extracto:pulpa (v:p), se observó que después de 17 h, los extractos de piel del hueso no inhibieron el oscurecimiento de la pulpa de aguacate. Sin embargo, en función del volumen de extracto de la piel de NNN utilizado, se observó una disminución en el oscurecimiento de la pulpa de aguacate. Los datos Hunter-Lab, corroboraron los resultados visuales. Extractos de piel de aguacate negro NNN pueden evitar el oscurecimiento de la pulpa del aguacate.

1. A.R. Proteggente, A. S. Pannala, G. Paganga, L van Buren, E. Wagner, S. Wiseman, F. van de Put C. Dacombe, C. A. Rice-Evans, "The antioxidant activity of regularly consumed fruit and vegetables reflects their phenolic and vitamin C Composition", Free Rad. Res., 36, 2, 2002, pp. 217–233.

INTRODUCCIÓN

TEORÍA

El aguacate

El subgénero *Persea* es originario de África y se cree que llegó a las Américas a través del mar y de alguna manera. Los vestigios arqueológicos más antiguos del aguacate se localizaron en una cueva de Coxcatlán, Puebla y datan de hace 10,000 a. C. Lo anterior llevó a la conclusión de que, al menos, la especie *Persea americana* es originaria de México; por tal motivo se le denominó: raza Mexicana (1). Hay dos especies más del género que son endémicas del caribe y centro américa: *P. americana* var. Americana, denominada raza Antillana y *P. americana* var. Guatemalensis o raza Guatemalteca

(2). Estas razas se pueden diferenciar sobre la base de sus características morfológicas, fisiológicas y de cultivo (3, 4). El aguacate es una planta dicotiledónea perteneciente al orden *Ranales* y a la familia *Lauracea* (5). Esta familia agrupa a más de 52 géneros y cerca de 3,500 especies y se considera una de las familias más primitivas de las dicotiledóneas (1).

La palabra aguacate proviene del náhuatl "aguacatl" y significa testículo. Esta palabra fue usada por primera vez por Francisco Cervantes de Salazar, en su obra "México en 1554" (6). Después de la llegada de los españoles a México, la especie *Persea americana* se distribuyó por todo el mundo, sobre todo en aquellos países con zonas tropicales y subtropicales. México es uno de los países con la mayor diversidad de aguacate nativo silvestre, conocido comúnmente como aguacate criollo. El aguacate criollo pertenece a la especie *Persea americana* y presenta una gran cantidad de tipos diferentes. Esta diversidad en el aguacate criollo proviene de fuentes distintas de árboles nativos y cultivares selectos reproducidos asexualmente, el los cuales, el sabor y los valores nutritivos varían según el tipo ecológico (7). Además, algunos tipos de aguacate son una mezcla de las tres razas existentes: Mexicana, Guatemalteca y Antillana, debido a la introducción en nuestro país de las dos últimas.

Hoy en día, se denomina aguacate criollo aquel aguacate que se originó en la localidad y que ha sido conservado y protegido por los pobladores. La producción de este aguacate en las comunidades de destina principalmente para el autoconsumo y en menor cantidad, se comercializa en los mercados de la localidad. Se puede encontrar aguacate criollo en Puebla, Michoacán, Nuevo León, San Luis Potosí, Nayarit y Guanajuato. En Guanajuato existe la mayor variabilidad de aguacate criollo ya que se han identificado al menos 300 tipos diferentes (8).

Se desconoce la superficie sembrada y la producción de aguacate criollo en México debido a que este tipo de fruta dejó de ser de interés gubernamental hace muchos años. Sin embargo, se sabe que, del total de superficie sembrada de aguacate en el Estado de México, el 3% está sembrada de materiales criollos (9). En consecuencia, se calcula que en este estado existen cerca de 3,600 ha de aguacate criollo. En el estado de Guanajuato no existe información sobre la superficie sembrada de este tipo de aguacate; sin embargo, se ha encontrado que se conservan árboles de aguacate criollo a nivel de traspato (8).

En los últimos años, el gobierno del estado de Guanajuato introdujo un programa para introducir el aguacate Hass. Esto provocó que áreas donde estaba sembrado el aguacate criollo fueran sustituidas por aquel. Esta situación ha generado la pérdida paulatina de una gran riqueza genética de la cual no se conocen las características químicas, de sabor, olor o propiedades industriales. Esta situación puede provocar una situación irreparable.

En los tres últimos años, el INIFAP ha realizado una serie de trabajos para conocer la situación actual del aguacate criollo en el estado de Guanajuato. Ha iniciado la integración de un padrón por propietario, superficie sembrada y tipo de aguacate criollo establecido. También se han analizado químicamente y se ha evaluado su calidad sensorial y potencial industrial de diferentes tipos de aguacate criollo. El proyecto tiene como objetivo identificar materiales que puede ser destinado a la producción de pulpa u otros usos industriales o de comercialización.

Obscurecimiento de la pulpa

Uno de los factores más importantes en la producción de pulpa de aguacate es prevenir el oscurecimiento. La pasta de aguacate se oscurece en menos de una hora si se deja a temperatura ambiente y a la luz y en menos de seis horas si se refrigera. El oscurecimiento de la pasta del aguacate es provocado por la enzima polifenol oxidasa (10). Se han intentado utilizar varios métodos para evitar este problema como tratamientos con calor, modificar el pH con ácido cítrico, por ejemplo (11). Sin embargo, estos métodos alteran el sabor y el color y disminuyen el contenido de vitaminas (al aplicar calor), además de no ser totalmente efectivos (10, 11).

Por otro lado, es una costumbre popular dejar el hueso del aguacate en la pasta o añadir jugo de limón para evitar el oscurecimiento; sin embargo, a estos fenómenos no se les ha dado la atención debida y no se sabe si efectivamente tienen un efecto inhibitor sobre el oscurecimiento de la pulpa de aguacate.

El objetivo de este trabajo fue caracterizar por el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de la piel y del hueso de seis variedades de aguacate criollo, dos verdes y cuatro negras.

Obtener extractos etanólicos de dos materiales con la mayor concentración de fenólicos y capacidad antioxidante, para probar su efecto sobre el oscurecimiento de la pulpa de aguacate.

PARTE EXPERIMENTAL

Frutos de aguacate

Las variedades de aguacate criollo Verde Punteado, Verde Amarillo y de aguacate negro Pata de Pichón, Melitón, Landín 3 y NNN, fueron colectadas en Comonfort Guanajuato en agosto de 2019. Estos materiales fueron seleccionados por su alto rendimiento y aceptación sensorial.

Piel, hueso y extractos etanólicos

La cascara y el hueso con su piel fueron retirados del fruto, liofilizados y almacenados a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su utilización. Después de liofilizar el hueso con piel, se le añadió cebolla liofilizada en proporción 1:1 (p:p). Por otro lado, los extractos utilizados para evaluar la capacidad inhibitoria del oscurecimiento de la pulpa se obtuvieron utilizando etanol grado alimenticio. Se mezcló una parte de tejido liofilizado (cascara y piel más hueso por separado) en diez partes de etanol. Se agitaron por 30 min, centrifugaron y se recuperó el sobrenadante (extracto).

Composición fenólica

Los compuestos fenólicos totales determinados fueron extraídos con metanol acuoso (80:20, v:v), como se indica en los métodos utilizados ya que se ha demostrado que esta solución de extracción es la más eficiente para extraer los fenoles de tejidos vegetales (12, 13, 14). Al respecto, los fenoles solubles totales (FST) se determinaron con el método de Folin Ciocalteu que utiliza al ácido gálico como agente a reducir (12).

Los taninos condensados (TC) fueron determinados utilizando la vainillina y se reportaron como equivalentes de (+) catequina en mg/100g (mgEC/100 g) (13). La cuantificación de las antocianinas totales (AT) se determinó espectrofotométricamente y estos compuestos se reportaron como equivalentes de cianidina 3-glucosido, según la siguiente fórmula (14):

$$C = (A/\epsilon) \times (\text{vol}/1000) \times \text{PM} \times (1/\text{peso de la muestra}) \times 106$$

Donde: C=Concentración de antocianinas totales (mg/Kg), A=Absorbancia máxima, ϵ =Absortividad molar de cianidina 3-glucosido ($25,965\text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$), Vol=Volumen total del extracto de antocianinas y PM=Peso molecular de cianidina 3-glucosido (PM=449).

Capacidad antioxidante

TEAC. Para determinar la capacidad antioxidante expresada como equivalentes de Trolox (TEAC por sus siglas en inglés) se utilizó el ácido 2,2-azinobis-3-etil-benzotiazolin-6-sulfónico (ABTS²⁺) como radical anión. Este anión en presencia de peróxido de hidrógeno, dióxido de manganeso y persulfato de potasio y el compuesto antioxidante desarrolla color que se detecta a 734 nm (15). DPPH. La capacidad antioxidante DPPH que utiliza el catión (1-1-difenil-2-picildidrazilo) para evaluar la transferencia de electrones de los compuestos antioxidantes (16).

Inhibición del oscurecimiento de la pulpa

Se seleccionó el material con el mayor nivel de capacidad antioxidante para la extracción con etanol grado alimenticio; al que se le añadió cebolla liofilizada en la proporción ya explicada anteriormente. Las pruebas se realizaron evaluando dos porciones de extracto etanólico y pulpa (v:p): 3:30 y 6:30 (mL:g pulpa).

Análisis estadístico

Los datos de todos los análisis se presentaron como la media \pm desviación estándar (n=3) y se sometieron a un análisis de varianza (ANDEVA) para detectar diferencias significativas entre las medias. La comparación de medias se realizó con la prueba de Tukey con un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$ con el software SPSS versión 17.0 Copyright © 1989–2009 y SAS versión 9.02 Copyright © 1989–2008 Institute Inc.

RESULTADOS

El contenido de fenoles solubles totales en la cascara del aguacate presentó un amplio rango (Cuadro 1). Por ejemplo, la variedad Verde Amarillo y el aguacate negro Meliton presentaron un poco más de 1,400 mg EAG/100 g estos compuestos; mientras que, en el extremo opuesto, la variedad verde punteado presentó 2.3 veces menos que las variedades Verde Amarillo y Meliton. Estos valores fueron mucho menores si se comparan con el contenido de fenoles solubles totales de la variedad comercial Hass (4,406.2 mg EAG/100 g) (17).

El contenido de taninos condensados en las seis muestras analizadas fue menor al rango reportado para la cascara del aguacate Hass (188 - 479 mg EC/100g) (18), Por otro lado, con respecto al contenido de antocianinas en las muestras analizadas, se observó una menor concentración en comparación con el aguacate Hass (188 - 479 mg EC3G/100 g) (19) con excepción de las variedades Verde Punteado (537.8 mg EC3G/100 g), Pata de Pichón (764.4 mg EC3G/100 g) y NNN (799.8 mg EC3G/100 g).

Se ha demostrado que los compuestos fenólicos tienen un efecto importante en el sabor de los vegetales (20). En este sentido, la cascara de aguacate Hass y las variedades verdes de aguacate criollo no son comestibles, si lo son la cascara de las variedades negras porque presentan grosor de 1 mm o menos. Es una costumbre popular consumir la pulpa este tipo de aguacates junto con la cascara. Por lo tanto, conocer el contenido de estos compuestos, no solo es importante para los fines de este trabajo, también aportan el valor funcional de esta estructura.

Cuadro 1. Contenido de fenoles solubles totales, taninos condensados y antocianinas en cascara del fruto de aguacate criollo.

Variedad	Fenoles solubles totales (mg EAG/100 g)	Taninos condensados (mg EC/100 g)	Antocianinas (mg EC3G/100 g)
Verde Punteado	605.8 ± 19.2 d	114.1 ± 4.40 c	537.8 ± 19.56 b
Verde Amarillo	1,403.3 ± 31.5 a	160.3 ± 2.87 a	377.8 ± 25.68 d
Negros			
Pata de pichón	1,130.7 ± 18.8 b	40.6 ± 3.61 e	764.4 ± 20.95 a
Melitón	1,410.1 ± 16.3 a	142.2 ± 8.03 b	447.0 ± 6.11 c
Landín 3	319.6 ± 23.6 e	149.6 ± 10.54 ab	189.9 ± 7.13 e
NNN	789.9 ± 17.4 c	99.2 ± 5.25 d	799.8 ± 15.90 a

EAG=equivalentes de ácido gálico; EC=equivalentes de catequina; EC3G = equivalentes de cianidin-3 glucosido. Promedios con letras diferentes no son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05, n=3).

Se encontró que el contenido de compuestos fenólicos en el hueso (con su piel) mezclado con cebolla, es extraordinariamente alto. Al respecto, el 20% (base seca) de la variedad Landín 3 corresponde a fenoles solubles condensados (Cuadro 2), mientras que las otras variedades van del 12.9% (Pata de Pichón) a 8.6% (Verde Amarillo). Sin embargo, este nivel tan alto de fenólicos no tiene ninguna relación con el contenido de taninos ni con las antocianinas; el nivel de taninos no fue mayor a 6.63 (mg EC/100 g) y no se detectaron antocianinas (Cuadro 2).

Bajo nuestro menor conocimiento, este es el primer reporte de compuestos fenólicos en hueso y piel de aguacate; sin embargo, niveles tan altos en el contenido de compuestos fenólicos se han reportado en otras especies vegetales como en la hoja de té negro (10.1%) o té verde, que llega a contener hasta un 25.3% (21).

Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante tanto en la cascara como en el hueso con la piel y cebolla, fueron un reflejo del contenido de compuestos fenólicos (ver Cuadros 1, 2 y 3). Es decir, a menor concentración de compuestos fenólicos, menor nivel de capacidad antioxidante. Sin embargo, esta relación no se observó en la cascara o el hueso más piel entre los materiales analizados. Por ejemplo, la variedad negra, Pata de Pichón, que presentó el mayor nivel de TEAC (38,250 mmol Trolox/100g) pero no fue la que presentó el mayor contenido de fenoles totales (Cuadro 2).

Cuadro 2. Contenido de fenoles solubles totales, taninos condensados y antocianinas en hueso con su piel de aguacate criollo y cebolla.

Variedad	Fenoles solubles totales (g EAG/100 g)	Taninos condensados (g EC/100 g)	Antocianinas
Verde Punteado	10.1 ± 0.48 d	4.97 ± 0.43 b	ND
Verde Amarillo	8.6 ± 0.18 e	4.30 ± 0.38 b	ND
Negros			
Pata de Pichón	12.9 ± 0.93 c	6.63 ± 0.57 a	ND
Melitón	8.8 ± 0.61 e	1.55 ± 0.11 d	ND
Landín 3	20.2 ± 0.31 a	4.39 ± 0.36 b	ND
NNN	18.8 ± 0.23 b	1.80 ± 0.14 c	ND

EAG=equivalentes de ácido gálico; EC=equivalentes de catequina; EC3G = equivalentes de cianidin-3 glucosido. Promedios con letras diferentes no son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05, n=3).

Cuadro 3. Capacidad antioxidante TEAC (mmol Trolox/100g) en cascara y hueso de aguacate.

Variedad	Cascara	Hueso con piel y cebolla
Verde Punteado	13.8 ± 0.35 e	14,250 ± 353 d
Verde Amarillo	38.1 ± 1.41 d	12,201 ± 707 e
Negros		
Pata de pichón	13.5 ± 0.51 e	38,250 ± 1060 a
Melitón	46.6 ± 0.71 c	21,500 ± 1414 c
Landín 3	56.8 ± 4.24 b	27,250 ± 1060 b
NNN	96.5 ± 1.77 a	20,327 ± 707 c

Promedios con letras diferentes no son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05, n=3).

Con base en los resultados anteriores, se seleccionó el hueso de la variedad Pata de Pichón con su piel más cebolla para obtener los extractos para las pruebas de inhibición en el oscurecimiento. Al extracto etanólico se le determinó el contenido de fenoles solubles totales, taninos y la capacidad antioxidante TEAC y DPPH. Se determinó esta última capacidad antioxidante con el fin de conocer la capacidad del extracto de apagar cationes, además de aniones (TEAC) (15, 16). No se conoce ningún antecedente sobre el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de extractos de cáscara o hueso y piel del aguacate; sin embargo, 100 mL de extracto contendrá una importante cantidad de fenoles solubles totales, así como un alto nivel de capacidad antioxidante (Cuadro 4).

Inhibición del oscurecimiento

Los parámetros a*, b* y L* de las pastas de aguacate con y sin el extracto etanólico se ubicaron en el espacio Cie L*A*B como se indica en la Figura 1, después de 8 horas de reposo a temperatura ambiente y a la luz (1) así como en refrigeración a 5 °C (2).

Cuadro 4. Fenoles solubles totales y capacidad antioxidante del extracto etanólico del hueso y su piel de aguacate criollo Pata de Pichón y cebolla.

	Contenido
Fenoles solubles totales (mg EAG/mL)	53.7 ± 5.1
Taninos (mg EC/ mL)	57.9 ± 4.5
TEAC (mmol Trolox/mL)	75.5 ± 9.5
DPPH (mmol Trolox/mL)	68.2 ± 6.1

EAG=equivalentes de ácido gálico; EC=equivalentes de catequina

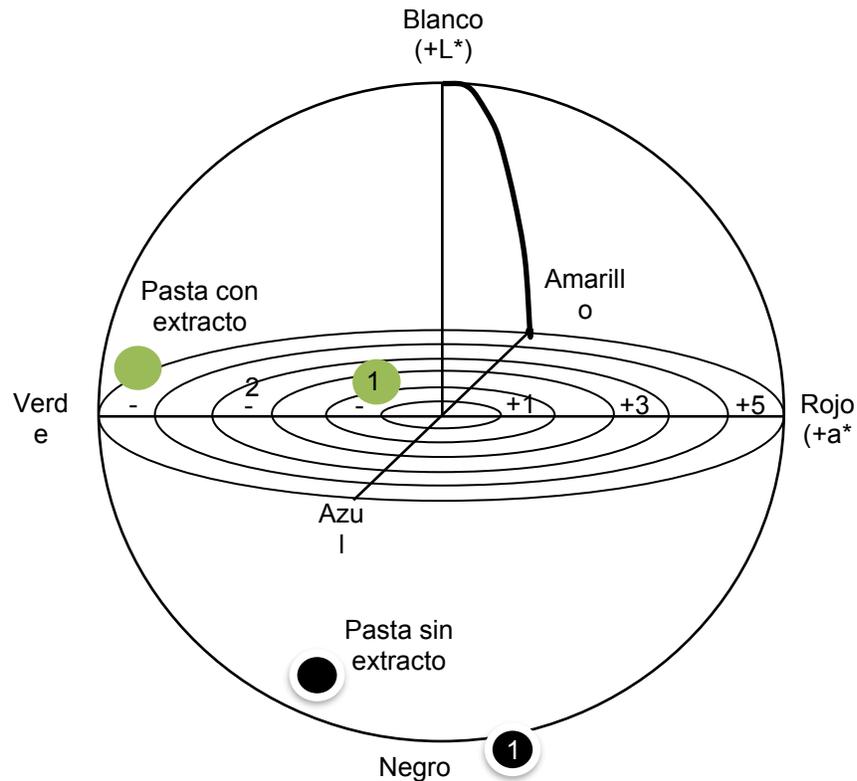


Figura 1. Ubicación de los parámetros Cie L*A*B en pasta de aguacate con extracto y sin extracto de hueso, piel del hueso y cebolla 1) a temperatura ambiente y 2) bajo refrigeración 5 °C.

La pasta de aguacate con extracto de hueso mantuvo un color muy cercano al color de la pasta recién preparada que fue corroborado por los parámetros Hunter L*A*B. Por el contrario, después de ocho horas de reposo, la pulpa de aguacate sin extracto presentó el color oscuro característico de este producto. La pasta que se colocó en el refrigerador, presentó tonos tenues de color verde y amarillo, pero en general, la pasta presentaba un aspecto negruzco. Se ha reportado que las enzimas del tipo oxidasa llevan a cabo reacciones de oxidoreducción y transferencia de átomos de H o electrones de una sustancia a otra (22). Se ha reportado que la polifenol oxidasa es inhibida por la presencia de sustratos monofenólicos o difenólicos que inducen un periodo de retraso causando la inactivación suicida de la enzima (23).

CONCLUSIONES

Existe una gran variabilidad entre las variedades de aguacate criollo analizadas en su contenido de compuestos fenólicos tanto en la cascara del fruto como en el hueso más la piel. Por otro lado, los compuestos fenólicos llegan a representar hasta el 20% del peso seco del hueso con su piel lo que se refleja en una muy alta capacidad antioxidante TEAC. El extracto de hueso con su piel más cebolla presenta un alto contenido de compuestos fenólicos y una alta capacidad antioxidante TEAC y DPPH. El extracto de hueso con su piel más cebolla inhibe el oscurecimiento de la pasta de aguacate después de ocho horas.

BIBLIOGRAFÍA

1. R. W. Scora A. and B. Bergh, "The origins and taxonomy of avocado (*Persea americana*, Mill) Lauraceae," *Acta Hort.*, Vol. 275, 1990, pp. 387-394.
2. P. J. Sánchez de la L., "Identificación de marcadores asociados a la resistencia de aguacate raza mexicana (*Persea americana* Mill, var. *Drymifolia*) al oomiceto *Phytophthora sinnamomi*, Tesis doctoral, 2007, UMSNH, Morelia, Michoacán, México, pp. 106.
3. B. O. Bergh, "Avocado," in *Evolution of crop plants* (Logan Scientific and Technical, E.U. A., 1995), pp. 240-245.
4. B. O. Bergh and L. Lahav, "Avocado," In *Tree and tropical fruits* (John Wiley and Sons, NJ, 1996), pp. 113-166.
5. A. M. Rhodes, E. S. Malo, C. W. Campbell, and S. G. Carmer, "A numerical taxonomic study of the avocado (*Persea americana* Mill.)," *J. Amer. Hort. Sci.*, Vol 96, 3, 1971, pp. 391-395.
6. F. C. Salazar, "México en 1554," Publicado en línea, 2001, <http://www.mexico-en-1554-de-francisco-cervantes>, consultado en mayo del 2020.
7. E. Acosta-Díaz, I. Hernández-Torres e I. H. Almeyda-León, "Evaluación de aguacates criollos en Nuevo León, México: región sur", *Revista Mex. Cien. Agric.*, Vol. 3, 2, 2012, pp. 245-257.
8. S. H. Guzmán-Maldonado, M. G. Herrera-Hernández y J. L. Pons-Hernández, "Origen, problemática y características del aguacate criollo", *Desplegable Técnico (INIFAP, Celaya, México, 2020)*, pp. 2. En prensa.
9. M. Rubí-Arriaga, A. L. Franco-Malvaíz, S. Rebollar-Rebollar, E. E. Bobadilla-Soto, I. Martínez-De la Cruz and Y. Siles-Herández, "Situación actual del cultivo del aguacate (*Persea americana* Mill) en el Estado de México, México," *Trop. Subtrop. Agrosistemas*, Vol. 16, 2013, pp. 93-101.
10. L. S. Vanini, A. Kwiatkowski and E. Clemente, "Polyphenoloxidase and peroxidase in avocado pulp (*Persea americana* Mill.)," *Cien. Tecnol. Alimentos Campinas* Vol. 30, 2, 2010, pp. 525-531.
11. R. C. Soliva-Fortuny, "Kinetics of polyphenoloxidase activity inhibition and browning of avocado puree preserved by combined methods," *J. Food Eng.*, Vol. 55, 2, 2002, pp. 131-137.
12. B. D. Oomah, A. Cardador-Martínez and G. Loarca-Piña, "Phenolics and antioxidative activities in common beans (*Phaseolus vulgaris* L)," *J. Sci. Food Agric.*, Vol. 85, 2005, pp. 935-942.
13. A. A. Feregrino-Pérez, L.C. Berumen, G. García-Alcocer, R. G. Guevara-Gonzalez, M. Ramos-Gomez, R. Reynoso-Camacho, and G. Loarca-Piña, "Composition and chemopreventive effect of polysaccharides from common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) on Azoxymethane-Induced Colon Cancer," *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 56, 18, 2008, pp. 8737-8744.
14. E. S. M. Abdel-Aal y P. Hucl, "A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats," *AACC*, Vol. 76, 3, 1999, pp. 350-354.
15. R. Van der Berg, G. R. Haenen, H. Van der Berg, and A. Bast, "Aplication of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity of measurement of mixture," *Food Chem.* Vol. 66, 5, 1999, pp. 511-517.
16. L. Müller, K. Fröhlich and V Böhm, "Comparative antioxidant activities of carotenoids measured by ferric reducing antioxidant power (FRAP), ABTS bleaching assay (α TEAC), DPPH assay and peroxy radical scavenging assay," *Food Chem.* Vol. 129, 2011, pp. 139-148.
17. A. M. Gomez-Caravaca, A. Lopez-Cobo, V. Verardo, F. Pasini, M. F. Caboni, a. Segura-Carretero, and A. Fernandez-Gutierrez, "Evaluation of phenolic content in avocado fruit and its by products," *J. Food Proc. Technol.*, Vol 6, 2015, pp. 5.
18. H. A. Stafford and H. H. Lester, "Procyanidins (condensed tannins) in green cell suspension culturs of Douglas fit compared with those in strawberry and avocado by means of C18-reversed-phase," *Plant Physiol.* Vol. 66, 1980, pp. 1085-1090.

19. M. Donetti, and L. A. Terry, "Investigation of skin colour changes as non-destructive parameter of fruit ripeness of imported Hass avocado fruit," *Acta Hortic.* 945, 2011, 1.
20. J. A. Maga and I. Katz, "Simple phenol and phenolic compounds in food flavor," *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* Vol 10, 4, 1978, pp. 323-372.
21. Z. Cai-Ning, T. Guo-Yi, C. Shi-Yu, X. Xiao-Yu, G. Ren-You, L. Qing, M. Qiag-Liu, M. Quian-Quian, A. Shang and L. Hua-Bin, "Phenolic profiles and antioxidant activities of 30 tea infusions from green, black, oolong, white, yellow and dark teas," *Antioxidants* Vol. 8, 2015, pp. 215-229.
22. CH. Queiroz, M. L. Mendes-Lopez, E. Fialho and V. L. Valnete-Mesquita, "Polyphenol oxidase: characteristics and mechanisms of browning control," *Food Rev. Inter.* Vol. 24, 4, 2008, pp. 361-375.
23. H. Prieto, D. Utz, A. Castro, C. Aguirre, M. González-agüero, H. Valdeés, N. Cifuentes, G. G. Defilippe, P. Zamora, G. Zuñiga and R. Campos-Vargas, "Browning in annona cherimola fruit: role of polyphenol oxidase and characterization of a coding sequence of the enzyme," *J. Agric. Food Chem.*, Vol 55, 22, 2007, 9208-9218.

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS PRESENTES EN SEMILLAS DE FRIJOL DEL ESTADO DE GUERRERO

Araceli Barrera-Martínez¹, Soledad García-Morales², Julio César López-Velázquez¹ y María Juventina Macías-García³

¹Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, ²CONACYT-Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, ³CUCEI-Universidad de Guadalajara.
smorales@ciatej.mx

RESUMEN

A nivel nacional, el frijol representa un alimento clave en la dieta de la población por su alto contenido de proteínas y de minerales esenciales. El estado de Guerrero ocupa el sexto lugar en superficie sembrada de frijol y cuenta con una gran diversidad de formas, colores y especies de esta leguminosa. Los microorganismos como hongos y bacterias presentes en el grano de frijol pueden causar problemas de salud en áreas donde las condiciones ambientales favorecen su supervivencia, multiplicación y diseminación. Es por eso que la recolección de semillas de frijol se llevó a cabo en 7 de los municipios más marginados del estado. Esta investigación tuvo como objetivo aislar e identificar los microorganismos presentes en 18 accesiones de frijol pertenecientes a tres especies diferentes (*Phaseolus vulgaris*, *P. lunatus* y *P. coccineus*), los cuales fueron colectados en el estado de Guerrero. Se aislaron hongos y bacterias de las semillas de frijol, para lo cual, primero se seleccionaron semillas homogéneas. Luego, estas semillas se desinfectaron (etanol 70% durante 3 min e hipoclorito de sodio al 3% por 5 minutos) y se colocaron en cajas de Petri con medio PDA para el crecimiento de los hongos y en agar nutritivo para bacterias. Las cajas con las semillas se incubaron a temperatura ambiente durante 72 h. El crecimiento de los microorganismos se observó a las 48 h. Después, se llevó a cabo un re-aislamiento para obtener cepas puras donde se observó el crecimiento de bacterias a las 24 h y de hongos a las 48 h. Para la identificación de hongos y bacterias se utilizó un MALDI-TOF, siguiendo las instrucciones del manual de uso del equipo. Se observó una gran variabilidad en cuanto al número de bacterias y hongos presentes en las semillas del frijol colectado. En general, se obtuvieron 28 aislamientos de hongos y 42 de bacterias. Las semillas con mayor número de microorganismos fueron GR-06, GR12, GR-02, las cuales pertenecen a la especie *P. vulgaris*. Las accesiones GR-14 y GR-17 de la especie *P. vulgaris* y GR-15 (*P. coccineus*) no presentaron crecimiento de bacterias. Dos accesiones de *P. lunatus* (GR-01 y GR-09), tres de *P. vulgaris* (GR-04, GR-07 y GR-10) y una de *P. coccineus* (GR-15) no presentó crecimiento de hongos. El mayor número de microorganismo se obtuvieron de accesiones de *P. vulgaris*, seguido de *P. lunatus*; mientras que *P. coccineus* no presentó crecimiento de bacterias. Después de la identificación, se encontraron bacterias del género *Pseudomonas* y *Enterobacter*, reconocidas por ser patógenas de humanos y agentes causantes de enfermedades. La diversidad de microorganismos (bacterias y hongos) presentes en las semillas de frijol del estado de Guerrero indican la necesidad de proporcionar semillas libres de patógenos, así como alternativas de desinfección del frijol para el consumo humano.

INTRODUCCIÓN

La sociedad desempeña un papel importante en la conservación y uso de los recursos fitogenéticos, estableciendo lo indispensable que puede ser un recurso en diferentes ámbitos, ya sea en una región determinada, en un país o a nivel mundial. Por lo tanto, la humanidad tiene la responsabilidad de preservar y cuidar los recursos en el lugar donde convive con ellos. En la agricultura, las colecciones de materiales locales muestran a la sociedad el valor que tiene la biodiversidad en sí misma, así como su valor agrícola, lo cual se refleja a través del tiempo mediante el proceso interactivo entre el hombre, las plantas, los animales y el ambiente. La gran diversidad de especies vegetales y animales forma parte de la historia del hombre, y por ello, representa un patrimonio que debe ser mantenido en forma activa para su propio bienestar (Cubero et al., 2006).

Entre las especies vegetales que México brindó al mundo se encuentran aquellas que forman parte de la triada que se cultivaba en la milpa: el maíz (*Zea mays* L.), la calabaza (*Cucurbita* spp.) y el frijol

(*Phaseolus vulgaris* L.). De este último, se han domesticado cinco especies y es posible encontrarlas en su forma silvestre y cultivada: *P. vulgaris* (frijol común), *P. coccineus* (frijol ayocote), *P. lunatus* (frijol lima), *P. acutifolius* (frijol tepary) y *P. dumosus* (frijol acalete). Entre estas especies, el frijol común, el frijol lima y el frijol ayocote son de gran relevancia para el consumo y la gastronomía del pueblo mexicano (Linares y Bye, 2014).

En toda la república mexicana existen diversas variedades locales de frijol, esta leguminosa ha sido consumida desde la época prehispánica hasta nuestros días y forma parte esencial de la alimentación a nivel mundial, principalmente en el Continente Americano. En México, el frijol representa una tradición desde antes de la conquista, lo que se manifiesta con la existencia de una amplia diversidad de formas silvestres y cultivadas, así como en su uso culinario desde la época prehispánica. En la actualidad, el frijol es considerado uno de los granos básicos más consumidos y de mayor importancia para la población (Vargas-Vázquez et al., 2008).

Mesoamérica cuenta con la mayor variabilidad genética del género *Phaseolus*, siendo México uno de los centros de origen y domesticación de la especie *P. vulgaris*. Esta amplia variabilidad genética queda evidenciada con las 6,884 accesiones mexicanas resguardadas en el Banco de Germoplasma de Frijol del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) (Vargas-Vázquez et al., 2008). Una proporción importante de la diversidad vegetal del frijol, presente en el país, se encuentra concentrada en estados como Oaxaca, Chiapas, Veracruz, Guerrero y Michoacán. Cabe mencionar que estos estados también tienen la mayor presencia de pueblos indígenas. Boege (2008) agrega que, en el caso de las especies cultivadas, los grupos indígenas junto con poblaciones campesinas mestizas son quienes han generado tal variabilidad a través de procesos de selección, diversificación, innovación, intercambio, adaptación, mejoramiento genético, uso y manejo.

Particularmente, el estado de Guerrero ocupó el noveno lugar en producción de frijol durante el ciclo primavera-verano 2018-2019, generando un total de 10,481 y 10,345 t de grano para los años 2018 y 2019, respectivamente; aportando el 1.8% de la producción nacional (SIAP, 2020). Al igual que en otros estados, en Guerrero también existe una gran diversidad de especies, variedades y tipos de frijol en cuanto a color, tamaño y hábito de crecimiento (Del Val et al., 2009). Las principales especies de frijol que se pueden encontrar en este estado son: *P. vulgaris*, *P. lunatus* y *P. coccineus*.

El frijol común (*P. vulgaris*) es parte de la dieta de un gran número de personas y se cultiva en prácticamente todos los lugares que permiten su desarrollo. La forma cultivada de esta especie se siembra en todos los estados del país y representa más del 95% del frijol que se consume en México. En la agricultura mundial, el frijol común ocupa un lugar importante en cuanto al área cultivada y al consumo, constituyendo un complemento indispensable en la dieta alimenticia principalmente en Centro y Sur América, el Lejano Oriente y África (Peña et al., 2015). América Latina es la zona de mayor producción y consumo de frijol común, se estima que más del 45% de la producción mundial proviene de esta región, específicamente del sur de México, Bolivia y Perú, donde se encuentran incluso formas silvestres que se cruzan sin dificultad con especies cultivadas (Voystest, 2000). En la región occidente de México se desarrolló la domesticación de *P. vulgaris*, de ahí, la importancia de su cultivo y diversidad (Lépiz y Rodríguez, 2007). El uso del frijol en la gastronomía mexicana es sumamente característico en sabor, variedad de platillos y como acompañante de cualquier degustación típica. Además, el frijol tiene un aporte nutrimental importante en proteína, carbohidratos, lípidos, hierro y calcio (Lépiz y Rodríguez, 2007).

P. lunatus, conocido como frijol lima, lb, comba, pallar o haba pallar, es uno de los cinco taxa domesticados del género *Phaseolus* y es la segunda especie de mayor distribución, superficie cultivada y consumo en el mundo. Se encuentra en áreas tropicales y subtropicales y se cultiva en varios países de América, así como en algunas regiones de Europa, Asia y África. Como todo frijol, constituye una rica fuente de proteínas, carbohidratos, hierro, calcio, fibra, y se distingue por tener bajo contenido de grasas. En México, el frijol lima se siembra en la Península de Yucatán, en donde se le denomina lb o lbe en Maya y representa el cuarto cultivo más importante integrado dentro del sistema de producción milpa. En esta región del país el lb domesticado presenta gran variación en la forma y color del grano. También se cultiva en la Depresión del Río Balsas, entre los estados de México, Guerrero y Michoacán, donde se le conoce como frijol comba y es muy aceptado por la población local (Martínez-Castillo, 2015).

El ayocote (*P. coccineus*) también conocido como patol, frijolon, pak y cimarrón se utiliza como alimento humano en estado inmaduro y seco. Esta especie es originaria de las partes altas de Mesoamérica, donde se ha cultivado desde tiempos precolombinos, estudios recientes señalan que se domesticó hace 2,200 años en el Valle de Tehuacán, Puebla, México. Se cultiva en forma anual, pero en su hábitat natural crece en forma perenne en regiones húmedas en altitudes de más de 1,800 msnm. Después del frijol común, el frijol ayocote es la segunda especie de mayor importancia para la alimentación de los mexicanos, y el INIFAP resguarda 798 accesiones de variedades nativas mexicanas bajo conservación *ex situ* (Vargas-Vázquez et al., 2008). Es una especie adaptada a ambientes variados, muestra gran diversidad genética debido a su alto porcentaje de cruzamiento natural (14.7%) y por ello requiere un manejo agronómico diferente al del frijol común lo que dificulta la pureza de las variedades nativas. *P. coccineus* representa una opción productiva en diferentes regiones de México (Mercati et al., 2015). Las clases comerciales de grano que más predominan son las de grano grande y colores negros, morados y blancos, éstas son apreciadas y consumidas por comunidades campesinas ubicadas en zonas de cultivo marginadas en tierras altas y ocasionalmente se comercializan en mercados locales. Sin embargo, en algunas regiones de Europa (Holanda y Reino Unido) se llega a consumir más el frijol ayocote que el frijol común en forma de ejote, o mejor conocidas como judías verdes, también se consume en el sur de Italia y en España, donde las semillas de color blanco tienen excelente calidad culinaria (Rodiño et al., 2007).

Los hongos causan el mayor número de enfermedades en las plantas y estos hongos se presentan con mayor frecuencia en las semillas. Por lo tanto, las semillas de frijol pueden ser un medio ideal para el transporte de inóculo de patógenos de origen fungoso, viral, bacterial e inclusive de nematodos. Las semillas que portan microorganismos patogénicos son significativas para la agricultura debido a que: pierden viabilidad, lo que resulta en una disminución significativa en el porcentaje de la germinación. Este inóculo que portan las semillas, bajo condiciones apropiadas, puede ser el inicio de enfermedades devastadoras para el cultivo. De manera similar, la semilla puede ser atacada por diversos microorganismos antes de la cosecha, lo cual causa una reducción en la calidad y rendimiento del grano. De esta manera, la semilla se convierte en el principal medio de dispersión de patógenos a grandes distancias, incluyendo países y continentes (Montoya y Castaño, 2011).

Algunos de los patógenos que atacan al frijol son las bacterias del género *Enterobacter*, los cuales son bacilos gram-negativos que pertenecen a la familia Enterobacteriaceae. Estas bacterias están ampliamente distribuidas en la naturaleza y se pueden localizar en el suelo, el agua; además, se pueden encontrar como parte de la microbiota de los animales, los insectos y el tracto gastrointestinal humano. En las semillas de frijol, se pueden encontrar numerosas especies de microorganismos simbiotes no perjudiciales. Sin embargo, también se pueden presentar muchas especies patógenas, como aquellas del género *Salmonella* o la bacteria *Escherichia coli*. Estas especies bacterianas, generalmente, se transmiten por alimentos o aguas contaminadas (Arias et al., 2007). Varias especies de bacterias son causantes de enfermedades, por ejemplo la *Salmonella* causa fiebre, diarrea y vómitos. *E. coli* provoca varios tipos de infecciones entéricas, también puede producir infecciones extraintestinales en el aparato urinario, respiratorio, sistema nervioso central y otros órganos. Las bacterias del género *Klebsiella* están asociadas con infecciones urinarias, diarreas y abscesos y rinitis. Mientras que, el género *Enterobacter* se asocia con meningitis y sepsis. En tanto que *Serratia* es causante de neumonía, endocarditis y sepsis. El género *Citrobacter* se relaciona con diferentes infecciones en vías urinarias y respiratorias en pacientes enfermos (Bush y Perez, 2020).

Otro género importante es *Pseudomonas syringae*, es una bacteria gram-negativa, patógena de plantas, que se clasifica en patovares según la especificidad de su hospedero. *P. syringae* está asociada al ciclo del agua, esta bacteria puede alcanzar la superficie de las hojas durante las precipitaciones. Ya ubicada en la superficie de la hoja, este patógeno puede sobrevivir o ingresar al interior usando las aperturas naturales como los estomas o las heridas, después crece en el apoplasto, causando la enfermedad. Este patógeno origina pérdidas económicas importantes, afectando arduamente tanto a la producción neta como a la calidad (Ortiz-Martín, 2010).

Entre los hongos que afectan al frijol se destaca *Fusarium oxysporum*, el cual ingresa a la planta por las raíces, invadiendo el xilema y extendiéndose a través de la planta. Los síntomas se inician con un amarillamiento de las hojas basales, que posteriormente se marchitan y mueren (Montoya y Castaño, 2011).

El objetivo de este trabajo fue aislar e identificar los microorganismos presentes en 18 accesiones de frijol colectados en el estado de Guerrero, estas accesiones pertenecen a tres especies diferentes del género *Phaseolus* (*P. vulgaris*, *P. lunatus* y *P. coccineus*).

PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal

En agosto de 2019 se realizó la colecta de 18 accesiones de frijol en el estado de Guerrero. De cada accesión se seleccionaron las semillas de forma homogénea de acuerdo con su tamaño, color y forma para posteriormente realizar el aislamiento de los hongos y las bacterias.

Desinfestación de las semillas

Las semillas, homogéneas y sin daño aparente, se colocaron en vasos precipitados donde se desinfestaron con etanol al 70% durante 3 min, al término de ese tiempo, las semillas, se lavaron con agua destilada estéril. Después, se agregó hipoclorito de sodio al 3% durante 5 min, al finalizar ese lapso de tiempo se realizó un último lavado de agua destilada estéril.

Aislamiento de hongos

Se preparó medio PDA, una vez esterilizado, se colocó en cajas Petri y se dejó solidificar. Con una pinza estéril, se colocaron 4 semillas de cada accesión en cada caja Petri y luego se dejaron a temperatura ambiente. Cada accesión se sembró por triplicado. Después de 48 h, se observó el crecimiento de los hongos. Posterior a ese tiempo, se realizó un re-aislamiento para la obtención de cepas puras.

Aislamiento de bacterias

Se preparó agar nutritivo, una vez autoclaveado, el medio se colocó en cajas Petri y se dejó solidificar. Por triplicado, con una pinza estéril, en cada caja Petri se colocaron 4 semillas de cada accesión y se dejaron a temperatura ambiente. Después de 24 h, se observó el crecimiento de las bacterias. Posteriormente, se realizó un re-aislamiento para la obtención de cepas puras.

Identificación de hongos y bacterias

Para la identificación de hongos y bacterias se usó el sistema de identificación de microorganismos que utiliza la espectrometría de masas MALDI-TOF (MALDI Biotyper, Bruker, USA). Se siguieron los protocolos recomendados por el fabricante.

RESULTADOS

Se obtuvieron 18 accesiones de frijol que se recolectaron en diferentes municipios del estado de Guerrero, entre los que destacan: Iguala de la Independencia, Xochistlahuaca, Tepecoacuilco de Trujano, Mexcaltepec, Acatepec, Tecoaapa y Pilcaya (Tabla 1). Estos siete municipios se caracterizan por su alta marginación, donde los microorganismos como los hongos y las bacterias presentes en las semillas de frijol pueden causar problemas de salud, principalmente, en áreas donde las condiciones ambientales favorecen su supervivencia, multiplicación y diseminación.

Tabla 1. Número de accesiones, especie de frijol y municipio de colecta en el estado de Guerrero.

Nomenclatura	Nombre común	Especie	Municipio de colecta
GR-01	Comba negro	<i>Phaseolus lunatus</i>	Iguala de la Independencia
GR-02	Chino	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Iguala de la Independencia
GR-03	Chino blanco (pedorro)	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Iguala de la Independencia
GR-04	Negro de mata	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Xochistlahuaca
GR-05	Negro de vara (Tiachi)	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Xochistlahuaca
GR-06	Blanco	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Xochistlahuaca
GR-07	Coconita	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Tepecoacuilco de Trujano
GR-08	Comba pinto	<i>Phaseolus lunatus</i>	Iguala de la Independencia
GR-09	Comba blanco	<i>Phaseolus lunatus</i>	Iguala de la Independencia
GR-10	Negro de Riego	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Mexcaltepec, Acatepc
GR-11	Rojo	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Mexcaltepec, Acatepc
GR-12	Blanco Mexcaltepec	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Mexcaltepec, Acatepc
GR-13	Colorado Teconapan	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Tecoanapa
GR-14	Negro de mata	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Tecoanapa
GR-15	Ayocote	<i>Phaseolus coccineus</i>	Mexcaltepec, Acatepc
GR-16	Yochichilse	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Mexcaltepec, Acatepc
GR-17	Rojillo	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Pilcaya
GR-18	Cacahuate	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Pilcaya

De las accesiones obtenidas, 14 pertenecen al frijol común (*P. vulgaris*), una accesión de *P. coccineus* (comúnmente conocido como ayocote) y tres son de la especie *P. lunatus*, popularmente denominado comba (Tabla 1). Las tres especies de frijol son de gran importancia para el consumo humano y presentan una gran diversidad en forma, color y tamaños (Figura 1). Aunque la mayor variedad se obtuvo en el frijol común; mientras que en el frijol comba se obtuvo semilla con testa de color negro (GR-1), pinto (GR-8) y blanco (GR-9). El frijol ayocote (GR-15) se consiguió en una combinación de colores, predominando el color morado.

El número total de cepas bacterianas que se aislaron de las semillas de frijol fue de 42, el número total aislados de hongos fue menor (28 aislados). La accesión GR-12, frijol con testa blanca de la especie *P. vulgaris*, tuvo el mayor número de bacterias; esta accesión fue colectada en el municipio de Mexcaltepec, Acatepc. El mayor número de hongos se presentó en la accesión GR-06 (testa clara), la cual corresponde al municipio de Xochistlahuaca y pertenecen a la especie de *P. vulgaris*. De las accesiones GR-14 y GR-17 (ambas *P. vulgaris*) no se obtuvieron bacterias; mientras que las accesiones GR-01 (*P. lunatus*), GR-04, GR-07, GR-09 (*P. lunatus*), GR-10 y GR-15 (*P. coccineus*) no presentaron crecimiento de hongos. Destacan las semillas de las accesiones GR-04 (testa negra) y GR-07 (testa clara) ya que solo tuvieron un aislado bacteriano y ningún hongo.



Figura 1. Acciones de frijol colectado en el estado de Guerrero.

Tabla 2. Número de hongos y bacterias aisladas de semillas de frijol colectadas en el estado de Guerrero.

Nomenclatura	Especie	Núm. de bacterias aisladas	Núm. de hongos aislados
GR-01	<i>P. lunatus</i>	4	0
GR-02	<i>P. vulgaris</i>	3	3
GR-03	<i>P. vulgaris</i>	2	2
GR-04	<i>P. vulgaris</i>	1	0
GR-05	<i>P. vulgaris</i>	3	1
GR-06	<i>P. vulgaris</i>	3	8
GR-07	<i>P. vulgaris</i>	1	0
GR-08	<i>P. lunatus</i>	3	1
GR-09	<i>P. lunatus</i>	2	0
GR-10	<i>P. vulgaris</i>	2	0
GR-11	<i>P. vulgaris</i>	2	2
GR-12	<i>P. vulgaris</i>	6	2
GR-13	<i>P. vulgaris</i>	2	2
GR-14	<i>P. vulgaris</i>	0	2
GR-15	<i>P. coccineus</i>	3	0
GR-16	<i>P. vulgaris</i>	3	1
GR-17	<i>P. vulgaris</i>	0	2
GR-18	<i>P. vulgaris</i>	2	2

En la figura 2 se muestran las cepas bacterianas representativas, que fueron aisladas de las semillas de diferentes acciones de frijol colectado en el estado de Guerrero, destacando por su morfología y pigmentación. Se identificaron bacterias del género *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Enterobacter*,

Staphylococcus y *Pandoraea*. Varias especies de estos géneros bacterianos son causantes de enfermedades para los humanos.



Figura 2. Imagen representativa de las bacterias aisladas de semillas de frijol.

En la figura 3 se presenta algunos hongos representativos que fueron aislados de las accesiones de frijol obtenido de diferentes regiones del estado de Guerrero. Se obtuvieron aislados puros con una gran diversidad de características morfológicas, así como con una amplia gama de pigmentaciones. A diferencia de las bacterias, mediante la técnica de MALDI-TOF, no se pudieron identificar muchos de los aislados fúngicos, aunque se determinaron géneros como: *Fusarium*, *Aspergillus* y *Alternaria*. Debido a la importancia que tiene la semilla de frijol tanto para la parte agrícola como para consumo humano, es necesario contar con tecnología de producción que incluya el desarrollo de variedades mejoradas y su manejo agronómico para diferentes condiciones ambientales, así como también se requiere de esquemas para la preservación de la biodiversidad, en el cual se implemente programas, técnicas y procesos que garanticen a la población la conservación y el manejo libre de patógenos, ya que el uso de semillas de calidad, puede conducir a la ausencia de enfermedades, aun cuando las variedades sea susceptibles a estos patógenos.



Figura 3. Imagen representativa de los hongos aislados de semillas de frijol.

CONCLUSIONES

Se colectaron 18 accesiones en el estado de Guerrero, de las cuales 14 son de la especie *P. vulgaris* (frijol común), una accesión de *P. coccineus* (ayocote) y tres son de *P. lunatus* (comba). En las 18 accesiones se observó la presencia de microorganismos, ya sea hongos o bacterias. La especie que presentó mayor número de bacterias y hongos fue *P. vulgaris*, seguido de *P. lunatus*; mientras que *P. coccineus* no presentó crecimiento de bacterias, pero sí de hongos. El color de testa donde hubo mayor crecimiento de hongos y bacterias fue el blanco. Se identificaron bacterias del género *Pseudomonas* y *Enterobacter* y hongos de los géneros *Fusarium*, *Aspergillus* y *Alternaria*. Algunas de las bacterias encontradas en las semillas también son reconocidas como patógenas de humanos y agentes causantes de enfermedades. La diversidad de microorganismos (bacterias y hongos) presentes en las semillas de frijol del estado de Guerrero indican la necesidad de proporcionar semillas libres de patógenos, así como alternativas de desinfección del grano para el consumo humano.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al CONACYT por el financiamiento otorgado a través del Proyecto FORDECYT Núm. 292474 "Estrategias multidisciplinares para incrementar el valor agregado de las cadenas productivas del café, frijol, mango, agave mezcalero y productos acuícolas (tilapia) en la región pacífico sur a través de la ciencia, la tecnología y la innovación".

BIBLIOGRAFÍA

1. A. P. Rodiño, M. Lema, M. Pérez-Barbeito, M. Santalla, A. M. De Ron, "Assessment of runner bean (*Phaseolus coccineus* L.) germplasm for tolerance to low temperature during early seedling growth", *Euphytica*, Vol. 155, 2007, pp. 63-70.
2. C. N. Montoya, J. Castaño, "Eficacia del tratamiento de semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) sobre la erradicación de Microorganismos", *Fitopatol. Colomb.*, Vol. 35, 1, 2011, pp. 7-10.
3. E. Boege, "El patrimonio biocultural de los pueblos indígenas de México," en *Hacia la conservación in situ de la biodiversidad y agrodiversidad en los territorios indígenas* (Instituto Nacional de Antropología e Historia y Comisión Nacional para el Desarrollo de los Pueblos Indígenas, México, Méx, 2008), Capítulo 1, pp. 1-31,
4. E. Linares, R. Bye, "Flora que ha aportado México al mundo", *Arqueol. Mex.*, Vol. 22, 130, 2014, pp. 52-59.
5. F. Mercati, G. Catarcione, A. R. Paolacci, M. R. Abenavoli, F. Sunseri, M. Ciaffi, "Genetic diversity and population structure of an Italian landrace of runner bean (*Phaseolus coccineus* L.): inferences for its safeguard and on-farm conservation", *Genetica*, Vol. 143, 4, 2015, pp. 473-485.
6. I. Ortiz-Martín, R. Thwaites, J. W. Mansfield, C. R. Beuzón, "Negative Regulation of the Hrp Type III secretion system in *Pseudomonas syringae* pv. *Phaseolicola*", *Mol. Plant Microbe Interact.*, Vol. 23, 5, 2010, pp. 682-701.
7. J. Del Val, C. Sánchez, C. Zolla, "Estado del Desarrollo Económico y Social de los Pueblos Indígenas de Guerrero," (PUMC/UNAM, México, Méx, 2009), 821 p.
8. J. H. Arias, M. Jaramillo, T. Rengifo, "Manual: Buenas Prácticas Agrícolas en la producción de frijol voluble" (Centro e Investigación "La Selva", FAO, Antioquia, 2007), 170 p.
9. J. L. Cubero, S. Nadal, M.T. Moreno, "Recursos fitogenéticos" (Agrícola Española S.A., Madrid, 2006), 192 p.
10. J. Martínez-Castillo, "Consideraciones sobre la importancia del muestreo en los estudios de la domesticación de plantas: el caso del frijol Lima (*Phaseolus lunatus*) en México", *Desde el Herbario CICY*, Vol. 7, 2015, pp.17-22.
11. K. Peña, J.C. Rodríguez, M. Santana, "Comportamiento productivo del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) ante la aplicación de un promotor del crecimiento activado molecularmente", *Avances*, Vol. 17, 4, 2015, pp. 327-337.

12. L. M. Bush, M. T. Perez, "Infecciones por Klebsiella , Enterobacter y Serratia", <https://www.msmanuals.com/es-mx/hogar/infecciones/infecciones-bacterianas-bacterias-gramnegativas/infecciones-por-klebsiella-,-enterobacter-y-serratia> (Visitado: 30 abril 2020).
13. M. L. P. Vargas-Vázquez, J. S. Muruaga-Martínez, P. Pérez-Herrera, H. R. Gill-Langarica, G. Esquivel-Esquivel, M. A. Martínez-Damián, R. Rosales-Serna, N. Mayek-Pérez, "Caracterización morfoagronómica de la colección núcleo de la forma cultivada de frijol común del INIFAP", *Agrociencia*, Vol. 42, pp. 787-797.
14. O. Voysest, "Mejoramiento genético del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.): legado de variedades de América Latina 1930-1999", (Centro Americano de Agricultura Tropical, CIAT, Cali, Colombia, 2000), 195 p.
15. R. Lépiz, E. Rodríguez, "Los Recursos fitogenéticos de México," en *Recursos Fitogenéticos de México para la Alimentación y la Agricultura: Informe Nacional 2006* (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación y Sociedad Mexicana de Fitogenética, A.C. Chapingo, Méx, 2006), Capítulo 1, pp. 13-28.
16. SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, "Boletín mensual de producción Frijol", https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/538981/Boletin_mensual_de_la_produccion_frijol_enero_2020.pdf (Visistado: 05 Marzo 2020).

ESTABLECIMIENTO DE UN SISTEMA DE MICROPROPAGACIÓN PARA UNA PLANTA MEDICINAL DEL GÉNERO *LOBELIA* ORIGINARIA DE LA MESETA PURÉPECHA

Jorge Humberto Mondragón Chávez, Rafael Salgado Garciglia, Ana Edith Higareda Mendoza, Marco Aurelio Pardo Galván

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo
mapardo@umich.mx

RESUMEN

En el mundo, las plantas medicinales empleadas en la medicina tradicional son ampliamente utilizadas en muchos países. México es un país megadiverso en cuanto a biodiversidad y cuenta con una amplia gama de especies vegetales útiles, dentro de las cuales se encuentra las plantas medicinales. En el estado de Michoacán, la cultura purépecha muestra una vasta variedad de plantas medicinales, entre la que se encuentra *Lobelia laxiflora* var. *patzquarencis* (contrabembérica), utilizada contra la fitodermatitis por contacto causada por la hiedra venenosa o bembérica (*Toxidendron radicans*). Una limitante para el uso de *L. laxiflora* var. *patzquarencis* es su poca abundancia y el problema de su identificación para su colecta, ya que sólo es posible identificarla sin ambigüedad a través de su flor, y la floración es anual. Por su importancia medicinal, su propagación se vuelve un punto clave a destacar; sin embargo, los métodos de propagación tradicional de plantas medicinales son lentos e ineficientes por lo que se buscan alternativas más rápidas y eficaces para su propagación, siendo la micropropagación una de ellas. El presente trabajo tiene como objetivo establecer un sistema de micropropagación rápido y eficiente para esta planta medicinal. Se llevó a cabo con éxito el cultivo inicial *in vitro* de explantes de *L. laxiflora* var. *patzquarencis*, así como la multiplicación de material inicial obtenido, el enraizamiento del mismo y, por último, el trasplante y aclimatación de las plantas completas obtenidas. En particular se lograron establecer las condiciones iniciales de cultivo *in vitro* de explantes, las concentraciones óptimas de reguladores de crecimiento para la mayor multiplicación de material inicial, las concentraciones óptimas de reguladores de crecimiento para el mayor enraizamiento y las condiciones ideales para el mejor porcentaje de supervivencia al momento de realizar el trasplante y aclimatación de plantas enteras. Así, con este trabajo se lograron estandarizar las etapas de micropropagación de la contrabembérica, las cuales serán utilizadas para obtener en abundancia, plantas capaces de cultivarse en invernadero tanto para emplearse en la medicina tradicional como para su estudio.

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, la medicina tradicional es una de las expresiones más importantes en la memoria ancestral de los pueblos, según la OMS el 80% de la población en el mundo emplea la medicina tradicional en los servicios de atención primaria de la salud para tratar diversos padecimientos; esto implica un importante uso de plantas con fines medicinales en muchos países.¹

México es un país con una gran diversidad de especies vegetales, cuenta con alrededor de 7 000 especies útiles para el hombre, entre las cuales destacan muchas plantas medicinales utilizadas principalmente por las poblaciones de escasos recursos. Debido a lo anterior, el uso de plantas medicinales en distintos estados el país es bastante amplio. Michoacán es un estado rico en cuanto a plantas con este uso; la mayor parte de su población utiliza plantas medicinales para tratar distintos padecimientos como malestares estomacales, dolores de cabeza, inflamaciones en la piel, entre otros.^{2,3}

Por esta razón, la abundancia de las plantas con uso medicinal han disminuido considerablemente, factores como la colecta desmedida y el deterioro medioambiental en el mundo, provocan de manera rápida la pérdida de la diversidad vegetal en distintos lugares del país. Por esta situación, diversas organizaciones relacionadas a este tema plantearon algunas estrategias para su conservación, dentro de las cuales su propagación es una estrategia importante a destacar.⁴

La propagación vegetal es un punto importante para la conservación de especies medicinales. Esta se realiza de distintos métodos, muchas de estas plantas se obtienen a partir de la propagación por semilla (propagación sexual); o por propagación vegetativa (asexual) mediante partes de la planta. Por este último método es posible obtener un gran número de plantas medicinales idénticas entre sí.

Sin embargo, cuando se desea propagar plantas medicinales donde estos sistemas son poco eficientes por distintas razones, surge la necesidad de recurrir a alternativas más eficaces.^{5,6}

Las herramientas biotecnológicas son una alternativa para la propagación masiva de muchas especies vegetales, y las medicinales no son la excepción. El cultivo de tejidos vegetales *in vitro* es una técnica que permite realizar la propagación a gran escala de plantas, y su aplicación más conocida es la micropropagación, la cual produce un gran número de plantas idénticas entre sí.^{7,8}

La micropropagación se realiza en distintas etapas, comenzando con la siembra inicial *in vitro* de explantes como yemas, tallos, hojas o raíces, en medio de cultivo (medio MS) adicionado con reguladores de crecimiento, generalmente citocininas (BA), donde la asepsia juega un papel importante para evitar la contaminación durante el cultivo. El desarrollo y multiplicación de brotes aéreos es promovido por la combinación de auxinas (ANA) y citocininas (BA) en el medio de cultivo; la combinación y concentración óptima de estas depende de cada especie. El enraizado de los brotes obtenidos se realiza cultivando los mismos en medio MS adicionado únicamente con auxinas (AIB). Terminado el cultivo *in vitro*, se realiza el trasplante y aclimatación de plántulas enteras en diversos sustratos (turba y perlita), para después ser cultivadas en invernadero.⁹⁻¹¹

Existen diversos trabajos referentes a la micropropagación de muchas plantas medicinales reportados en la literatura, utilizadas en la medicina tradicional en distintas partes del mundo. Sin embargo, en nuestro país se desconocen los métodos de micropropagación para muchas plantas medicinales, incluyendo algunas pertenecientes a la cultura purépecha.¹²

La “contrabembérica”, cuyo nombre científico es *Lobelia laxiflora* var. *patzquarencis*, es una especie vegetal perteneciente a la vasta variedad de plantas medicinales de la cultura purépecha del estado de Michoacán, utilizada por los nativos de esa zona de manera empírica contra la inflamación provocada por el contacto con la hiedra venenosa (“bembérica”), tomando una gran importancia como planta medicinal en dicha área. Algunas limitantes para el uso de esta planta contra la fitodermatitis provocada por la hiedra venenosa es su colecta en la época que la planta no florece (es de floración anual) y sin las flores su recolección es bastante complicada; así como la disminución de sus poblaciones vegetales por la sobrecolecta¹³. Debido a lo anterior, su estudio y propagación por cultivo de tejidos vegetales *in vitro* se vuelven relevantes. Aún se desconocen los métodos de micropropagación de muchas plantas y son muy pocos los estudios de micropropagación que se ha realizado en plantas del género *Lobelia*, entre ellas *Lobelia laxiflora* var. *patzquarencis*.

TEORÍA

A través de la utilización de yemas vegetativas de plantas de *L. laxiflora* var. *patzquarencis*, las técnicas de cultivo de tejidos vegetales *in vitro*, y la acción de los reguladores de crecimiento tipo auxinas (ANA y AIB) y citocininas (BA), se establece un sistema de micropropagación para esta especie.

PARTE EXPERIMENTAL

Se utilizaron yemas vegetativas de *Lobelia laxiflora* var. *patzquarencis* de entre 1 y 2 cm de longitud para la etapa de establecimiento inicial del cultivo. Se les aplicó un método de asepsia y, con pinzas y bisturí estériles se sembraron en medio MS de adicionado con 0.05 mg/L de BA, obteniéndose un brote inicial a los 30 días de cultivo. Con el material de este experimento se realizó un segundo experimento de multiplicación para aumentar y mantener el número de brotes. El sembrado fue en medio MS suplementado con ANA y BA en las combinaciones mostradas en la tabla 1.

Tratamiento	ANA (mg/L)	BA (mg/L)
T1	0	0
T2	0.1	0.1
T3	0.5	0.1
T4	0.1	0.5
T5	0.5	0.5
T6	0.1	0.1
T7	0.5	0.1

Con el material vegetal obtenido de esta etapa se realizó un tercer experimento de enraizado para inducir la formación de raíces en los brotes multiplicados obtenidos, los cuales se cultivaron en medio MS 50% adicionado con AIB en concentraciones mostradas en la tabla 2.

Tratamiento	AIB (mg/L)
E1	0
E2	0.25
E3	0.50
E4	0.75
E5	1.00

Una vez obtenidas plántulas completas, el último paso fue realizar su trasplante y aclimatación, los sustratos utilizados fueron Turba (peat moss) y Perlita en tres distintas proporciones, la cuales se muestran en la tabla 3.

Turba:Perlita		
1:0	1:1	1:2

RESULTADOS

Se realizaron cortes en los entrenudos de la planta original para obtener las yemas las cuales se emplearon en la primera etapa, con el fin de establecer las condiciones iniciales del cultivo *in vitro* de explantes de dicha planta. A los 30 días se obtuvo una supervivencia del 50% y una contaminación del 12.5% de los brotes cultivados *in vitro*. Se obtuvo un buen desarrollo del brote inicial al día 30. (Fig. 1)



Figura 1. Brote inicial a los 30 días.

Con el material obtenido de este paso se realizó un segundo experimento de multiplicación, esto para establecer las condiciones de brotación óptimas en esta etapa. Después de otros 30 días, el mejor tratamiento para el aumento de brotes fue T2 (0.1 ml/L ANA y 0.1 mg/L BA) con hasta 8.3 brotes/explante y una longitud de 4.2 cm (Fig. 2), en comparación con el tratamiento control T1.



Figura 2. Mejor tratamiento T2 para brotación.

Utilizando los brotes multiplicados, se realizó un tercer experimento de enraizado, cuyo objetivo fue establecer las condiciones de enraizamiento óptimas para esta etapa. El mejor resultado en este paso fue E5 (1.0 mg/L AIB) con hasta 8.2 raíces/brote (Fig. 3), siendo el resultado más alto en comparación con el tratamiento control E1.



Figura 3. Mejor tratamiento E5 para enraizado.

Como último paso, se realizó el trasplante y aclimatación de plántulas enteras obtenidas a lo largo del proceso, obteniendo las condiciones óptimas para que las plantas sobrevivan fuera del ambiente *in vitro*. Se obtuvieron resultados del 80% de supervivencia a los 60 días en combinación de sustratos Turba:Perlita (1:2), siendo este el más alto en comparación con los demás tratamientos. Obtuvimos así una eficiencia estupenda de plantas adaptadas a las condiciones ambientales (Fig. 4).



Figura 4. Planta de *Lobelia laxiflora* var. *patzquarencis* a los 60 días, sobreviviente al proceso de aclimatación.

Así, se lograron establecer las condiciones óptimas para el cultivo *in vitro* de yemas de *L. laxiflora* var. *patzquarencis* y que fueron:

- Para el mayor desarrollo y multiplicación de brotes aéreos (7.1 brotes/explante): medio MS con 0.05 mg/L;
- Para el mejor enraizado de brotes multiplicados (8.2 raíces/brote): medio MS con 0.1 mg/L de ANA 7 y 0.1 mg/L de BA;
- Para el trasplante y aclimatación de esta planta con un 80% de supervivencia: en sustrato Turba:Perlita (1:2), medio MS 50% con 1.0 mg/L de AIB.

CONCLUSIONES

Se logró un sistema de micropropagación para plantas de *L. laxiflora* var. *patzquarencis* tanto para su estudio como para su uso en la medicina tradicional purépecha. Este es el primer reporte de un

método rápido y eficiente de micropropagación para esta especie, establecido mediante el cultivo *in vitro* de yemas vegetativas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Q. R. A. Becerra, "Elementos teóricos que fundamentan la conformación de un centro educativo ambiental para la propagación de plantas medicinales", *Revista Ambientellanía*, Vol. 1, 1, 2017, pp. 20-27.
2. J. Rzedowski, "De México al Mundo", Ed. Azabache, México, 1992.
3. Caballero, L. Cortes, "Percepción, uso y manejo tradicional de los vegetales, México" in *Estudio de la relación entre los seres humanos y las plantas en los albores del siglo XXI* (A. B. Rendón, S. R. Domínguez, eds., Plantas, Cultura y Sociedad, 2001), pp. 1-100.
4. Martínez-Pérez, A. López, A. Gil-Muñoz, A. Cuevas-Sánchez, "Plantas silvestres útiles y prioritarias identificadas en la mixteca poblana, México", *Acta Botánica Mexicana*, Vol. 98, 1, 2012, pp. 73-98.
5. M. P. Dirchwolf, A. M. SchroederII, "Establecimiento de un método de propagación vegetativa para *Catharanthus roseus* (L.)", *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, Vol. 19, 2, 2015, pp. 200-211.
6. V. E. Miller, "Fisiología Vegetal", Traducida por Francisco de la Torre. México. 1967, pp. 388.
7. H. J. Valdés, R. M. N. Nerdo, Medina, L. González, P. B. J. Velázquez, R. D. Domingo Rivero, M. G. D. Sourd, G. F. Martínez, R. A. J. Rodriguez, "La biotecnología como herramienta para la propagación, conservación y el mejoramiento genético del guayabo", *Rev. Colomb. Biotecnol.* Vol. 14, 2, 2012, pp- 7-19.
8. O. Monteuis, "Micropropagation and production of forest trees" in *Vegetative propagation of forest trees* (National Institute of forest science, 2016), pp. 33-55.
9. B. Briones, "Micropropagación: la técnica de "fotocopiado" de plantas" in *Plantas de probeta: manual para la propagación de plantas por cultivo de tejidos in vitro* (S. Sharry, M. Adema, W. Abedini, eds., EDULP, Buenos Aires, AR. 2015), pp. 102-112.
10. S. Olmos, G. Luciani, E. Galdeano, "Micropropagación" in *Biotecnología y Mejoramiento Vegetal II* (G. Levitus, V. Echenique, C. Rubinstein, E. Hopp, L. Mroginski, eds., 2010), pp. 353-362.
11. L. Barrueto, "El cultivo de tejidos" in *Biotecnología vegetal* (H. Prieto, M. Jordan, L. Barrueto, M. Cordeiro, D. Durzan, eds., INIA, Santiago, CL, 2005), pp. 31-54.
12. L. Domínguez, "La biotecnología y las plantas medicinales", *Ciencia*, Vol. 66, 3, 2015, pp. 76-83.
13. J. Rzedowski, G.C. Rzedowski, "Flora del bajío y de regiones adyacentes", Instituto de Ecología, A.C., Centro Regional del Bajío Pátzcuaro, Michoacán, 1997, pp. 1-64.

USO DE INOCULANTES BACTERIANOS NATIVOS EN LA PRODUCCIÓN DE FRIJOL COMÚN EN LA REGIÓN DEL VALLE DEL GUADIANA

Erika Cecilia Gamero Posada, Ixchel Abby Ortiz Sánchez, Sonia Valdez Ortega*, Cynthia Adriana Nava Berumen, José Carlos Jaramillo Graciano y José Francisco Ávila Ibarra

Tecnológico Nacional de México campus Valle del Guadiana.

*sonia.vo@vguadiana.tecnm.mx

RESUMEN

El uso de inoculantes a base de bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV) como las del género *Azospirillum*, que son consideradas como fijadoras de nitrógeno, y al ser aisladas de la rizosfera, han mostrado efectos positivos sobre la producción de diversos cultivos, al aumentar el peso seco total, contenido de nitrógeno de hojas y granos, floración y aparición temprana de la vaina, número de vainas y granos en estas, peso y tamaño del grano, altura de la planta y tamaño de la hoja, índice de área foliar y tasa de germinación. Además, se han observado efectos marcados sobre el sistema radical como el aumento en el peso seco, número, densidad y aparición temprana de los pelos radicales. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto del uso de inoculantes nativos a base de *Azospirillum spp.* sobre las variables de producción de frijol común, en la región del Valle del Guadiana, Durango, durante el ciclo de temporal 2019. Se estableció una parcela experimental de 492 m² de Frijol Pinto, que se dividió en cuatro bloques al azar y dentro de cada uno se evaluaron cuatro tratamientos: 1. Testigo Absoluto (sin fertilizante, sin inoculante), 2. Inoculado (*Azospirillum spp.* 4.3x10¹¹ UFC/mL) 3. Fertilización química intermedia/inoculación y 4. Fertilización química completa. Las variables evaluadas fueron: vainas por planta, granos por vaina, granos por planta, peso seco foliar, peso seco radicular y el peso de 100 granos. Los datos se procesaron utilizando la prueba no paramétrica de Friedman (alfa=0.05). Los resultados mostraron que los tres tratamientos con fertilización tienen el mismo efecto sobre el número de vainas por planta, con diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con el testigo absoluto. El tratamiento 3 mostró el mejor efecto sobre el número de granos por vaina, y el segundo mejor tratamiento fue en el que solo se utilizaron inoculantes, que tuvo el mismo efecto que la fertilización química completa. Los tratamientos en los que se utilizaron inoculantes tienen el mismo efecto que el fertilizante químico sobre el número de granos por planta. Las plantas con mayor peso seco foliar fueron las que se trataron con fertilización química intermedia/inoculante; y las plantas con mayor peso radicular fueron las tratadas únicamente con inoculantes, sin mostrar diferencia significativa con la fertilización química, pero sí con el testigo absoluto. Los granos fertilizados con inoculantes fueron los más pesados, enseguida los tratados con fertilización química completa e intermedia, y los 100 granos con menos peso fueron los del testigo absoluto. Se puede concluir que el cultivo de frijol muestra respuesta en rendimientos de grano a la inoculación con *Azospirillum spp.* y/o aplicación de fertilizantes químicos en dosis intermedias complementadas con la inoculación de BPCV. Bajo una perspectiva de baja inversión, el uso de inoculantes a base de cepas eficientes en fijación biológica de nitrógeno es la mejor opción para agricultores de bajos recursos y para la reducción de los impactos negativos derivados del uso de agroquímicos.

INTRODUCCIÓN

El frijol es una especie de cosecha anual, originaria de Mesoamérica y Sudamérica, sus numerosas variedades se cultivan en todo el mundo para el consumo, tanto de sus vainas verdes como de sus semillas frescas o secas, por su alto contenido en proteínas y minerales, es básico para la alimentación de la población; ocupa el segundo lugar en importancia después del maíz (FIRCO, 2017). Es muy saludable porque es una de las legumbres con menos contenido de grasa, tiene un bajo contenido de azúcar y destaca por su alto contenido de fibra; además, es rico en calcio y potasio, así como en antioxidantes que ayudan a reducir los problemas del corazón (FIRCO, 2017).

México ocupa el 4to lugar en producción de frijol a nivel mundial, con un total de 1 millón 294 mil 634 toneladas anuales (FIRCO, 2017). Durango estuvo en el tercer lugar en la producción de frijol en el ciclo Primavera Verano 2018- 2019, después de Zacatecas y Chihuahua, con 58,962 toneladas esto es un 9.2% de la producción total del cultivo del país (SIAP, 2020).

Entre las soluciones para el control de nutrición vegetal, plagas y enfermedades, se encuentra la aplicación de fertilizantes y pesticidas químicos, sin embargo han tenido efectos negativos sobre el ambiente, incluso sobre aspectos relacionados con la calidad de vida de las poblaciones humanas. Asimismo, se ha demostrado que su eficacia puede ser de corta duración y que algunas plagas y patógenos pueden presentar resistencia a los ingredientes activos de los productos (López et al., 2005). Como alternativa de reducir los efectos negativos de la utilización de agroquímicos, en las últimas décadas se ha llevado un manejo integral apoyado con la biotecnología que ha impulsado fuertemente el uso de productos de origen biológico, tal es el caso de ciertos microorganismos del suelo como son las bacterias *Azospirillum spp.*, las cuales son bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV) y mejoradoras de suelo.

El género *Azospirillum* son rizobacterias de vida libre que pueden promover el crecimiento de las plantas y aumentar los rendimientos en muchos cultivos de importancia agronómica. Se supone que las bacterias afectan el crecimiento de las plantas principalmente por la producción de sustancias que promueven el crecimiento de las plantas, lo que conduce a una mejora en el desarrollo de las raíces y un aumento en la tasa de absorción de agua y minerales (Dobbelaere, 2001). *Azospirillum spp.* contribuyen a aumentar los rendimientos de cereales y forrajes mejorando el desarrollo de las raíces, aumentando la tasa de absorción de agua y minerales del suelo, y mediante la fijación biológica de nitrógeno.

Este trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto del uso de inoculantes nativos a base de *Azospirillum spp.* sobre las variables de producción de frijol común, en la región del Valle del Guadiana, Durango, durante el ciclo de temporal 2019.

TEORÍA

Las biotecnologías han abierto nuevas posibilidades en lo concerniente a la aplicación de microorganismos benéficos del suelo, en la promoción del crecimiento de las plantas y el control biológico de patógenos. El trabajo con bacterias rizosféricas se ha desarrollado de forma gradual y ascendente, teniendo como finalidad aumentar el rendimiento de los cultivos, disminuir el uso desmedido de fertilizantes minerales y productos químicos y, consecuentemente, reducir la contaminación ambiental. La utilización de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal en la agricultura es una práctica que internacionalmente ha tomado auge en las últimas décadas; en Cuba se ha favorecido el desarrollo de diferentes investigaciones relacionadas con el aislamiento, la selección y aplicación de microorganismos rizosféricos, con vistas a desarrollar biopreparados efectivos para cultivos de interés económico (Parra y Cuevas, 2001).

Dentro de las bacterias asociativas más estudiadas, se encuentran las pertenecientes al género *Azospirillum*, el cual ha sido objeto de estudio desde la década del setenta, pues su inoculación en las plantas conlleva a un aumento significativo del sistema radical, además de inducir resistencia a agentes patógenos y proveer de elementos tan necesarios como el nitrógeno, inhibe la proliferación de plantas parásitas y produce hormonas que estimulan el crecimiento vegetal, lo que permite un desarrollo más económico y saludable de los cultivos. La habilidad que tiene esta bacteria de colonizar el interior de las plantas y ocupar nichos protegidos contra el oxígeno y otros factores, lo convierten en el grupo más promisorio de diazótrofos asociados con gramíneas y otras plantas no leguminosas.

Las bacterias pertenecientes a este género son organismos fijadores de N_2 que poseen una amplia distribución ecológica, ya que ha sido posible detectar su presencia en zonas templadas, tropicales y subtropicales. Se describen en la literatura como Gram negativas aunque la gran variabilidad ha sido observada en varias cepas de *Azospirillum brasilense*. La morfología de las células depende de las condiciones nutricionales y edad del cultivo. Se observan formas eses y vibroides de 0.8 a 1 x 2 a 5 micrómetros de tamaño; se asocia además la aparición de formas quísticas o en C, como vía de resistencia a las condiciones de estrés y del mismo modo como mecanismo de supervivencia en la rizosfera. Contienen gránulos de polihidroxibutirato (PHB) como material de reserva y un sistema muy eficiente de adquisición de hierro a través de sideróforos, que le permite secuestrarlo en la rizosfera, haciéndolo no utilizable por otros microorganismos.

Las células son móviles tanto *in vitro* como en el suelo y son capaces de adaptar su flagelación a diferentes ambientes. Aunque pueden desarrollarse tanto en condiciones aeróbicas como

anaeróbicas, son preferentemente microaerofílicas en presencia o ausencia de fuentes combinadas de nitrógeno. La presencia de una respuesta quimiotáctica a diferentes compuestos, asociada a la existencia de vías metabólicas alternativas, convierten a *Azospirillum* en un organismo nutricionalmente versátil, pues le permiten consumir una amplia variedad de ácidos orgánicos, azúcares, aminoácidos y compuestos aromáticos que se encuentran disponibles en la rizosfera.

Un análisis de estas propiedades fisiológicas y bioquímicas demuestran que este género posee características, que lo convierten en un organismo capaz de competir en la rizosfera de varias especies de plantas, a pesar de la presencia de la población rizosférica indígena y que le proporcionan mayores posibilidades de subsistencia que otros diazótrofos en el nicho ecológico.

La inoculación de plantas con *Azospirillum* puede provocar cambios significativos en varios parámetros de su crecimiento, los cuales pueden afectar o no el rendimiento del cultivo. Esta bacteria benéfica, general y no específica es notoria por sus efectos sobre plantas comerciales, pastos y plantas de cereales cultivadas como trigo, maíz, sorgo y arroz, además de producir asociaciones con varias plantas suculentas desérticas (Parra y Cuevas, 2001).

El principal mecanismo por el cual *Azospirillum* influye en el desarrollo y la productividad de las plantas es especulativo y aún motivo de debate. Algunas explicaciones incluyen: fijación de nitrógeno atmosférico, que contribuye al nitrógeno de la planta, efectos hormonales que alteran el crecimiento y metabolismo de la planta, incrementos del desarrollo, en general, del sistema radical que provoca un aumento en la toma de minerales y agua, actividad nitrato reductasa bacteriana en la raíz, que incrementa la acumulación de nitrato en plantas inoculadas y la teoría aditiva que plantea la sucesión de cada uno de estos mecanismos.

Todas las cepas salvajes de *Azospirillum* son capaces de fijar nitrógeno atmosférico eficientemente, ya sea como bacteria de vida libre o en asociación con plantas, además de participar en varias transformaciones en el ciclo del nitrógeno. Unido a esto, seguido de la inoculación, se observa un incremento en el contenido total de nitrógeno en retoños y granos de plantas inoculadas. Por estas razones, la fijación de nitrógeno atmosférico fue propuesta como el primer mecanismo que podía explicar el incremento en el desarrollo de las plantas por *Azospirillum* (Parra y Cuevas, 2001).

La observación común de un incremento en la actividad nitrogenasa de raíces inoculadas constituyó otra evidencia de que este mecanismo podía contribuir al balance de nitrógeno de las plantas, pues se ha reflejado que la actividad de esta enzima, bien documentada, es de magnitud suficiente para explicar este incremento si todo el nitrógeno fijado es incorporado a la planta (Parra y Cuevas, 2001). Así tenemos que, por un lado, en inoculaciones de maíz y trigo se demostró que del 5-10 % y hasta el 18 % del nitrógeno de la planta era derivado de la fijación de N_2 y que las plantas inoculadas eran capaces de crecer normalmente con solo una cantidad parcial del fertilizante nitrogenado requerido para un normal desarrollo. Sin embargo, se observó que plantas que incrementaron el rendimiento con la inoculación, mostraban una baja o ninguna actividad nitrogenasa y que de todo el nitrógeno fijado por la bacteria, menos del 5 % era incorporado en el interior de la planta hospedera y estas cantidades incorporadas eran insuficientes para explicar el incremento total en el contenido de nitrógeno observado. A esto se adicionó el hecho de que altos niveles de fertilización nitrogenada, los cuales inhiben la fijación de N_2 , no eliminaban la respuesta de la planta a la inoculación. Ante estos resultados contradictorios, la posibilidad de que la fijación de N_2 fuera el principal mecanismo de acción de *Azospirillum* comenzó a cuestionarse.

El uso de mutantes Nif-, incapaces de fijar N_2 pero que, por otra parte, son isogénicos con respecto a las cepas parentales, fue la vía fundamental para distinguir la contribución a través de la fijación de N_2 de otros efectos de la inoculación bacteriana. La inoculación de cereales con este tipo de mutantes causó los mismos efectos que las cepas parentales, lo que demostró que en la respuesta de la planta intervinieron otros factores además de la fijación de N_2 (Parra y Cuevas, 2001).

A pesar de estos resultados, este mecanismo continúa siendo una posibilidad que se pone de manifiesto en muchas asociaciones de *Azospirillum*; la pregunta básica en cada sistema de inoculación se encuentra relacionada con la cantidad de nitrógeno que es aportado por la bacteria a la planta y en qué condiciones de crecimiento, un factor que es altamente variable y errático (Parra y Cuevas, 2001).

PARTE EXPERIMENTAL

El trabajo se llevó a cabo en los campos de cultivo del Tecnológico Nacional de México campus Valle del Guadiana ubicado en Carretera Durango - México km. 22.5, Ejido Villa Montemorelos, Durango; en una parcela experimental de 492 m², con la variedad de frijol Pinto un diseño de cuatro bloques al azar y en cada uno de ellos se evaluaron cuatro tratamientos: 1. Testigo Absoluto (sin fertilizante químico ni inoculante), 2. Inoculado (*Azospirillum spp.* 4.3x10¹¹ UFC/mL) 3. Fertilización química intermedia/inoculación y 4. Fertilización química completa. La siembra se realizó a mano depositando dos semillas por orificio a 5 cm de profundidad con una distancia entre plantas de 10 cm y de 80 cm entre surcos. De delimitaron parcelas de 4x4 metros y separadas entre si por pasillos de 1 metro de ancho.

Los tratamientos 2 y 3 se realizaron con mochila directamente en el suelo sobre la siembra o sobre el tallo de las plantas. La cepa bacteriana para estos dos tratamientos se aisló y se reprodujo en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal del Instituto Tecnológico, a partir de raíz de *Amaranthus hypocondriacus*. Se empleó la reproducción masiva en caldo nutritivo por 5 días a 28 °C en agitación constante a 100 rpm y luego la biomasa se separó y lavó por centrifugación. La densidad microbiana fue determinada por espectrofotometría de luz UV a 660 nm. Posteriormente los inoculantes se diluyeron en 32 L de agua corriente, alcanzando una concentración de 4.3x10¹¹ UFC/mL. Se realizaron 3 aplicaciones de estos tratamientos de inoculación, una al momento de la siembra y dos más a los 15 y 35 DDS (días después de la siembra).

El tratamiento agronómico integral del cultivo, así como la aplicación del tratamiento 4, se realizó conforme a la agenda agrícola Durango y La Laguna (INIFAP, SAGARPA y COFUPRO, 2017). El periodo de siembra fue del 16 de Julio al 3 de Diciembre de 2018, con una precipitación media anual de 428.8 mm (CONAGUA, 2020).

Cuadro 1. Diseño experimental

No. Tratamiento	Tipo de fertilización	Dosis
1	Testigo Absoluto (sin fertilizante químico ni inoculante)	0
2	Inoculado (<i>Azospirillum spp.</i>)	4.3x10 ¹¹ UFC/mL
3	Fertilización química intermedia/inoculación	4.3x10 ¹¹ UFC/mL + 20N-30P-00K
4	Fertilización química completa	40N - 60P - 00 K

AL final del ciclo fenológico se contabilizaron las vainas por planta; y luego de la cosecha fueron analizadas las siguientes variables: granos por vaina, granos por planta, peso seco foliar, peso seco radicular y el peso de 100 granos. Para el monitoreo de las variables en mención se tomaron muestras de 20 plantas por tratamiento de cada bloque, para posteriormente evaluarlos con un análisis no paramétrico (Friedman $\alpha=0.05$).

RESULTADOS

En el Cuadro 2 se puede observar los resultados de la prueba de comparación de medias de Friedman, de las distintas fertilizaciones que se llevaron a cabo.

Se obtuvo mayor producción de vainas por planta en los tratamientos de inoculado, fertilización química intermedia/inoculación y fertilización química completa, los cuales fueron estadísticamente iguales; esto indica que sí puede competir el inoculado con la fertilización química. En el análisis de granos por vaina se observó una mejor respuesta en los tratamientos de inoculado y fertilización química intermedia/inoculación, sin diferencia significativa entre ellos, pero sí con el testigo sin fertilizar.

En un experimento similar (Martínez et al., 2017) probaron la inoculación con *Rhizobium* de dos cultivares de Frijol, y observaron que en uno de los cultivares no hay diferencia significativa con el testigo fertilizado químicamente, pero otro de los cultivares disminuye significativamente el número de vainas por planta, llamativamente incrementando el número de granos por vaina, recuperándose gracias a ello, el rendimiento de dicho cultivar.

En el caso de granos por planta, los tres tratamientos que llevaron algún tipo de fertilización se comportaron estadísticamente igual, con diferencia significativa con el testigo no fertilizado.

Para el peso seco foliar los mejores resultados los dieron el tratamiento de fertilización química completa y el de fertilización química intermedia/inoculado, dichos resultados eran de esperarse debido a que el fertilizante químico estimula a las plantas para el desarrollo foliar y esos dos tratamientos lo contenían.

En el peso seco radicular muestra que los tratamientos de inoculado, fertilización química intermedia/inoculados y fertilización química completa son estadísticamente iguales, pero si se observa la tabla la fertilización con solo el inoculado con *Azospirillum spp.* se obtuvo una mayor respuesta al desarrollo de las raíces, esto tiene un gran beneficio dado a que entre más sistema radicular tenga una planta, mayor será la absorción de nutrientes y como consecuencia nos traerá una mayor producción.

Por último, en el peso por 100 granos el tratamiento de mayor respuesta fue el de solo la inoculación, seguido por la fertilización química completa, esto nos quiere decir que las plantas a las que se les aplicó *Azospirillum spp.* se enfocaron más en el llenado del fruto lo que conlleva a un mayor peso del grano y con ello un mayor rendimiento del cultivo. En este sentido el grupo de Martínez et al. (2017) reportan que la masa seca de los granos de dos cultivares de frijol estudiados, que recibieron la inoculación bacteriana con *Rhizobium spp.* con la adición del 30 % de la fertilización nitrogenada, no difirieron significativamente de aquellas que recibieron el 100 % de la fertilización en ninguno de los dos cultivares en estudio, lo que significa que la inoculación pudiera estar ejerciendo un efecto similar al 70 % del N restante.

Cuadro 2. Variables de producción de Frijol Pinto Saltillo sometido a cuatro tratamientos de fertilización en condiciones de temporal durante el ciclo 2019, en el Valle del Guadiana, Durango.

Tratamiento	Vainas por planta	Granos por vaina	Granos por planta	Peso seco foliar	Peso seco radicular	Peso de 100 granos
1	1.92 b	1.89 c	1.87 b	1.48 c	1.85 b	1.00 c
2	2.81 a	2.64 a,b	2.65 a	2.40 b	2.91 a	3.50 a
3	2.48 a	2.91 a	2.71 a	3.18 a	2.56 a	2.25 b
4	2.80 a	2.56 b	2.77 a	2.93 a	2.68 a	3.25 a,b

Literales diferentes en la misma columna expresan diferencias significativas ($p \leq 0.05$); 1. Testigo Absoluto (sin fertilizante químico ni inoculante), 2. Inoculado (*Azospirillum spp.* 4.3×10^{11} UFC/mL) 3. Fertilización química intermedia/inoculación y 4. Fertilización química completa.

El tratamiento con la fertilización química completa, generalmente se mantuvo a la cabeza en los resultados favorables ante los otros tratamientos, seguido por el tratamiento de solo el inoculado, después el de la fertilización química intermedia/inoculado y por último el testigo absoluto. Era de esperarse la respuesta favorable de la fertilización química completa, debido a que es un estimulante potente para las plantas, sin embargo, con el tratamiento de *Azospirillum spp.* también se obtuvieron resultados muy buenos a pesar de ir solo sin la combinación con otro tipo de fertilizante.

Una investigación realizada en tres genotipos de frijol común (BAT-304, Velasco Largo y BAT-93), se estudió el efecto de la fertilización mineral y la biofertilización en el rendimiento de las plantas. Se encontró que la fertilización biológica superó a la mineral en 10,4 y 6,0 %, en los genotipos BAT-304 y Velasco, respectivamente. Sin embargo, en el genotipo BAT-93, la fertilización mineral incrementó el rendimiento en 18,45 %, con relación a la biofertilización (Esquivel et al., 2014). Esto quiere decir

que la respuesta no sólo depende del microorganismo, sino también del cultivar y su capacidad para asociarse en simbiosis. Por tal motivo resultaría de especial interés evaluar la respuesta de otras variedades de frijol común cultivadas en la región a la inoculación con BPCV, como el frijol Negro, Pinto Villa, entre otros.

CONCLUSIONES

El uso de inoculante a base de bacterias promotoras de crecimiento vegetal en el cultivo de frijol, mostraron un desarrollo muy favorable en las plantas, las características que más le interesan al productor y en la que se observaron muy buenos resultados fueron en el número de granos por planta y el peso de 100 granos, esto hace que se genere un aumento en rendimiento al momento la cosecha, de igual manera el uso de la fertilización química intermedia/inoculado, muestra resultados efectivos, esto ayuda para empezar a mostrarle a los productores de la región que se pueden llegar a tener los mismos rendimientos con el uso de BPCV que con una fertilización totalmente química. Cuando se llegue a establecer sistemas de producción agrícolas sustentables, se tendrán mayores y mejores resultados, esto debido a que, aparte de estar reduciendo los costos de producción con la implementación de fertilizantes orgánicas, se contribuye a el mejoramiento de las características fisicoquímicas y biológicas de los suelos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). Consultado en mayo 2020. Históricos 2019. (<https://smn.conagua.gob.mx/tools/DATA/Climatolog%C3%ADa/Pron%C3%B3stico%20clim%C3%A1tico/Temperatura%20y%20Lluvia/PREC/2019.pdf>)
2. Dobbelaere S., Croonenborghs A., Thys A., Ptacek D., Vanderleyden J., Dutto P., Brener S. (2001). Respuestas de cultivos agrónomicamente importantes a la inoculación con *Azospirillum*. *Functional Plant Biology*, 28 (9), 871-879
3. Esquivel L. A., Lamadrid M. L. J., Díaz M. B., Torres R., Pérez A. E. (2014). Efecto de la fertilización mineral y biológica sobre tres genotipos de frijol común en un suelo Ferralítico Rojo Típico. *Centro Agrícola*, vol. 41, no. 1, pp. 19–23, ISSN 0253-5785, 2012-2001.
4. Fideicomiso de Riesgo Compartido (FIRCO). (2017). El frijol, parte de la trilogía de alimento en el México prehispánico. Recuperado el 2 de junio de 2020, de <https://www.gob.mx/firco/articulos/el-frijol-parte-de-la-trilogia-de-alimento-en-el-mexico-prehispanico?idiom>
5. Instituto Nacional De Investigaciones Forestales, Agrícolas Y Pecuarias (INIFAP), Secretaría De Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca Y Alimentación (SAGARPA), Coordinación De Fundaciones Produce (COFUPRO). (2017). Agenda Técnica Agrícola De Durango. Primera Edición. México.
6. López, B. A.; López, B. S. R.; Vázquez, B. M. E.; Rodríguez, H. S. A.; Mendoza E. M.; Padrón, E. 2005. Inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium oxisporum* Schlechtend f. sp *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen, *Rhizoctonia solani* Kuhn y *Verticillium dahliae* Kleb. Mediante extractos vegetales acuosos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 23 (2) p. 183-190.
7. Martínez G. L., Maqueira L. L., Nápoles G. M. C., Núñez V. M. (2017). Efecto De Bioestimulantes En El Rendimiento De Dos Cultivares De Frijol (*Phaseolus Vulgaris* L.) Biofertilizados. *Cultivos Tropicales*, 2017, vol. 38, no. 2, pp. 113-118
8. Parra Y., Cuevas F. (2001). Potencialidades de *Azospirillum* como inoculante para la Agricultura. *Cultivos Tropicales*, 2001, vol. 23, no. 3, p. 31-41
9. Servicio de Informacion Agroalimentaria Y Pesquera (SIAP). Consultado el 1 de junio de 2020 en https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/437806/Bolet_n_mensual_de_la_produccion_de_frijol_enero_2019.pdf

EFFECTO SINÉRGICO DE CERIO Y SACAROSA EN LA CALIDAD DE VIDA DE FLORERO DE *EUSTOMA GRANDIFLORUM*

Tsujmejy Gómez-Navor y Libia Iris Trejo-Téllez

Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Texcoco, Estado de México, México.
gomez.tsujmejy@colpos.mx ; tlibia@colpos.mx;

RESUMEN

Eustoma grandiflorum es una de las flores de corte mejor clasificada en el mercado nacional e internacional. En México es una especie muy apreciada y con alta demanda, debido a la similitud con la rosa y a sus colores muy vistosos; sin embargo, la vida útil de florero se ha visto limitada por fallas en la apertura floral y el marchitamiento prematuro. La vida de florero se puede mejorar mediante la adición de diversas soluciones preservativas. Los elementos de las tierras raras (REE), como el cerio (Ce), han surgido como una alternativa al ser empleados como tratamientos para alargar la vida de florero. Bajo este contexto, este estudio evaluó el efecto conjunto del cerio y la sacarosa en parámetros de calidad de vida de florero de *lisianthus*. Se emplearon tallos florales de *lisianthus* que contaban con 2 a 3 flores abiertas, se recortaron de manera uniforme a 40 cm, colocándolos en vasos de vidrio que contenían 300 mL de agua destilada. Se evaluaron 12 tratamientos; cuatro concentraciones de Ce (0, 20, 40 y 60 μM) a partir de cloruro de cerio ($\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), combinada con tres concentraciones de sacarosa (0, 3 y 6%) suministradas en la solución florero. Por tanto, se estableció un experimento con arreglo factorial 3 x 4, en un diseño completamente al azar. Cada tratamiento tuvo tres repeticiones. La unidad experimental fue un tallo floral por florero. Por efecto de la interacción, los resultados muestran que, la aplicación de 6% de sacarosa en combinación con 40 o 60 μM Ce, disminuye drásticamente el porcentaje de senescencia temprana en un 42.43 y 37.92%, respectivamente en comparación al testigo. Por otra parte, tallos florales tratados con 40 y 60 μM Ce sin sacarosa, así como aquellos tratados con 3% de sacarosa y sin Ce, aumentaron significativamente el porcentaje de senescencia temprana, en 178.55, 194.39 y 197.13% respectivamente en comparación al testigo. En lo que respecta al porcentaje de flores abiertas, con 6% de sacarosa combinado con 40 o 60 μM Ce, ocurrió mayor apertura floral, superando al testigo en 13.72 y 12.33% respectivamente. Resultados negativos se obtuvieron con los tratamientos sin sacarosa combinados con 40 y 60 μM Ce y 3% sacarosa sin Ce, donde se disminuyó de manera significativa el porcentaje de flores abiertas en un 57.76, 62.88 y 63.73% respectivamente, en comparación al testigo. Por efecto del Ce, no se detectó diferencia significativa en el porcentaje de senescencia temprana y flores abiertas; mientras que, el porcentaje de senescencia temprana disminuyó en un 53.6% y el porcentaje de flores abiertos aumentó en un 60.31% respecto al testigo por efecto de la adición de 6% de sacarosa. Se concluye que el Ce y la sacarosa tienen una interacción sinérgica que mejora aspectos de calidad de la vida de florero en *lisianthus*, al promover la apertura floral y disminuir el marchitamiento prematuro.

INTRODUCCIÓN

Eustoma grandiflorum es una de las flores de corte mejor clasificadas en el mercado nacional e internacional, al poseer gran similitud con la rosa, su color azul-púrpura inigualable, y la introducción de nuevas variedades al mercado con flores rosadas, blancas y malvas (Harbaugh, 2007). Además, esta especie tiene tallos largos y rectos con hasta 10 flores grandes individuales (Bahram *et al.*, 2013). En México, el *lisianthus* se considera un cultivo con alta perspectiva, ya que su producción ocurre durante todo el año y su demanda va en aumento (Cruz-Crespo *et al.*, 2006). Sin embargo, las flores muestran fallas en la apertura floral, baja pigmentación de pétalos, son sensibles al etileno, además de presentar doblamiento del cuello floral (Harbaugh *et al.*, 2000; Cho *et al.*, 2001; Musembi *et al.*, 2015). Se ha informado de varios métodos para aumentar la vida de florero de las flores de corte y mantener su frescura durante un periodo más prolongado. La sacarosa se ha empleado comúnmente para alargar la vida de florero, al proporcionar sustratos para la respiración, promover la apertura floral y retrasar la sensibilidad al etileno (Pun e Ichimura, 2003; Norikoshi *et al.*, 2016).

Los elementos de tierras raras (REE), como el cerio (Ce), han surgido como una novedosa alternativa para ser empleados como tratamientos para alargar la vida de florero ya que puede regular el metabolismo reactivo del oxígeno y la capacidad de retención de agua, así como aumentar el sistema de defensa antioxidante. En la actualidad su estudio sigue siendo muy limitado, ya que solo se reporta para algunas especies de flores como son liliun, rosa y clavel (Shan y Zhao, 2015; Wang *et al.*, 2017; Hou *et al.*, 2018; Zheng y Guo, 2018). Bajo este contexto, este estudio evaluó el efecto conjunto del Ce y la sacarosa en parámetros de calidad de la vida de florero de *lisianthus*.

PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal y establecimiento del experimento

Se emplearon tallos florales de *lisianthus* adquiridos en el mercado de abasto de Texcoco de Mora, que contaban con 2 o 3 flores abiertas. Estos tallos fueron trasladados al laboratorio, en donde se seleccionaron tallos sanos y libres de enfermedades. Los tallos se recortaron uniformemente a 40 cm con un bisturí afilado para evitar el bloqueo de la absorción de agua y se defoliaron las hojas inferiores para evitar su inmersión en la solución de jarrón, inmediatamente se colocaron en vasos de vidrio que contenían 300 mL de agua destilada. Las condiciones de vida de florero fueron temperatura de $21\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ y humedad relativa de 35%.

Tratamiento y diseño experimental

Se evaluaron 12 tratamientos resultantes de la combinación de cuatro concentraciones de Ce (0, 20, 40 y 60 μM) a partir de cloruro de cerio ($\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), y de tres concentraciones de sacarosa (0, 3 y 6%) suministradas en la solución florero. Por tanto, se estableció un experimento con arreglo factorial 4×3 , en un diseño completamente al azar. Cada tratamiento tuvo tres repeticiones. La unidad experimental fue un tallo floral por florero.

Variables evaluadas

Se evaluó el porcentaje de botones florales abiertos y senescencia temprana con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de flores abiertas/senescentes} = \frac{(\text{número de flores abiertas/senescentes}) * 100}{\text{Total de botones florales por tallo}}$$

Análisis de datos

Para determinar si existen diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes tratamientos, se realizó un análisis de varianza. Posteriormente, se realizó la comparación de medias empleando la prueba LSD ($P \leq 0.05$). Los datos obtenidos se analizaron usando el programa estadístico SAS versión 9.4.

RESULTADOS

El Cuadro 1 muestra el porcentaje de senescencia temprana y el porcentaje de flores abiertas en función de la interacción de los factores de estudio (Ce \times sacarosa). Se observa que, el menor porcentaje de senescencia temprana de los botones florales se presentó con la adición de 6% de sacarosa combinado con 40 y 60 μM Ce en la solución de florero, registrándose una disminución del 42.4 y 37.92% respecto al testigo, lo que quiere decir que estos tratamiento promovieron el crecimiento de los botones florales, ayudando a alcanzar su punto máximo de apertura; mientras que, los tallos florales tratados con 0 % sacarosa combinado con 40 y 60 μM Ce y 3% sacarosa sin Ce, mostraron resultados negativos al aumentar significativamente el porcentaje de senescencia temprana, en un 178.55, 194.39 y 197.13% respectivamente en comparación con el testigo, lo que indica que la combinación de estas concentraciones no fueron favorables para esta especie.

Cuadro 1. Porcentaje de senescencia temprana en botones florales y de flores abiertas en *lisianthus* en función de la interacción de la concentración de Ce y sacarosa.

Tratamiento	Ce (mM)	Sacarosa (%)	Senescencia temprana (%)	Flores abiertas (%)
1	0	0	24.44 de	75.55 ab
2	20		47.22 bc	52.77 cd
3	40		68.08 a	31.91 e
4	60		71.95 a	28.04 e
5	0	3	72.59 a	27.40 e
6	20		61.38 ab	38.61 de
7	40		38.79 cd	61.20 bc
8	60		35.60 cd	64.39 bc
9	0	6	28.33 cde	71.66 abc
10	20		40.60 cd	59.39 bc
11	40		14.07 e	85.92 a
12	60		15.12 e	84.87 a

Letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticas de acuerdo con la prueba LSD con $P \leq 0.05$.

En lo que respecta al porcentaje de flores abiertas, con 6% de sacarosa combinado con 40 o 60 μM Ce, ocurrió la mayor apertura floral, superando al testigo en 13.72 y 12.33% respectivamente. Resultados negativos se obtuvieron en ausencia de sacarosa y con 40 y 60 μM Ce y 3% sacarosa sin Ce, donde se disminuyó drásticamente el porcentaje de flores abiertas en un 57.76, 62.88 y 63.73% respectivamente en comparación al testigo (Cuadro 1).

Por otra parte, la adición de diferentes concentraciones de Ce a la solución florero no presentó diferencia significativa en el retraso de la senescencia temprana, ni en el aumento del porcentaje de flores abiertas de *lisianthus* como se observa en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Porcentaje de Senescencia temprana en botones florales y de flores abiertas en *lisianthus* en función de la concentración de cerio.

Ce (μM)	Senescencia temprana (%)	Flores abiertas (%)
0	41.79 a	58.21 a
20	49.73 a	50.26 a
40	40.31 a	59.68 a
60	40.89 a	59.10 a

Letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticas de acuerdo con la prueba LSD con $P \leq 0.05$.

La adición de 0 y 3% de sacarosa no mostraron efectos significativos en el porcentaje de senescencia temprana y flores abiertas, en tanto que, 6% de sacarosa en la solución florero disminuyó el porcentaje de senescencia temprana en 53.6% respecto al testigo y promovió la apertura floral, superando al testigo en un 60.31%.

Cuadro 3. Porcentaje de Senescencia temprana en botones florales y de flores abiertas en *lisianthus* en función al porcentaje de sacarosa.

Sacarosa (%)	Senescencia temprana (%)	Flores abiertas (%)
0	52.92 a	47.07 b
3	52.09 a	47.90 b
6	24.53 b	75.46 a

Letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticas de acuerdo con la prueba LSD con $P \leq 0.05$.

DISCUSIÓN

El porcentaje de flores abierto y senescencia temprana son considerados parámetros que definen la calidad de vida de florero de las flores de corte y en especial la de *lisianthus*. En el presente estudio, se muestra que Ce y la sacarosa tiene una interacción sinérgica al aumentar el número de flores abiertas por tallo y disminuir el porcentaje de senescencia temprana; dichos resultados no se lograron con la aplicación de solo cerio o solo sacarosa. Estos resultados son atribuidos a que, la aplicación de los tratamientos aumentó las sustancias de osmorregulación y la concentración osmótica en los pétalos, por tanto, se mejoró el consumo de agua por el tallo floral, lo que llevo a una mayor expansión celular y se mantuvo la turgencia en los botones florales, por consiguiente, se promovió el porcentaje de apertura floral, tal como lo reportan Hou *et al.* (2018), quienes encontraron que el Ce incrementa el contenido de azúcares solubles y prolina, mejorando la absorción de agua. También se ha informado que la adición exógena de sacarosa reduce el potencial osmótico favoreciendo el movimiento de agua (Asrar, 2012), de igual manera aumenta la concentración de glucosa y fructuosa en pétalos en vacuola lo que conduce a la expansión celular (Norikoshi *et al.*, 2016).

Además, la sacarosa proporciona sustrato para la respiración, contrarrestando la posible falta de carbohidratos por el tallo floral (Pun e Ichimura, 2003; Arrom y Munné-Gosch, 2012); mientras que, el Ce actuó mejorando la actividad de enzimas antioxidantes, eliminando así de manera eficiente las especies reactivas de oxígeno que se generan en la senescencia y que causan degradación de la membrana celular (Wang *et al.*, 2017). Por lo que en este estudio se evidencia que los beneficios de Ce y sacarosa son conjuntos, lo cual mejora la calidad poscosecha de *lisianthus*.

CONCLUSIONES

Se concluye que el Ce y la sacarosa tienen una interacción sinérgica que mejora aspectos de calidad de la vida de florero en *lisianthus*, al promover la apertura floral y disminuir el marchitamiento prematuro. Estos resultados muestran que la combinación de ambos son una opción viable para implementarse como solución preservadora en *lisianthus*, aunque falta realizar más estudios en otras especies de flores de corte para recomendar su uso generalizado en poscosecha.

BIBLIOGRAFÍA

1. W. A. Asrar, "Effects of some preservative solutions on vase life and keeping quality of snapdragon (*Antirrhinum majus* L.) cut flowers", *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, Vol. 11, 1, 2012, pp. 29-35.
2. K. Harbaugh, "Lisianthus". *In*: N.O. Anderson (eds.), *Flower Breeding and Genetics*, (Springer, Dordrecht, 2007) Chapter 24, pp. 644-663.
3. K. Harbaugh, M. L. Bell, and R. Liang, "Evaluation of forty-seven cultivars of *lisianthus* as cut flowers", *HortTechnology*, Vol. 10, 4, 2000, pp. 812-815.
4. Shan, and X. Zhao, "Lanthanum delays the senescence of *Lilium longiflorum* cut flowers by improving antioxidant defense system and water retaining capacity", *Scientia Horticulturae*, Vol. 197, 2015, pp. 516-520.

5. Cruz-Crespo, L. Arévalo-Galarza L, R. Cano-Medrano, and E. A. Gaytán-Acuña, "Soluciones pulso en la calidad postcosecha de lisianthus (*Eustoma grandiflorum* Raf.) cv. 'Echo Blue'", *Agricultura Técnica en México*, Vol. 32, 2, 2006, pp. 191-200.
6. K. Hou, D. Bao, and C. Shan, "Cerium improves the vase life of *Lilium longiflorum* cut flowers through ascorbate-glutathione cycle and osmoregulation in the petals", *Scientia Horticulturae*, Vol. 227, 2018, pp. 142-145.
7. M. C. Cho, F. Celikel, and L. Dodge, "Sucrose enhances the postharvest quality of cut flowers of *eustoma grandiflorum* (raf.) Shinn", *Acta Horticulturae*, Vol. 543, 2001, pp. 305-315.
8. L. Arrom, and S. Munné-Bosch, "Sucrose accelerates flower opening and delays senescence through a hormonal effect in cut lily flowers", *Plant Science*, Vol. 188, 2012, pp. 41-47.
9. M. Zheng, and Y. Guo, "Cerium improves the vase life of *Dianthus caryophyllus* cut flower by regulating the ascorbate and glutathione metabolism", *Scientia Horticulturae*, Vol. 240, 2018, pp. 492-495.
10. N. N. Musembi, M. J. Hutchinson, and K. Waithaka, "The effects of 6-benzylaminopurine and gibberellic acid on postharvest physiology of lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) flowers: I. novel synergism improves water balance and vase life", *Acta Horticulturae*, Vol. 1077, 2015, pp. 47-56.
11. Q. Wang, J. Mu, C. Shan, W. Wang, and S. Fu, "Effects of cerium on the antioxidant defence system in the petals and the contents of pigments in the calyces of *Rosa chinensis* Jacq. cut flower", *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, Vol, 92, 6, 2017, pp. 630-635.
12. R. Norikoshi, T. Shibata, T. Niki, and K. Ichimura, "Sucrose treatment enlarges petal cell size and increases vacuolar sugar concentrations in cut rose flowers", *Postharvest Biology and Technology*, Vol. 116, 2016, pp. 59-65.
13. S. N. Bahram, H. Zakizadeh, Y. Hamidoghli, and M. Ghasemnezha M., "Salicylic acid retards petal senescence in cut lisianthus (*Eustoma grandiflorum* 'Mariachi Grand White') flowers", *Hort. Environ. Biotechnol.*, Vol. 54, 6, 2013, pp. 519-523.
14. U.K. Pun and K. Ichimura, "Role of sugars in senescence and biosynthesis of ethylene in cut flowers", *Japan Agricultural Research Quarterly: JARQ*, Vol. 37, 4, 2003, pp. 219-224.

CERIO MEJORA EL CRECIMIENTO RELATIVO DE MACOLLOS Y EL PESO DE BIOMASA FRESCA DE PLANTAS DE ARROZ

Sara Monzerrat Ramírez-Olvera¹, Fernando Carlos Gómez-Merino¹, Libia Iris Trejo-Téllez¹, Lucero del Mar Ruíz-Posadas¹, Gabriel Alcántar-González¹, Crescenciano Saucedo-Veloz¹, Leonardo Hernández-Aragón², Leticia Tavitas-Fuentes².

¹Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Km 36.5 Carretera México-Texcoco. 56230 Montecillo, Texcoco, Estado de México. ²Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Zacatepec. ramirez.sara@colpos.mx

RESUMEN

El cerio (Ce), es un metal del grupo de las tierras raras, aunque no es esencial para las plantas, puede estimular el crecimiento y otros procesos fisiológicos. Sin embargo, son pocos los estudios sobre su efecto en cultivares mexicanos de arroz. En este contexto el objetivo de esta investigación fue evaluar la aplicación de 0, 25 y 50 μM Ce en el crecimiento de plantas de arroz (*Oryza sativa*) cv. Morelos A-98. Las semillas obtenidas del banco de germoplasma del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias se germinaron en medio Murashige & Skoog con agarosa (3%) y agar (0.8%), se colocaron en oscuridad por 3 d y en luz natural por 11 d. Después las plántulas se transfirieron a un sistema hidropónico con solución Magnavaca, y a los 7 d después del trasplante (ddt) se reemplazó por solución Yoshida. A los 14 ddt se adicionaron los tratamientos consistentes en 0, 25 y 50 μM Ce a partir de CeCl_3 . A los 35 ddt, las plantas se retiraron de la solución nutritiva, se enjuagaron y se registró la altura de vástago, longitud de raíz, número de macollos y peso de biomasa fresca, posteriormente las plantas se colocaron en una estufa de aire forzado (72 °C, 72 h) y se registró el peso de biomasa seca. Con los datos obtenidos se calculó altura relativa de vástago, longitud relativa de raíz, crecimiento relativo de macollos y peso relativo de biomasa fresca y seca, considerando como 100% los datos obtenidos en el tratamiento testigo (sin Ce). Finalmente se realizó un análisis de varianza y prueba de comparación de medias (Duncan, 0.05). La altura relativa de vástago no se modificó con los tratamientos evaluados. Dosis de 25 y 50 μM Ce redujeron significativamente la altura relativa de vástago. El número relativo de macollos aumentó en 26.76% con 50 μM Ce. El peso relativo de biomasa fresca de planta aumentó en 15.05 y 26.38% con la adición de 25 y 50 μM Ce respectivamente, pero el incremento ocasionado por 25 μM Ce no fue significativo. El peso de biomasa seca de planta no fue influenciado por los tratamientos. El Ce modifica el crecimiento de raíz, el número de macollos y el peso de biomasa fresca de plantas de arroz cv. Morelos A-98.

INTRODUCCIÓN

Las tierras raras, son un grupo de elementos caracterizados por su difícil separación y por compartir propiedades químicas muy similares, este grupo constituido por lantano, cerio, praseodimio, neodimio, prometio, samario, europio, gadolinio, terbio, disprosio, holmio, erbio, tulio, iterbio, lutecio, e itrio (Ramos *et al.*, 2016).

El Ce es un elemento abundante en la corteza terrestre, con concentraciones de 60 ppm (Kokare *et al.*, 2010); en el suelo se presenta en concentraciones similares a las de Cu y Zn con rango de 20 a 60 mg kg^{-1} (Liu *et al.*, 2012).

El Ce aplicado a plantas ha mejorado el metabolismo vegetal, al incrementar la altura de plantas de arábidopsis (*Arabidopsis thaliana*) (He y Loh, 2000); arroz (Liu *et al.*, 2012), caupí (*Vigna unguiculata*) (Shyam y Aery, 2012) y maíz (*Zea mays*) (Hu y Shan, 2018). Mejora la longitud de raíz de arábidopsis (He y Loh, 2000), así como el peso de biomasa de espinaca (*Spinacia oleracea*) (Ze *et al.*, 2009), maíz (Hu y Shan, 2018) y lechuga (*Lactuca sativa*) (Barbieri *et al.*, 2013). Además, mejora la actividad antioxidante (Xu *et al.*, 2016), y fotosintética en espinaca (Huang *et al.*, 2008) y maíz (Gong *et al.*, 2011). Por tanto, el Ce es una alternativa para mejorar la productividad de los cultivos, para la población mundial en crecimiento (Pilon-Smits *et al.*, 2009). Sin embargo, el efecto del Ce depende de la concentración y de la especie vegetal. Aunado a esto, son pocos los estudios de su efecto en

el crecimiento de cultivares mexicanos de arroz, los cuales han sido desarrollados para las condiciones edafoclimáticas de México.

En este contexto, el objetivo de esta investigación fue evaluar la aplicación de 25 y 50 μM Ce en el crecimiento vegetativo de plantas de arroz cv. Morelos A-98.

PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal

Las semillas de arroz cv. Morelos A-98 utilizadas en esta investigación, se obtuvieron del banco de germoplasma del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP).

Método de cultivo

En recipientes de vidrio de 250 mL con medio Murashige & Skoog con agarosa (3%) y agar (0.8%) se colocaron las semillas de arroz, y se depositaron en oscuridad por 3 d y a luz natural 11 d. Después, las plántulas de 14 d de edad se retiraron de los frascos y se transfirieron a un sistema hidropónico con solución Magnavaca (1 mM KCl, 1.5 mM NH_4NO_3 , 1 mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 45 μM KH_2PO_4 , 200 μM $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 500 μM $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 155 μM $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 11.8 μM $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 33 μM H_3BO_3 , 3 μM $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.8 μM $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 1 μM $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ y 77 μM Fe-EDTA) por 7 d. Después, se reemplazó por solución Yoshida (1.43 mM NH_4NO_3 , 1.00 mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 1.64 mM $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1.32 mM K_2SO_4 , 320 μM NaH_2PO_4 , 100 μM Fe-EDTA, 7.99 μM $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0.15 μM $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.15 μM $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0.08 μM $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ y 1.39 μM H_3BO_3).

Tratamientos y evaluación de variables respuesta

A los 14 días después del trasplante (ddt), se adicionaron los tratamientos en la solución nutritiva, que consistieron en 0, 25 y 50 μM Ce a partir de CeCl_3 . Después, a los 35 ddt, las plantas se retiraron de la solución nutritiva, se enjuagaron y se registró la altura de vástago, longitud de raíz, número de macollos y peso de biomasa fresca, posteriormente las plantas se colocaron en una estufa de aire forzado (HCF-125, Riossa, México) a 72 °C por 72 h y se registró el peso de biomasa seca en una balanza analítica (Ohaus, AdventurePro, USA). Con los datos obtenidos se calculó la altura relativa de vástago, longitud relativa de raíz, crecimiento relativo de macollos y peso relativo de biomasa fresca y seca, considerando como 100% los datos obtenidos en el tratamiento testigo.

Análisis estadístico

Con los datos obtenidos en las variables respuesta se realizó un análisis de varianza y prueba de comparación de medias (Duncan, 0.05), con el paquete estadístico SAS 9.3 (SAS Institute, 2011).

RESULTADOS

La adición de 25 y 50 μM Ce no modificó significativamente la altura relativa de vástago (Figura 1a). En contraparte se ha informado que la aplicación de 0.1 mM $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$ a plantas de arroz mejora la altura de planta (Liu *et al.*, 2012).

Por otro lado, la longitud relativa de raíz se redujo significativamente en 11.52 y 9.49% con la aplicación de 25 y 50 μM Ce (Figura 1b). Lo cual puede deberse al efecto de Ce en la reducción del índice mitótico de células de la raíz (Xu *et al.*, 2016). Así mismo, se ha reportado que la aplicación de Ce reduce la longitud de raíz de plantas de camote (*Ipomoea batatas*) (Jiang *et al.*, 2017), colza (*Brassica napus*) (Pošćić *et al.*, 2017) y caupí (Shyam y Aery, 2012).

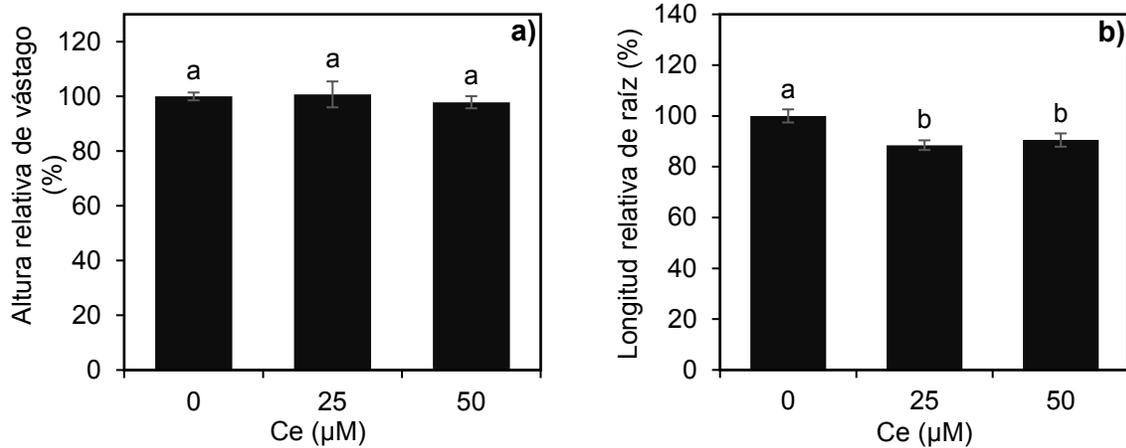


Figura 1. Altura relativa de vástago (a) y longitud relativa de raíz (b) de plantas de arroz tratadas con 25 y 50 μM Ce. Medias \pm DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias estadísticas entre tratamientos (Duncan, $P \leq 0.05$).

El crecimiento relativo de macollos es una variable de suma importancia en el rendimiento y producción de grano (Wang y Li, 2011). En esta investigación, esta variable incrementó significativamente en 26.76% con el tratamiento 50 μM Ce (Figura 2).

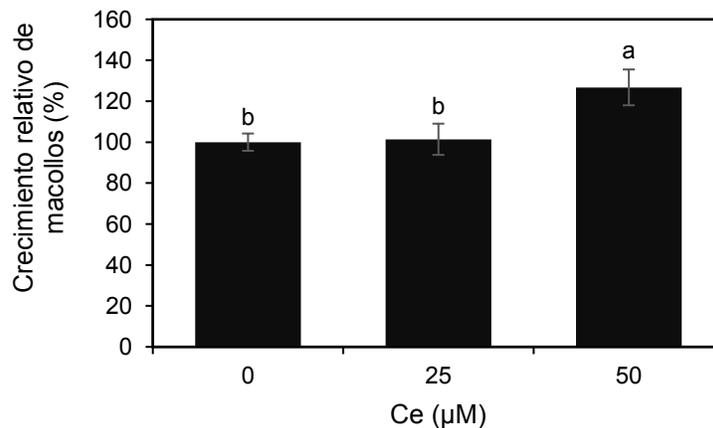


Figura 2. Crecimiento relativo de macollos de plantas de arroz tratadas con 25 y 50 μM Ce. Medias \pm DE con letras distintas indican diferencias estadísticas entre tratamientos (Duncan, $P \leq 0.05$).

El tratamiento 25 μM Ce no modificó significativamente el peso relativo de biomasa fresca de planta, mientras que la concentración 50 μM Ce lo incrementó en 26.38% (Figura 3). De manera coincidente, la aplicación de Ce mejoró el peso de biomasa fresca en plantas de espinaca (Yin *et al.*, 2009).

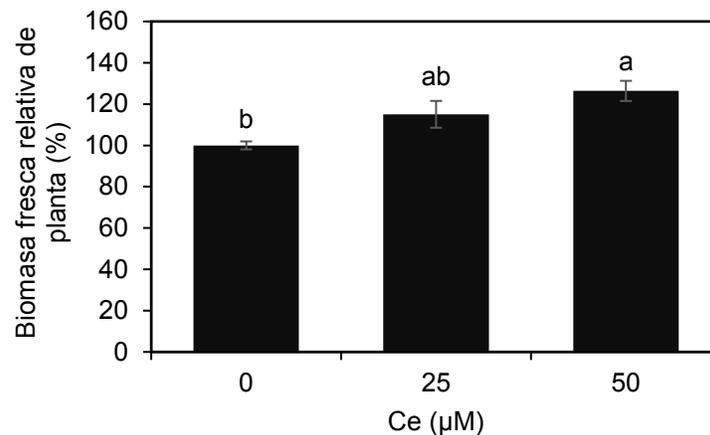


Figura 3. Peso relativo de biomasa fresca de plantas de arroz tratadas con 25 y 50 µM Ce. Medias \pm DE con letras distintas diferencias estadísticas entre tratamientos (Duncan, $P \leq 0.05$).

El peso de biomasa seca se relaciona con la actividad fotosintética, donde se ha reportado que el Ce mejora este proceso, al aumentar la tasa de transporte de electrones (Zhou *et al.*, 2011); la tasa de evolución del oxígeno (Zhao *et al.*, 2012), y la actividad de la enzima RUBISCO (Gong *et al.*, 2011). Sin embargo, los resultados de esta investigación no mostraron efectos significativos en el peso de biomasa seca con la aplicación de 25 y 50 µM Ce (Figura 4).

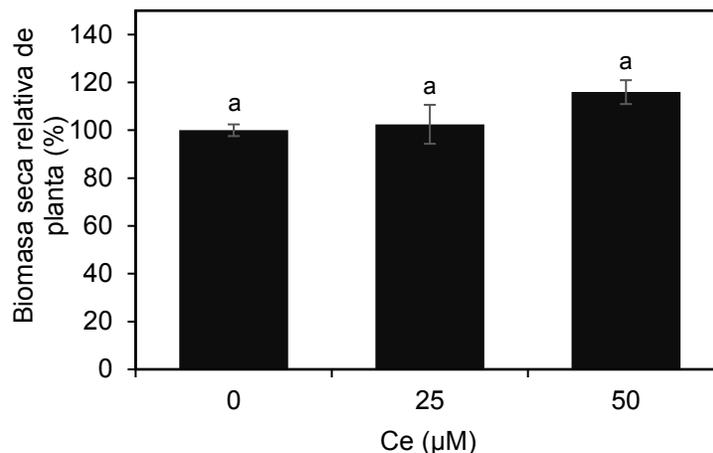


Figura 4. Peso relativo de biomasa seca de plantas de arroz tratadas con 25 y 50 µM Ce. Medias \pm DE con letras distintas indican diferencias estadísticas entre tratamientos (Duncan, $P \leq 0.05$).

CONCLUSIONES

La aplicación de 25 y 50 µM Ce a plantas de arroz cv. Morelos A-98, no modifica la altura relativa de planta, ni el peso relativo de biomasa seca. En tanto, que su aplicación reduce la longitud relativa de raíz. Mientras que la concentración 50 µM Ce, aumenta el crecimiento relativo de macollos y el peso relativo de biomasa fresca de planta.

BIBLIOGRAFÍA

1. 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. N. Kokare, A. M. Mandhare, M. A. Anuse, "Liquid-Liquid extraction of cerium (IV) from salicylate media using n-7v-octylaniline in xylene as an extractant", *J. Chil. Chem. Soc.* Vol. 55, 4, 2010, pp. 431-435.
3. 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. A. Pilon-Smits, C. F. Quinn, W. Tapken, M. Malagoli, M. Schiavon, "Physiological functions of beneficial elements", *Curr. Opin. Plant Biol.* Vol. 12, 3, 2009, pp. 267-274.
5. Pošćić, H. Schat, L. Marchiol, "Cerium negatively impacts the nutritional status in rapeseed", *Sci. Total Environ.* Vol. 593, 2017, pp. 735-744.
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. H. Huang, X. Liu, C. Qu, C. Liu, L. Chen, F. Hong, "Influences of calcium deficiency and cerium on the conversion efficiency of light energy of spinach", *Biometals.* Vol. 21, 5, 2008, pp. 553-561.
8. H. Zhao, Q. Zhou, M. Zhou, C. Li, X. Gong, C. Liu, F. Hong, "Magnesium deficiency results in damage of nitrogen and carbon cross-talk of maize and improvement by cerium addition", *Biol. Trace Elem. Res.* Vol. 148, 1, 2012, pp. 102-109.
9. J. Jiang, J. Hu, Z. Xie, Q. Cao, D. Ma, Y. Han, Z. Li, "The trivalent cerium-induced cell death and alteration of ion flux in sweetpotato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam]", *J. Rare Earth.* Vol. 35, 12, 2017, pp. 1273-1282.
10. M. Zhou, X. Gong, Y. Wang, C. Liu, M. Hong, L. Wang, F. Hong, "Improvement of cerium of photosynthesis functions of maize under magnesium deficiency", *Biol. Trace Elem. Res.* Vol. 141, 3, 2011, pp. 760-772.
11. Q. M. Xu, Y. Z. Wang, H. Liu, J. S. Cheng, "Physiological responses and chromosomal aberration in root tip cells of *Allium sativum* L. to cerium treatments", *Plant Soil* Vol. 409, 2016, pp. 447-458.
12. 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.
13. 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, 1, 2016, pp. 28-50.
14. S. Yin, Y. Ze, C. Liu, N. Li, M. Zhou, Y. Duan, F. Hong, "Cerium relieves the inhibition of nitrogen metabolism of spinach caused by magnesium deficiency", *Biol. Trace Elem. Res.* Vol. 132, 2009, pp. 247-258.
15. SAS Institute. "Statistical Analysis System version 9.3. User's Guide", Cary, NC. 2011.
16. X. Gong, M. Hong, Y. Wang, M. Zhou, J. Cai, C. Liu, F. Hong, "Cerium relieves the inhibition of photosynthesis of maize caused by manganese deficiency", *Biol. Trace Elem. Res.* Vol. 141, 2011, pp. 305-316.
17. 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.
18. Y. Ze, S. Yin, Z. Ji, L. Luo, C. Liu, F. Hong, "Influences of magnesium deficiency and cerium on antioxidant system of spinach chloroplasts", *Biometals* Vol. 22, 6, 2009, pp. 941-949.
19. Y. Wang, J. Li. Branching in rice. *Curr. Opin. Plant Biol.* Vol. 14, 1, 2011, pp. 94-99.

COMPARACIÓN DE CARACTERÍSTICAS DE CONFORMACIÓN LINEAL EN SIETE RAZAS 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.
e.aguirrearrollo@ugto.mx

RESUMEN

Las características de conformación lineal son de interés para los criadores por su relación directa con la resistencia a enfermedades, producción, rentabilidad y longevidad, ya que las cabras con más tiempo dentro del rebaño permiten disminuir los costos relacionados con los reemplazos, aumentar el rendimiento acumulado de la leche, reducir el intervalo entre generaciones e incrementar el progreso genético. En los Estados Unidos de América un bajo puntaje posterior a la evaluación de las características de conformación lineal es uno de los principales criterios que determinan el desecho de una cabra del rebaño. El objetivo del presente estudio fue comparar las características de conformación lineal de siete razas de cabras de Estados Unidos de América. Se utilizó un archivo depurado de 24,650 registros que contenían solo primeras calificaciones de conformación. Las características de conformación evaluadas fueron 14 incluyendo puntos finales. Se realizó un análisis descriptivo y una prueba de Bartlett con la finalidad de analizar la heterogeneidad de varianzas dentro de raza para todas las características de conformación. Posteriormente se realizó un análisis de varianza con un diseño factorial para evaluar la influencia de los factores: raza, rebaño, año-época de parto, tercio de lactación a la apreciación y tercio de lactancia, sobre las características de conformación y puntos finales, adicionalmente se incluyeron como covariables la edad a la apreciación y la edad al parto. Posteriormente las medias de los factores principales se compararon usando la prueba de Tukey, considerando una $P < 0.05$ como significativa. En los estadísticos descriptivos se observó que las CCL que mostraron mayor coeficiente de variación fueron colocación de pezones vistos de atrás, diámetro de pezones y arco de ubre posterior, con 41.3, 31.1 y 27.9%, respectivamente. Los resultados de la prueba de Bartlett mostraron que la mayoría de las CCL tuvieron varianzas fenotípicas diferentes entre razas ($P < 0.01$ y $P < 0.05$). En los resultados del análisis de varianza se observó que los factores rebaño, año-época de parto, raza, tercio de lactancia a la apreciación, tercio de lactancia, edad al parto y edad a la apreciación, resultaron altamente significativos para la mayoría de CCL ($P < 0.01$ y $P < 0.05$). Las características estatura, fortaleza, ligamento medio suspensorio y carácter lechero fueron afectadas significativamente por la edad de la cabra al parto ($P < 0.05$). En la comparación de medias se observó que la mayoría de las CCL mostraron diferencias altamente significativas entre razas ($P < 0.01$), en particular, para la raza Enana nigeriana las características de ubre tuvieron un puntaje bajo respecto a las otras razas.

INTRODUCCIÓN

El mejoramiento genético en cabras lecheras se efectúa con base en la selección de múltiples características, dentro de las cuales están los rasgos productivos y los de conformación (Valencia y Montaldo, 2003; Montaldo y Manfredi, 2002), con la finalidad de incrementar la eficiencia económica de los animales para producir y mejorar su valor en el mercado (Valencia *et al.*, 2008). El potencial productivo de las cabras modernas depende de la habilidad que tenga el criador para combinar las características de producción y de conformación seleccionadas en sus animales (Valencia y Montaldo, 2003).

Las características de conformación lineal (CCL), también llamadas características de tipo son aquellas que ayudan a un animal a realizar con éxito sus funciones (ADGA, 1993). Estos rasgos son la base de los sistemas de apreciación en el cual se califican individualmente, de tal manera que la variación entre los rasgos es identificable y se registra el grado de deseabilidad. Estas características son lineales y se encuentran en un rango biológico, es decir, a ser rasgo único, heredable, de valor económico, que beneficia o retrasa el mejoramiento genético y medible (ICAR, 2017).

Las CCL son de interés para los criadores por su relación directa con la resistencia a enfermedades (CGS, 2000), producción, rentabilidad (Brotherstone, 1994) y longevidad, asociada con aspectos económicos, al estar involucrada con la permanencia de un animal en el rebaño, ya que las cabras con más tiempo dentro del rebaño permiten disminuir los costos relacionados con los reemplazos, aumentar el rendimiento acumulado de la leche, reducir el intervalo entre generaciones e incrementar el progreso genético (Tsuruta *et al.*, 2005; Castañeda-Bustos *et al.*, 2017). Por otra parte, un bajo puntaje posterior a la evaluación de las CCL es uno de los principales criterios que determinan el desecho de una cabra del rebaño (Castañeda-Bustos *et al.*, 2014), por ejemplo, la Sociedad Canadiense de la Cabra menciona como la razón más frecuente, los problemas de patas (CGS, 2017).

En la Asociación Americana de Cabras Lecheras (ADGA) se clasifican rutinariamente las cabras usando el mismo sistema de apreciación lineal para las diferentes razas, para posteriormente realizar las evaluaciones genéticas de estos animales. Debido a la escasa información relacionada a la comparación de características de conformación entre las razas caprinas lecheras Nubia, Alpina, LaMancha, Toggenburg, Saanen, Oberhasli y Enana nigeriana, es necesario llevar a cabo investigaciones para profundizar en su conocimiento, con el fin de establecer programas de mejoramiento genético eficientes por raza en poblaciones de cabras. El objetivo del presente estudio fue comparar características de conformación lineal de siete razas de cabras de Estados Unidos de América.

TEORÍA

Una de las primeras escalas para evaluar las CCL de cabras lecheras de diferentes razas desde 1988 fue desarrollada por la ADGA, la cual reconoce la necesidad de un sistema de evaluación lineal para rasgos de tipo individuales, estructurales y funcionales, beneficiando la mejora genética de los animales a través de la selección (Luo *et al.*, 1997). Este sistema se puede aplicar uniformemente y comienza con la evaluación de trece características primarias y una característica secundaria que el evaluador usa para calificar la conformación funcional, en una escala lineal de 1 a 50 puntos (Cuadro 1) (ADGA, 2014).

Cuadro 1. Características de conformación lineal que evalúa la Asociación Americana de Cabras Lecheras.

Forma	Características primarias		Características secundarias
	Estructura	Ubre	
Estatura	Ángulo de la cadera	Ligamento delantero de la ubre	Ubre posterior vista de lado
Fortaleza	Ancho de la cadera	Altura de la ubre posterior	
Carácter lechero	Patras traseras vistas de lado	Arco de la ubre posterior	
		Ligamento medio suspensorio	
		Profundidad de la ubre	
		Colocación de pezones	
		Diámetro de los pezones	

(ADGA, 2014).

Posteriormente se evalúan las áreas estructurales y funcionales de cabeza, hombros, patas delanteras, patas traseras, pezuñas, lomo, grupa y ubre, que el evaluador califica y representa con un símbolo (Cuadro 2) (ADGA, 2014).

Cuadro 2. Sistema de puntuación de áreas estructurales y funcionales de la Asociación Americana de Cabras Lecheras.

Categoría	Símbolo	Porcentaje de la puntuación (%)
Excelente	E	Al menos 90 % del ideal
Extremadamente correcto	EC	90 % del ideal (aplica para machos jóvenes)
Muy bueno	MB	85 a 90 % del ideal
Mas bueno	+	80 a 84 % del ideal
Aceptable	A	70 a 79 % del ideal
Regular	R	60 a 69 % del ideal
Pobre	P	60 % o menos del ideal

(ADGA, 2014).

La tercera parte del sistema de apreciación evalúa al animal en función de su aspecto general, carácter lechero, capacidad del cuerpo, sistema mamario, siendo diferente para machos y hembras (Cuadro 3) y se expresa en el cuadro de resultados con un símbolo (Cuadro 2).

El último paso en la evaluación implica la determinación de un puntaje final (PFI) para el animal en un rango de 50 a 99 puntos. Cada categoría principal contribuye al puntaje final (Cuadro 3) (ADGA, 2014).

Cuadro 3. Sistema de evaluación de caprinos por categoría de la Asociación Americana de Cabras Lecheras.

Categoría	Porcentaje de la puntuación (%)	
	Hembra	Macho
Aspecto general	35	55
Carácter lechero	20	30
Capacidad del cuerpo	10	15
Sistema mamario	35	

(ADGA, 2014).

El informe final contiene información de: número de registro, nombre, tatuaje, sexo, fecha de nacimiento, número de lactancia, puntuaciones de los trece rasgos lineales principales, puntuación del rasgo lineal secundario, la evaluación para ocho áreas estructurales, observaciones y comentarios (por ejemplo: pezones extras, doble orificio de pezón, hernia de ombligo y testículos anormales), evaluación de cuatro categorías generales y puntuación final (ADGA, 2014).

Sin embargo, solo los puntajes de rasgos lineales y el puntaje final del animal son parte de la base de datos de la evaluación lineal computarizada, que se utiliza para desarrollar evaluaciones genéticas y resúmenes de sementales; las áreas estructurales y las categorías mayores se incluyen para proporcionar al propietario del rebaño información individual sobre los animales que se evalúan, con fines de mercadotecnia y publicidad de los rebaños y de sus propietarios (ADGA, 2014).

La metodología empleada para evaluar las CCL y la adjudicación de los grados de clasificación varía por especie y en cada país dependiendo de los objetivos de mejora, es así como los puntajes de clasificación deben ser considerados en el contexto de una raza, el objetivo de producción y el sistema de producción (ICAR, 2017).

PARTE EXPERIMENTAL

Se utilizó un archivo de calificaciones de cabras de CCL de la ADGA, que contenía 42,729 registros individuales, de primera lactancia, de las razas Nubia, Alpina, LaMancha, Toggenburg, Saanen, Oberhasli y Enana nigeriana, correspondientes al periodo de 1981 a 2015, procesados por el Laboratorio de Programas de Mejoramiento Animal del Servicio de Investigación Agrícola del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América, que certifica los registros de producción de leche y las evaluaciones genéticas, los cuales contaban con información de producción y de conformación.

La información de interés para el presente estudio fue: identificación del animal (ID), raza, rebaño, fecha de nacimiento, fecha de parto e información de conformación, la cual incluyó 13 CCL: estatura (EST), fortaleza (FOR), carácter lechero (CLE), ángulo de la cadera (ACA), ancho de la cadera (ANC), ligamento delantero de la ubre (LDU), altura de la ubre posterior (ALU), arco de ubre posterior (ARU), patas traseras vistas de lado (PTL), profundidad de la ubre (PDU), diámetro de pezones (DPE), colocación de los pezones (CPE), ligamento medio suspensorio (LMS), las cuales fueron evaluadas en una escala de 1 a 50 puntos, también contenía los puntos finales (PFI) evaluados en una escala de 50 a 99 puntos y la fecha de la apreciación lineal. Las 13 características de conformación lineal y los puntos finales fueron previamente corregidos para la edad a la apreciación (Wiggans, 2006).

Posteriormente, se calculó la edad al parto en meses (EME), restando la fecha de parto a la fecha de nacimiento y el resultado se dividió entre 30.5; de forma similar se calculó la edad a la apreciación en meses (EAP) (Castañeda-Bustos *et al.*, 2014) y los días transcurridos entre la fecha de parto y la fecha de apreciación lineal.

Para garantizar la calidad en la obtención de los resultados, se efectuó una depuración del archivo, considerando como criterios de eliminación registros erróneos e incompletos y registros de animales de primera lactación con una calificación de tipo y una segunda recalificación. Se eliminaron las recalificaciones de las cabras ya que esto propicia sesgos debido a que la recalificación de una cabra obligadamente debe tener mayor calificación que en la primera calificación (Valencia y Montaldo, 2003). También se eliminaron cabras que tuvieron menos de 10 meses de edad al parto en su registro productivo de primera lactancia (Iloeje *et al.*, 1981) y registros que al ajustarse la edad a la apreciación excedían la puntuación de 1 a 50 para las características de conformación lineal (Castañeda-Bustos *et al.*, 2017), resultando un archivo final de 24,650 registros de razas Nubia (n= 6,989), Alpina (n= 6,573), LaMancha (n= 3,433), Toggenburg (n= 3,265), Saanen (n= 2,916), Oberhasli (n= 981) y Enana nigeriana (n= 493), distribuidos en 2,435 hatos.

Posteriormente se realizó un análisis de medidas de tendencia central y medidas de dispersión para edad al parto, edad a la apreciación, trece características de conformación lineal primarias y puntos finales.

Con el objetivo de analizar la existencia de heterogeneidad de varianzas dentro de las características de conformación lineal por raza, se realizó la prueba de Bartlett, mediante el programa de análisis estadístico Statgraphics Centurion Versión 16.1.

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con un diseño factorial para evaluar el efecto de la raza y diversos factores ambientales sobre las CCL, los cuales se describen más adelante en esta misma sección; las medias de los factores principales se compararon usando la prueba de Tukey, considerando una $P < 0.05$ como significativa. Se evaluó la heterogeneidad de varianzas para la raza y para las CCL. Los análisis se realizaron con el programa de análisis estadístico JMP® Statistical Analysis System.

Previo a los análisis y debido a la estacionalidad reproductiva de la especie caprina, se definieron cuatro niveles para la época de parto (EPO), tratando de mantener un adecuado número de observaciones en cada nivel; nivel 1: cabras que parieron en el mes de marzo (n= 6,942); nivel 2: cabras que parieron en el mes de abril (n= 6,291); nivel 3: cabras que parieron en los meses de mayo a julio (n= 5,548) y nivel 4: cabras que parieron en los meses de agosto a febrero (n= 5,869) (Castañeda-Bustos *et al.*, 2017).

Con el año de parto, se calculó el número de partos por año y se determinaron niveles, los únicos años que se unieron para formar un nivel fueron de 1981 a 1985 (751 registros) y los años 2014 y 2015 (881 registros), finalmente se determinaron 30 niveles, esto con el objeto de mantener un adecuado número de datos para cada nivel, posteriormente se generó un factor que combinó el año de parto y la época de parto. Se generó el factor número de rebaño (2,435 niveles para el factor rebaño) y el factor raza (correspondiente a siete niveles, uno por raza).

Se estimaron los días entre el parto y la apreciación, y a partir de éstos, se generó una nueva fuente de variación llamada tercio de lactancia a la apreciación; la distribución de los datos se hizo intentando mantener un adecuado número de registros por cada nivel: primer tercio (1): de 1 a 110 días de lactancia (n= 8,218); segundo tercio (2): de 111 a 307 días en lactancia (n= 8,213) y tercer tercio (3): ≥ 308 días en lactancia (n= 8,219).

Las variables dependientes fueron las 13 características de tipo: estatura, fortaleza, carácter lechero, ángulo de la cadera, ancho de la cadera, patas traseras vistas de lado, ligamento delantero de la ubre, altura de la ubre posterior, arco de la ubre posterior, ligamento medio suspensorio, profundidad de la ubre, colocación de pezones, diámetro de los pezones y se incluyó como variable de respuesta el rasgo puntos finales. Las variables independientes fueron el factor rebaño, año-época de parto, raza, tercio de lactancia a la apreciación, tercio de lactancia y se utilizaron como covariables lineales la edad a la apreciación lineal y la edad al parto.

El modelo estadístico que se utilizó fue:

$$Y_{i,j,\kappa,l,m} = \bar{X} + RE_i + A - E_j + RA_\kappa + TA_l + TL_m + \beta_1(X_i - \bar{X}) + \beta_2(X_i - \bar{X}) + e_{i,j,\kappa,l,m}$$

Dónde:

$Y_{i,j,\kappa,l,m}$ = n-ésima observación de una cabra para cada característica lineal: puntos finales, estatura, fortaleza, carácter lechero, ángulo de la cadera, ancho de la cadera, patas traseras vistas de lado, ligamento delantero de la ubre, altura de la ubre posterior, arco de la ubre posterior, ligamento medio suspensorio, profundidad de la ubre, colocación de pezones y diámetro de los pezones, correspondientes al i -ésimo rebaño, el j -ésimo año-estación de parto, la κ -ésima raza, en el l -ésimo tercio de lactancia a la apreciación y el m -ésimo tercio de lactancia,

\bar{X} = media aritmética para la característica de conformación evaluada, según se el caso,

RE_i = i -ésimo rebaño,

$A - E_j$ = j -ésimo año-época de parto,

RA_κ = κ -ésima raza,

TA_l = l -ésimo tercio de lactancia a la apreciación,

TL_m = m -ésimo tercio de lactancia,

$\beta_1(X_i - \bar{X})$ = covariable lineal edad a la apreciación,

$\beta_2(X_i - \bar{X})$ = covariable lineal edad al parto y

$e_{i,j,\kappa,l,m}$ = error aleatorio o residual.

RESULTADOS

Los estadísticos descriptivos para las CCL de este estudio se muestran en el cuadro 4, se puede observar que las características que mostraron mayor coeficiente de variación fueron colocación de pezones vistos de atrás, diámetro de pezones y arco de ubre posterior, con 41.3, 31.1 y 27.9%, respectivamente. Estos puntajes dependen de la funcionalidad asociada a la escala biológica y a los criterios de los jueces.

Se observó que la característica colocación de pezones obtuvo el menor promedio respecto a los promedios estimados para las CCL de todas las razas, con una puntuación de 17.1; esta característica se evalúa en relación con la distancia que existe entre los pezones con el centro de la ubre dividiéndola en tercios; por lo tanto, esta característica se relaciona con la facilidad de ordeño y con la susceptibilidad a las lesiones. La característica con el mayor promedio para todas las razas fue altura de la ubre posterior (34.5 puntos), correspondiendo a una ubre de entre altura intermedia, a extremadamente alta.

En lo general las medias de las CCL para las cabras de este estudio están dentro de una puntuación intermedia, sin embargo, se encontraron por debajo de las registradas por Valencia-Posadas *et al.* (2017) para una muestra de cabras Saanen, Toggenburg y Alpina de México (n= 643) y también de una muestra de cabras de los Estados Unidos de América (n= 439).

Cuadro 4. Estadísticos descriptivos de las características de conformación en cabras de los Estados Unidos de América (n=24,650).

Característica	Mínimo	Máximo	\bar{x}	DE	CV (%)
Edad al parto	10	97	16.6	5.9	35.5
Edad a la apreciación	10	217	28.3	16.1	56.8
Estatura	1	50	24.7	7.1	29
Fortaleza	6.6	50	27.6	4.2	15.3
Carácter lechero	4.9	48.7	32.6	4.2	13
Ángulo de la cadera	2.7	50	29.9	5.7	19
Ancho de la cadera	4.1	49.5	27.2	4.6	17
Patas traseras vistas de lado	1.9	44.3	27.1	3.5	13.1
Ligamento delantero de la ubre	1	50	31.4	5	15.9
Altura de la ubre posterior	1.9	50	34.5	6.2	18
Arco de ubre posterior	1	48.2	23.3	6.5	27.9
Ligamento medio suspensorio	2	49.5	26.2	5.2	20.1
Profundidad de la ubre	1	50	31.3	6	19.2
Colocación de los pezones	1	49.2	17.1	7	41.3
Diámetro de pezones	1	49.8	21.7	6.7	31.1
Puntos finales	54.5	92.5	83.6	4	4.8

\bar{x} = media aritmética, DE= desviación estándar y CV (%) = coeficiente de variación expresado en porcentaje.

Los resultados de la prueba de homogeneidad de varianzas de Bartlett entre razas para las 13 CCL se muestran en los cuadros 5 y 6.

En el Cuadro 5 se puede observar que la raza Toggenburg no tuvo diferencias significativas ($P > 0.05$), respecto a la raza Alpina, situación opuesta a la de la raza Enana nigeriana, en la cual se observaron diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) en las puntuaciones con respecto a las razas Alpina y Saanen, para estatura, fortaleza y carácter lechero.

Se observó que la raza Toggenburg fue significativamente diferente ($P < 0.01$) que la raza Enana nigeriana para las características de forma (estatura, fortaleza y carácter lechero). Las puntuaciones para estatura fortaleza y carácter lechero de la raza Nubia fueron significativamente diferentes ($P < 0.01$) que las razas Alpina y Saanen.

En cuanto a las características de estructura (Cuadro 5) se encontraron diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) entre las razas Enana nigeriana y Alpina; las razas Saanen y LaMancha fueron diferentes para las características de ángulo de cadera, ancho de cadera y patas traseras vistas de lado. La raza Nubia tuvo diferencias significativas ($P < 0.01$) con las razas Alpina y Enana nigerina para las características de estructura, situación similar a la raza Toggenburg, que fue significativamente diferente ($P < 0.01$) a las razas Alpina, Saanen y Nubia.

Otra raza con diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) fue la raza Oberhasli en relación con las razas Alpina y Enana nigeriana para las características de estructura, sin embargo, la raza Oberhasli y Nubia no tuvieron diferencia significativa para la característica patas traseras vistas de lado en relación con las razas Saanen y LaMancha.

Cuadro 5. Nivel de significancia para la prueba de Bartlett de homogeneidad de varianza entre razas para las características de forma y estructura (n=24,650).

CA	Raza	EN	LN	ND	NU	OH	TO	CA	EN	LN	ND	NU	OH	TO
EST	AL	**	NS	**	**	*	NS	ACA	NS	NS	**	**	**	**
	EN		**	**	**	**	NS			**	**	**	*	**
	LN			*	NS	NS	NS				**	**	**	NS
	ND				NS	NS	**				**	**	**	**
	NU					NS	**						**	**
	OH						*							**
FOR	AL	**	**	**	**	NS	NS	ANC	**	**	**	**	**	**
	EN		**	**	**	**	**			**	**	**	**	**
	LN			**	NS	NS	NS				**	**	NS	NS
	ND				**	**	**					**	**	**
	NU					NS	NS						**	**
	OH						NS							NS
CLE	AL	NS	**	**	**	NS	NS	PTL	*	NS	**	**	**	**
	EN		*	**	**	NS	*			NS	**	NS	NS	**
	LN			**	**	**	**				**	NS	NS	**
	ND				**	**	**					**	**	**
	NU					**	**						NS	**
	OH						NS							NS

CA= característica, AL= Alpina, EN= Saanen, LN= LaMancha, ND= Enana nigeriana, NU= Nubia, OH= Oberhasli, TO= Toggenburg, **= diferencia altamente significativa (P<0.01), *= diferencia significativa (P<0.05), NS= no significativa (P>0.05), EST= estatura, FOR= fortaleza, CLE= carácter lechero ACA= ángulo de la cadera, ANC= ancho de la cadera y PTL= patas traseras vistas de lado.

Para las características de ubre (Cuadro 6) en especial el ligamento delantero de ubre, ligamento medio suspensorio y colocación de los pezones, la raza Enana nigeriana tuvo diferencias altamente significativas (P<0.01) con el resto de las razas estudiadas. Se observó que, para ligamento delantero de ubre, no se encontraron diferencias significativas (P>0.05) entre las razas Alpina con Oberhasli, Saanen con Toggenburg y Toggenburg con Nubia.

Otra raza con diferencias altamente significativas (P<0.01) fue la Nubia para las características ligamento delantero de ubre, altura de la ubre posterior, profundidad de la ubre, diámetro de pezones y colocación de los pezones, con respecto a las razas Alpina, Saanen, LaMancha y Enana Nigerina. Una de las consideraciones más importantes dentro de las características de ubre es el ligamento medio suspensorio, debido a que la ubre puede tornarse pendular en cabras con altos rendimientos, que en algunos casos puede dar como resultado el sacrificio involuntario de una cabra a edades tempranas (Valencia y Montaldo, 2003). En este estudio la raza Saanen tuvo diferencias significativas (P<0.01) en cuanto al resto de las razas estudiadas. Por otra parte, no fueron significativamente diferentes (P>0.05) las razas Alpina con Nubia, Alpina con Oberhasli, LaMancha con Oberhasli, Toggenburg con LaMancha, Oberhasli con Nubia y Oberhasli con Toggenburg para la característica ligamento medio suspensorio.

El rasgo puntos finales fue significativamente diferente (P<0.05) entre la raza Enana nigeriana y el resto de las razas. La raza Oberhasli no obtuvo diferencias significativas (P>0.05) con las razas Alpina, Saanen y Nubia.

Cuadro 6. Nivel de significancia para la prueba de Bartlett de homogeneidad de varianza entre razas para las características de ubre y puntos finales (n=24,650).

CA	RA	EN	LN	ND	UN	OH	TO	CA	EN	LN	ND	NU	OH	TO
LDU	AL	**	**	**	**	NS	**	ALU	**	NS	NS	**	**	**
	EN		**	**	*	**	NS			**	NS	**	NS	**
	LN			**	**	**	**				NS	**	**	**
	ND				**	**	**					*	NS	**
	NU					**	NS						NS	**
	OH						**							**
ARU	AL	NS	NS	**	NS	**	NS	LMS	**	**	**	NS	NS	**
	EN		NS	**	NS	**	NS			**	**	**	**	**
	LN			**	NS	**	NS				**	**	NS	NS
	ND				**	NS	**					**	**	**
	NU					**	NS						NS	**
	OH						**							NS
CPE	AL	**	NS	**	*	NS	**	PDU	NS	NS	NS	**	NS	NS
	EN		*	**	**	*	NS			**	NS	**	NS	NS
	LN			**	**	NS	**				NS	**	NS	NS
	ND				**	**	**					**	NS	NS
	NU					NS	**						**	**
	OH						*							NS
DPE	AL	*	**	NS	**	*	**	PFI	NS	**	**	*	NS	**
	EN		NS	*	**	**	NS			**	**	*	NS	**
	LN			**	**	**	NS				*	**	**	NS
	ND				**	NS	**					**	**	*
	NU					**	**						NS	**
	OH						**							**

CA= característica, RA= raza, AL= Alpina, EN= Saanen, LN= LaMancha, ND= Enana nigeriana, NU= Nubia, OH= Oberhasli, TO= Toggenburg, **= diferencia altamente significativa (P<0.01), *= diferencia significativa (P<0.05), NS= no significativa (P>0.05), LDU= ligamento delantero de la ubre, ALU= altura de la ubre posterior, DPE= diámetro de pezones, ARU= arco de ubre posterior, LMS= ligamento medio suspensorio, PDU= profundidad de la ubre, CPE= colocación de los pezones y puntos finales.

En los resultados de los análisis de varianza con diseño factorial (Cuadro 7) se puede observar que la mayoría de las fuentes de variación (rebaño, año-época de parto, raza, tercio de lactancia a la apreciación, tercio de lactancia, edad al parto y edad a la apreciación), resultaron altamente significativos (P<0.01) para la mayoría de CCL y PFI. El tercio de lactancia a la apreciación y la edad al parto fueron significativos (P<0.05) para la mayoría de las características, excepto para ligamento delantero de ubre y patas traseras vistas de lado (P>0.05). Se observó que la característica arco de ubre posterior no fue significativo respecto a la edad al parto y la edad a la apreciación. Las características estatura, fortaleza, ligamento medio suspensorio y carácter lechero fueron afectadas significativamente por la edad de la cabra al parto (P<0.05).

Cuadro 7. Nivel de significancia en las fuentes de variación evaluadas en el análisis de varianza para las características de conformación lineal (n= 24,650).

Característica	Rebaño	Año-época de parto	Raza	TL	TA	EP	EA
Estatura	**	**	**	**	**	**	**
Fortaleza	**	**	**	**	**	**	NS
Carácter lechero	**	**	**	**	**	**	NS
Ángulo de la cadera	**	**	**	**	**	**	**
Ancho de la cadera	**	**	**	**	**	**	**
Patas traseras vistas de lado	**	**	**	**	NS	NS	**
Ligamento delantero de la ubre	**	**	**	**	NS	NS	**
Altura de la ubre posterior	**	**	**	**	NS	**	**
Arco de ubre posterior	**	**	**	**	**	NS	NS
Ligamento medio suspensorio	**	**	**	**	**	*	**
Profundidad de la ubre	**	**	**	**	**	NS	**
Colocación de los pezones	**	**	**	NS	**	**	**
Diámetro de pezones	**	**	**	NS	**	**	NS
Puntos finales	**	**	**	**	**	NS	**

TL= tercio de lactancia, TA= tercio de lactancia a la apreciación, EP= edad al parto, EA= edad a la apreciación **= diferencia altamente significativa (P<0.01), *= diferencia significativa (P<0.05) y NS= no significativa (P>0.05).

En el Cuadro 8 se presentan las comparaciones de medias para las CCL por raza, en donde se puede observar que la mayoría de las CCL mostraron diferencias altamente significativas (P<0.01) entre razas. Para estatura, en particular para la raza Saanen (29 puntos), indica que dentro de esta raza las cabras calificadas para esta característica en lo general fueron altas y homogéneas, no que sea más alta que las otras razas; para la raza Alpina (24 puntos), Toggenburg (20 puntos) y Oberhasli (18 puntos), se observó para estatura una situación diferente que Saanen ya que sus puntuaciones descendieron en estas razas. Sin embargo, el puntaje de Saanen no fue distinto a la raza Nubia (26 puntos) y Enana nigeriana (26 puntos).

Para la raza Oberhasli el diámetro de los pezones (24 puntos) fue más amplio y homogéneo que la raza Enana nigerina. En esta misma raza Enana nigeriana, las características de ubre ligamento medio suspensorio (19 puntos), arco de ubre posterior (19 puntos), colocación de los pezones (13 puntos) y diámetro de pezón (12 puntos), tuvieron un puntaje bajo respecto a las otras razas, a pesar de que la ADGA (2015) menciona que esta raza tiene una apariencia similar a las razas grandes y solo ajusta la apreciación lineal para tres características: estatura, ancho de cadera y profundidad de ubre (ADGA, 2014). Es importante mencionar que la llegada de especímenes caprinos de talla pequeña provenientes de África a los zoológicos de Estados Unidos de América, poseían características morfológicas de tipo cárnico, pero su registro como cabra lechera para la ADGA inició en el año 2005 (NDGA, 2018).

Como antecedente se debe señalar que los primeros ejemplares Toggenburg se importaron en 1893, los Saanen en 1904, los Nubia en 1906, los Alpina en 1922, el hato americano de LaMancha se abrió en 1958 y el libro genealógico Oberhasli se abrió en 1980 (ADGA, 2015). Esto puede estar directamente relacionado con los niveles de producción y con las características de conformación ya que el tiempo de selección de cada una de estas razas ha sido diferente. Es importante mencionar que en este estudio los primeros registros (n=13) correspondientes al año 1981 contenían registros de cabras Alpinas (n=5), Toggenburg (n=3), LaMancha (n=2), Nubia (n=2) y Saanen (n=1).

Los resultados de este estudio reflejan que a pesar que los Estados Unidos de América tienen gran cantidad de cabras Nubia (INBA, 2004) y Alpina (Hamby, 2004), las puntuaciones de las CCL para estas razas en su mayoría están fuera del rango intermedio (25 puntos) a comparación de las otras razas, sin embargo la raza Oberhasli no tiene una población tan grande pero las puntuaciones de las CCL es tan mas apegadas a la puntuación intermedia: fortaleza (26), ángulo de la cadera (28), ancho de la cadera (25), patas traseras vistas de lado (28), ligamento delantero de la ubre (27), arco

de ubre posterior (20), ligamento medio suspensorio (28), profundidad de la ubre (29) y diámetro de pezones (24).

Cuadro 8. Medias de mínimos cuadrados para las características de conformación lineal y comparación de medias de estas para siete razas de cabras, mediante la prueba de Tukey (n= 24,650).

Característica	AL	EN	LN	NU	OH	TO	ND
Estatura	24 ^c	29 ^a	21 ^d	26 ^b	18 ^e	20 ^d	26 ^b
Fortaleza	26 ^e	28 ^b	27 ^c	27 ^{cd}	26 ^{de}	27 ^{cd}	30 ^a
Carácter lechero	34 ^a	33 ^b	32 ^c	31 ^{cd}	33 ^{ab}	33 ^b	30 ^d
Ángulo de la cadera	31 ^a	30 ^b	30 ^b	29 ^c	28 ^d	30 ^b	26 ^d
Ancho de la cadera	26 ^b	29 ^a	25 ^c	27 ^b	25 ^c	27 ^b	23 ^d
Patas traseras vistas de lado	26 ^{cd}	27 ^c	27 ^{cd}	27 ^b	28 ^a	27 ^{bc}	26 ^d
Ligamento delantero de la ubre	31 ^{ab}	31 ^{ab}	30 ^{bc}	30 ^c	27 ^d	31 ^a	28 ^d
Altura de la ubre posterior	35 ^a	32 ^c	34 ^b	30 ^d	34 ^{ab}	34 ^b	27 ^e
Arco de ubre posterior	24 ^b	23 ^b	23 ^b	20 ^c	20 ^c	25 ^a	19 ^c
Ligamento medio suspensorio	26 ^{cd}	27 ^b	25 ^d	24 ^e	28 ^a	26 ^c	19 ^f
Profundidad de la ubre	31 ^b	31 ^b	31 ^b	33 ^a	29 ^c	31 ^b	27 ^c
Colocación de los pezones	18 ^b	19 ^a	19 ^{ab}	15 ^d	17 ^{bc}	17 ^c	13 ^d
Diámetro de pezones	23 ^a	23 ^a	21 ^b	20 ^c	24 ^a	22 ^b	12 ^d
Puntos finales	83 ^b	83 ^b	83 ^{ab}	82 ^c	81 ^c	84 ^a	81 ^c

Medias con literales distintas por renglón son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$); AL= Alpina, EN= Saanen, LN= LaMancha, NU= Nubia, OH= Oberhasli, TO= Toggenburg y ND= Enana nigeriana.

Al realizar una comparación de medias para el tercio de lactancia a la apreciación (Cuadro 9), se observó que para ancho de cadera los jueces calificaron con un mayor puntaje a las cabras que fueron apreciadas en el primer tercio de lactación (30 puntos), comparados con las cabras calificadas en el tercer tercio de lactación (28 puntos); una situación contraria se observa en la característica de ángulo de cadera, donde en el primer tercio de lactación a la apreciación, las cabras tuvieron menor puntuación (25 puntos), con respecto al segundo tercio (26 puntos) y al tercer tercio de lactación en el que fueron apreciadas (27 puntos).

En el Cuadro 9 se muestra la comparación de medias mediante Tukey ($P < 0.05$) para el tercio de lactancia, donde se observó que las características ligamento delantero de la ubre (31 puntos) y arco de ubre posterior (23 puntos) fueron las de mayor puntaje durante el tercer tercio de lactancia, pero fueron diferentes ($P < 0.05$) respecto a los puntajes obtenidos en el segundo (30 y 22) y primer (29 y 21 puntos) tercio de lactancia, respectivamente.

Cuadro 9. Comparación de medias para el tercio de lactancia y el tercio de lactancia a la apreciación mediante la prueba de Tukey (n= 24,650).

Característica	TLA1	TLA2	TLA3	TL1	TL2	TL3
Estatura	24 ^a	23 ^b	23 ^b	23 ^b	23 ^b	24 ^a
Fortaleza	27 ^b	28 ^a	27 ^b	27 ^b	27 ^b	28 ^a
Carácter lechero	32 ^b	32 ^b	33 ^a	32 ^a	32 ^a	32 ^a
Ángulo de la cadera	30 ^a	29 ^b	28 ^c	28 ^b	29 ^a	29 ^a
Ancho de la cadera	25 ^c	26 ^b	27 ^a	26 ^a	26 ^a	26 ^a
Patas traseras vistas de lado	27 ^a					
Ligamento delantero de la ubre	30 ^a	30 ^a	30 ^a	29 ^c	30 ^b	31 ^a
Altura de la ubre posterior	32 ^a	32 ^a	32 ^a	32 ^b	32 ^b	33 ^a
Arco de ubre posterior	22 ^a	22 ^a	22 ^a	21 ^c	22 ^b	23 ^a
Ligamento medio suspensorio	25 ^a					
Profundidad de la ubre	31 ^a	31 ^a	30 ^b	30 ^b	31 ^a	30 ^b
Colocación de los pezones	17 ^a	17 ^a	16 ^b	17 ^a	17 ^a	17 ^a
Diámetro de pezones	21 ^a	20 ^b	21 ^a	21 ^a	21 ^a	21 ^a
Puntos finales	82 ^a	82 ^a	82 ^a	82 ^b	82 ^b	83 ^a

Medias con literales distintas por renglón son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$), TLA1= apreciación durante el primer tercio de lactancia (1 a 103 días), TLA2= apreciación durante el segundo tercio de lactancia (104 a 271 días), TLA3= apreciación durante el tercer tercio de lactancia (≥ 272 días), TL1= primer tercio de lactancia (1 a 10 días), TL2= segundo tercio de lactancia (101 a 200 días) y TL3= tercer tercio de lactancia (≥ 201 días).

Es importante reconocer que el evaluador califica las CCL del animal sin tener en cuenta la gestación, el entorno y la etapa de lactación, ya que las evaluaciones son una herramienta para el criador y las asociaciones, la cual le da la oportunidad de determinar qué características (forma, estructura y ubre) necesita mejorar, y dónde están las fortalezas y debilidades de sus cabras.

La evaluación es una guía para tomar decisiones que involucran la selección, pero estas decisiones de manejo están controladas por el criador e influyen en la corrección estructural y el potencial genético de los animales individuales, lo que determina su vida en el rebaño y su nivel de producción general. Es importante que los productores y las asociaciones no solo se dejen guiar en la selección de los animales por las características de interés para animales destinados a espectáculos y ferias ganaderas, sino que es de mayor importancia considerar las características de conformación lineal con fines de selección y mejora genética, incluyendo aquellas que están correlacionadas con las características primarias de producción, en donde se encuentra la leche, grasa y proteína.

Resulta complicado realizar una discusión profunda de resultados ya que no existe información similar disponible, a pesar de que es información básica. Este estudio refleja la necesidad de adaptar un sistema de apreciación lineal a la raza Enana nigeriana y demuestra que existen razas de buena conformación que no están tan difundidas en los Estados Unidos de América como la raza Oberhasli. Los programas de selección de las CCL pueden permitir un beneficio en la productividad de los animales y evitar el deterioro de la aptitud funcional lo que podría tener implicaciones en la morfología de la ubre, la facilidad del parto, la permanencia de un animal en el rebaño o la disminución de la velocidad en el ordeño a máquina. Sin embargo, estos rasgos de tipo no deben ser sobre evaluados con respecto a las características de producción.

CONCLUSIONES

Existe heterogeneidad de varianza en las características de tipo dentro de raza. El sistema de apreciación usado debería ser, idealmente, relativo a cada raza. En este estudio, las características fueron influenciadas por los factores rebaño, año-época de parto, raza, tercio de lactancia a la apreciación, tercio de lactancia, edad al parto y apreciación.

BIBLIOGRAFIA

1. ADGA, "Linear appraisal system for dairy goats", ADGA, Spindale, NC 28160, Estados Unidos de América. 1993, pp. 1-18.
2. ADGA, "Linear Appraisal System for Dairy Goats", Linear Appraisal Program", Spindale, NC, Estados Unidos de América. 2014, pp. 1-17.
3. ADGA, "Recognized Breeds", American Dairy Goat Association, Estados Unidos de América. 2015. Obtenida el 04 de mayo del 2018. Disponible en: <https://adga.org/breed-standards/>
4. CGS, "Enhanced type classification members handbook", Canadian Goat Society, Ontario, Canadá. 2000, pp. 1-21.
5. CGS, "Classification Manual", Canadian Goat Society, Ontario, Canadá. 2017, pp. 1-33.
6. Manfredi, A. Piacere, P. Lahaye y V. Ducrocq, "Genetic parameters of type appraisal in Saanen and Alpine goats", *Livestock Production Science*. Vol. 70, 2001, pp. 183-189.
7. R. Wiggans, "USDA Genetic Evaluation Program for Dairy Goats", Estados Unidos de América. 2006. Obtenida el 17 de mayo del 2014. Disponible en: <http://aipl.arsusda.gov>
8. H. V. Montaldo y E. Manfredi, "Organization of selection programmes for dairy goats", Communication No. 01-35 in Proc. 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Montpellier, France. Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), Paris, France. 2002.
9. ICAR, "Introduction to the ICAR Guidelines and Section 5 - ICAR Guidelines for Conformation Recording of Dairy Cattle, Beef Cattle and Dairy Goats". Italia. 2017, pp. 1-58. Obtenida el 26 de febrero del 2018. Disponible en: <http://www.icar.org/Guidelines/00-Introduction.pdf>
10. INBA, "Nubian Breed History", International Nubian Breeders Association, Estados Unidos de América. 2004. Obtenido el 27 de diciembre del 2017. Disponible en: <http://www.i-n-b-a.org/history.html>
11. M. F. Luo, G. R. Wiggans y S. M. Hubbard, "Variance component estimation and multitrait genetic evaluation for type of dairy goats", *Journal of Dairy Science*. Beltsville, Maryland. Vol. 80, 1997, pp. 594-600.
12. P. Valencia y H. H. V. Montaldo, "Características de conformación en programas de mejoramiento genético de cabras lecheras", *Sitio Argentino de Producción Animal*. 2003, pp. 1-5.
13. P. Valencia, H. H. V. Montaldo y F. J. L. Ruiz, "Parámetros genéticos para características de conformación, habilidad de permanencia y producción de leche en ganado Holstein en México", *Técnica Pecuaria en México*. Vol. 46, 3, 2008, pp. 235-248.
14. Valencia-Posadas, J. E Barbosa-Corona, C. A. Ángel-Sahagún, A. J. Gutiérrez-Chávez, O. A. Martínez-Jaime, y H. H. Montaldo, "Phenotypic correlations between milk production and conformation traits in goats", *Acta Universitaria Multidisciplinary Scientific Journal*. Vol. 27, 3, 2017, pp. 1-8.
15. M. U. Iloeje, L. D. Van Vleck y G. R. Wiggans, "Components of Variance for Milk and Fat Yields in Dairy Goats", *Journal Of Dairy Science*. Ithaca Nueva York. Vol. 64, 1981, pp. 2290-2293.
16. NDGA, "Origins of the Nigerian Goat", Nigerian Dwarf Goat Association, Estados Unidos de América. 2018. Obtenida el 14 de Junio del 2018. Disponible en: <http://www.ndga.org/>
17. Hamby, "Alpine Breed History". Alpines International Club, Estados Unidos de América. 2004. Obtenida el 23 de diciembre del 2017. Disponible en: http://www.alpinesinternationalclub.com/history_alphist.htm
18. Brotherstone, "Genetic and phenotypic correlations between linear type traits and production traits in Holstein-Friesian dairy cattle", *Animal Production Science*. Vol. 59, 2, 1994, pp. 183-187.
19. Tsuruta, I. Misztal y T. J. Lawlor, "Changing definition of productive life in US Holsteins: Effect on genetic correlations", *Journal of Dairy Science*. Vol. 88, 2005, pp. 1156-1165.
20. V. J. Castañeda-Bustos, H. H. V. Montaldo, H. Torres, E. Pérez, M. P. Valencia, M. Hernández, y L. Shepard, "Estimation of genetic parameters for productive life, reproduction, and milk-production traits in US dairy goats", *Journal of Dairy Science*. Vol. 97, 4, 2014, pp. 1-12.

21. J. Castañeda-Bustos, H. H. V. Montaldo, G. H. Torrez, S. P. Elizalde, M. P. Valencia, O. H. Mendo, y L. Shepard, "Linear and non-linear genetic relationships between type traits and productive life in US dairy goats", *Journal of Dairy Science*. Vol. 100, 2, 2017, pp. 1232-1245.

IDENTIFICACIÓN DE HIDROLASAS PEPTIDOGUCANO PRODUCIDAS POR BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS.

Amairany López Zamudio, Carolina Peña Montes, Patricia Guillermina Mendoza García

Unidad de Investigación y Desarrollo de Alimentos, Tecnológico Nacional de México/ I. T. Veracruz, amairany_loza@hotmail.com

RESUMEN

Las hidrolasas peptidoglucano (PGH), son enzimas que hidrolizan los enlaces del peptidoglucano, se clasifican en *N*-acetilmuramidasa, *N*-acetilglucosaminasa, *N*-acetilmuramoil-L-alanina amidasa y en peptidasas. Las PGH son secretadas mediante la vía Sec-dependiente o mediante el Sistema TAT (Twin-arginine translocation) y tienen pesos moleculares en un rango de 22 a 137 kDa. Se ha reportado que entre los microorganismos con una mayor producción de PGH se encuentran las bacterias ácido lácticas (BAL), principalmente los géneros *Pediococcus* y *Lactobacillus*. La importancia de las PGH radica en su uso potencial como bactericidas. Un problema actual de salud pública es la resistencia antibióticos, la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación (FAO) destacan en su plan de acción mundial el problema de la resistencia a los antibióticos, lo cual se considera una amenaza en medicina humana, veterinaria, en el sector alimentario y medio ambiental. Además, su aplicación no solo se enfoca como tratamientos biomédicos contra infecciones, sino también como bioconservadores naturales extendiendo la vida de anaquel y seguridad alimentaria través del uso de estas. En los últimos años se ha incrementado el interés por generar nuevas alternativas tecnológicas para estas incógnitas, por esta razón el objetivo de esta investigación es estudiar las PGH producidas por las cepas de *Pediococcus acidilactici* ITV-26 aislada de heces de bebé lactante y *Lactobacillus fermentum* SP-23 de quesos frescos artesanales. Con la finalidad de alcanzar estos objetivos se efectuó la identificación fenotípica y genotípica de las BAL en estudio, así como la identificación de las enzimas en estudio mediante la realización de cinéticas de crecimiento determinando la densidad óptica, el pH y la identificación de proteínas extracelulares, de citosol y de membrana, para precisar la fase de crecimiento en la cual se encuentra la mayor actividad enzimática se utilizó como sustrato 4-nitrofenil *N*-acetil- β -D-glucosaminida (4N-NAG), se cuantificaron las proteínas por el método de Bradford, se determinó el peso molecular en geles de poliacrilamida Tris-Tricina-SDS (TSDS-PAGE) y se identificó la actividad enzimática mediante zimogramas con 0.2% de células de *Micrococcus lysodeikticus* ATCC 4698. Los resultados obtenidos de la identificación fenotípica y genotípica de las BAL, previamente aisladas coinciden en más del 95 % con *Pediococcus acidilactici* y con *Lactobacillus fermentum*. En las cinéticas de crecimiento se determinó que la mayor actividad enzimática de PGH se alcanzó a las 14 horas en ITV-26 y en SP-23 a las 16 horas de crecimiento, identificando las enzimas con actividad lítica y pesos moleculares de 25 kDa (ITV-26) y 23 kDa (SP-23), las cuales coinciden con el tipo endopeptidasa según el Sistema Experto de Análisis de Proteínas (EXPASY). Debido a la actividad observada endopeptidasa es de interés en la industria de los alimentos y la biotecnología, ya que puede ser potencialmente utilizada para el control de patógenos alargando la vida de anaquel de alimentos y de bacterias resistentes en el ámbito hospitalario.

INTRODUCCIÓN

Las bacterias ácido lácticas (BAL) constituyen un grupo heterogéneo de microorganismos representado por varios géneros, con características metabólicas, morfológicas y fisiológicas en común. Son ampliamente utilizadas para la conservación de diversos productos alimenticios, ya que les proporcionan sabor, olor, textura y consistencia, se aumenta el valor nutritivo y la inocuidad de los mismos. Debido a la producción de ciertos metabolitos como el peróxido de hidrógeno, diacetilo, exopolisacáridos, reuterina, ácidos orgánicos (láctico, acético, propiónico, cítrico), CO₂, bacteriocinas, hidrolasas peptidoglucano (PGH), entre otras.

Las PGH son enzimas que hidrolizan de manera controlada los enlaces del peptidoglucano, pueden ser utilizadas como compuestos bactericidas, inhibiendo el crecimiento de bacterias de importancia clínica, como las que actualmente presentan un problema de salud pública, en los últimos años se

ha hecho notoria la respuesta de estos microorganismos por su resistencia tanto a antisépticos, desinfectantes y antibióticos ocasionando brotes de infecciones en la población y hospitales causando una alta mortalidad. Además de ser utilizadas como tratamientos biomédicos contra infecciones, pueden ser utilizados como bioconservadores naturales.

Por tanto, el presente estudio se centra en evaluar las PGH producidas por *Pediococcus acidilactici* ITV-26 y *Lactobacillus fermentum* SP-23.

TEORÍA

Bacterias ácido lácticas

Las BAL son microorganismos denominados así por su principal característica; la producción de ácido láctico a partir de la fermentación de carbohidratos, en general son cocos o bacilos Gram-positivos, no esporulados, no móviles, oxidasa, catalasa y reductasa negativa, carecen de citocromos, no reducen los nitratos. Generalmente son microaerofílicas, sin embargo, existen aerobias y anaerobias estrictas (Carr *et al.*, 2002; Azadnia *et al.*, 2011).

Las BAL se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza y han sido aisladas de diversas fuentes como: el medio ambiente, piel y tracto digestivo (Azadnia *et al.*, 2011). Las aisladas de alimentos como productos lácteos, cárnicos y vegetales son utilizadas tradicionalmente como bioconservadores naturales; impidiendo el crecimiento de microorganismos patógenos y/o responsables de la descomposición del alimento, además pueden brindarles otros beneficios sensoriales como color, olor, sabor, textura, etc (Galvez *et al.*, 2007).

Clasificación de bacterias ácido lácticas

En 1920 Orla Jense clasificó este grupo de microorganismos basándose en la fermentación de carbohidratos, crecimiento a diferentes temperaturas, con la capacidad de crear tolerancia a altas concentraciones de cloruro de sodio (Orla-Jensen, 1924; Axelsson, 1998).

La clasificación principal se debe a la fermentación de carbohidratos; homofermentativas y heterofermentativas, las primeras producen solo ácido láctico como producto final y las segundas producen ácido láctico y otros metabolitos (García-Hernández *et al.*, 2016). Se clasifican dependiendo de su temperatura óptima de crecimiento en mesófilas (10-45 °C) y termófilas (25-80 °C) (Mathur *et al.*, 2005; Huertas, 2010).

Las BAL se encuentran en el dominio bacteria, Filo: Firmicutes, Clase: Bacilli, Orden: Lactobacillales, constituido por los géneros: *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Vagococcus*, *Oenococcus*, *Weissella* y *Tetragenococcus* (Ahmed, 2003; Ogier y Serror, 2008).

Actividad antimicrobiana de BAL

Además de su función tecnológica las BAL tienen la capacidad de inhibir el crecimiento de ciertos microorganismos alterantes y/o perjudiciales en los alimentos o incluso dentro la comunidad.

Las BAL tienen un efecto antimicrobiano primario esto se debe a la competitividad por el sustrato y a la producción de ácidos orgánicos, así como: etanol, CO₂, H₂O₂, diacetilo, acetaldehído y otros metabolitos del oxígeno, también por compuestos proteicos de síntesis ribosomal como bacteriocinas y enzimas como las PGH (Cintas *et al.*, 2000).

La reserva los ácidos orgánicos principalmente el ácido láctico y acético reduce el pH del ambiente, esto ocasiona la inhibición de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, tal es el caso de *Lactobacillus fermentum* (QDC32) y *Lactobacillus casei* (QDC31), que presentan un efecto inhibitorio frente a *Salmonella typhimurium*, este efecto se le atribuye a la penetración del ácido láctico de forma no disociada en la membrana celular, un pH mas alto en el interior celular suscita la disociación, dando lugar a la liberación de H⁺ y el anión correspondiente; de modo que, ambos iones interfieren en el metabolismo e inhiben el crecimiento celular (Urrego *et al.*, 2005).

Uno de los productos finales de la fermentación heterofermentativa es el CO₂ y en ocasiones se obtiene por descarboxilación de aminoácidos, este producto promueve un ambiente anaerobio, reduce el pH y ayuda a destruir la integridad de la pared celular (Ouwehand, 1998). Otro producto de la fermentación en este caso del citrato es el diacetilo, se ha mostrado la actividad antimicrobiana a nivel de 200 µg/ml para levaduras y bacterias Gram-negativas y a 300 µg/ml para bacterias Gram-

positivas no lácticas (Axelsson, 1998. Ouwehand, 1998). Asimismo, pueden producir peróxido de hidrógeno cuando el oxígeno está presente, produciendo peroxidación a los lípidos de la membrana por los radicales hidroxilo y una consecuente susceptibilidad de la célula (Ouwehand, 1998).

Dentro de los compuestos proteicos de síntesis ribosomal se encuentran las bacteriocinas las cuales son péptidos, que se excretan al medio extracelular y que, en algunos casos, poseen un amplio espectro de acción y actividad contra bacterias patógenas tales como *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum* y *Salmonella* (Yang *et al.*, 2012; Benmechrene *et al.*, 2013).

Hidrolasas peptidoglucano

El peptidoglucano (PG) también llamado mureína o mucopéptidos es el componente principal de las paredes celulares de bacterias Gram positivas. El peptidoglucano es un polímero complejo compuesto por una estructura básica, moléculas alternadas de *N*-acetilglucosamina y de ácido *N*-acetilmurámico y un grupo idéntico de enlaces peptídicos cruzados. La estructura básica es la misma en todas las especies bacterianas; las cadenas tetrapeptídicas laterales y los enlaces peptídicos varían de una especie a otra (Brooks *et al.*, 2006).

Las cadenas laterales tetrapeptídicas de todas las especies tienen ciertas características importantes en común. La mayor parte tiene *L*-alanina en la posición 1, *D*-glutamato o la sustitución de *D*-glutamato en la posición 2 y *D*-alanina en la posición 4. La posición 3 es variable: la mayor parte de las bacterias Gram-negativas tienen ácido diaminopimélico u otro aminoácido en dicha posición (Brooks *et al.*, 2006).

El ácido diaminopimélico es un elemento singular en las paredes celulares bacterianas; es el precursor inmediato de la glicina en la biosíntesis bacteriana de dicho aminoácido. El hecho de que las cadenas de peptidoglucanos tengan enlaces cruzados significa que cada capa de peptidoglucanos tiene una sola molécula gigante. En una bacteria Gram-positiva hay hasta 40 hojas de PG, lo que constituye hasta 50% del material de la pared celular; en las bacterias Gram-negativas parece haber sólo una o dos hojas, lo que constituye 5 a 10% del material de la pared. La bacteria adquiere su forma, que es característica para cada especie en particular, por la estructura de su pared celular (Brooks *et al.*, 2006).

Las PGH se involucran en la hidrólisis del enlace covalente de peptidoglucano, interviniendo en funciones celulares específicas (síntesis, desarrollo, regulación; crecimiento, división celular, reproducción, recambio de pared, lisis y muerte celular) que requiere la pared celular actuando de manera específica sobre la base de su sitio de incisión en el PG y según el enlace que hidrolizan se clasifican. Las PGH caracterizadas tienen una organización estructural modular con dos dominios: un dominio catalítico que contiene el sitio activo de la enzima y un dominio de unión a la pared celular compuesta de varias repeticiones aminoacídicas. Turner en 2014 clasifica las PGH en dos grandes grupos autolisinas y endolisinas dependiendo de su diana (Turner *et al.*, 2004).

La clasificación de las PGH depende del tipo de enlace hidrolizan en el PG como se observa en la figura 1 en *N*-acetilmuramidasa, *N*-acetilglucosaminasa, *N*-acetilmuramoil-*L*-alanina amidasa y peptidasas (Turner *et al.*, 2004).

Las *N*-acetilglucosaminasas hidrolizan el enlace β -1,4 de la cadena de glucanos, dejando un extremo *N*-acetilglucosamina reductor. Las *N*-acetilmuramidasa hidrolizan el enlace β -1,4 de la cadena de glucanos, dejando un extremo ácido *N*-acetilmurámico reductor libre, también denominadas lisozimas; si forman un anillo 1,6-anhidro en el *N*-acetilmurámico son llamadas transglicosilasas líticas. Las *N*-acetilmuramoil-*L*-alanina amidasa, rompen el enlace amida entre el *N*-acetilmurámico y la *L*-alanina del péptido. Las peptidasas son capaces de hidrolizar el último aminoácido del extremo carboxilo de los péptidos también denominadas carboxipeptidasas hidrolizan los puentes formados por los péptidos y se le denominan endopeptidasas (Layec, *et al.*, 2008; Vollmer *et al.*, 2008).

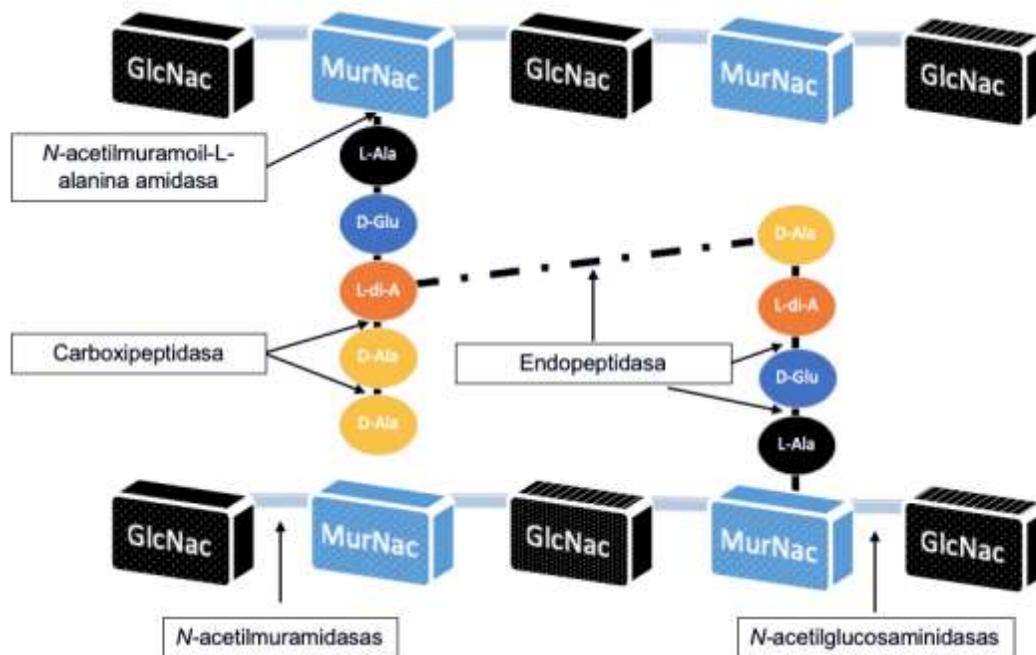


Figura 10 Clasificación de las PGH de acuerdo a su especificidad.

Dominios catalíticos de PGH.

La especificidad de las PGH depende de su dominio catalítico, en la mayoría de los casos se componen de dos dominios: uno con actividad catalítica y otro que contiene un dominio de reconocimiento/unión a la pared celular, así como la multiplicidad de sus asociaciones (Layec, *et al.*, 2008).

El filo Firmicutes se caracteriza por la amplia expresión de PGH, debido a esto se estudiaron: los 14 dominios catalíticos presentes, así como 27 dominios de asociación de superficie, dichos dominios y secuencias se obtuvieron en la base de datos EMBL/ GenBank (Finn *et al.*, 2006).

Dominios catalíticos de PGH

Los dominios catalíticos están especializados en la escisión de un enlace peptidoglucano específico se han descrito 14 dominios catalíticos los cuales se enlistan en la tabla 1, las PGH están compuestas de un solo dominio catalítico sin embargo se han estudiado enzimas que muestran múltiples dominios catalíticos distintos o idénticos asociados con uno o más sustratos/dominios de unión.

El nivel de actividad de las enzimas hidrolíticas no solo resulta de la eficiencia de los dominios catalíticos, sino que también está controlado por los dominios de unión a la pared celular (Layec, *et al.*, 2008).

Tabla 1 Dominios catalíticos de PGH

N - acetilmuramoil-L-alanina amidasa	Endopeptidasa	Carboxipeptidasa	N- acetilglucosaminidasa	N- acetilmuramidasa
- Amidase_2 (PF01510)	- NLPC / P60 (PF00877)	- Peptidasa_S66 (PF02016)	- Glucosaminidasa (PF01832)	- Glyco_hydro_25 (PF01183)
- Amidase_3 (PF01520)	- Peptidase_M23 (PF01551)	- VanY (PF02557)		- SLT (PF01464)
- Amidase_5 (PF05382)	- CHAP (PF05257)	- Peptidase_S11 (PF02113)		- Transglicosilas (PF06737)
- CHAP (PF05257)		- Peptidasa_S13 (PF00768)		

Peptidoglucano hidrolasas producidas por bacterias Gram positivas

Los estudios de este tipo de enzimas inician con la lisozima la cual es una muramidasa (*N*-acetil muramidasa, E.C. 3.2.1.17), descubierta en por Alexander Fleming, catalogada como aditivo de uso alimentario con el código (E-1105), con peso molecular de 14.307 kDa y está compuesta por una secuencia de 129 residuos de aminoácidos, con un elevado punto isoeléctrico (pI) de 10.7; previene el crecimiento de *Oenococcus oeni*, *Clostridium tyrobutyricum*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* (Jollés *et al.*, 1984). En otros microorganismos se han descrito ciertas PGH, en *Leuconostoc mesenteroides subsp. mesenteroides* aislado de lácteos expresa una glucosidasa y una *N*-acetil-muramil-L-alanina amidasa con actividad lítica de 41 y 52 kDa según el análisis de especificidad (Cibik *et al.*, 2001).

En 2010 se caracterizó una PGH producida principalmente durante el crecimiento vegetativo de *Clostridium perfringens*, denominada como ACP la cual tiene una estructura modular con tres dominios: un dominio de péptido señal, un dominio N-terminal con secuencias repetidas y un dominio catalítico C-terminal con un peso molecular de 122.388 kDa con un pI de 8.79 (Camiade *et al.*, 2010). Donovan *et al.*, 2006 estudió la endolisina del bacteriófago B30 de *Streptococcus agalactiae*, sus actividades enzimáticas de los dominios cisteína, amidohidrolasa/peptidasa (CHAP) y ACM (acetilmuramidasa) dependientes de histidina con actividad lítica contra los tres principales patógenos causantes de mastitis del ganado lechero, es decir, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis* y *Staphylococcus aureus*, posteriormente se clonó el gen de lisina del bacteriófago B30 y se expresó en *Escherichia coli* con peso molecular de 49.677 kDa, aumentando la actividad de la enzima (Baker *et al.*, 2006; Pritchard *et al.*, 2006; Donovan *et al.*, 2006)

En *Staphylococcus Lugdunensis* se identificó un hidrolasa peptidoglucano (ALT) con actividades de *N*-acetilglucosaminidasa y *N*-acetilmuramoil-L-alanina amidasa con un peso molecular de 140.69 kDa siendo la principal autolisina de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* (Bourgeois *et al.*, 2008).

En BAL se han aislado PGHs de *Lactobacillus pentosus* en la fase estacionaria del crecimiento del microorganismo; en zimogramas con sustrato *Micrococcus lysodeikticus* se obtuvieron bandas con actividad lítica a 58 y 112 kDa (Cibik y Chapot-Chartier, 2004).

En 2005 reportan la actividad de PGH producidas por *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Leuconostoc citreum* y *Lactobacillus casei* con pesos moleculares de 18-55 kDa (Lortal *et al.*, 2005).

En 2013 García *et al.*, reportan PGHs aisladas de *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042 con actividad lítica contra *Staphylococcus aureus* con pesos moleculares de 110 y 99 kDa en zimogramas con sustrato *M. lysodeikticus* ATCC 4698, asimismo, se reportó una PGH de *Enterococcus faecalis* (AtID)

con peso molecular de 62-75 kDa con actividad antibacteriana contra *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* y cepas de enterococos de origen clínico (García-Cano *et al.*, 2013; Serrano-Maldonado *et al.*, 2018).

PARTE EXPERIMENTAL

Identificación fenotípica y genotípica de bacterias ácido lácticas

Las cepas *Pediococcus acidilactici* ITV-26 y *Lactobacillus fermentum* SP-23 preservadas en caldo MRS (Man, Rogosa y Sharpe) con 40% (v/v) de glicerol (1 ml) se reactivaron en caldo MRS para posteriormente aislarlas en medios de cultivo MRS y realizar las pruebas bioquímicas API 50 CHL. Para la identificación genotípica se realizó una extracción de ADN con fenol-acetato de sodio, se midió la concentración (ng/μL) en un equipo NANODROP 2000 de la marca Thermo Scientific y se amplificó la región 16S del RNA ribosomal utilizando los cebadores AAGGAGGTGATCCAGCC y AGAGTTTGTATCCTGGCTCAG.

Electroforesis en gel de agarosa

Para identificar el ADN extraído y su peso molecular se prepararon 30 ml de gel de agarosa al 3%, se utilizó como buffer de corrida Tris, ácido acético, EDTA 1X (TAE), 5 μl de bromuro de etidio como revelador, posteriormente en una cámara de electroforesis, se realizó el corrimiento de las muestras por 45 minutos a 90 voltios y posteriormente se observó con un transiluminador MiniBIs Pro de luz UV.

Purificación y secuenciación

Las muestras obtenidas fueron purificadas por el kit comercial zymoresearch, posteriormente fueron enviadas para su secuenciación al Instituto de Biotecnología de la UNAM el cual utiliza el método de Sanger.

Análisis bioinformático

Una vez obtenidos los cromatogramas, se obtuvo la secuencia y se analizó con el programa Chromas 2.6.4. Las secuencias fueron posteriormente alineadas contra la base de datos del NCBI (NCBI Resource Coordinators, 2016) y contra las secuencias obtenidas de las bases de datos de los genomas de cada hongo para su identificación.

Curva de crecimiento bacteriano

Para determinar la curva de crecimiento de las cepas, se inoculó al 1% en 10 ml de caldo MRS en tubos de ensayo 16x150 con rosca, se incubó 18 horas en estufa de cultivo (Precision Scientific modelo 815) a 37°C, se sembró 1% del caldo obtenido en 800 ml de MRS en matraces Erlenmeyer de 1000 ml, se incubó en estufa de cultivo a 37°C, se tomaron 40 ml de medio cada 2 horas, midiendo el pH (potenciometro Jenco 6173R), la D.O._{600 nm} (Microplate Reader Benchmark BioRad) y se obtuvieron proteínas extracelulares, de membrana y citosol.

Determinación de la fase de crecimiento en mayor producción enzimática

Cada fracción obtenida se centrifugó a 3,000 x g (Centrifuga 5810 R Eppendorf Rotor F-34-6-38) durante 20 min a 4°C, el sobrenadante obtenido se concentró en tubos Amicon® Ultra-15 Millipore con una membrana de tamaño de corte de 10 kDa, el sobrenadante contenía las proteínas extracelulares, el paquete celular se lavó dos veces con un buffer 50 mM Tris-HCl, pH 8 (Mora *et al.*, 2003).

El paquete celular de cada fracción se ajustó con buffer 50 mM Tris-HCl, pH 8 a una D.O._{600 nm} de 1.5-2.0, se sonicó (sonicador VCX 130 PB) a una amplitud de 30 Hz con 10 ciclos de 20 s a 4°C, se centrifugó 10,000 x g (Centrifuga HERMLE Z 216 MK) durante 20 min a 4°C, a la fracción soluble contenía las proteínas de citosol. El botón residual de las muestras se resuspendió en 10 mM Tris-HCl, pH 8, 10 mM EDTA, 10 mM NaCl y 2% SDS, se ajustó a una D. O._{600 nm} de 1.5-2.0, se agitó y se colocó en baño maría 80°C por 5 min (Eppendorf Thermomixer Comfort 5355), se enfrió a temperatura ambiente, se centrifugó 10,000 x g (Centrifuga HERMLE Z 216 MK) durante 20 min a 4°C, el sobrenadante (proteínas adheridas a restos celulares) se preservó a -70°C en un

ultracongelador (REVCO modelo ULT1386-5-A30) hasta su posterior utilización, todas las muestras fueron liofilizadas (Liofilizador FreeZone 4.5 LABCONCO) (Cibik y Chapot Chartier, 2004).

Actividad enzimática con 4-nitrofenil N-acetil- β -D-glucosaminida

La actividad de PGH fue determinada por la actividad enzimática utilizando el sustrato el 4-nitrofenil N-acetil- β -D-glucosaminida (4NAG) (sigma-Aldrich), en microplaca de 96 pozos (Microtest Plate 96 Well SARSTEDT): se colocaron 10 μ l de 4NAG de 1 mg/ml, 10 μ l del extracto proteico y 80 μ l de citrato de sodio pH 4.8, utilizando de controles positivo la β -N-glucosaminidasa (*Canavalia ensiformis*, Sigma-Aldrich) en una concentración de 10 μ g/ml y negativo la lisozima (Bio-tech) en una concentración de 10 μ g/ml. Se incubaron a 37 °C durante 10 min, posteriormente se agregó 100 μ l carbonato de sodio 140 mM para detener la reacción e incrementar el color. Midiendo la absorbancia a 405 nm en un lector de microplacas (Microplate reader Benchmark BioRad). Se realizó una curva estándar de p-nitrofenol. Una unidad se define como: la cantidad de enzima necesaria para hidrolizar 1 μ mol de 4-nitrofenil N-acetil- β -D-glucosaminida a p-nitrofenol y N-acetil- β -D-glucosaminida en 1 min a 37 °C (García-Cano et al., 2013).

Electroforesis SDS-PAGE y zimogramas

El peso molecular de las proteínas se determinó por electroforesis en geles de poliacrilamida en condiciones desnaturalizantes (SDS-PAGE) al 10%, se tomaron 20 μ l de muestra y se adicionaron 10 μ l de amortiguador de carga, se corrió a 80 voltios por 90 min en una cámara vertical Mini Protean III (Bio-Rad) con una fuente de poder Power Pac 200 BioRad. Posteriormente se lavó el gel con agua destilada durante 30 min. se realizó la tinción con azul de Coomassie (Bio-Safe™ Coomassie Stain #1610786) durante 2 horas y se sometió a destañar con una disolución de 10% de metanol, 10% de ácido acético glacial y 80% de agua destilada (Laemmli, 1920).

Los zimogramas se prepararon geles SDS al 10% de poliacrilamida copolimerizado con 0.2% de células liofilizadas de *Micrococcus lysodeikticus* ATCC 4698 como sustrato, las células se resuspendieron con los reactivos necesarios para la elaboración del gel, se corrió a 80 voltios por 90 min en una cámara vertical Mini Protean III (Bio-Rad) con una fuente de poder Power Pac 200 BioRad, el gel se lavó dos veces con agua destilada y se incubó a 37°C con amortiguador renaturalización (Tris-HCl 100 mM, pH 8.0 con Tritón X-100 1 % v/v) durante 12-16 horas en agitación (Enviviron-Shaker Lab-Line Orbit), la actividad se observó por la presencia de una banda clara o translúcida sobre un fondo opaco, para aumentar el contraste del gel se agregó 0.1% KOH y 1% de azul de metileno durante 30 minutos, se destañó con agua destilada hasta observar la aparición de las bandas (Leclerc y Asselin, 1989).

RESULTADOS

Identificación fenotípica y genotípica de bacterias ácido lácticas

Las cepas *Pediococcus acidilactici* (ITV-26) y *Lactobacillus fermentum* (SP-23) se confirmaron mediante pruebas bioquímicas API 50 CH las cuales coinciden con lo reportado por Portilla *et al.*, 2016 y López del Castillo, 1998. En la figura 2 se muestran la identificación morfológica mediante examen macroscópico y microscópico.

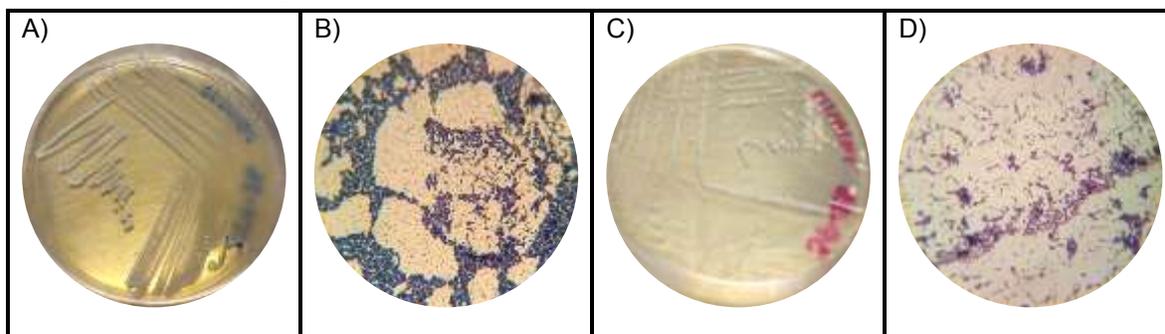


Figura 2 Identificación morfológica de BAL en estudio

La figura 2 muestra la morfología de los microorganismos en estudios A) Placa de agar MRS inoculada con *P. acidilactici* ITV-26, se muestran colonias blancas redondas, B) Imagen al microscopio de campo claro de células de colonia *P. acidilactici* ITV-26 teñida con Gram objetivo 100x e inmersión en aceite, se muestran cocos, C) Placa de agar MRS inoculada con *Lb. fermentum* SP-23, se muestran colonias blancas puntiformes, D) Imagen al microscopio de campo claro de *Lb. fermentum* SP-23 teñida con Gram, objetivo 100x e inmersión en aceite, se muestran bacilos. Las cepas *Pediococcus acidilactici* (ITV-26) y *Lactobacillus fermentum* SP-23 se confirmaron mediante la extracción de DNA, en la figura 3 se muestran las bandas resultantes de *Pediococcus acidilactici* y *Lactobacillus fermentum*, en gel de agarosa al 1%. Como puede observarse las bandas de tamaño mayor a 10,000 pb, indicativo de DNA genómico, ambas bandas integra y de buena pureza según las relaciones de absorbancia 260/280 se encuentran en el rango 1.7 - 1.9.

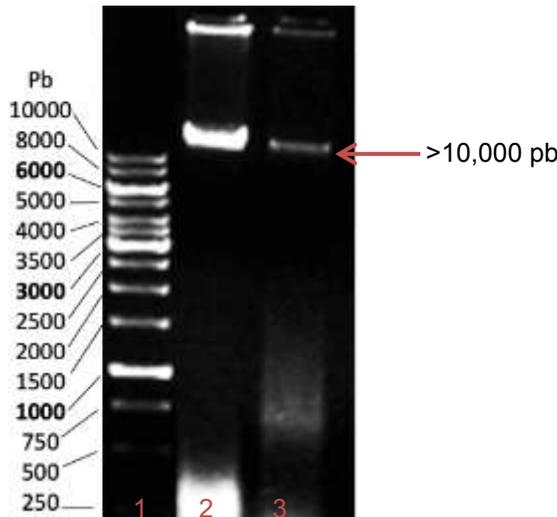


Figura 3 DNA de *Pediococcus acidilactici* (carril 2) y *Lactobacillus fermentum* (carril 3) y marcador 1 kb (carril 1) en gel de agarosa al 1%.

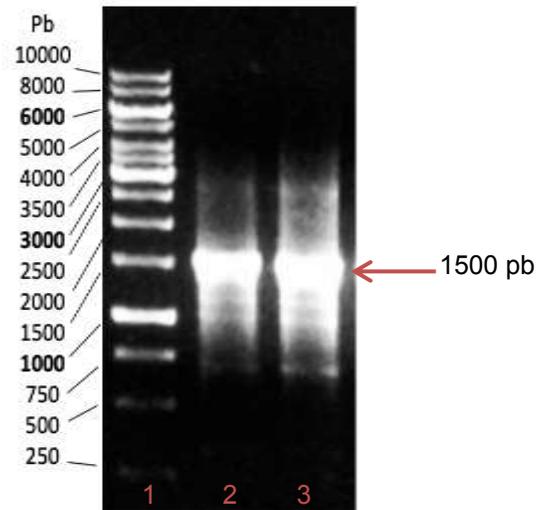


Figura 4 Amplificación del gen 16s de *Pediococcus acidilactici* (carril 2), *Lactobacillus fermentum* (carril 3) y marcador 1 kb (carril 1) en gel de agarosa al 1%.

DNA extraído fue de buena calidad, por lo tanto, se realizó la amplificación, en la figura 4 se muestran las bandas intensas de los amplicones obtenidos con el peso teóricamente esperado de 1500 pb de acuerdo a los primers 16s, posteriormente se realizó la purificación con el kit comercial y se mandó a secuenciar.

Análisis bioinformático

El análisis de las secuencias se realizó por BLAST en el servidor del NCBI, indicando los porcentajes de identidad (ID) en la Tabla 2, la cual muestra más del 98% de similitud mostrando un valor E de 0; siendo más significativa la coincidencia con cepas de interés. Esto coincide con lo reportado por Portilla *et al.*, 2016 y López del Castillo, 1998.

Tabla 2 Porcentaje de identidad

Identificación bioquímica			Identificación molecular		
Microorganismo	T	% ID	Microorganismo	Valor E	% ID
<i>Lactobacillus fermentum</i>	0.72	94.1%	<i>Lactobacillus fermentum</i>	0.0	98.94 %
<i>Pediococcus acidilactici</i>	0.75	96.3%	<i>Pediococcus acidilactici</i>	0.0	98.23 %

Los alineamientos se realizaron mediante la plataforma virtual MultAlin con las secuencias de la región 16s de *Lactobacillus fermentum* y *Pediococcus acidilactici* aislados de queso y heces fecales (figura 5 y 6). La cepa ITV-26 aislada de heces fecales de neonatos se alinea con cepas obtenidas de quesos frescos y al contrario SP-23 aislada de quesos frescos se alinea con cepas aisladas de heces fecales, en las cuales el recuadro marcado muestra las bases nitrogenadas que no coinciden de la secuencia reportada en el NCBI ya que fueron aisladas de diversas fuentes. Una vez confirmadas las cepas en estudio se realizaron las cinéticas de crecimiento.



Figura 5 Alineamiento de la región 16s de *Pediococcus acidilactici*



Figura 6 Alineamiento de la región 16s de *Lactobacillus fermentum*

Curva de crecimiento bacteriano

Se obtuvo la curva de crecimiento en medio de cultivo MRS con los densidad óptica y pH de *P. acidilactici* ITV-26 y *L. fermentum* SP-23, estos resultados coinciden con lo reportado por Portilla *et al.*, 2016 y López del Castillo, 1998 (Figura 7). En ese grafico se muestra de color verde la biomasa de *Lactobacillus fermentum* donde se observa que la fase de adaptación fue de 0-4 h, de 4-12 h la fase logarítmica y a las 12 h alcanza la fase estacionaria al igual que en color azul la biomasa de *Pediococcus acidilactici*, García-Toledo *et al.*, 2018 y López del Castillo, 1998 reportaron que *Pediococcus acidilactici* alcanza la fase estacionaria a las 12 h ya que trabajaron con la misma cepa, en ambos casos se observa una disminución de pH hasta 4, donde *Pediococcus acidilactici* debido

a que es homofermentativo con producción de ácido láctico en comparación con *Lactobacillus fermentum* que es heterofermentativo.

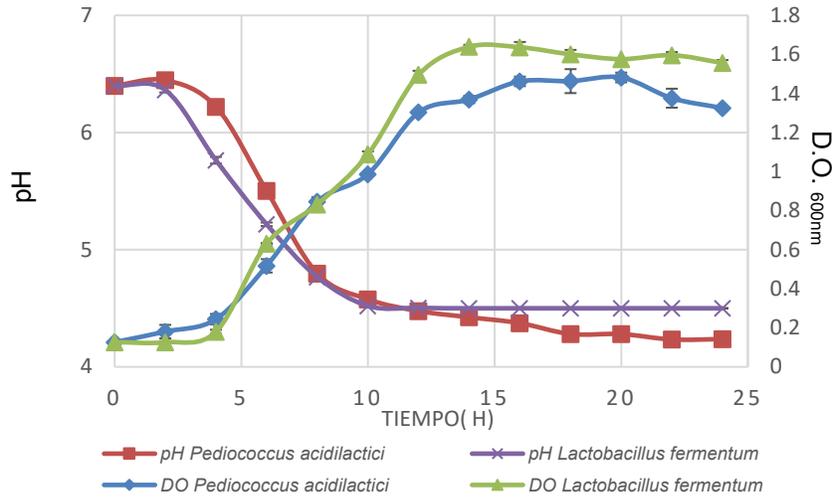


Figura 7 Cinéticas de crecimiento de las cepas en estudio. Las cepas se crecieron en MRS por 24 h.

Actividad enzimática

Determinación de la fase de crecimiento con mayor producción enzimática

La cinética de crecimiento también permitió determinar el tiempo y la fase de crecimiento donde se encuentra la mayor actividad de PGH de las fracciones obtenidas (extracelular, citosol y membrana), mostrando la mayor actividad enzimática en las proteínas adheridas a membrana, donde *Pediodoccus acidilactici* muestra mayor actividad a las 14 h y *Lactobacillus fermentum* a las 16 h ambas en la fase estacionaria de su crecimiento (Figura 8). Probablemente se deba al recambio de la pared celular o a la lisis celular. Se utilizó el sustrato 4-nitrofenil N-acetil-β-D-glucosaminida y las unidades son μmol/ml. Estos resultados coinciden con el trabajo de Garcia-Cano *et al.*, 2013 que estudiaron una hidrolasa bifuncional de 99 kDa de *Pediodoccus acidilactici* ATCC 8042 proponiendo esta metodología.

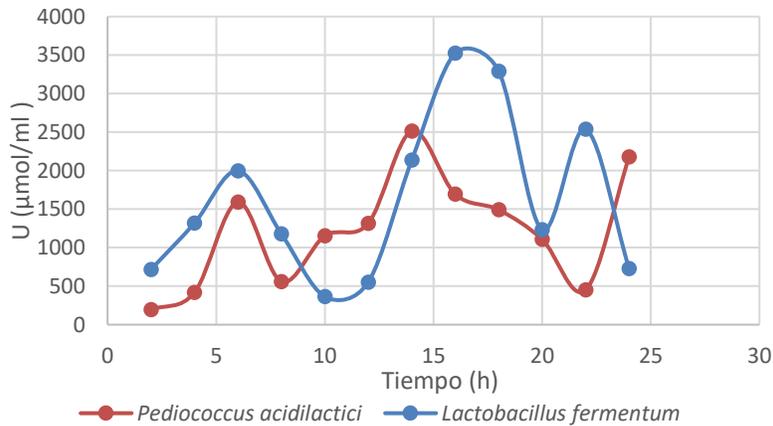


Figura 8 Cinética de producción de actividad enzimática de las cepas en estudio.

Perfil de proteínas y zimogramas

Se realizaron los perfiles de proteínas en el tiempo con mayor actividad enzimática y zimogramas con 4-nitrofenil N-acetil-β-D-glucosaminida que muestran la actividad lítica “in situ”, con el fin de conocer el peso molecular de la enzima.

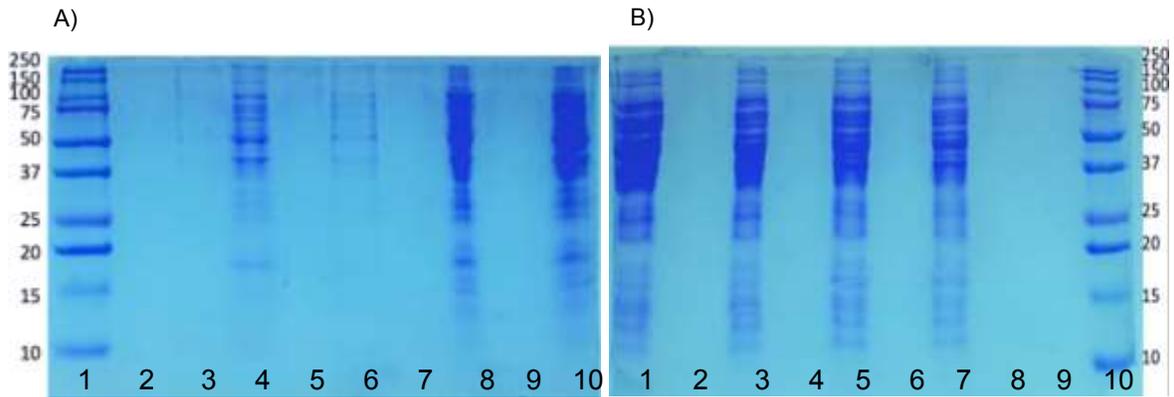


Figura 9 Perfil de proteínas de *Pediococcus acidilactici* y *Lactobacillus fermentum* en gel de SDS-PAGE.

En el panel A, en el carril 10 y 8 se observan las proteínas del extracto crudo, en el carril 6 se muestran las proteínas del citosol y en el carril 4 se muestran proteínas de la membrana obtenidas de *Pediococcus acidilactici*. En el panel B, el carril 1 y 5 muestran las proteínas del extracto crudo, en el carril 3 y 7 se muestran las proteínas de membrana obtenidas de *Lactobacillus fermentum*.

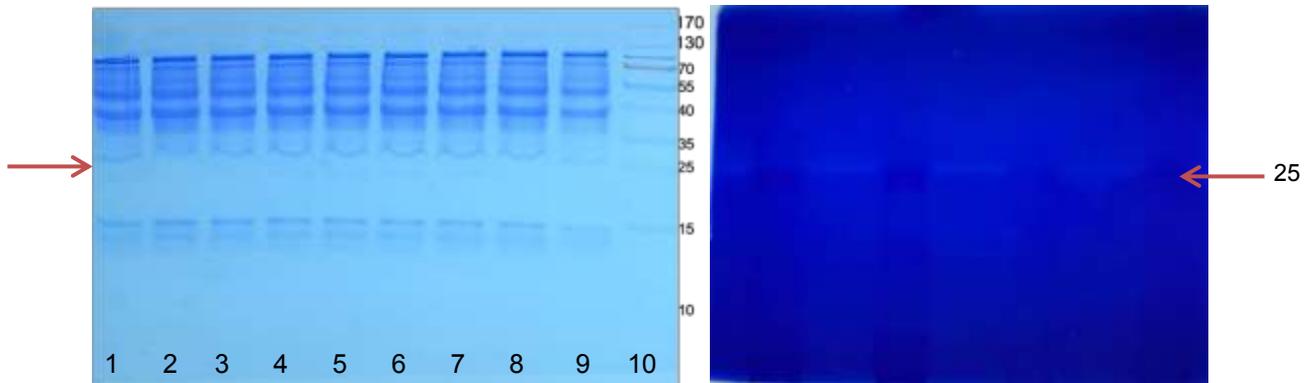


Figura 10 Perfil de proteínas adheridas a membrana de *Pediococcus acidilactici* en gel de SDS-PAGE y zimograma con sustrato.

En la figura 10 se muestra específicamente el extracto de proteínas adheridas a membrana de *P. acidilactici* ITV-26, el cual mostró mayor actividad a las 14 h. En este gel, se muestra una banda con actividad lítica en 25 kDa aproximadamente, lo cual es diferente a lo reportado por García-Cano *et al.*, 2013, el cual reporta actividad lítica de una *N*-acetil muramidasa pero con peso molecular de 99 kDa.

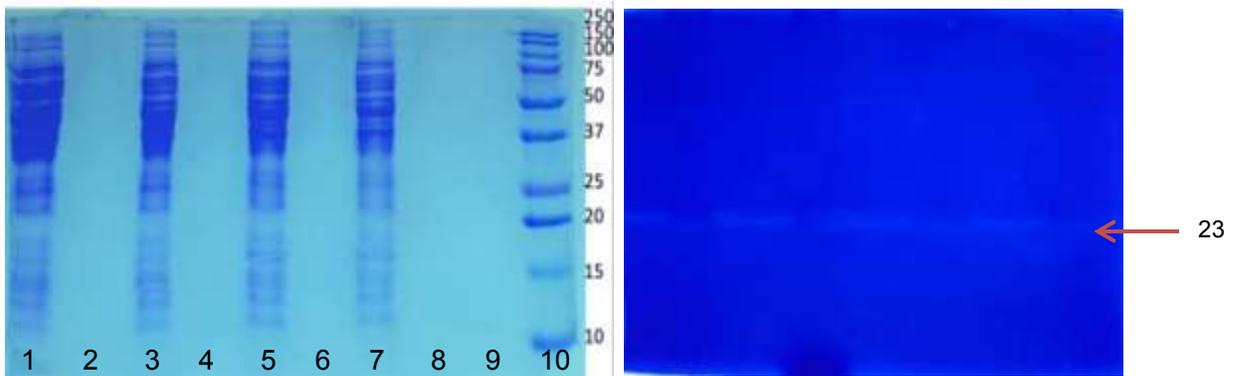


Figura 11 Perfil de proteínas adheridas a membrana de *Lactobacillus fermentum* SP-23 en gel de SDS- PAGE y zimograma con sustrato.

La figura 11 muestra proteínas adheridas a membrana de *Lactobacillus fermentum* SP-23, a las 16 h donde se observó la mayor actividad. En el zimograma se muestra una actividad lítica con peso molecular aproximado de 23 kDa, esto difiere con Cibik y Chapot-Chartier, 2004 que estudiaron actividades líticas de *Lactobacillus pentosus* obteniendo bandas en la fase estacionaria del crecimiento del microorganismo en 58 y 112 kDa.

Las bandas con actividad lítica de *Pediococcus acidilactici* ITV-26 se cortaron y se enviaron para su identificación por secuenciación de péptidos.

Análisis bioinformático de PGH

Se realizó un análisis a la secuencia de aminoácidos de PGH de *Pediococcus acidilactici* en la plataforma del NCBI, identificando una subunidad proteolítica de endopeptidasa (ClpP) ATP-dependiente, en la Tabla 5 se indican el porcentaje de identidad (ID), peso molecular (PM), punto isoeléctrico teórico (pI) y la longitud de aa.

Tabla 2 Porcentaje de identidad de PGH

Nombre	Valor E	% ID	PM	pI	Longitud aa
Subunidad proteolítica de endopeptidasa ClpP ATP-dependiente	3e-140	100%	21.5	4.86	197

En la figura 12 se muestra el alineamiento de la secuencia obtenida con y la subunidad proteolítica de endopeptidasa ClpP ATP-dependiente mediante la plataforma virtual MultAlin, donde se observa un 100% de homología.

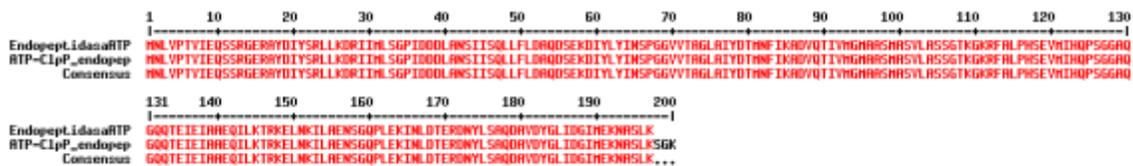


Figura 12 Alineamiento de la secuencia obtenida de *Pediococcus acidilactici*

CONCLUSIONES

Las bacterias ácido lácticas *Pediococcus acidilactici* ITV-26 y *Lactobacillus fermentum* SP-23 se confirmaron bioquímica y molecularmente, se encontró que bajo las condiciones de crecimiento utilizadas se expresaron 3 PGH, en el caso de ambos microorganismos, en la fase estacionaria se observa la mayor actividad en *Pediococcus acidilactici* ITV-26 a las 14 h y en *Lactobacillus*

fermentum SP-23 a las 16 h. En los geles de electroforesis y zimogramas se confirmó la actividad lítica de las proteínas de interés, se identificó una subunidad proteolítica de endopeptidasa (ClpP) ATP-dependiente de *Pediococcus acidilactici* ITV-26.

BIBLIOGRAFÍA

1. C. Ouwehand, "Antimicrobial components from lactic acid bacteria, in Lactic Acid Bacteria" (Microbiology and Functional Aspects., New York, NY, 1998), Chapter 2, pp.139-159.
2. Gálvez, H. Abriouel, R. L. López & N. B. Omar. "Bacteriocin-based strategies for food biopreservation", J. F. Microbiol., Vol. 120, 1-2, 2007, pp. 51-70.
3. E. Serrano-Maldonado, I. García-Cano, A. González-Canto, E. Ruiz-May, J. M. Elizalde-Contreras & M. Quirasco, "Cloning and characterization of a novel N-acetylglucosaminidase (AtID) from enterococcus faecalis", J. Mol. Microbiol. Biotech., Vol. 28, 1, 2018, pp. 14-27.
4. G. Pritchard, S. Dong, J. R. Baker & J. A. Engler, "The bifunctional peptidoglycan lysin of *Streptococcus agalactiae* bacteriophage B30", Microbiol. Vol. 150, 2004, pp. 2079-2087.
5. Leclerc & A. Asselin. "Detection of bacterial cell wall hydrolases after denaturing polyacrylamide gel electrophoresis", C. Microbiol., Vol. 35, 1989, pp. 749-753.
6. M. Donovan, J. Foster-Frey, S. Dong, G. M. Rousseau, S. Moineau, & D. G. Pritchard. "The cell lysis activity of the *Streptococcus agalactiae* bacteriophage B30 endolysin relies on the cysteine, histidine-dependent amidohydrolase/peptidase domain", Appl. Environ. Microbiol., Vol. 72, 2006, pp. 5108-5112.
7. D. Mora, F. Musacchio, M. G. Fortina, L. Senini & P. L. Manachini, "Autolytic activity and pediocin-induced lysis in *Pediococcus acidilactici* and *Pediococcus pentosaceus* strains", J. Appl. Microbiol., Vol. 94, 4, 2003, pp. 561-570.
8. Camiade, J. Peltier, I. Bourgeois, E. Couture-Tosi, P. Courtin, A. Antunes, *et al*, "Characterization of Acp, a peptidoglycan hydrolase of *Clostridium perfringens* with N-acetylglucosaminidase activity that is implicated in cell separation and stress-induced autolysis", J. Bacte., Vol. 192, 9, 2010, pp. 2373-2384.
9. E. Yang, L. Fan, Y. Jiang, C. Doucette & S. Fillmore, "Antimicrobial activity of bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from cheeses and yogurts", J. S. O. AMB. Exp., Vol. 2, 1, 2012, pp. 48.
10. E. Ahmed, "Genetically modified probiotics in foods", T. Biotech., Vol. 21, 2003, pp. 491-497.
11. F. J. Carr, D. Chill & N. Maida, "The lactic acid bacteria: A literature survey", Crit. Rev. Microbiol., Vol. 28, 4, 2002, pp. 281-370.
12. F. Brooks, K. C. Carroll, J. S. Burel, S. Morse & T. Mietzner, "Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg" (The McGraw-Hill Companies Inc., México, MEX, 1996), Chapter 2 pp. 21-30.
13. Bourgeois, E. Camiade, R. Biswas, *et al*, "Characterization of AtIL, a bifunctional autolysin of *Staphylococcus lugdunensis* with N-acetylglucosaminidase and N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase activities", FEMS. Microbiol. Lett., Vol. 290, 2009, pp. 105-113.
14. García-Cano, M. Campos-Gómez, M. Contreras-Cruz, C. E. Serrano-Maldonado, A. González-Canto, C. Peña-Montes, R. Rodríguez-Sanoja, S. Sánchez, A. Farrés, "Expression, purification, and characterization of a bifunctional 99-kDa peptidoglycan hydrolase from *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042", Appl. Microbiol. Biotechn., Vol. 99, 2015, pp. 8563-8673.
15. C. Ogier & P. Serror, "Safety assessment of dairy microorganisms: The Enterococcus genus", I. J. F. Microbiol., Vol. 126, 2008, pp. 291-301.
16. J. R. Baker, C. Liu, S. Dong & D. G. Pritchard, "Endopeptidase and glycosidase activities of the bacteriophage B30 lysin", Appl. Environ. Microbiol., Vol. 72, 2006, pp. 6825-6828.
17. Axelsson & S. Ahrné, "Lactic acid bacteria: Applied Microbial Systematics", Appl. Microbiol. Syst., 2000, pp. 367-388.
18. Axelsson, "Lactic acid bacteria: Classification and Physiology" (Marcel Dekker Inc., New York, NY, 1998), pp. 1-72.

19. L. M. Cintas, P. Casaus & P. E. Hernández, "Actividad antimicrobiana de las bacterias lácticas (I y II)", *Aliment. Equip. Tecno.*, Vol. 19, 7, 2000, pp. 109-119.
20. C. Urrego Velásquez & L. A. Cadavid Rojas, "Efecto sobre la calidad microbiológica, sensorial y reológica, de la aplicación de tres diferentes niveles de ácido láctico en un corte de carne de res (Huevo de Solomo)", (Facultad de Ciencias Agropecuarias., Medellín Colombia, MED-COL, 2005), pp. 72.
21. M. S. Turner, L. M. Hafner, T. Walsh & P. M. Giffard, "Identification, characterization and specificity of a cell wall lytic enzyme from *Lactobacillus fermentum* BR11", *FEMS. Microbiol. Lett.*, Vol. 238, 1, 2004, pp. 9-15.
22. Azadnia, M. H. Zamani, S. A. Ghasemi, A. K. Babaki, M. Jashni & N. Taarof, "Isolation and identification of thermophilic Lactobacilli from traditional yogurts of tribes of kazerun", *J. Anim. Veter. Adv.*, Vol. 10, 6, 2011, pp. 774-776.
23. Jolles & J. Jolles, "What's new in lysozyme research?", *Mol. Cell. Biochem.*, Vol. 63, 1984, pp. 165-189.
24. R. A. Huertas, "Review Lactic Acid Bacteria: Functional Role in the Foods", *Fac. Cien. Agrop.*, Vol. 8, 2010, pp. 93-105.
25. Cibik & M. P. Chapot-Chartier, "Characterisation of autolytic enzymes in *Lactobacillus pentosus*", *L. Appl. Microbiol.*, Vol. 38, 2004, pp. 459-463.
26. Cibik, P. Tailliez, P. Langella & M. P. Chapot-Chartier, "Identification of Mur, an atypical peptidoglycan hydrolase derived from *Leuconostoc citreum*", *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 67, 2, 2001, pp. 858-864.
27. R. D. Finn, J. Mistry, B. Schuster-Bockler, S. Griffiths-Jones, V. Hollich, T. Lassmann, *et al*, "Pfam: clans, web tools and services", *Nucl. Ac. Res.*, Vol. 34, 2006, pp. 247-251.
28. Layec, B. Decaris & N. Leblond-Bourget, "Diversity of Firmicutes peptidoglycan hydrolases and specificities of those involved in daughter cell separation", *Res. Microbiol.*, Vol. 159, 7-8, 2008, pp. 507-515.
29. S. Lortal & M. P. Chapot-Chartier, "Role, mechanisms and control of lactic acid bacteria lysis in cheese", *I. D. J.*, Vol. 15, 6-9, 2005, pp. 857-871.
30. S. Mathur & R. Singh, "Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria review", *I. J. F. Microbiol.*, Vol. 105, 2005, pp. 281-295.
31. S. Orla-Jensen, "La classification des bacteries lactiques", *Le. Lait.*, 1994, Chapter4 pp. 468-480.
32. K. Laemmli, "Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4", *Nat.*, Vol. 227, 1970, pp. 680-685.
33. Vollmer, D. Blanot & M. A. De Pedro, "Peptidoglycan structure and architecture", *FEMS. Microbiol. Rev.*, Vol. 32, 2, 2008, pp. 149-167.
34. Z. Benmechene, I. Fernández-No, M. Kihal, K. Böhme, P. Calo-Mata & J. Barros-Velazquez, "Recent patents on bacteriocins: food and biomedical applications", *Rec. Paten. DNA. Gen. Sequen.*, Vol. 7, 1, 2013, pp. 66-73.

OPERACIÓN PILOTO DE LA PARED VERDE EN UPIIG

Daniela Michelle Tapia Ponce de León*, Luis Ramón Zamudio Hernández, Jesús Ernesto Corona Andrade, Estefanía Joaquín Medina, Andy Bryham Bustos Gómez, Ana Laura Rodríguez Sotelo

Unidad Profesional Interdisciplinaria de Ingeniería campus Guanajuato Instituto Politécnico Nacional.

*daniela97035@hotmail.com

RESUMEN

En la actualidad nos encontramos con espacios urbanos carentes de áreas verdes, y debido a los beneficios que se pueden presentar al tenerlas¹³, se han modelado diferentes diseños, estructuras y metodologías de paredes verdes que pueden ser útiles en espacios reducidos. Dependiendo del lugar en donde se quiera colocar la pared verde y el ambiente al que se encuentre expuesta, se elegirá el diseño, tipo de plantas y materiales⁴. El presente proyecto fue desarrollado dentro de las instalaciones de UPIIG con la finalidad de crear conciencia a la comunidad de la importancia de estos espacios fortaleciendo las acciones de preservación ambiental. Se buscó tener los materiales más disponibles para la estructura y las condiciones que se presentan en el espacio a aprovechar, además de hacer una serie de pruebas de las plantas más adaptables para el ambiente que forma la pared verde. Actualmente, se cuenta con una diversidad de plantas de ornato a las cuales se les monitorean los parámetros adecuados para el crecimiento y desarrollo de éstas tratando así de mantener en el mejor estado a la pared verde, además de que se le hace mantenimiento tanto a las plantas y a la estructura cada cierto tiempo para posteriormente realizar las modificaciones que sean necesarias en pro de mejora. Con los resultados que se han ido obteniendo hemos podido hasta el momento identificar cuáles son las plantas más aptas, el tipo de tratamiento que necesitan y qué compuestos químicos no son adecuados para el mantenimiento de la pared además de la frecuencia de riego y cantidad dependiendo de la estación del año.

INTRODUCCIÓN

El término de *pared verde* engloba una gran cantidad de nombres que se le han dado a este sistema, entre los que se encuentran nombres como jardines verticales, sistemas de vegetación vertical, entre otros, comúnmente se define como pared verde a cualquier superficie en la que se use dicho sistema como por ejemplo los techos verdes. Se entiende como un sistema de pared verde a ciertas adecuaciones realizadas en los edificios o en lugares ubicados dentro de una zona urbana que introducen la vegetación a estos lugares otorgando diferentes beneficios, que van desde la reducción de temperatura hasta la mejora de la calidad del aire en la zona circundante al sistema.

Se considera como el origen de este sistema a los jardines colgantes de Babilonia, construidos durante el siglo VI a.C., así como los usados por los imperios Romano y Griego. Al pasar los años, durante los siglos XVII y XVIII, principalmente en la Europa Central y Reino Unido se puso en práctica el uso de plantas trepadoras para el recubriendo de los edificios, práctica que continuó hasta el siglo XIX y que se extendió hasta el continente americano teniendo presencia en diferentes ciudades de Estados Unidos. Durante todo este tiempo, el uso de plantas para el recubriendo de los edificios no tenía otra finalidad más que fungir como un adorno estético y sus primeros estudios fueron únicamente de carácter botánico, fue hasta los años 80s que se consideró que su uso podría ser benéfico ecológicamente para las zonas urbanas originando que, en años posteriores, particularmente entre los 1993 y 1997 en Berlín, se promovieron programas para la instalación de estos sistemas alrededor de la ciudad.

La finalidad de la pared verde es aprovechar espacios reducidos preservando el medio ambiente en lugares urbanos mediante nuevas técnicas. Además de crear conciencia de la sustentabilidad ambiental, con la construcción de estos espacios, se puede lograr contrarrestar impactos negativos que normalmente se desarrollan derivado de la urbanización como es la contaminación, ruido y temperaturas altas (P. Rodríguez *et al*, 2017).

Dentro de las ventajas que conlleva un proyecto como este, de manera más detallada, una es la reducción de la temperatura en el espacio que se encuentra debido a que absorbe la radiación solar mediante la fotosíntesis dando espacios con mejores condiciones, proporcionando una regulación térmica beneficiando así, en algunos casos, el ahorro de energía de calefactores o enfriadores (E. Cuce, 2017).

Como se mencionó en el punto anterior, al momento de llevarse a cabo la fotosíntesis también se tiene una mejor calidad de aire al absorber las plantas el dióxido de carbono, combatiendo así los gases de efecto invernadero.

La disminución acústica es otra de las ventajas que tiene una pared verde, ya dependerá del material que se utilice para formarlo y del tipo y tamaño de las plantas para tener de un 15% o más la capacidad de disminuir el ruido que se encuentra en los alrededores (M. Manso *et al*, 2017).

Debido a los tipos de estructuras y materiales que se utilizan en las paredes verdes se proponen metodologías de riego que eviten un alto gasto de agua, dando ventaja a esta tecnología sobre los jardines convencionales (P. Irga *et al*, 2017).

Con las paredes verdes, se promueve la existencia de pequeños ecosistemas con flora y fauna ayudando a tener más espacios donde insectos y otros pequeños animales como anfibios y aves puedan verse favorecidos, en algunos casos dependerá mucho del tipo de plantas que se tengan en las paredes para que ciertos seres vivos se puedan encontrar allí dentro a pesar de ser espacios reducidos (F. Mayrand, y P. Clergeau, 2018).

Entre los beneficios sociales que se encuentran involucrados, el sistema de una pared verde es aquel que convierte los espacios urbanos tanto públicos como privados en lugares ecológicos, dando una mejora visual a los lugares, además de sensación de calma y comodidad para las personas que se encuentran a su alrededor (P. Irga *et al*, 2017).

TEORÍA

Tipos de paredes verdes:

Existen diferentes formas de poder construir una pared verde vertical que dependerá mucho en la manera que se planeó hacer el crecimiento de las plantas y los materiales, la primer diferencia entre los sistemas son las fachadas verdes y las paredes vivas (LWS) (G.Pérez, & K. Perini, 2018).

En las fachadas verdes existen dos formas de poder tenerlas: la fachada verde directa y la fachada verde indirecta. Para el caso de la fachada verde directa, las plantas van directamente en contacto con la pared urbana, ya sea de un edificio, de una casa o alguna otra construcción, esta modalidad ha sido utilizada desde hace mucho tiempo por lo que se considera como una fachada “tradicional” aunque tiene la desventaja de poder deteriorar las estructuras a las que se encuentra adherida. En la fachada verde indirecta, se tiene la ventaja de “una doble piel” que es una pared de madera o malla antes de la pared urbana, teniendo entre ellas un espacio por donde circula el aire. También para éste caso de la fachada verde indirecta el armado de la malla o estructura previa a la pared puede estar configurada como guías continuas o enrejado modular para ayudar a dirigir por dónde deben ir creciendo las plantas. En ambos casos el espacio de tierra que tienen las plantas para crecer se encuentra en la parte inferior, por lo que en la mayoría de los casos las plantas que se usan son solamente enredaderas (E. Cuce, 2017).

Con las nuevas ideas ecológicas e ingenieriles se desarrollaron sistemas de paredes vivas (LWS) de las cuales se dividen en dos tipos: continuo o modular (C.Eigenbrod & N.Gruda, 2015).

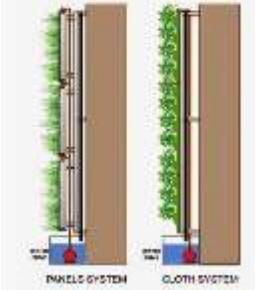
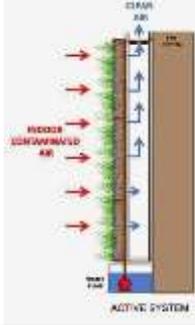
Si es LWS continuo, trata de un orden en que las plantas se colocan individualmente a lo largo de la pared por medio de pantallas ligeras y permeables, su crecimiento de cada planta es individual sin seguir una uniformidad visible.

La LWS modular tiene como característica de estar armada con dimensiones bien establecidas para cada planta además de que puede ser a base de recipientes, bandejas, macetas o bolsas flexibles. Cuando se utilizan los recipientes, normalmente están compuestas por materiales ligeros y en ocasiones que se le pone una cubierta frontal para tratar de tener a las plantas sin caerse de la pared. Si se usan bandejas en una LWS tienen la ventaja de ser rígidas y estructuradas para tratar de contener una continuidad. En el caso de las macetas se podría decir que es la conformación estructural más conocida para mantener una serie de plantas a lo largo de una pared, ayudan a resaltar los diseños que se hacen en los sitios urbanos. Si se llegan a usar bolsas flexibles éstas son

livianas y dan la oportunidad de acomodar las plantas de diferentes maneras (M.Manso, & J. Castro-Gomes, 2015).

Vintimilla G.C. (2013) en su trabajo hace mención a tres principales tipos de jardines verticales (tabla 1) de acuerdo a su posición:

Tabla 1. Principales jardines verticales

Tipo	Descripción	Esquema
Dos Caras	Suelen utilizarse como tapia para la separación de espacios, incluso como paredes que generan sombra y humedad para crear un ambiente cómodo y fresco, sin embargo suelen ser un poco costosos.	
Pasivos	Son los más comunes, pues son aquellos que “tapizan” una pared, solo poseen una cara y su instalación puede ser en interiores o exteriores, aportan armonía creando ambientes alegres y energéticos, trabajan como aislantes térmicos del muro donde se encuentran.	
Activos	Pueden ser de uso interior o exterior, son componentes auxiliares de la ventilación y climatización de los edificios.	

Sin embargo (R. Fernández-C, et al, 2008) menciona otros tres tipos de muros verdes, con base al tipo de plantas que esos contendrán, tabla 2.

Tabla 2. Clasificación jardines verticales con base al tipo de planta.

Tipo	Descripción	Esquema
Ajardinamiento de fachadas	Se refiere al recubrimiento de superficies con plantas principalmente trepadoras, las cuales requieren un soporte o guía durante su crecimiento, sin embargo no descarta las especies que no son trepadoras. El tipo de planta más común son los rosales y algunas especies del género <i>Lonicera</i> .	
Muros Vegetales	Como su nombre lo dice se utiliza para el crecimiento de vegetales, suele utilizarse un sistema hidropónico aunque también se utiliza el cultivo tradicional.	
Biowalls	<p>Son muy similares a los muros vegetales, sin embargo, suelen ser instalados en el interior de edificios y van conectados al sistema de ventilación con el objetivo de actuar como biofiltros de aire.</p> <p>Entre las especies utilizadas en los Biowalls, Darlington et al. (2001) destaca: <i>Dracaena godseffiana</i>, <i>Adiantum raddianum</i>, <i>Hedera helix</i>, <i>Spathiphyllum maunaloa</i>, <i>Rhododendron obtusum</i>, <i>Marraya sp.</i>, <i>Vriesea splendens</i> y <i>Dieffenbachia picta</i>.</p>	

En la tabla 3 se muestra otra clasificación de jardines verticales más comunes que pueden servir para identificar qué cuidados puede requerir y la estructura esencial a necesitar.

Tabla 3. Clasificación jardines verticales con base al tipo de agricultura.

Tipo	Descripción	Esquema
Hidropónico	En este tipo de cultivos, las raíces flotan en el agua, la cual contiene sales que les brindan los nutrientes necesarios. Se utilizan en cultivos urbanos donde se pueden generar alimentos de calidad en espacios reducidos Buenaventura, E. A. A. (2019).	
Convencional	En el cultivo tradicional se utiliza arena, tierra de heno, composta entre otros, para brindar a la planta los nutrientes que necesita.	

Cuidados

Para los cuidados generales de una pared verde se depende en gran medida de los materiales y del lugar en el que se encuentre. En el caso de ser recipientes pueden llegar a ser de plástico (propileno o polietileno), o láminas de metal. Para las bolsas o mallas puede usarse geomalla antihierba, mantas orgánicas o geomallas tridimensionales. Para los riegos se recomienda usar un riego automatizado, ya sea por goteo, por aspersión o difusión teniendo un tiempo establecido para hacerse dependiendo de las plantas y del lugar en el que se encuentre. El tipo de sustrato que se aplicará a la tierra para las plantas deberá contener los suficientes nutrientes sin apretar mucho el espacio o sin dejar casi sola la raíz. En algunos casos se ocupará alguna bomba o filtros para el cuidado de la distribución correcta e uniforme del agua, por lo que es recomendable en estos casos tener un alto cuidado en el mantenimiento de la pared (LWS son las que suelen tener un sistema automatizado) para evitar que se tapen las salidas de agua para el riego o fugas principalmente (G.Pérez, & K.Perini, 2018).

Plantas

Existen diversos tipos de plantas que pueden implementarse en un muro verde o jardín vertical, estas pueden ir desde plantas de ornato, hortalizas, cactus y suculentas, entre otras, sin embargo, la selección de estas dependerá de algunos factores como:

- Disponibilidad de espacio.
- Ubicación de la pared o jardín.
- Uso que tendrá la pared o jardín.

Por ello, antes de considerar el tipo de plantas que colocaremos en nuestro muro o jardín vertical debemos considerar la disponibilidad del espacio para un muro verde, considerando aspectos como el tamaño que tendrá el muro, tomando en cuenta largo, alto y ancho del mismo, de igual forma debe considerarse el tipo de riego que tendrá, es decir, si las tuberías de riego irán conectadas a una toma agua o tendrán un tanque y bomba que provea agua al sistema.

Al seleccionar las plantas que se utilizarán la ubicación es uno de los puntos más importantes pues debe definirse si serán pasillos o espacios con mucha o poca luz, altas o bajas temperaturas, etc. ya que de esto dependerá si se utilizan plantas para interiores o exteriores, las cuales se describen en las Figuras 1 y 2.

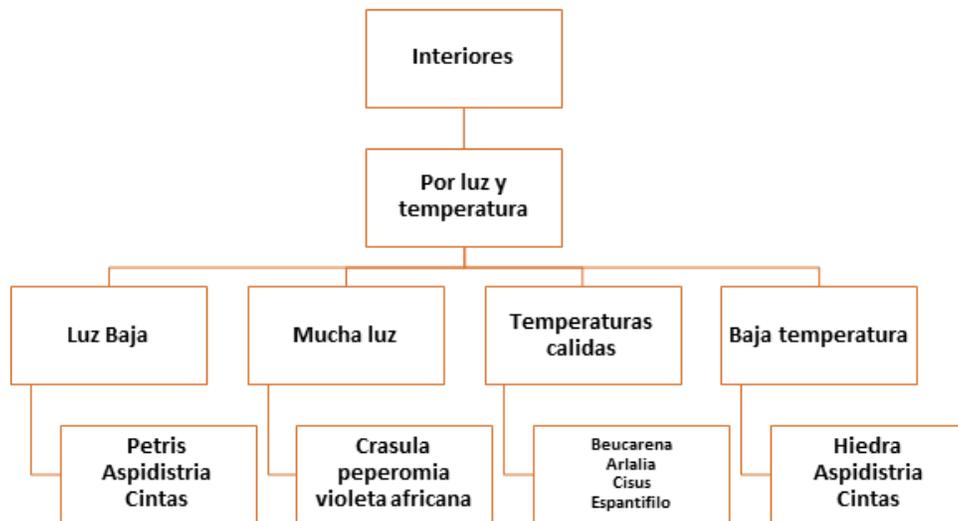


Figura 1. Tipos de plantas en exteriores de acuerdo a la cantidad de luz y temperatura.

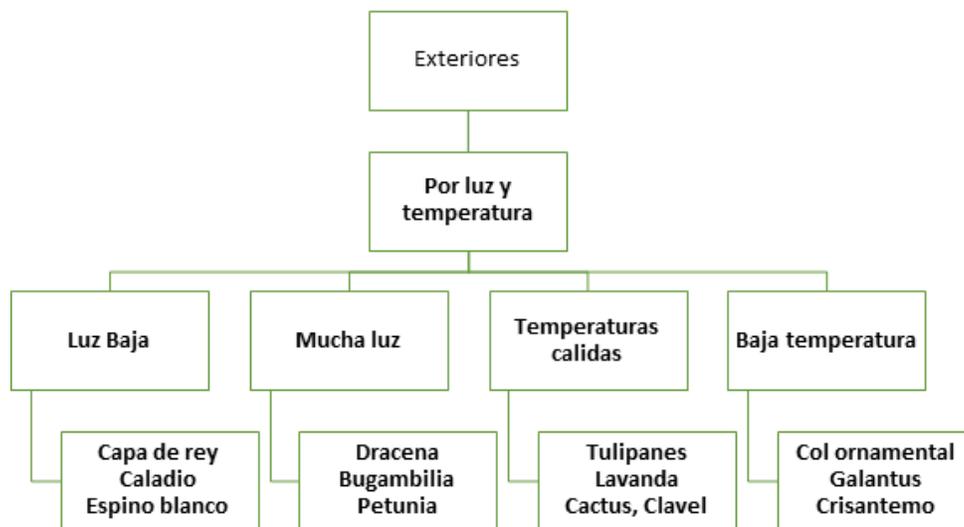


Figura 2. Tipos de plantas en exteriores de acuerdo a la cantidad de luz y temperatura

Materiales

Existen diversos materiales que pueden ser utilizados para el diseño de los muros verdes, como macetas de plástico, botellas recicladas, telas, cajas de madera, PVC, etc., los cuales influyen en el diseño final del muro verde.

PARTE EXPERIMENTAL

2018

El proyecto se inició retirando un motor International TD-189 que se encontraba a la entrada del edificio de Pesados I en UPIIG para poder aprovechar el espacio donde se encontraba, dicho motor es el que se encuentra en la Figura 1. Dado que el equipo ya no era útil para las prácticas de laboratorio se había dejado en ese espacio. La pared que cubría era muy visible para toda la comunidad de UPIIG que entraba al edificio.



Figura 1. Motor Internacional TD-189.

Se pensó hacer una pared verde con el propósito de poder aprovechar el espacio de la unidad de UPIIG con mejores condiciones para la comunidad haciéndolo más verde, difundir nuevas técnicas de preservación del medio ambiente con los materiales más disponibles para la estructura e identificar las plantas más adaptables para el ambiente que conforma la pared.



Figura 2. Fotografía del muro al inicio del proyecto.

Como se muestra en la Figura 2, la pared verde fue colocada de manera que fuera una fachada indirecta por encontrarse construida con una estructura independiente a la pared del edificio y dejando un espacio para el flujo de aire entre ambas paredes, del tipo *modular en bolsas flexibles* porque tiene bolsas que delimitan el espacio de cada planta, creciendo de manera independiente en sus bolsas aunque compartan los mismos tiempos de riego y espacio en la pared, altivo, porque se encuentra al interior del edificio ayudando a la climatización y ventilación del mismo.

La estructura inicial con la que se partió fue primeramente en la parte inferior de la pared una pila de agua que sube a través de un sistema de tuberías automatizado con una bomba como se muestra en la Figura 3.a, con un temporizador (Figura 3.b) para marcar los riegos; el agua es distribuida a través de las tuberías del sistema por el método de goteo (Figura 3.c) hacia las demás bolsas, además de que se contaba con líneas extras de tuberías a la mitad de la pared para garantizar el riego en todo el espacio de la pared. La estructura que levanta a la pared está conformada por metal, plástico, madera y pellón.



Figura 3. a) Sistema de riego, b) Temporizador usado para control de riego, c) Válvulas utilizadas para el control de riego por goteo.

2019

Al cabo de unos meses se vio afectada la pared por la humedad provocando la aparición de algas y plagas, además de que el espacio para cada planta no era uniforme, por lo que a pesar de colocar plantas de diferentes tamaños, algunas no tuvieron el espacio suficiente y empezaron a morir. Otras plantas pudimos identificar que el ambiente no les favorecía debido a que ocupaban de mayor sol, o menor cantidad de agua.



Figura 4. Primeros cambios después de unos meses.

En la Figura 4 se muestra cómo se veía la pared al paso de algunos meses, por lo que se decidió tomar de modelo algunas de las plantas que se habían adaptado al espacio de la pared para llenar las bolsas donde no había ya nada, además de que se propuso un tiempo de riego dependiendo de la estación del año debido a que en algunos meses por la humedad del ambiente se ocupaba menos el riego, y, en otros meses en cambio, el calor era muy sofocante y el ambiente seco por lo que se llegaba más seguido.



Figura 5. Fotografía con las plantas agregadas.

A pesar de haberse agregado algunas plantas a la pared y haber tratado el alga y las plagas, la tela seguía manchada, y por el color que tenía, se alcanzaba a notar claramente, además de que nosotros buscábamos una uniformidad en el crecimiento de las plantas y por la variedad de tamaños de las bolsas, no era posible como se muestra en la Figura 5.



Figura 6. Bolsas uniformes.

Después de plantearse un nuevo diseño para tener un espacio más homogéneo en cada bolsa, se buscó otra tela más oscura como normalmente se usa para las paredes verdes verticales como se ve en la Figura 6, además de tratar que ésta fuera más resistente para poder sostener el peso de la tierra y las plantas, y, porosa para tener un método de riego goteo a goteo más eficiente.



Figura 7. Nuevo sistema instalado.

Para la Figura 7 se muestra el resultado final de la instalación de la tela nueva para reacomodar las plantas sobre la estructura de soporte, además de que se tomó la decisión de solo dejar la línea de tubería de riego que se encuentra en la parte superior manteniendo cerradas todas las válvulas de las otras líneas de la pared, esto para evitar tener exceso de humedad que ayudara a la formación de algas.



Figura 8. Plantas utilizadas para el nuevo sistema.

Durante el proceso de confección de la nueva tela que sería instalada en la pared se hizo una selección de diversas plantas; de algunas de ellas ya se tenía conocimiento de su buena adaptación al sistema y, algunas otras, se pusieron por primera vez esperando que se adaptaran a las condiciones de la pared. Algunas de estas plantas se pueden observar en la Figura 8.



Figura 9. Instalación terminada.

De acuerdo al número de plantas que se consiguieron para la pared se decidió una distribución. Una vez que se definió un diseño fueron colocadas todas las plantas como se observa en la Figura 9. Cada bolsa fue llenada con la tierra necesaria para cada planta según su tamaño.

Desafortunadamente, después de algunos meses de operación se tuvieron problemas con el riego debido a un problema eléctrico que dejó a la pared sin el riego durante un fin de semana (dos días enteros), ocasionando que varias de las plantas que se encontraban en la pared perecieran. Debido a esto, fueron retiradas y se colocaron plantas nuevas. En la Figura 10 se observa el cambio de plantas, así como espacios vacíos, estos debido a que no se contaba con la cantidad de plantas necesarias para cubrir todas las pérdidas.



Figura 10. Cambio de plantas después de algunos meses de operación.

2020

Durante el inicio del presente año (2020) se observó una vez más la presencia de crecimiento de algas en las bolsas que se encontraban en la parte inferior de la pared, dicho lugar es donde se concentra mayor humedad. Para tratar de controlar el crecimiento de dichas algas se llevó a cabo el uso de un alguicida. La aplicación de este producto fue realizada directamente en el tanque en una proporción mínima debido a la composición química del producto. Se utilizaron 3 mL para el tanque lleno de agua. No obstante, se observó que el uso del alguicida afectó de forma negativa a las plantas pues se empezó a ver que varias se marchitaban y algunas otras presentaban ligeras manchas como “quemaduras” en sus hojas, debido a esto se optó por suspender su uso, aunque fue demasiado tarde para las plantas que ya se encontraba en la pared puesto que varias terminaron por marchitar y algunas otras, aunque resistieron perdieron follaje. En la Figura 11 se puede observar la afectación del alguicida a las plantas.



Figura 11. Estado final de la pared después del uso de plaguicida.

Antes de proceder a replantar la pared se realizó una limpieza de la misma, buscando con esto eliminar cualquier residuo del alguicida que pudiera afectar a las nuevas plantas, para esto se retiró todo el sustrato contaminado y se le dio una limpieza al tanque de agua. Asimismo, se hicieron las adecuaciones necesarias para el riego, lo cual consistió en dejar únicamente la línea superior para riego, cancelando el resto de líneas y dando mantenimiento a las válvulas de goteo que se encontraban tapadas, así como regulando el goteo de forma adecuada. La configuración de las líneas de riego se observa en la Figura 3.a.

Gracias a donativos de miembros de la comunidad escolar se logró conseguir una variedad de plantas de ornato, aromáticas y arbusto para la replantación de la pared. En la Figura 11 se puede observar el estado final y actual de la pared.



Figura 11. Replantación de la pared.

RESULTADOS

Desde el inicio del proyecto se tuvo el objetivo de brindar una alternativa para el aprovechamiento de espacios dentro de la unidad, así como concientizar a la comunidad respecto al medio ambiente y su importancia dentro de las zonas urbanas. El impacto del proyecto logró atraer el interés de distintos personajes dentro de la comunidad de UPIIG (alumnado, profesores, directivos, etc.), quienes desde el inicio del proyecto han apoyado de distintas maneras.

Gracias al comité ambiental y su integración en el proyecto en los años recientes se han logrado tener mejores resultados y mayor apoyo, partiendo desde el mantenimiento de la pared y los distintos ensayos que han permitido conocer las condiciones de operación de la pared, tales como la cantidad de riego, las condiciones climatológicas, el tipo de plantas óptimas para su uso en la pared y su rotación en la misma.

Las condiciones climatológicas de la ubicación de la pared verde van desde 30-34°C en primavera-verano y temperaturas de hasta 4°C en invierno, por ello, se ha optado por cambiar algunas plantas de la pared verde dependiendo de las condiciones climatológicas, para evitar que estas mueran, las cuales se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Plantas utilizadas en un muro verde con base en la época del año.

Primavera - Verano	Otoño - invierno	Todo el año
<ul style="list-style-type: none"> ● Suculentas ● Petunias ● Lavanda 	Capa de Rey Caladio	<ul style="list-style-type: none"> ● Espino blanco ● Tradescantia ● Col Ornamental ● Aromáticas

Durante el periodo otoño - invierno la pared verde luce como en la Figura 12.



Figura 12. Muro verde periodo otoño - invierno

Mientras que para el periodo de primavera - verano, la pared luce como el la Figura 13.



Figura 13. Muro verde periodo primavera - verano

La rotación de las plantas durante el año evita el desgaste del suelo o sustrato en el que se encuentran ayudando a prevenir la formación de plagas y/o enfermedades. Cuando una planta no está en la pared verde, se procura su mantenimiento y reproducción en un vivero localizado dentro de UPIIG. Con ello se procura la perpetuidad de la especie para cuando sea tiempo de regresar a la pared verde.

Sin embargo, pese a las modificaciones que se hacen debido las condiciones climatológicas y de humedad se han presentado problemas con las plantas de la pared. Las causas pueden ir desde un exceso de riego que ha causado la formación de algas en la tela, hasta un déficit de nutrientes que se ve reflejado en el aspecto de las plantas como manchas amarillentas con bordes cafés. Se puede solucionar el déficit de nutrientes agregando una solución de sales al tanque agua, lo que permitirá que las plantas los absorban a través del riego, o bien, fertilizado con abono o humus de lombriz directamente en las bolsas de cada planta. Si bien la fertilización de las plantas suele hacerse a inicios de la primavera, se vuelve a agregar fertilizantes cuando se realiza la rotación del cultivo en la pared, con ello la planta tendrá una mejor adaptación y crecimiento en el muro.

Actividades futuras

De las actividades que hace falta por hacer es buscar la manera de evitar el paso de las hojas y exceso de lodos a las tuberías, una de las propuestas que se tienen es colocar un filtro de malla que tenga un tamaño de poro lo suficientemente pequeño para evitar el paso de las partículas grandes más no del agua que se recircula una vez que ya pasó por toda la pared y cae en la pila de agua.

Por las pruebas realizadas, se sabe que no es viable el alguicida debido a que la mayoría de estos son aldehydos como el que se colocó a las bolsas de la pared por lo que es necesario buscar otras alternativas para solucionar de manera efectiva y sencilla este problema, en caso de volverse a presentar. Debido a que el tipo de soporte externo de la pared verde tiene la capacidad de retener la humedad será difícil evitar la generación de algas por lo que propone realizar un mantenimiento más constante del soporte para disminuir la formación de algas además de que es necesario investigar un protocolo de limpieza que evite el desgaste o rompimiento de la tela.

Se sabe que hasta el momento las plantas de la última línea de la pared no se han logrado adaptar por completo a las condiciones que hay en el ambiente por lo que se deberá hacer más prácticas de ensayo y error partiendo de una investigación previa para saber cuáles podrían ser las plantas candidatas que puedan resistir grandes cantidades de humedad debido a que es una de las condiciones más detonantes en esos espacios.

También en los siguientes estudios se buscará llevar de manera más cuantitativa el gasto de luz para saber si es una ventaja el tener los equipos y la instalación como hasta el momento se ha tenido de la bomba y del temporizador, además de que se verá la manera de cuantificar de manera más exacta el gasto de agua.

Para poder pasar de lo empírico a lo técnico es necesario partir de una buena investigación respecto a cada una de las partes que conforman una pared verde además de tener cuidado en conocer los factores del ambiente y puntos críticos de la misma. Para el momento en que se escale a lo técnico ya se tendrá un filtro ayudando así a tener mejores resultados. Además de que una vez que se tiene experiencia y conocimientos de cómo tratar algunos puntos de la pared, pueden ayudar a identificar más fácilmente otros más.

Hasta el momento, mediante los materiales que se han utilizado para el proyecto se ha visto que desde el punto de vista económico es muy viable dado que normalmente 1m^2 de una pared verde puede llegar a costar desde los 100 000 hasta los 600, 000 pesos y en nuestro caso el costo total ha sido de 4 000 más donaciones el metro cuadrado y aunque no se contara con las donaciones el costo aún quedaría muy por debajo, siendo un total de 8 250 pesos en 1m^2 .

En cuanto a las desventajas que tiene el proyecto, es que se ocupa dar mantenimiento continuamente para mantenerlo en buenas condiciones, la rotación de plantas a lo largo del año requiere de tiempo y cuidados para las plantas, además de que se debe de saber dónde se van a cuidar las plantas que no se encuentren en la pared en esos momentos; también, al momento de instalarlos se debe de analizar caso por caso debido a que en los espacios que se coloquen puede variar el ambiente que lo rodea y por lo tanto, cambiará el tipo de planta y material requerido.

Respecto a las ventajas del proyecto, sabemos que, como se mencionó anteriormente, el gasto monetario es mucho menor a lo que comercialmente costaría; el valor estético que tiene en el espacio que se ubica también lo consideramos como una ventaja; el gasto de agua que se hace es menor al que se podría tener debido a que el riego total de la pared se hace por el método de goteo a goteo y el apoyo a la creación de pequeños ecosistemas con flora y fauna debido a que se ha encontrado insectos (como catarinas, cochinillas y arañas) y anfibios (ranas) entre las plantas de la pared verde.

CONCLUSIONES

La fácil instalación, la variedad de materiales que se pueden utilizar, los diferentes tipos de plantas y las enormes ventajas que los muros verdes constituyen como, por ejemplo, reducir la temperatura de los espacios, mejorar la calidad de aire de la habitación o espacio donde se encuentra, además de embellecer fachadas han hecho de esto una excelente alternativa de la agricultura urbana, ya que, permite el desarrollo y producción de distintos tipos de plantas en espacios reducidos. Con base en lo anterior, se instaló una pared verde cumpliendo con el propósito de aprovechar el espacio que se brindó en la UPIIG y promover entre los estudiantes y personal las nuevas técnicas de preservación de la flora, utilizando los materiales disponibles y/o reciclables que se tenían para montar la estructura, permitiendo que las personas involucradas aprendieran a identificar las plantas más adaptables de acuerdo a el ambiente que conforma la pared así como su mantenimiento y reproducción. Por último, este tipo de proyectos aporta a la educación ambiental de los alumnos con acciones prácticas *in situ*.

BIBLIOGRAFÍA

1. C.Eigenbrod, & N.Gruda, (2015). Urban vegetable for food security in cities. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 35(2), 483-498.
2. A.B., Darlington, J., Dat, and M.A., Dixon, 2001. The Biofiltration of indoor air: air flux and temperature influence the removal of toluene, ethylene and xylene. *Environ.I Sci. Technol.* 35: 240-246.
3. E. A. A., Buenaventura, (2019, mayo 15). Sistema de monitoreo y control de un modelo hidropónico del tipo Nutrient Film Technic NFT, para la producción de hortalizas en ambientes controlados | *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*. Recuperado de <http://revistas.sena.edu.co/index.php/recia/article/view/1830>
4. E. Cuce, (2017). Thermal regulation impact of green walls: An experimental and numerical investigation. *Applied Energy*, 194, 247-254.
5. G.C.Vintimilla (2013). Uso de materiales para jardines verticales en espacios interiores <http://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/2601/1/09789.pdf>
6. F. Mayrand, & P. Clergeau, (2018). Green roofs and green walls for biodiversity conservation: a contribution to urban connectivity?. *Sustainability*, 10(4), 985.
7. G.Pérez, & K.Perini, (Eds.). (2018). Nature based strategies for urban and building sustainability. Butterworth-Heinemann.
8. M. Manso, & J. Castro-Gomes, (2015). Green wall systems: A review of their characteristics. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 41, 863-871.
9. M. Manso, J. P. Castro-Gomes, M. Marchacz, M. Gorski, L. Dulak, & R. Zuchowski, (2017). Acoustic evaluation of a new modular system for green roofs and green walls. *environment*, 15, 17.
10. P. J. Irga, J. T. Braun, A. N. J. Douglas, T. Pettit, S. Fujiwara, M. D. Burchett, & F. R. Torpy, (2017). The distribution of green walls and green roofs throughout Australia: Do policy instruments influence the frequency of projects?. *Urban Forestry & Urban Greening*, 24, 164-174.
11. R. Fernández-Cañero, N. Pérez, S. Quevedo, L. Pérez y A. Franco.(2008) Ajardinamiento de fachadas y jardines verticales: otras formas de jardinería aplicadas a un desarrollo urbano más sostenible.I Simposio Iberoamericano- IV Jornadas Ibéricas de Horticultura Ornamental. Pontevedra (España).
12. P. Rodríguez-Salinas, M. R. Morales, A. Franco, A. R. Pérez-Fernández, & O. Lobato-Calleros (2017). Efecto de amortiguamiento térmico de una barrera verde de Arundo donax como elemento de bioclimatización en edificios. *Informes de la Construcción*, 69(547), 216.
13. V. Prodanovic, B. Hatt, D. McCarthy, K. Zhang, & A. Deletic, (2017). Green walls for greywater reuse: Understanding the role of media on pollutant removal. *Ecological Engineering*, 102, 625-635.

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS PARA LA ELABORACIÓN DE UNA ALTERNATIVA DE ALIMENTO SALUDABLE A BASE DE NOPAL NATURAL COSECHADO EN LA REGIÓN CARBONÍFERA

Perla Mayara Alcalá González¹ Rubí Alcalá González¹, Guadalupe Esmeralda Alcalá González¹ Jesús Gabriel Rodríguez Saldaña², Giovanna Rodríguez Menchaca², Daniela Guadalupe Gutiérrez Alonso², María Anahí Romania Martínez² y Rosario Rodríguez Téllez²

¹Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de la Región Carbonífera, ²Alumnos del ITESRC

RESUMEN

En la búsqueda de una opción saludable de alimento se llevó a cabo una investigación en dos etapas, en la primera se hizo un diseño de una mermelada de nopal y azúcar morena, realizando un análisis sensorial aceptable, en búsqueda de reducir la cantidad de azúcar, se sustituyó por un endulzante más saludable, realizando una segunda etapa con un diseño de experimentos utilizando un arreglo ortogonal L_42^3 , 3 factores 2 niveles, donde se manipularon las variables endulzante, tiempo de cocción y consistencia de la molienda, las características de medición la dulzura, sabor, untabilidad, consistencia y aroma utilizando un análisis sensorial, se midió el pH a las corridas experimentales, también se realizó un ANOVA para identificar características de variación, encontrando que el sabor en la variable endulzante estadísticamente afecta más al proceso, con un nivel de confianza del 95%, el pH de las corridas fluctuó entre 4.2 y 4.4 el cual está dentro del rango permitido. Finalmente se obtuvo la predicción de las condiciones óptimas para la estandarización del proceso. Se realizó un análisis bromatológico para determinar el valor nutrimental de la corrida óptima. Obteniendo una corrida óptima de mermelada de Nopal-verdura baja en sodio y azúcares.

INTRODUCCIÓN

La tendencia mundial hacia una alimentación más sana y saludable busca alimentos funcionales que además de su aporte a la salud sean capaces de satisfacer las necesidades del consumidor (Silveria-Rodríguez 2003).

Actualmente en el Estado de Coahuila según Estadísticos Epidemiológicos de las defunciones, reportó cifras preliminares que las principales causas de muerte son las enfermedades del sistema circulatorio, endocrinas y metabólicas tales como enfermedades del corazón y la diabetes, la obesidad es considerada el principal factor de riesgo de estas enfermedades y es un problema de salud pública. La ingesta de alimentos chatarra es de 5.4 días a la semana, 1 día se consume verduras. Se consume 53.1% calorías, más que las recomendadas (Cortés Hernández, 2015). En la Región Carbonífera se cosecha nopal-verdura en invernadero, la producción es económica y con prácticas orgánicas, el aprovechamiento de las propiedades del nopal es una práctica milenaria. El consumo de nopal verdura (*Opuntia ficus-indica* L.Mill.) se ha incrementado en los últimos años, debido a las propiedades nutraceuticas que se le atribuyen. México produjo 824,602 t en 2014 y 723,815 t en 2010 y es el principal país productor de esta hortaliza y el mayor consumidor a nivel mundial, con un consumo per cápita de 6.7 kg (SIAP, 2014). Países como Estados Unidos, Canadá, Japón, Italia y Turquía demandan el nopal verdura debido a su bajo valor calórico, alto contenido en fibra y cualidades nutricionales y funcionales (Sáenz-H., 2004; Stintzing y Carle, 2005). Estudios realizados en humanos lo colocan como un alimento funcional para tratar la enfermedad de la diabetes por su riqueza de fibra dietética (Santiago Lorenzo, López Jiménez, Saucedo Veloz, & Jaen Contreras, 2016). La información que sustenta la investigación son publicaciones de algunos autores que han efectuado estudios sobre la elaboración de mermeladas y del nopal "*Mermelada a partir de pulpa y cáscara de tunas elaborada a nivel piloto*" (López Orozco, Mercado Flores, Martínez Soto, & Magaña Ramírez, 2011) "*Definir el método de corte del nopal-verdura cultivado en invernadero en la región carbonífera*" (Alcalá González, Alcalá González, Alcalá González, & Martínez Tovar, 2019), "*Proyecto de Inversión para la elaboración de mermelada con el fruto Xoconostle*" (Ortega Chilino & Meneses Monzón, 2006) "*Elaboración de mermelada dietética apta para personas diabéticas utilizando mezcla de penca de nopal y fresa*" (Burbano Pozo & Anrrango Sola, 2013). Nuestro análisis requiere la comprobación de las siguientes hipótesis Si el pH de las corridas experimentales está dentro de las especificaciones para la elaboración del alimento y los diferentes tipos de endulzantes, la cocción y la molienda, influyen en el análisis sensorial

Esto es lo que nos impulsó a desarrollar una investigación para ofrecer una opción saludable analizando las variables para la elaboración una mermelada a base de nopal cosechado con prácticas orgánicas en la Región Carbonífera, para que los pequeños productores le den un valor agregado al producto primario (nopal-verdura), transformarlo de alguna manera y que tenga un precio de mayor valor y ofrezcan una diversidad de productos y una opción es la mermelada de nopal, producto aceptable a los consumidores, sin perder los beneficios nutrimentales que tiene el nopal.

TEORIA

Se realizó la búsqueda en IMPI, Google Patents, Google Académico y diferentes revistas de industrias, existen algunas patentes de mermelada de cactus, mermelada china, el IMPI considera imposible otorgar denominación de origen al nopal en su estado natural, pues no es característico de una sola región (Coss y León, 2007), por lo tanto, se puede patentes en procesos por ejemplo crema de aceite, mermelada de nopal, etc. punto a favor de nuestro proyecto, la información encontrada es la siguiente:

- Artículo de una mermelada a partir de pulpa y cáscara de tunas elaborada a nivel piloto (López Orozco & Mercado Flores, 2011)
- Tesis "Proyecto de Inversión para la elaboración de mermelada con el fruto Xoconostle" (Ortega Chilino & Meneses Monzón, 2006)
- Tesis "Elaboración de mermelada dietética apta para personas diabéticas utilizando mezcla de penca de nopal y fresa" (Anrrango sola & Burbano Pozo, 2012)
- Mermelada China (China Patente no. 1232273738, 2012)
- Cactus Jam (Japón Patente no. JPS5867151A, 1981) El nopal es un derivado del cactus, no existen patentes como tal de la mermelada de nopal, pero existen patentes de mermeladas de cactus, recetas de mermeladas de nopal y marcas registradas en el IMPI que comercializan derivados del nopal considerando la mermelada de nopal.

Método Taguchi

Un experimento es un procedimiento mediante el cual se trata de comprobar (confirmar o verificar) una o varias hipótesis relacionadas con un determinado fenómeno, mediante la manipulación y el estudio de las variables que presumiblemente son su causa. Se utiliza para describir cualquier proceso que genere un conjunto de datos

El (DOE) se puede definir como un conjunto de técnicas estadísticas usadas para planear experimentos y analizar sus resultados de manera ordenada y eficiente.

Existen tres principios básicos a ser considerados en todo diseño y análisis de un experimento:

1.- El orden de los experimentos debe ser aleatorio. Aleatorizar el orden de las pruebas neutraliza fuentes de variación que pueden estar presentes durante el experimento. En general dichas fuentes de variación son desconocidos, y pueden ser muchos, por ejemplo, cansancio del trabajador durante la realización de las pruebas o durante la medición de estas, cambios de voltaje, cambios de humedad, etc.

2.- Es importante replicar cada experimento. La razón es obtener un estimado del error, tanto para ver qué tan bien el diseño representa al proceso, como para poder comparar los factores y determinar si son activos o no. Se define como replica genuina la obtenida en una sola prueba o medición para cada combinación de los factores, y repetir dichas condiciones para cada replica adicional, en lugar de tomar varias muestras o mediciones de una vez en cada combinación. Lo opuesto a las réplicas genuinas son las repeticiones. Por supuesto las réplicas genuinas implican un mayor tiempo al realizar pruebas y un costo mayor, pero es la mejor manera de obtener un estimado más preciso.

3.- Ocasionalmente pueden existir variables presentes en un experimento, cuyo efecto no se desea probar y que incluso pueden afectar o encubrir la influencia de las variables con las que se desea experimentar.

Pasos para la experimentación:

- Definir el problema
- Seleccionar la variable de respuesta

- Verificar el estado de las maquinas en donde se va a experimentar
- Verificar la capacidad y estabilidad de los instrumentos de medición
- Seleccionar las variables a experimentar y sus niveles
- Determinar el tipo de diseño a usar y el número de replicas
- Realizar las pruebas aleatoriamente
- Analizar los resultados
- Conclusión

Factores o variables

Son dimensiones medibles en una escala continua. Por ejemplo, presión, voltaje, temperatura, diámetro, peso, etc. Los niveles de una variable son los valores en los cuales se experimentará con esta. embargo, también variables cualitativas proveedor, operador, etc.

Elementos del método Taguchi

Los arreglos ortogonales (AO) son matrices de diseño que indican el número de pruebas y las combinaciones de las variables y sus niveles en dichas pruebas. Los AO representan una fracción del total de experimentos por realizar, de acuerdo con el número de variables y sus niveles. Por ello, la utilización de los AO reduce el costo y el tiempo de la experimentación. Los AO son diseños fraccionados.

La mayoría de los AO están asociados a una o varias gráficas lineales que indican la ubicación de las variables y sus interacciones dentro del AO seleccionado.

Para hacer una selección de arreglos ortogonales se requiere:

1. Escoger el AO considerando que cada columna de un arreglo con dos niveles puede alojar a una variable con dos niveles, o a una interacción formado por variables de dos niveles. En el caso de arreglos de tres niveles, se necesitarán dos columnas para contener a una interacción formada por variables con tres niveles.
2. Dibujar la gráfica requerida
3. Buscar una gráfica lineal que se adapte a la gráfica requerida
4. Asignar las variables del arreglo (Escalante, 2014)

Un arreglo ortogonal se puede comparar con una replicación factorial fraccionada, de manera que conserva el concepto de ortogonalidad y contrastes. Un experimento factorial fraccionado es también un arreglo ortogonal. Taguchi desarrolló una serie de arreglos particulares que denominó: $L_n(a^k)$ Donde: n= representa el número de pruebas (renglones), k= esto es el número de columnas o condiciones experimentales (factores). a= Representa los diferentes niveles a los que se tomará cada factor (g-taguchi, 2019).

PARTE EXPERIMENTAL

Población

La muestra es de 4 pruebas con 10 réplicas para cada característica

Tipo de estudio

De acuerdo con las estrategias

Experimental: Primeramente, se definieron los factores a manipular se midió su característica de salida, Se preparó el diseño del experimento y se analizaron por herramientas estadísticas.

Los datos obtenidos de la investigación son reportados en satisfacción del cliente 1 a 5 .

De acuerdo con el periodo en que se realiza el estudio prospectivo, la información se recopiló a partir del experimento.

Por la evolución del fenómeno en estudio transversal: Ya que es una investigación sobre un problema durante un periodo específico.

Por la interferencia del investigador en el estudio cuasiexperimental. El investigador tiene el control de ciertas variables del fenómeno en estudio.

Recopilación y Análisis de la información

La investigación se hizo con nopal-verdura variedad Villanueva cosechado con prácticas orgánicas en invernaderos de la Región Carbonífera. En la primera etapa se realizó una receta de mermelada de nopal utilizando nopal y azúcar morena, en búsqueda de reducir la cantidad de azúcar en el alimento se realizó el diseño de experimentos aplicando un arreglo ortogonal L_42^3 (Tabla 2) 3 factores 2 niveles, donde se manipuló las variables endulzante niveles miel virgen y Stevia, tiempo de cocción niveles bajo y alto, consistencia niveles molida y semimolida (Tabla 1), las características de medición utilizando un análisis sensorial son la dulzura, sabor, untabilidad, consistencia y aroma, realizado un análisis sensorial con una evaluación de 1 a 5 donde 5 es excelente, se hizo medición del pH a cada una de las corridas experimentales, tipo de investigación con respecto al periodo de recopilación fue prospectivo, longitudinal para medir el pH

Tabla 1. Variables y niveles

Variables	Niveles
Endulzante	Stevia
	Miel virgen
Tiempo de cocción	Bajo
	Alto
Consistencia	Molida
	Semimolida

Tabla 2. Diseño de Experimentos

Pruebas	Cocción	Endulzante	Consistencia
1	Bajo	Stevia	Molida
2	Bajo	Miel	Semimolida
3	Alto	Stevia	Semimolida
4	Alto	Miel	Molida

En la tabla 3 se muestran las respuestas del análisis regular de medias donde se está midiendo el sabor, se observa que la variable endulzante es la que tiene mayor diferencia, existe una diferencia de 1.250 de la decisión de los degustadores en relación con su nivel 1 y nivel 2.

Nivel	Cocción	Endulzante	Consistencia
1	3.188	3.688	3.000
2	2.938	2.438	3.125
Delta	0.250	1.250	0.125
Clasificador	2	1	3

Tabla 3. Respuestas de medias del sabor

En la gráfica de efectos principales para medias (Figura 1) podemos observar que en la característica sabor de las variables manipuladas la que más afecta es endulzante con Stevia la mejor combinación es Cocción Bajo, endulzante Stevia y consistencia semi molida, donde la coacción y consistencia estadísticamente no afecta esto de acuerdo con el ANOVA

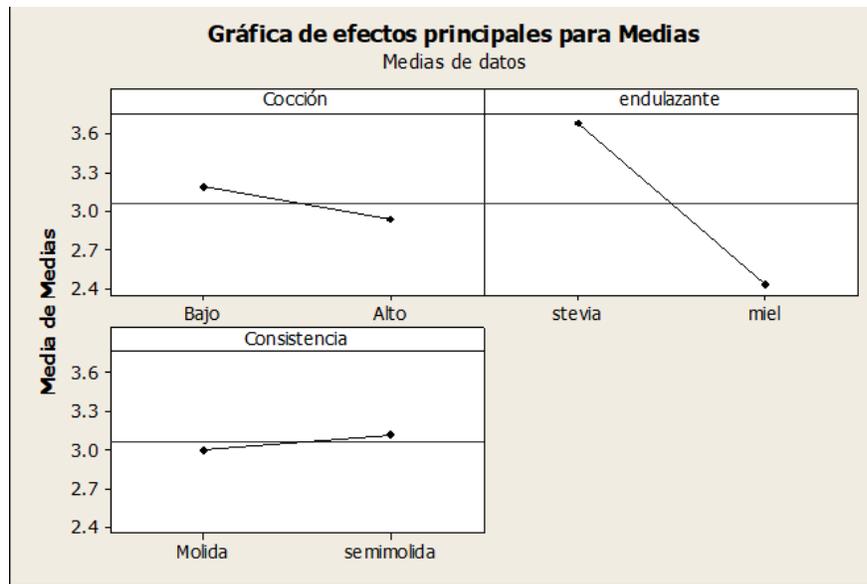


Figura 1. Efectos principales de medias característica sabor

Se realizaron las corridas para cada una de las características, y las respuestas de medias (Tabla 4) se pueden observar que la variable endulzante en las características sabor, dulzura, aroma y consistencia es mejor con el nivel 1

Tabla 4. Respuestas de medias

SABOR			
Nivel	Cocción	endulzante	Consistencia
1	3.188	3.688	3.000
2	2.938	2.438	3.125
Delta	0.250	1.250	0.125
DULZURA			
Nivel	Cocción	endulzante	Consistencia
1	2.938	3.688	2.688
2	2.750	2.000	3.000
Delta	0.188	1.688	0.313
UNTABILIDAD			
Nivel	Cocción	endulzante	Consistencia
1	3.188	2.875	3.500
2	3.000	3.313	2.688
Delta	0.188	0.438	0.813
AROMA			
Nivel	Cocción	endulzante	Consistencia
1	2.688	3.063	2.750
2	2.938	2.563	2.875
Delta	0.250	0.500	0.125
CONSISTENCIA			
Nivel	Cocción	endulzante	Consistencia
1	3.063	3.250	3.500
2	3.125	2.938	2.688
Delta	0.063	0.313	0.813
PH			
Nivel	Cocción	endulzante	Consistencia
1	4.300	4.200	4.200
2	4.200	4.300	4.300
Delta	0.100	0.100	0.100

Continuando con el análisis de la información se realizó un análisis de varianza con un modelo lineal general (Tabla 5) a cada una de las características donde se puede observar que, la variable endulzante estadísticamente afecta en el sabor y dulzura por tener una F Crítica de 20.90 y 28.51, en la variable consistencia afecta estadísticamente la característica consistencia con una F crítica de 8.89 esto con un nivel de confianza del 95%.

Tabla 5 Resultados de ANOVA para análisis sensorial

Sabor	F	P	Decisión
Cocción	0.84	0.368	No afecta
Endulzante	20.90	0.000	Afecta
Consistencia	0.21	0.651	No afecta
Dulzura	F	P	Decisión
Cocción	0.35	0.558	No afecta
Endulzante	28.51	0.000	Afecta
Consistencia	0.7812	0.331	No afecta
Untabilidad	F	P	Decisión
Cocción	0.33	0.568	No afecta
Endulzante	1.81	0.189	No afecta
Consistencia	6.26	0.018	No afecta
Aroma	F	P	Decisión
Cocción	0.43	0.515	No afecta
Endulzante	1.74	0.198	No afecta
Consistencia	0.11	0.744	No afecta
consistencias	F	P	Decisión
Cocción	0.05	0.820	No afecta
Endulzante	1.32	0.261	No afecta
Consistencia	8.89	.006	afecta

Se realizaron graficas de interacción de las características que afectan al proceso para definir la corrida óptima de elaboración de la mermelada (Figura 2), donde se observa que el endulzante Stevia, cocción bajo y consistencia molida es la predicción más óptima.

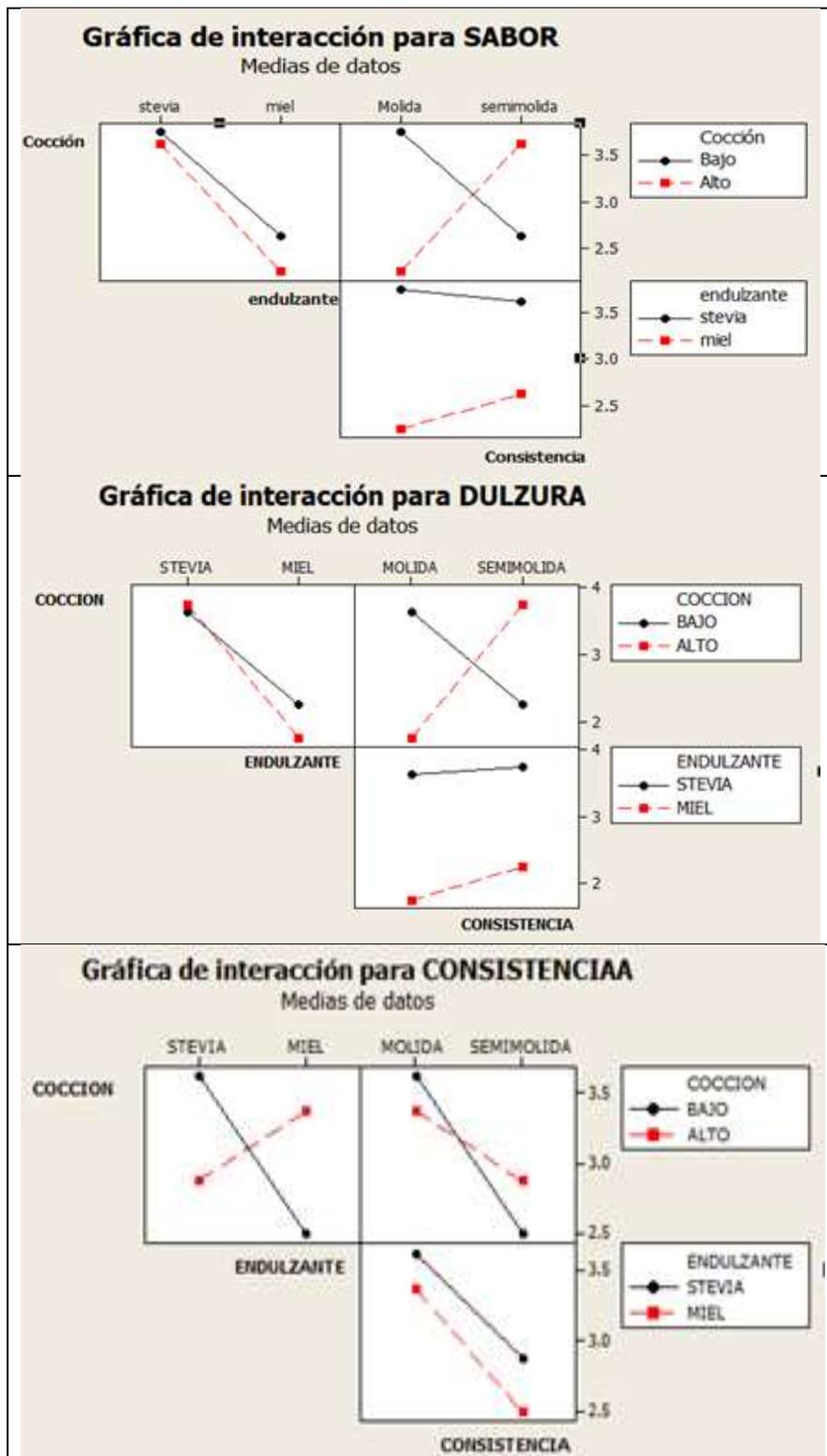


Figura 2. Gráfica de interacción para características sabor, dulzura y consistencia

A cada una de las corridas experimentales se le hizo medición del pH para determinar el grado de acidez se obtuvo entre 4.2 y 4.4, comprobando que las corridas experimentales están dentro de las especificaciones del pH para la elaboración del alimento.

Posteriormente se realizó un análisis bromatológico para determinar el valor nutricional de la corrida óptima, basándonos en las especificaciones generales de la norma NOM-051 para el etiquetado de la información nutricional.

RESULTADOS

Con la investigación se obtuvo una receta óptima para la elaboración de una Mermelada de Nopal-verdura con una cocción nivel bajo, endulzante stevia y consistencia molida obteniendo una media de 3.75 de aceptación, la materia prima principal es nopal cosechado con prácticas orgánicas en la Región Carbonífera, ofreciendo una alternativa de alimento saludable y favorece a reducir la ingesta de comida chatarra. Proporcionando a los pequeños agricultores la oportunidad de diversificar su producto principal. De acuerdo con las diferentes herramientas estadísticas la corrida óptima de proceso es cocción bajo, endulzante Stevia y consistencia molida.

El resultado del valor nutricional en una presentación de 105 gramos es contenido energético 10 Cal, Proteína 0.3 g, Grasa (lípidos) 0.1 g, grasas saturadas 0.0 g, azúcares 1.3 g, fibra dietética 0.6 g, sodio 45 mg. pruebas realizadas en laboratorio Industrial Roca, S. de R.L. Registro SSA 112096 para el producto se presenta en la Figura 3, así como las proporciones que aporta la mermelada (Figura 4) en una porción de 2 cd (28 gr).

PRESENTACION DE TABLA E ICONOS FRONTALES

Información Nutricional	por Porción de 2 Cd (28 g)
Contenido Energético	10 Cal (42 kJ)
Proteína	0.3 g
Grasa (lípidos)	0.1 g
grasas saturadas	0.0 g
Carbohidratos	1.9 g
azúcares	1.3 g
Fibra Dietética	0.6 g
Sodio	45 mg

Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasadas NOM-051-SCFI/SAA1-2010

Figura 3. Tabla Nutricional de la Mermelada

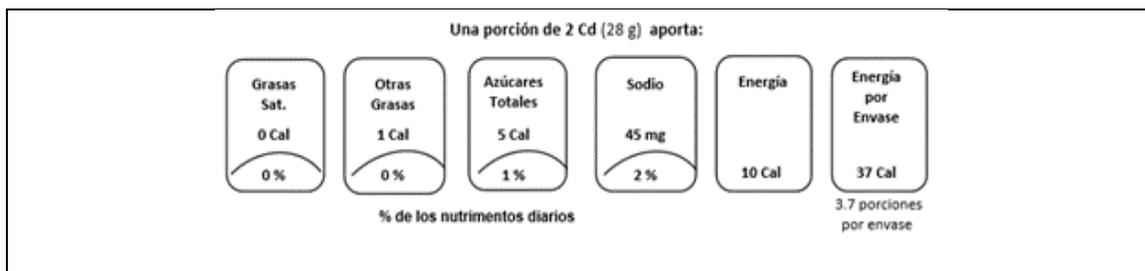


Figura 4. Aportación en porcentajes de los nutrimentos diarios recomendados

CONCLUSIONES

La investigación que se realizó gracias a modelos estadísticos, ayuda a la comunidad, al mostrar una alternativa de alimento más saludable, para reducir las cifras de mortalidad que tiene nuestro Estado de Coahuila, además de ayudar a personas con problemas de obesidad y de diabetes a regular su alimentación y tener una forma divertida de comer saludablemente ya que se cuenta con el nopal verdura Villanueva producido con prácticas orgánicas, ayuda al sector Agroindustrial de diversificar sus productos, proporcionando un incremento considerable en su economía.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alcalá González, R., Alcalá González, P., Alcalá González, G., & Martínez Tovar, H. C. (2019). Definir Método de corte del nopal-verdura cultivado en invernadero en la Región Carbonífera. En G. V. Vázquez García, A. Martínez García, C. Solano Sosa, & M. E. Sánchez Morales, *Desarrollo Científico en México* (págs. 3069-3077). León, Guanajuato, México: Centro de Investigación en óptica. Obtenido de https://www.cio.mx/publicaciones_electronicas_del_CIO.php
2. Ambiental, R. T. (01 de septiembre de 2001). *Cultivo de cactáceas, opción sustentable para luchar contra saqueo*. Obtenido de TEOREMA AMBIENTAL: <http://www.teorema.com.mx/cienciaytecnologia/cultivo-de-cactaceas-opcion-sustentable-para-luchar-contra-saqueo/>
3. Burbano Pozo, A., & Anrrango Sola, A. (2013). *Elaboración de mermelada dietética apta para personas diabéticas utilizando mezcla de penca de nopal (Opuntia ficus indica) y fresa (Fragaria vesca L.)*. Tesis, Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales, Ing. Agroindustrial, Ibarra- Ecuador. Obtenido de <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/2051>
4. Coahuila, F. y. (2015). *Zócalo*. Obtenido de <http://www.zocalo.com.mx/seccion/articulo/fauna-y-flora-de-coahuila-1424713114>
5. Cortés Hernández, D. (2015). *Estrategia estatal para la prevención y control del sobrepeso, obesidad y diabetes*. Saltillo Coahuila.
6. Escalante, E. (2014). *Seis Sigma Metodología y técnica* (Segunda ed.). México: Limusa Noriega.
7. López Orozco, M., Mercado Flores, J., Martínez Soto, G., & Magaña Ramírez, J. L. (mayo-agosto de 2011). Formulación de una mermelada a partir de pulpa y cáscara de tunas (*Opuntia* spp.) elaborada a nivel planta piloto. *Sistema de Información Científica Redalyc*®, 21(2), 31-36. Obtenido de Sistema de Información Científica Redalyc ®: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=41619838004>
8. Ortega Chilino, A., & Meneses Monzón, C. (2006). *Proyecto de Inversión para la elaboración de mermelada con el fruto del Xoconostle*. TESIS, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Ingeniería Industrial, Pachuca Hidalgo. Obtenido de <https://repository.uaeh.edu.mx/bitstream/bitstream/handle/123456789/11056/Proyecto%20de%20inversi%C3%B3n%20para%20la%20elaboraci%C3%B3n%20de%20mermelada%20con%20el%20fruto%20del%20Xoconostle..pdf?sequence=1&isAllowed=y>
9. Poselgeri, S. E. (2013). *NaturaLista*. Obtenido de Natura Lista: <http://www.naturalista.mx/taxa/162185-Echinocereus-poselgeri>
10. Reyes, M. N. (23 de Agosto de 2001). *Rescate de cactáceas en Líneas de Transmisión eléctricas en el noreste*. San Nicolas de los Garza: Facultad de Ciencias Biológicas.
11. Sanchez, C. D. (Agosto de 2015). Tesis. *Sistemática Filogenética de Echinocereu*. México D.F., México: UNAM POSGRADO en ciencias biológica.
12. Santiago Lorenzo, M., López Jiménez, A., Saucedo Veloz, C., & Jaen Contreras, D. (18 de mayo de 2016). Composición Nutricional del Nopal Verdura Producido con Fertilización mineral y Orgánica. *Revista Filotec. Mex*, 39(4), 403-407. Obtenido de <http://www.scielo.org.mx/pdf/rfm/v39n4/0187-7380-rfm-39-04-00403.pdf>
13. SEMARNAT, P. F. (12 de Septiembre de 2016). NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-059-SEMARNAT-2010.

14. Ulises Guzmán, S. A. (2007). *Catálogo de cactáceas Mexicanas* . México: UNAM Y CONABIO.
15. Unión, C. d. (2018). *Consejos para el Cultivo*. Obtenido de <http://www.cactuslaunion.com/consejos-para-el-cultivo/>

USO DE MICROORGANISMOS NATIVOS COMO PROBIÓTICOS DURANTE LA ENGORDA DE LOS CONEJOS

Tarsicio Medina Saavedra ^{1*}, Gabriela Arroyo Figueroa¹, María Isabel García Vieira¹, Mónica Dariela Quiñones Páramo¹ y Lilia Mexicano Santoyo²

¹ Universidad de Guanajuato, ² Instituto tecnológico de Roque.

*tarsicioms@hotmail.com

RESUMEN

Las bacterias que producen ácido láctico (BAL) se encuentran presentes en la microflora epifítica de los vegetales, entre ellos los géneros: Lactobacillus, Pediococcus, Leuconostoc, Enterococcus, Lactococcus y Streptococcus, existen además consorcios de microorganismos de montaña como levaduras y los cultivos mixtos entre ellos los Bacillus, microorganismos que más se han empleado actualmente como probióticos y promotores del crecimiento en la producción animal. El objetivo de la investigación fue evaluar el uso de microorganismos nativos de un ensilado y de montaña como probióticos en la engorda de conejos. Durante las pruebas se emplearon conejos híbridos donde predomina la raza california de 30 días de edad, el tratamiento uno (T1) se adicionaron microorganismos de montaña en un ensilado (MME) en el agua de bebida y el tratamiento dos o convencional (T2) fungió como testigo en el que solamente agua potable en el bebedero, en ambos tratamientos se les proporcionó ad libitum alimento comercial para conejos con un 16% de proteína cruda. Los MME se obtuvieron de un proceso inicial anaerobio y otro final aerobio. Se calculó el consumo de alimento y el índice de conversión alimenticia que fueron expresados como la media \pm la desviación estándar y se realizó un análisis de varianza (ANOVA). Se encontró la mayor diferencia de ganancia de peso y conversión alimenticia en T1, con diferencias significativas en la cuarta semana del tratamiento, atribuido a suplemento con MME. El uso de MME resulta una alternativa como probióticos en conejos, sin embargo, formas de reproducción más selectiva que favorezcan el uso de su potencial probiótico.

Palabras clave: Cunicultura, microorganismos eficientes, cepas nativas, estrés fisiológico

INTRODUCCIÓN

Es evidente que el sistema actual de producción intensiva en la engorda del conejo hace que pasen por una etapa de stress, que altera procesos fisiológicos y afecta a la microflora intestinal, provocando el desarrollo de problemas digestivos con la consiguiente pérdida de rendimiento productivo y/o aparición de procesos patológicos, también se ha observado que, tras la administración de un alimento, este tiene un efecto positivo o negativo sobre la flora bacteriana intestinal (Esteve y Jiménez 2014).

Existen alimentos denominados funcionales que forman parte de una dieta, que, en cantidades normales, aportan un valor nutritivo y dan un beneficio en la salud mediante un efecto fisiológico (Younesi y Ayseli, 2015), que favorecen la salud gastrointestinal, en particular los probióticos (Annunziata y Vecchio, 2013), que incluyen una amplia gama de microorganismos, principalmente bacterias y levaduras (Rai y Bai, 2015).

Se ha demostrado ampliamente la utilización de las matrices vegetales como sustrato para los probióticos durante el proceso de fermentación, principalmente bacterias ácido-lácticas, microorganismos que mejoran su contenido nutricional, digestibilidad y palatabilidad de los alimentos fermentados mediante el proceso de ensilado (Bernal *et al.*, 2017).

Los consorcios de cepas de nativas que de manera natural se encuentran en diferentes ecosistemas (Heredia, 2017), se pueden utilizar a fin de aprovechar sus efectos sinérgicos ya que son capaces de resistir altos niveles de acidez y de salinidad (Rai y Bai, 2015) y su efectividad alcanzaba al manejo y control de los microorganismos en los más complejos y diversos sistemas ecológicos, con gran influencia en la calidad química y biológica de procesos naturales como la fermentación y control de enfermedades (Higa 1993), además de efectivos como probióticos y como agentes de control biológico (Raut, 2007). El objetivo de la presente investigación fue determinar el efecto del uso de microorganismos nativos en el agua de bebida como probióticos durante la engorda de los conejos.

MATERIAL Y MÉTODO

Los microorganismos nativos se recolectaron de un ecosistema poco afectado por factores antrópicos lo que fueron conservados de manera anaerobia durante 30 días, los que fueron mezclados con 30% de salvado de trigo, 10% de harina nixtamalizada y 5% de melaza, pasados los 30 días. Posteriormente se extrajeron para combinarlos con forraje ensilado en partes iguales y adicionar 30% de salvado de trigo, 10% de harina nixtamalizada y 5% de melaza, mismos que se conservaron de manera anaeróbica durante 30 días. Para realizar la etapa líquida aerobia se tomaron 500 g del producto anterior y se envolvió en una manta colocada en un recipiente de 20 litros que contenía agua no clorada adicionada con el 1% de melaza y se usó a las 48 horas. Se efectuó un recuento de Unidades Formadoras de Colonias (UFC's) para verificar el crecimiento microbiano.

El ensayo se realizó usando 16 conejos criollos, escogidos de manera aleatoria para conformar dos grupos de ocho, donde el grupo uno (T1) fingió como testigo y se le ofreció un alimento con 16% de proteína cruda y agua potable, al grupo dos (T2) se le dio el mismo alimento con 16% de proteína cruda y en el bebedero agua potable adicionada con el 1% microorganismos nativos o microorganismos de montaña en un ensilado (MME) en fase líquida.

El alimento consumido se determinó diariamente pesando el alimento ofrecido y restando el alimento rechazado. El incremento de peso semanal de los conejos se obtuvo de la diferencia del pesaje del peso vivo actual y el peso vivo de la semana anterior.

Para los datos obtenidos de ganancia de peso y conversión alimenticia se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con un valor de $p \leq 0.05$ y fueron expresados como la media \pm la desviación estándar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En relación de la ganancia de peso de los conejos durante las cuatro semanas de prueba se encontró en T2 una mayor ganancia de peso, encontrando diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en la tercera y cuarta semana, donde T1 presenta una tendencia lineal de tal forma que en la quinta semana sería de cero y en la sexta tendría valores negativos (Figura 1).

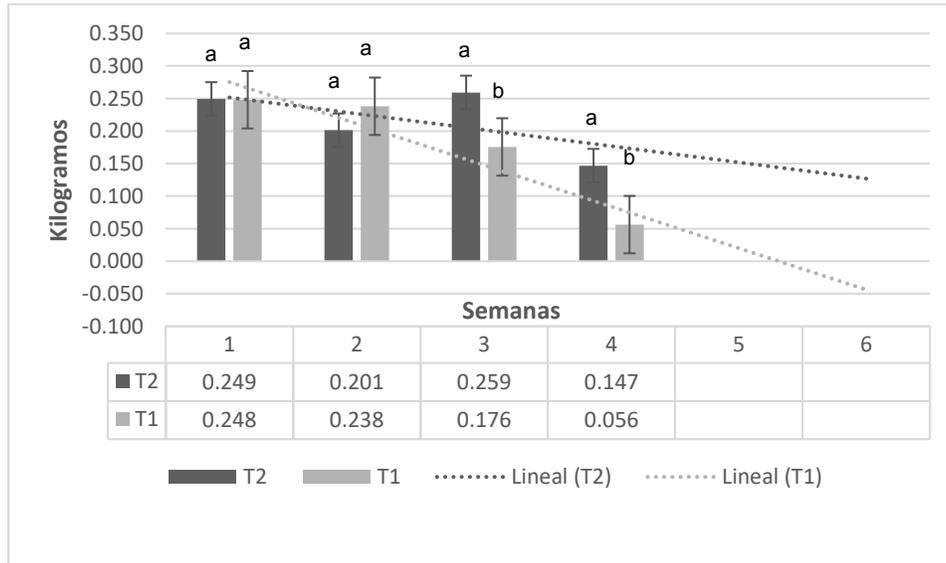


Figura 1. Ganancia de peso de los conejos (T1 y T2) durante cuatro semanas

En cuanto al comportamiento de la conversión alimenticia se encontró que T2 tiene mejor conversión en tres semanas, sin embargo, hubo significativas estadísticamente ($P \leq 0.05$) hasta la cuarta semana

de la prueba (Figura 2) y la tendencia lineal del grupo de T1 es al alza, situación que se relaciona con la pérdida de peso (Figura 1).

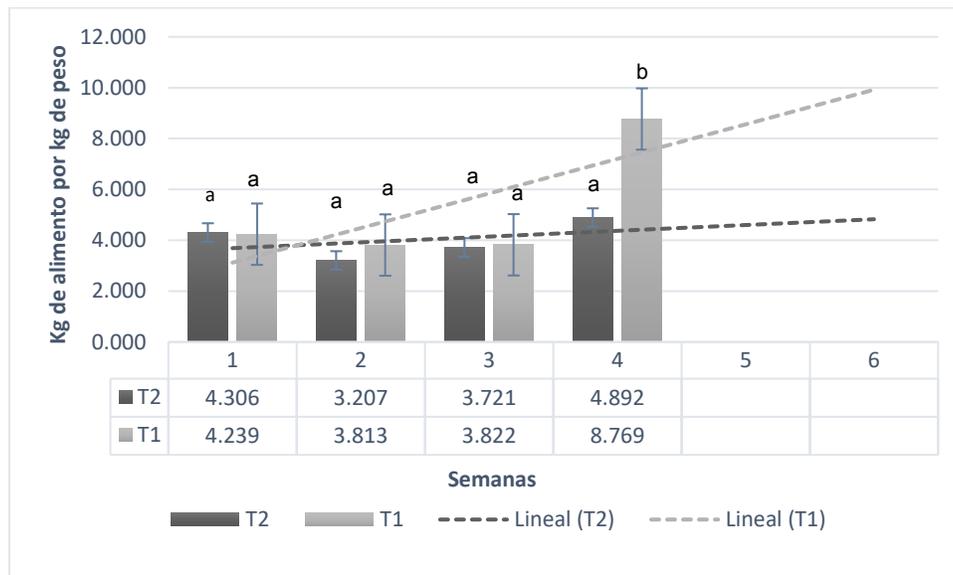


Figura 2. Conversión alimenticia de los conejos (T1 y T2) durante cuatro semanas

Los microorganismos endófitos de los vegetales representan un sustrato para los probióticos durante el proceso de fermentación ácido-láctica, representan microorganismos nativos que mejoran su contenido nutricional, digestibilidad y palatabilidad de los alimentos fermentados durante el proceso de ensilado (Bernal *et al.*, 2017).

Los probióticos se han validado para aumentar la respuesta inmune contra las infecciones virales y reestablecer la homeostasis intestinal (Patel *et al.*, 2015), se presume que la eficacia se basa en la producción de metabolitos bacterianos (ácidos grasos de cadena corta). Las investigaciones recientes indican que la relación puede ser más compleja y residir en redes ecológicas microbianas dentro del intestino del huésped (Bernal *et al.*, 2017).

Regularmente el efecto del microbiota nativo presente en ciertos ecosistemas pasa desapercibido, sin embargo, se ha demostrado que participa en el suministro de nutrientes esenciales, como las vitaminas y algunos aminoácidos, además de mejorar el sistema inmunitario y representan un antagonismo microbiano con la capacidad de impedir el asentamiento de microorganismos potencialmente patógenos (Raut, 2007; Suárez, 2013; Sánchez, 2015).

CONCLUSIÓN

El interés en el uso de probióticos se ve incrementado por el conocimiento del microbiota intestinal y sus efectos positivos sobre un animal, por tanto, los microorganismos nativos son una alternativa como uso en la alimentación funcional, profilaxis de determinadas patologías y mejora de la condición productiva.

REFERENCIAS

1. Annunziata A, Vecchio R. (2013). Consumer perception of functional foods: A conjoint analysis with probiotics. *Food Qual Prefer*, 28(1): 348-355.
2. Bernal CA, Díaz MC y Gutiérrez CC. (2017). Probióticos y prebióticos en matrices de origen vegetal: Avances en el desarrollo de bebidas de frutas. *Revista chilena de nutrición*, 44(4), 383-392. <https://dx.doi.org/10.4067/s0717-75182017000400383>

3. Esteve G. E., Rael O. y Jiménez G. Eficacia de Toyocerin® en conejos de engorde. XXX Simposium de Cunicultura 24 de mayo 2014. file:///C:/Users/TMS/Downloads/dcfichero_articulo.pdf
4. Heredia, M. F. Caracterización de microorganismos de montaña en biofertilizantes artesanales. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. 2017 Obtenido de <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6199/1/IAD-2017-049.pdf>
5. Rai V, Bai J. Probiotics and Prebiotics in Fruits and Vegetables: Technological and Sensory Aspects. In: Beneficial Microbes in Fermented and Functional Foods. Taylor & Francis Group; 2015. p. 20
6. Patel S, Shukla R, Goyal A. Probiotics in valorization of innate immunity across various animal models. J Funct Foods, 14: 2015 p. 549-561.
7. Raut M. Microbial dynamics and enzyme activities during rapid composting of municipal solid waste – A compost maturity análisis perspective. Bioresource Technology 99: 2007, p. 6512–6519
8. Sánchez MT., Ruiz, MA., y Morales ME. Microorganismos probióticos y salud. Ars Pharmaceutica (Internet), 56(1), 2015 p. 45-59. <https://dx.doi.org/10.4321/S2340-98942015000100007>
9. Suárez, J.E. Microbiota autóctona, probióticos y prebióticos. Nutrición Hospitalaria, 28 (Supl. 1), 2013 p. 38-41 Recuperado en 23 de abril de 2020, de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112013000700009&lng=es&tlng=es.
10. Younesi E, Ayseli MT. An integrated systems-based modelo for substantiation of health claims in functional food development. Trends Food Sci Technol, 41(1) 2015 p. 95-100.

LA ADICION DE AMARANTO, QUINUA Y HUAUZONTLE MEJORAN LA CALIDAD NUTRIMENTAL Y FUNIONAL DE UNA SOPA TIPO MINESTRONE.

Yolanda Elena Jilote Martínez¹, Salvador Horacio Guzmán Maldonado², Gabriela Median Ramos¹, Eduardo Espitia Rangel²

¹Universidad Politécnica de Guanajuato. Av. Universidad Norte s/n Juan Alonso de Cortazar, Guanajuato. ² Centro de Investigación Regional del Centro (INIFAP) Km 6.5, Carretera Celaya-San Miguel Allende, Celaya, Gto.
15030161@upgto.edu.mx

RESUMEN

El amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*) y el huauzontle (*Chenopodium nuttalliae*) son especies endémicas de México, mientras que la quinua (*Chenopodium quinoa*) proviene del Perú. Los tres son cultivos subutilizados y de bajo consumo en México; sin embargo, son altamente nutritivos y contienen compuestos biológicamente activos de interés para la salud humana. Por otro lado, la sopa Minestrone se originó en Italia y actualmente tiene gran aceptación en el mundo entero. Mientras que en el mercado nacional se venden sopas que se cree, presentan baja calidad nutrimental y bajos niveles de compuestos con actividad biológica. Se preparó una sopa instantánea tipo Minestrone que fue enriquecida con diferentes proporciones de grano de amaranto y quinua y hojas de huauzontle (Minestrone-AQH). A esta sopa se le determinó el contenido de proteína, fibra y grasa, fenoles solubles, taninos condensados, flavonoides y antocianinas y la capacidad antioxidante TEAC y DPPH. Con fines comparativos, se analizó una sopa instantánea comercial tipo Minestrone (Minestrone-C) y otra que se caracteriza por su alto consumo en México (sopa-ACM). La sopa Minestrone-AQH presentó 36% más proteína y la mitad de grasa que la sopa-ACM. Mientras que la sopa Minestrone-C tiene el mismo contenido de grasa que la sopa Minestrone-AQH. Por otro lado, la sopa Minestrone-AQH presentó 69, 70, 53 y 89% más fenoles, taninos, flavonoides y antocianinas, respectivamente, que la sopa-ACM. Mientras que la sopa Minestrone-C presentó un nivel similar de fenoles y casi la mitad de taninos, flavonoides y antocianinas en comparación con la sopa Minestrone-AQH. Con respecto a la capacidad antioxidante TEAC, la sopa Minestrone-AQH presentó un nivel tres veces mayor que el de la sopa-ACM y 1.25 veces más que la sopa Minestrone-C. Sobre el nivel de la capacidad antioxidante DPPH, la sopa Minestrone-AQM presentó el doble que la sopa Minestrone-C y tres veces más que la sopa-ACM. La sopa Minestrone-AQH presenta mejor calidad nutrimental y funcional que las sopas comerciales aquí evaluadas. Además, puede ser una manera de promover la producción, comercialización y consumo del amaranto, la quinua y el huahuzonte y contribuir en la oferta de alimentos de alta calidad para el público consumidor en México.

INTRODUCCIÓN

La vida moderna ha provocado un cambio en los hábitos de la gente. Actualmente se hace menos ejercicio, se realizan largas jornadas laborales y la mujer se ha integrado en la fuerza de trabajo. Estos factores han provocado que la alimentación, uno de los hábitos clave para mantener una buena salud, también haya cambiado. Se ha vuelto un hábito consumir alimentos rápidos con un dudoso mensaje nutrimental, o al menos, no se han hecho estudios serios para determinar la calidad de estos alimentos. Un área de la alimentación rápida que ha ganado mucha popularidad, es el consumo de sopas instantáneas. A pesar de que el público tiene el concepto de que estas son de baja calidad nutrimental, las sigue consumiendo. Por lo tanto, es necesario no solo evaluar la calidad de estos, y otros productos de la comida rápida, también se requiere establecer estrategias para incrementar la calidad nutrimental de este tipo de comida. Una estrategia, para mejorar las sopas instantáneas puede ser a través de la suplementación con granos o vegetales los cuales se ha demostrado que con de muy alta calidad por su contenido de proteínas, minerales, vitaminas y otros compuestos que contribuyen a mantener una buena salud, como los los compuestos fenólicos que están presentes en muchos granos y plantas que hemos dejado de consumir por no ser de interés económico, entre muchas otras razones. El amaranto, la quinua y el huahuzontle son ejemplo de este tipo de alimentos.

TEORÍA

Amaranto

La evidencia arqueológica ha demostrado que las especies del género *Amaranthus* que se utilizan para producir grano, son originarias de América. Los antiguos habitantes de este continente utilizaban las hojas y las semillas muchos años antes de su domesticación (1). Las excavaciones realizadas por Mac Neish en 1964 indican que los indígenas ya cultivaban amaranto en la fase Coxcatlán (5200 a 3400 a. C.). Por lo que se cree que la domesticación del amaranto tuvo lugar en la misma época que la del maíz.

Desde el punto de vista botánico, el género *Amaranthus* es de las Fanerogamas, angiosperma, Sicotiledoneae, de la familia *Amaranthaceae*. Esta familia incluye más de 70 géneros y cerca de 850 especies (2). Sin embargo, existen discrepancias y mucha confusión debido a las semejanzas taxonómicas que hay entre ellas. De las especies originarias de América, tres son las más importantes: *A. cruentus*, *A. hypochondriacus* y *A. caudatus* ya que se destinan a la producción de grano. De estas tres, *A. cruentus* y *A. hypochondriacus* se encuentran ampliamente distribuidas en México (3). El grano de amaranto puede ser de color crema, roja, púrpura o morado, según la especie o variedad. China es el mayor productor de grano y forraje de amaranto en el mundo, seguido por Estados Unidos, Canadá y Argentina; sin embargo, no hay datos oficiales de la superficie sembrada y la producción mundial (4). En el año 2019, México produjo 4,317 ton de amaranto en los estados México, Morelos, Oaxaca, Puebla y Tlaxcala (5).

La semilla de amaranto contiene de 13 a 18% de proteína, 6.3 a 8.1% grasa, 2.2 a 5.8% fibra y alto contenido de ceniza (minerales) (2.8 - 4.4%) (6). La proteína del amaranto es considerada una de las proteínas de mejor calidad por su alto contenido de lisina, aminoácidos esenciales deficiente en otros cereales. Además, es una buena fuente de fósforo y magnesio y de las vitaminas E, B y niacina (7). Desde el punto de vista de la salud, se ha reportado que el grano o el aceite de amaranto mejora el metabolismo de los deportistas (8), tienen un efecto hipoglucemiante en diabéticos (9-11) y mejora úlceras duodenales (12), entre muchos otros efectos. También se ha que el grano de amaranto contiene compuestos antioxidantes como los flavonoides y varios ácidos fenólicos (13).

Quinoa

La quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) es de origen Andino y presenta la mayor distribución de genotipos y plantas silvestres alrededor del lago Titicaca en Perú y Bolivia (14). Existen poca evidencia arqueológica sobre la quinoa. Sin embargo, la presencia de plantas silvestres en este lago, es prueba de su domesticación. A pesar de haber sido desplazada por los españoles, los pobladores actuales continúan incluyéndola como parte de su alimentación (14).

Desde el punto de vista taxonómico, la quinoa es una fanerógama, dicotiledónea que pertenece a la familia de las *Chenopodiáceas* (15). Esta familia incluye cerca de 250 especies parte de las cuales pertenecen al género *Chenopodium*. En este género hay cuatro especies que se utilizan actualmente: *Ch. pallidiculle* A., *Ch. Nuttalliae* S., *Ch. Ambrosioides* L. y *Ch. quinoa* W. que se utiliza más como grano que como verdura. El grano puede ser de color crema, rojo y negro.

La producción de quinoa a nivel mundial en el 2016, fue de cerca de 150,000 ton, volumen mucho menor a las 45,000 ton que se produjeron en el 2015. Siendo Perú el mayor productor con el 53.3% seguido de Bolivia. En 2016 se sembraron en México 26 h en el estado de Aguascalientes (16).

El grano de quinoa contiene 13% de proteína, 6% de grasa y 13% de fibra. Además, es una buena fuente de calcio, fósforo y hierro junto con las vitaminas A, E, tiamina, riboflavina y niacina. Una de las características de la proteína de la quinoa duplica o triplica según el caso, el contenido de lisina, metionina, fenilalanina en comparación con el trigo (17). Desde el punto de vista funcional, la quinoa es fuente de compuestos antioxidantes como los flavonoides (18). Desde el punto de vista de la salud, pocos estudios se han realizado sobre el efecto de la quinoa sobre algunas enfermedades crónicas. En este sentido, se ha reportado que el consumo de este grano puede prevenir problemas cardiovasculares y disminuye el nivel de colesterol malo (LDL) en la sangre (19).

Huazontle

La información que existe sobre el huahuzontle (*Chenopodium berlandieri* subsp. *nuttalliae* cv. Huazontle) es muy limitada. Se cree que se originó en América ya que los datos lingüísticos muestran que esta planta es denominada "huautli", o "bledo" en náhuatl (20). En México se le

encuentra ampliamente distribuido en los estados de Puebla, Morelos, Oaxaca y el sur del Distrito Federal, siendo Puebla el de mayor producción con 3,100 ton al año (21).

Esta planta, de consumo limitado, es considerada como una de las tradiciones culinarias en algunas regiones de México. La parte comestible del huahuzontle, que es básicamente la inflorescencia y se usa para preparar platillos de importancia cultural. La inflorescencia contiene 23% de proteína, 2.8% de grasa, 16.9% de fibra, además de ser una buena fuente de hierro (7.1 mg/100 g), y potasio 1862.1 (mg/100 g). También contiene Flavonoides y taninos condensados y presenta una alta capacidad antioxidante ABTS y DPPH (22).

La sopa Minestrone

El concepto de sopa aparece por primera vez en Francia durante el reinado de Enrique IV (1553-1660). Para los franceses, la palabra “soupe” representa un caldo ligero al que se le han agregado hierbas, carne en trozos y otras guarniciones. Mientras que los italianos llamaron “minestra” a cualquier caldo con alguna pasta, arroz y papas. Este término llegó a popularizarse con el termino Minestrone del latín *minestrar* que significa “lo que se sirve” y que llegó popularizarse como “sopa” (23). En la actualidad, la sopa Minestrone se prepara de un gran numero de formas, dependiendo del país del que se hable. En general se prepara con pasta, alubias, calabacitas, puerro, cebolla, jitomate, zanahoria y apio. En algunas recetas se le añade arroz, albahaca, queso rallado y col entre muchos otros insumos.

Por otro lado, el marcado de las sopas instantáneas ofrece cierta variedad de sopas de las cuales se conoce la composición nutrimental por la información que se da en la etiqueta. Se considera que estas sopas son de baja calidad nutrimental, pero, bajo el mejor conocimiento, no se han realizado estudios para determinar la calidad nutrimental y funcional de estos alimentos. Con base en lo anterior, el objetivo de este trabajo fue caracterizar sopas instantáneas comerciales, formular una sopa tipo Minestrone para complementarla con amaranto, quinua y huahuzontle con el fin de mejorar su calidad nutrimental. Se determinó la calidad nutrimental por su composición química, contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante.

PARTE EXPERIMENTAL

Amaranto, quinua y huahuzontle

El grano de amaranto y quinua y las hojas de huahuzontle se cosecharon en el Campo Experimental del Estado de México del INIFAP.

Formulación bibliográfica de sopas Minestrone

Como resultado de una revisión bibliográfica, se obtuvieron 23 formulaciones diferentes de sopa Minestrone. Se promediaron los insumos y las cantidades de cada formulación para obtener una formulación promedio. Se eliminaron los insumos que solo aparecían en cinco o menos formulaciones. Con la formulación promedio a la cual se le añadieron diferentes proporciones de grano de amaranto y quinua y hojas de huahuzontle (AQH), se realizaron pruebas de aceptación sensorial con 15 jueces no entrenados para el sabor y apariencia. La sopa instantánea se preparó liofilizando la sopa con AQH, de mayor aceptación.

Sopa Minestrone adicionada con AQH (M-AQH)

La sopa M-AQH se formuló con pasta de caracol, cebolla, maíz amarillo, jitomate, zanahoria, apio y 10 g de amaranto y quinua y 2.5 g de huahuzontle. A la sopa se le añadió una pizca de condimento sabor pollo y una cucharada de aceite de oliva. La sopa se preparó con el método tradicional para este tipo de sopa.

Sopas instantáneas comerciales

Con fines comparativos, se adquirieron dos sopas instantáneas comerciales: una tipo Minestrone (MIC) y la otra de fideo (FIC).

Análisis bromatológico

A las sopas se les determinó el contenido de proteína (2001.11), grasa (920.39), fibra dietaria (926.09) y ceniza (942.05) (24). El contenido de almidón se obtuvo por diferencia porcentual con la suma del contenido de proteína, fibra, grasa y ceniza.

Composición fenólica

Los fenoles solubles totales (FST) fueron cuantificados por el método de Folin Ciocalteu el cual se basa en la reducción de ácido gálico por los compuestos fenólicos en presencia de un álcali (25). Los taninos condensados (TC) fueron determinados por el método de la vainillina y se reportaron como equivalentes de (+) catequina en mg/100g (mgEC/100 g) (26). La determinación de flavonoides totales (FT) se realizó de acuerdo al principio de la formación de un complejo de color por la reacción de los iones aluminio con los flavonoides en un medio alcalino (25) y la cuantificación de las antocianinas totales (AT) (27) se determinó espectrofotométricamente y estos compuestos se reportaron como equivalentes de cianidina 3-glucosido, según la siguiente fórmula (27):

$$C = (A/\epsilon) \times (\text{vol}/1000) \times PM \times (1/\text{peso de la muestra}) \times 106$$

Donde: C=Concentración de antocianinas totales (mg/Kg), A=Absorbancia máxima, ϵ =Absortividad molar de cianidina 3-glucosido (25,965 cm⁻¹M⁻¹), Vol=Volumen total del extracto de antocianinas y PM=Peso molecular de cianidina 3-glucosido (449).

Capacidad antioxidante

TEAC. Para determinar la capacidad antioxidante expresada como equivalentes de Trolox (TEAC por sus siglas en inglés) se utilizó el ácido 2,2-azinobis-3-etil-benzotiazolin-6-sulfónico (ABTS²⁺) como radical anión. Este anión en presencia de peróxido de hidrógeno, dióxido de manganeso y persulfato de potasio y el compuesto antioxidante desarrolla color que se mide a 734 nm (28).

DPPH. Para obtener la capacidad antioxidante por el método del 2,2-difenil-1-picril-hidracilo (DPPH), se utilizaron microplacas para el detector de Elisa (DYNEX MRX Microplate Reader) a 515 nm (29).

Análisis estadístico

Los datos de todos los análisis se presentaron como la media \pm desviación estándar (n=3) y se sometieron a un análisis de varianza (ANDEVA) para detectar diferencias significativas entre las medias. La comparación de medias se realizó con la prueba de Tukey con un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$ con el software SPSS versión 17.0 Copyright © 1989–2009 y SAS versión 9.02 Copyright © 1989–2008 Institute Inc.

RESULTADOS

Calidad nutricional. La sopa M-AQH presentó 33.1% más proteína que las sopas MIC y FIC y contiene menos de la mitad de la grasa que contiene la sopa FIC (Cuadro 1). Además, la FIC contiene 41.3 y 45.1% más cenizas que las sopas M-AQH y MIC, respectivamente. Este resultado puede explicarse por el alto contenido de sodio (CINa) que se declara en la etiqueta del empaque.

Cuadro 1. Composición química (g/100 g) de sopas instantáneas.

Muestra	Proteína	Grasa	Cenizas	Fibra soluble	Fibra Insoluble	CH
M-AQH	13.9 \pm 0.10 a	11.6 \pm 0.08 c	2.91 \pm 0.08 b	5.5 \pm 0.08 b	16.2 \pm 0.08 a	49.89
MIC	9.3 \pm 0.08 b	12.5 \pm 0.19 b	2.72 \pm 0.02 c	3.1 \pm 0.08 a	7.9 \pm 0.08 b	64.48
FIC	9.1 \pm 0.25 b	22.1 \pm 0.06 a	4.96 \pm 0.01 a	1.9 \pm 0.08 c	5.6 \pm 0.08 c	56.37

M-AQH = sopa Minestrone con amaranto, quinua y huahuzontle; IMC = sopa instantánea Minestrone comercial; CIF = sopa comercial instantánea de fideos. Promedios con letras diferentes no son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05, n=3).

Por otro lado, la sopa M-AQH contiene 43.6 y 65.5% más fibra soluble que la sopa MIC y FIC, respectivamente y más de dos veces el contenido de fibra insoluble que las sopas instantáneas comerciales analizadas. Los efectos benéficos de la fibra soluble e insoluble sobre la salud humana, han sido ampliamente reportado en la literatura; por ejemplo, se sabe que la fibra puede prevenir enfermedades coránicas, como la diabetes o el cáncer de colon (30). El requerimiento mínimo diario de fibra es de 30 g, por lo que una porción de sopa M-AQH puede contribuir con un poco más de la mitad de esta cantidad. Se puede ver claramente la baja calidad nutrimental de la sopa FIC.

Es importante hacer notar que 100 g de sopa M-AQH (equivalentes a una porción) tiene el mismo contenido de proteína que 100 gramos de amaranto (13 a 18%) (6) y quinua (13%) (17) y un poco menos que el huahuzontle (23%) (22). Esto demuestra la alta calidad nutrimental de esta sopa y el aporte que puede ofrecer de proteínas y otros compuestos a las personas que la consuman.

Calidad funcional. Con respecto al contenido de compuestos fenólicos antioxidantes, la M-AQH, presentó mayor contenido de fenoles solubles totales, taninos condensados, flavonoides totales y antocianinas totales que las sopas instantáneas comerciales analizadas en este trabajo (Cuadro 2). Por ejemplo, la sopa M-AQH contiene 1.5 y 3.2 más taninos, 1.4 y 2.1 más flavonoides totales y 1.7 y 7.5 más antocianinas totales, respectivamente, que las sopas MIC y FIC.

Cuadro 2. Contenido de fenoles solubles totales, taninos condensados, flavonoides y antocianinas totales en sopas instantáneas.

Muestra	Fenoles solubles totales (mg EAG/100 g)	Taninos condensados (mg EC/100 g)	Flavonoides totales (mg EC/100g)	Antocianinas totales (mg EC3G/Kg)
M-AQH	184.9 ± 9.6 a	120.7 ± 8.9 a	26.7 ± 2.1 a	27.9 ± 1.8 a
MIC	166.0 ± 6.1 b	80.5 ± 6.9 b	19.6 ± 2.7 b	16.6 ± 1.2 b
FIC	57.1 ± 3.9 c	37.5 ± 3.7 c	12.6 ± 0.7 c	3.7 ± 1.5 c

M-AQH = sopa Minestrone con amaranto, quinua y huahuzontle; IMC = sopa instantánea Minestrone comercial; CIF = sopa comercial instantánea de fideos; EAG = equivalentes de ácido gálico; EC = equivalentes de catequina; EC3G = equivalentes de cianidin-3 glucosido.

Promedios con letras diferentes no son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05, n=3).

La presencia y mayor concentración de los compuestos fenólicos que contiene la sopa M-AQH, es relevante. Por ejemplo, se ha demostrado que estos compuestos presentan un amplio rango de actividad biológica en la prevención de enfermedades comunes como los problemas cardiovasculares, cáncer, problemas degenerativos y desordenes gastrointestinales. Al respecto, se sabe que los flavonoides presentan un efecto antiinflamatorio (31), mientras que las antocianinas tienen un efecto inhibitorio en mutágenos y carcinógenos (32), entre muchos otros efectos. No es redundante señalar el muy bajo contenido de compuestos fenólicos de la sopa FIC.

Los niveles en la capacidad antioxidante de la sopa M-AQH del mayor al menor fueron: TEAC>ORAC>DPPH (Figura 1). Además, en todos los casos, cada capacidad antioxidante determinada en la sopa M-AQH fue mayor que en las sopas MIC y FIC con excepción de la capacidad antioxidante TEAC de la sopa MIC que no fue estadísticamente diferente a la que presentó la sopa M-AQH. Por otro lado, resalta el alto nivel de la capacidad antioxidante DPPH de la sopa enriquecida con amaranto, quinua y huahuzontle (176.6 $\mu\text{mol ET}/100\text{g}$). El nivel de DPPH presentado por la sopa M-AQH fue 2.3 y 2.9 mayor comparado con el nivel presentado por las sopas MIC y FIC, respectivamente.

La diferencia entre las capacidades antioxidantes está en la forma que el compuesto antioxidante interactúa con los radicales libres; por ejemplo, TEAC mide la transferencia de electrones del compuesto antioxidante al radical libre, DPPH la capacidad del compuesto antioxidante para donar un protón (H^+), mientras que la capacidad antioxidante ORAC mide la capacidad para apaga los radicales de oxígeno (ROS) (33). En este sentido, la sopa M-AQH presenta mayor capacidad para

donar protones que para transferir electrones o apagar los ROS (Figura 1). La capacidad antioxidante ORAC de la sopa M-AQH es mucho menor que la de algunos vegetales como el jitomate (420 $\mu\text{mol ET}/100\text{g}$), coliflor (413 $\mu\text{mol ET}/100\text{g}$) y brócoli (1335 $\mu\text{mol ET}/100\text{g}$) (34), muy probablemente por la baja cantidad de amaranto, quinua y huahuzontle que contiene la sopa adicionada con estos vegetales.

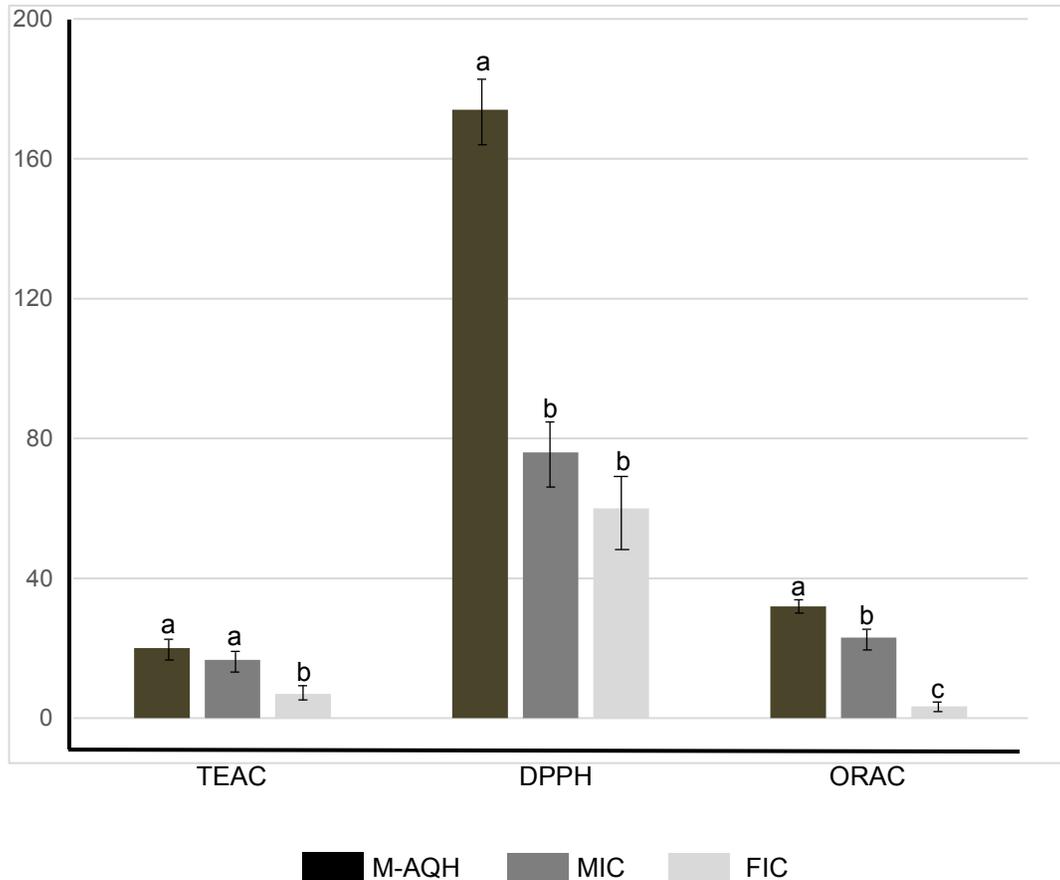


Figura 1. Capacidad antioxidante ($\mu\text{mol ET}/100\text{g}$) de sopa Maruchan enriquecida con amaranto, quinua y huahuzontle (M-AQH), Maruchan instantánea comercial (MIC) y sopa de fideo instantánea comercial (FIC).

Barras con letras diferentes por capacidad antioxidante, no son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05, $n=3$).

CONCLUSIONES

La sopa tipo Maruchan adicionada con amaranto, quinua y huahuzontle es de mejor calidad nutricional, contiene más compuestos fenólicos y presenta mayor capacidad antioxidante TEAC, DPPH y ORAC que las sopas instantáneas tipo Maruchan y de fideos de marcas comerciales analizadas en este trabajo. Además, la sopa tipo Maruchan adicionada tiene una alta capacidad para donar protones y en consecuencia, apagar radicales libres. El consumo de la sopa tipo Maruchan con amaranto, quinua y huahuzontle es una mejor opción a sopas similares comerciales y puede contribuir en la nutrición y buena salud de aquellos que la consuman.

BIBLIOGRAFÍA

1. C. Barros y M. Buenrostro, "Amaranto. Fuente maravillosa de sabor y salud", (Grijalbo, Distrito Federal, México, 1997), pp. 158-160.

2. S. A. Mujica, "El cultivo del amaranto (*Amaranthus* spp.). Producción, mejoramiento genético y utilización," 1997, http://www.fao.org/tempref/GI/Reserved/FTP_FaoRlc/old/prior/segalim/veg Consultado el 10 marzo de 2020.
3. F. P. Délano y G. A. Martínez, "El transcriptoma de *Amaranthus Hypochondriacus* L.: una poderosa herramienta para profundizar en su conocimiento y aprovechamiento," en *Amaranto: Ciencia y Tecnología* (INIFAP/SINAREFI, Libro científico No. 2, Ciudad de México, México, 2012), pp. 32.
4. L. M. Coelho, P. M. Silva, J. T. Martins, A. C. Pinheiro and A. A. Vicente, "Emerging opportunities in exploring the nutritional/functional value of amaranth," *Food Function.*, Vol 9, 11, 2018, pp. 5499-5512.
5. SIAP, "Avance de siembras y cosechas resumen nacional por estado año agrícola 2019_Amaranto," 2019, http://infosiap.siap.gob.mx:808/agricola_siap_gobmx/ResumeProducto.do. Consultado el 2 de enero de 2019.
6. O. A. Huerta y P. Barba de la Rosa, "Caracterización bioquímica y estructural de las proteínas de reserva de amaranto," en *Amaranto: Ciencia y Tecnología* (INIFAP/SINAREFI, Libro científico No. 2, Ciudad de México, México, 2012), pp. 293-294.
7. S. C. Mapes, "El amaranto" *Revista Ciencia*, Vol. 66, 3, 2015, pp. 15-18.
8. O. Yelisyeyeva, A. Cherkas, K. Semen, D. Kaminsky and A. Lutsyk, "Study of aerobic metabolism parameters and heart rate variability and their correlations in elite athletes: A modulatory effect of amaranth oil," *Clin. Experim. Medical J.*, Vol. 3, 2, 2009, pp. 293-307.
9. O. Yelisyeyeva, K. Semen, N. Zarkovic, D. Kaminsky, O. Lutsyk and V. Rybalchenko, "Activation of aerobic metabolism by Amaranth oil improves heart rate variability both in athletes and patients with type 2 diabetes mellitus," *Archives Physiol. Biochem.*, Vol. 118, 2, 2012, pp. 47-57.
10. H. K. Kim, M-J. Kim and D-H. Shin, "Improvement of lipid profile by amaranth (*Amaranthus esculantus*) supplementation in streptozotocin induced diabetic rats," *Annals Nutr. Metabolism*, Vol. 50, 3, 2006, pp. 277-281.
11. H. K. Kim, M. J. Kim, H. Y. Cho, E-K. Kim and D. G. Shin, "Antioxidative and anti-diabetic effects of amaranth (*Amaranthus esculantus*) in streptozotocin-induced diabetic rats," *Cell Biochem. Function*, Vol. 24, 3, 2006, pp. 195-199.
12. A. Cherkas, K. Zarkovic, A. Cipak, A. Gasparovic, M. Jaganjac, L. Milkovic and O. Abrahamovych, "Amaranth oil reduces accumulation of 4-hydroxynonenalhistidine adducts in gastric mucosa and improves heart rate variability in duodenal peptic ulcer patients undergoing *Helicobacter pylori* eradication," *Free Rad. Res.*, Vol. 52, 2, 2018, pp. 135-149.
13. P. Paško, M. Sajewicz, S. Gorinstein and Z. Zachwieja, "Analysis of selected phenolic acids and flavonoids in *amaranthus cruentus* and *chenopodium* quinoa seeds and sprouts by HPLC," *Acta Chromat.*, Vol. 20, 4, 2008, pp. 661-672.
14. S. A. Mujica, "El origen de la quínoa y la historia de su domesticación," *En Tierra Adentro, Especial Quínoa: Un súper alimento para Chile y el mundo*. 2015, pp. 15-16. <http://biblioteca.inia.cl/medios/biblioteca/ta/NR40344.pdf>, Consultado 5 de mayo 2020.
15. L. D. Johnson, S. M. Ward-Johnson, and S. M. Ward "Quinoa" en *New Crops* (Wiley, New York, NY, 1993), pp. 219-221.
16. AEP (Anuario Estadístico de Producción), "La quínoa: súper alimento del futuro que se produce en México," <http://www.gob.mx/siap/articulos/>, Consultado el 5 de mayo del 2020.
17. S. A. Elsohaimy, T. M. Refaay and M. A. M. Zytoun, "Physicochemical and functional properties of quinoa protein isolate," *Annals Agric. Sci.* Vol. 60, 2, 2015, pp. 297-305.
18. Y. Brend and H. Ran, "Total phenolic content and antioxidant activity of red and yellow quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) seeds as affected by baking and cooking conditions," *Food Nutr. Sci.*, Vol. 3, 2012, pp. 1150-1155.
19. L. Li, G. Lietz, W. Bal, A. Watson, B. Morfey, and C. Seal, "Effect of quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) consumption on markers of CVD risk" *Nutrients* Vol. 10, 6, 2018, pp. 777-784.

20. V. I. Germán, "Caracterización molecular de 23 colectas de Huauzontle *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* Mediante RAPDS (Random amplified polymorphis) en el Valle de Toluca. Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma del Estado de México, México, 2009, pp. 34-40.
21. T. E. De la Cruz, L. A. Xingú, A. J. M. García, V. I. Germán V. I. y V. G. Germán V. G., "Aplicación de técnicas moleculares en el estudio del huauzontle, cultivo prehispánico alternativo," *Rev. Div. Contacto Nuclear ININ*, Vol. 55, 2010, pp. 16- 21.
22. N. R. Román-Cortez, M. R. García-Mateos, A. M. Castillo-González, J. Sahagún-Castellanos y M. A. Jiménez-Arellanes, "Características nutricionales y nutraceuticas de hortalizas de uso ancestral en México," *Rev. Fitotec. Mex.*, Vol. 41, 3, 2018, pp. 245-253.
23. C. Azcoytia, "Historia de la sopa, el primer y mejor invento de la cocina, 2007, <https://www.historiacocina.com/historia/articulos/sopa.htm>, consultado 5 de mayo del 2020.
24. AOAC International, *Official methods of analysis of AOAC international*, 17a. Edition (Gaithersburg, MD, 2000).
25. B. D. Oomah, A. Cardador-Martínez and G. Loarca-Piña, "Phenolics and antioxidative activities in common beans (*Phaseolus vulgaris* L)," *J. Sci .Food Agric.*, Vol. 85, 2005, pp. 935-942.
26. A. A. Feregrino-Pérez, L.C. Berumen, G. García-Alcocer, R. G. Guevara-Gonzalez, M. Ramos-Gomez, R. Reynoso-Camacho, and G. Loarca-Piña, "Composition and chemopreventive effect of polysaccharides from common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) on Azoxymethane-Induced Colon Cancer," *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 56, 18, 2008, pp. 8737-8744.
27. E. S. M. Abdel-Aal y P. Hucl, "A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats," *AACC*, Vol. 76, 3, 1999, pp. 350-354.
28. Van der Berg, R., Haenen, G. R., Van der Berg, H., & Bast, A. (1999). Application of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity of measurement of mixture. *Food Chemycal*, 66(5): 511-517.
29. Wu, X., Gu, L., Holden, J., Haytowitz, D. B., Gebhardt, S. E., Beecher, G., & Prior, R. L. (2004). Development of a database for total antioxidant capacity in foods. *Journal Food Compos. Anal.*, 17:407-422.
30. D. A. Timm and J. L. Joanne, "Dietary fiber and the relationship to chronic diseases," *Am. J. Lifestyle Med.* Vol. 2, 3, 2008, 233-240.
31. J. González-Gallego, M. V. García-Mediavilla, S. Sánchez-Campos and M. J. Tuñón, "Fruit polyphenols , immunity and inflammation," *British J. Nutr.* Vol. 104, 2010, S15-S27.
32. A. Castañeda-Ovando, M. L. Pacheco-Hernández, M. E. Páez-Hernández, J. A. Rodríguez and C. A. Galán-Vidal, "Chemical studies of anthocyanins: A review," *Food Chem.*, Vol. 113, 2009, pp. 859-871.
33. N. J. Miller and C. A. Rice-Evans, "Spectrophotometric determination of antioxidant activity," *Redox Report* Vol. 2, 1996, pp. 161-171.
34. A. R. Proteggente, A. Sekher-Pannala, G. Paganga, L. van Buren, E. Wagner, S. Wiseman, F. van de Put, C. Dacombe and C. A. Rice-Evans, "The Antioxidant Activity of Regularly Consumed Fruit and Vegetables Reflects their Phenolic and Vitamin C Composition," *Free Radical Research*. Vol. 36, 2, 2008, pp. 217-233.

EFFECTO DEL SELENIO EN EL CRECIMIENTO INICIAL Y EL CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN PLANTAS DE FRIJOL (*PHASEOLUS VULGARIS* L.)

Maria Juventina Macías-García¹, Soledad García-Morales², Elba Montserrat Alcázar-Valle³, Araceli Barrera-Martínez³ y Janet María León-Morales²

¹Licenciatura Química, Universidad de Guadalajara, ²CONACYT-Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, ³Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco
smorales@ciatej.mx

RESUMEN

El frijol es una de las leguminosas de mayor importancia en la alimentación humana, ya que contiene distintos compuestos con actividad antioxidante como los compuestos fenólicos, los cuales están asociados al color de la testa. Varios reportes indican que los frijoles de testa negra aportan el mayor contenido de fenoles, mientras que los de testa blanca se caracterizan por tener el menor contenido. Por otro lado, el selenio (Se) es un microelemento importante para el ser humano, ya que actúa como un antioxidante y puede ayudar a prevenir distintos tipos de cáncer, así como mantener un buen funcionamiento en el sistema inmunológico. Esta investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de diferentes concentraciones de selenio en la altura, el diámetro de tallo, el contenido de compuestos fenólicos totales y flavonoides en plantas de frijol blanco del estado de Oaxaca. Para lo cual, se utilizaron variedades de frijol blanco (*Phaseolus vulgaris* L.), identificadas como: OX-6, OX-7, OX-11, OX-12 y OX-14. Los tratamientos consistieron en cuatro concentraciones de selenio: 0, 2.5, 5 y 10 μM y cinco variedades de frijol. Cada tratamiento tuvo 24 repeticiones, Las semillas de frijol se sembraron en charolas germinadoras con sustrato comercial. Las diferentes concentraciones de Se se aplicaron junto con el riego, tres veces por semana, desde la siembra hasta 18 días después del establecimiento del experimento. Se midió la altura de planta y el diámetro del tallo; con la parte aérea se cuantificó el contenido de fenoles totales y flavonoides. Para determinar el contenido de fenoles totales se siguió el método de Folin-Ciocalteu y se leyó a una absorbancia de 765 nm. Para la determinación de flavonoides se utilizó la reacción de cloruro de aluminio, leyendo a una absorbancia de 400 nm. Después de 18 días de crecimiento, se observó mayor crecimiento en las variedades OX-6 y OX-7 con 5 μM y una disminución con la aplicación de 10 μM en las variedades OX-6, OX-7 y OX-11. Mientras que, en la variedad OX-14, el mayor crecimiento se observó con 10 μM . En la altura de la variedad OX-12 no se obtuvo diferencia entre los tratamientos con Se. En todas las variedades, se observó que a mayor concentración de selenio disminuyó el diámetro del tallo. En OX-6, OX-11 y OX-14 la aplicación de 2.5 μM incrementó el contenido de fenoles totales; mientras que en OX-7 no se encontraron diferencias. Respecto al contenido de flavonoides, se observaron amplias diferencias entre variedades, destacando OX-11 con un menor contenido; mientras que no se observaron efectos por las diferentes dosis de Se. Durante la fase vegetativa, las variedades de frijol blanco respondieron diferencialmente a las concentraciones de Se. Por lo que el efecto benéfico del Se depende de la concentración, de la variedad y del estado de desarrollo de la planta

INTRODUCCIÓN

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) se originó en Mesoamérica y luego fue domesticado entre 5000 y 2000 a. C. en dos regiones de América: Mesoamérica (México y América Central) y los Andes (América del Sur) (Chávez-Mendoza et al., 2019). México se ha reconocido como el centro de diversificación del frijol. En este país, el frijol es la leguminosa de mayor consumo humano, el cual representa el 36% de la ingesta diaria de proteínas (Lara, 2015). Además, este grano básico ocupa el segundo lugar en importancia dentro de la superficie sembrada total, a nivel nacional. El consumo de frijol en el país, se encuentra dividido en la zona norte de México, donde se consumen las variedades claras, mientras que en la zona centro y sur del país predomina el consumo de las variedades de color negro

Aunque, el género *Phaseolus* es monofilético y es originario de América, las cinco especies domesticadas y cultivadas son: *P. vulgaris*, *P. polyanthus*, *P. coccineus*, *P. lunatus* y *P. acutifolius*. La especie con mayor aceptación y desarrollo en la agricultura, así como la más ampliamente consumida en Latinoamérica y África es *P. vulgaris* (Capistrán-Carabarin et al., 2019). Mientras que las otras especies son cultivadas a nivel de subsistencia y autoconsumo.

En todo el mundo, los cultivos de leguminosas ocupan 81.8 millones de hectáreas (ha) con una producción global de 74.7 millones de toneladas y una productividad promedio de 913 kg/ha. El frijol seco contribuye con el 34% de la producción mundial de leguminosas (FAOSAT, 2016). De tal manera que, el frijol común es el tercer cultivo más importante en el mundo, es uno de los cultivos con mayor importancia para el consumo humano, ya que es una fuente importante de proteínas, vitaminas y minerales (Lara, 2015). En la mayoría de las leguminosas, las proteínas son deficientes en aminoácidos azufrados como la cisteína y la metionina; aunque, también se ha reportado que la ingesta regular de frijol ayuda a disminuir los niveles de colesterol y reduce el riesgo de padecer cáncer (Lara, 2015). Además, el frijol cuenta con distintos compuestos con actividad antioxidante como lo son los compuestos fenólicos.

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios, los cuales se pueden encontrar en estado libre, conjugados con azúcares o ésteres; enlazados a polisacáridos y proteínas (Gutiérrez et al., 2016). Se han reportado estudios realizados por Xu y Chang (2009) que dicen que el contenido de compuestos fenólicos en el frijol es más alto que en otras leguminosas como: las lentejas, los garbanzos y la soya. El frijol tiene compuestos fenólicos como: ácido ferúlico, p-cumárico y gálico, así como gran variedad de flavonoides como: antocianinas, flavonoles y proantocianidinas (Pérez-Pérez et al., 2020). Los compuestos fenólicos cuentan con un amplio rango de efectos biológicos, destacando su actividad anti-carcinogénica y anti-inflamatoria. El color de la testa del frijol está relacionado con el contenido de distintos compuestos fenólicos, principalmente con los taninos, los flavonoides y las antocianinas (Chávez-Mendoza et al., 2019) Algunos autores como Xu y Chang (2009) han reportado que los frijoles de testa negra aportan mayor contenido de fenoles, mientras que los de testa blanca tienen un menor contenido.

Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que pueden actuar como inhibidores del crecimiento de tumores y algunos tipos de cáncer, junto con los ácidos fenólicos y taninos otorgan a los alimentos una mayor capacidad antioxidante, esto se debe a su alto potencial redox (Pérez-Pérez et al., 2020). Estos compuestos también juegan un papel multifuncional en las interacciones planta-microorganismos y en la comunicación planta-planta (Gutiérrez et al., 2016). Existen distintos factores que pueden degradar a estos compuestos como: el almacenamiento a altas temperaturas y la exposición a la luz. Los principales flavonoides presentes en la testa del frijol son la quercetina y el kaempferol (Capistrán-Carabarin et al., 2019). De acuerdo con estudios realizados por Alvarado-López et al. (2019) la variedad de color morado del frijol ayocote (*P. coccineus*) presentó mayor concentración de compuestos fenólicos totales, flavonoides y actividad antioxidante.

Por otro lado, el selenio (Se) es un microelemento esencial para el ser humano, ya que puede ayudar prevenir distintas enfermedades como el cáncer y mantener un buen funcionamiento en el sistema inmunológico; además, actúa como antioxidante (López-Bellido y López, 2013). Aunque el Se es considerado como un elemento no esencial para las plantas; éstas constituyen una fuente potencialmente significativa de Se para la dieta del ser humano mediante la biofortificación. La biofortificación es el proceso que aumenta el contenido biodisponible de elementos específicos en las partes comestibles de la planta a través de la intervención agrícola o la selección genética (Pannico et al, 2019).

El Se tiene un efecto positivo en la capacidad antioxidante de las plantas, actuando de manera más efectiva como selenito (Se^{4+}) que como selenato (Se^{6+}) (Lopez-Gutierrez et al., 2015). En la planta, el selenito es absorbido y transportado a través de transportadores de fosfato, una vez que está dentro de la planta, gran parte del Se^{4+} se convierte en compuestos orgánicos (como la seleno-metionina). La selectividad de estos transportadores depende de la especie vegetal y se ve afectada por la concentración de sulfato en el suelo, la salinidad, el pH y el potencial redox (Pannico et al, 2019).

Las seleno-proteínas tienen una amplia gama de efectos, que van desde la actividad antioxidante y antiinflamatoria hasta la producción de la hormona tiroidea activa. Las seleno-proteínas tienen una importancia fundamental para la salud óptima de humanos y animales, debido principalmente a su actividad antioxidante (Mezeyova et al., 2020). Los efectos favorables del Se se han atribuido a una capacidad mejorada de las plantas para contrarrestar la toxicidad de las especies reactivas de oxígeno (ROS), las cuales son generadas en condiciones estresantes. El Se activa enzimas antioxidantes como la glutatión peroxidasa, la superóxido dismutasa, la lipoxigenasa, la catalasa y el ascorbato peroxidasa, que a su vez provocan la síntesis de metabolitos secundarios como los carotenoides, fenoles, flavonoides, aumenta la concentración de vitaminas como el α -tocoferol y reduce la peroxidación lipídica (Woch y Hawrylak-Nowak, 2019; Pannico et al., 2020)

El Se, a bajas concentraciones, actúa como un antioxidante y puede estimular el crecimiento de las plantas, mientras que en concentraciones altas actúa como un pro-oxidante el cual contribuye a la reducción del rendimiento (Pannico et al, 2019). En algunos estudios realizados por Hawrylak-Nowak (2008) se demostró que la fertilización con selenio no solo aumentó el rendimiento y el contenido de selenio en las plantas, sino que también favoreció la acumulación de los compuestos fenólicos, el contenido de aceites esenciales y la actividad antioxidante de los extractos de hojas de albahaca. Esta investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de diferentes concentraciones de selenio en la altura, el diámetro de tallo, el contenido de compuestos fenólicos totales y flavonoides en plantas de frijol blanco del estado de Oaxaca

PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal

Para este experimento, se utilizaron cinco variedades de frijol común con testa blanca (*P. vulgaris*), las cuales fueron colectadas en el estado de Oaxaca e identificadas como: OX-6, OX-7, OX-11, OX-12 y OX-14.

Establecimiento del experimento

Las semillas de frijol se sembraron en charolas germinadoras con sustrato comercial (SUNSHINE, 90% sphagnum y 10 % vermiculita, dolomita, caliza) bajo condiciones de invernadero.

Tratamientos

Los tratamientos utilizados para este experimento consistieron en cuatro concentraciones de selenito de sodio (Na_2SeO_3): 0, 2.5, 5 y 10 μM , así como cinco variedades de frijol. Las diferentes concentraciones de Se se aplicaron junto con el riego tres veces por semana. Cada tratamiento tuvo un total de 24 repeticiones

Determinación de altura y diámetro de plantas

La altura y el diámetro de las plantas se midieron después de 18 días de que el experimento se estableció. Las mediciones se realizaron en 12 plantas por cada variedad de frijol y por cada tratamiento. Utilizando un total de 240 plantas de frijol. Para medir la altura de las plantas se utilizó una regla, mientras que para el diámetro del tallo se utilizó un vernier electrónico.

Determinación de compuestos fenólicos y actividad antioxidante

Se determinó en hojas de las cinco variedades de frijol blanco con 20 días de tratamiento. Se utilizaron cuatro repeticiones por cada variedad de frijol y por cada tratamiento. Procesando un total de 80 muestras.

Obtención de los extractos

Para realizar la extracción, las hojas de las cinco variedades de frijol blanco se congelaron en nitrógeno líquido y se molieron con un mortero hasta obtener un polvo muy fino. Se pesó 1 g de polvo fino y añadió 10 mL de la solución compuesta por acetona, agua y ácido acético en una proporción 70:29.5:0.5 (v/v/v). Después, se llevó a cabo una maceración a temperatura ambiente, en obscuridad y agitación durante 17 h. Transcurrido el tiempo, los extractos se centrifugaron a 4000 rpm por 8 minutos, se realizó un lavado y se centrifugo nuevamente bajo las mismas condiciones.

Posteriormente, se juntó el sobrenadante de la maceración y del lavado. Finalmente, el extracto se concentró en un rotavapor (Buchi, R-100, Suiza) a 40 °C. Los extractos se guardaron a -20 °C hasta el día de su análisis.

Determinación de fenoles totales

Se realizó mediante el método de Folin–Ciocalteu (F-C). Se mezcló 50 µL de la muestra extraída en 3 mL de agua destilada, se agregó 250 µL del reactivo F-C (2N) y 750 µL de la solución de carbonato de sodio (7%, w/v). Se dejó incubar a temperatura ambiente por 8 min. Finalmente, se agregó 950 µL de agua destilada, se mezcló y se dejó en oscuridad por 2 h, para leer la absorbancia a 765 nm en un espectrofotómetro (Tecan, Infinite M200 Pro, Suiza). La cuantificación de los compuestos fenólicos se hizo en relación al ácido gálico por gramo de muestra. (Magalhaes et al., 2010).

Determinación de flavonoides

Se realizó mediante la solución de cloruro de aluminio (AlCl₃). Se mezcló 50 µL de muestra, previamente extraída, con 700 µL de agua desionizada y se agregó 250 µL de la solución de AlCl₃. Se mezcló y se mantuvo a temperatura ambiente por 30 min para completar la reacción. Finalmente, se leyó a una absorbancia de 410 nm, en un espectrofotómetro (Tecan, Infinite M200 Pro, Suiza). La cuantificación de flavonoides se expresó en equivalentes de quercetina por gramo muestra (Maksimovic et al., 2005).

Determinación de la actividad antioxidante

La actividad antioxidante se determinó por dos métodos: el ABTS (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico, A-1888) y el DPPH (2,2-Difenil-1-picrilhidrazilo, D-9132). Los resultados se expresaron en el porcentaje de eliminación del radical ABTS⁺ (%ARSA) y el radical DPPH (%DRSA).

Método ABTS

Se mezcló 20 µL de muestra (previamente extraída) y 270 µL del radical ABTS⁺ (se preparó una solución de ABTS a 7mM y persulfato de potasio a 2.45 mM, la reacción se dejó estabilizar durante 16 horas en oscuridad a temperatura ambiente). Posteriormente, se preparó un blanco de reacción y una muestra control. Para el blanco se agregó 20 µL de muestra y 270 µL de etanol, mientras que para la muestra control se agregó 20 µL de agua desionizada y 270 µL del radical ABTS⁺. Finalmente, se leyó a una absorbancia de 734 nm en un espectrofotómetro (Tecan, Infinite M200 Pro, Suiza), 6 min después del inicio de la reacción hasta completar 24 min (Tovar-Pérez et al., 2017).

Método DPPH

Se mezcló 100 µL de muestra extraída y 100 µL del radical DPPH. Posteriormente, se preparó un blanco de reacción y una muestra control. Para el blanco se agregó 100 µL de muestra y 100 µL de metanol, mientras que para la muestra control se agregó 100 µL de agua desionizada y 100 µL del radical DPPH. Finalmente, se leyó a una absorbancia de 515 nm en un espectrofotómetro (Tecan, Infinite M200 Pro, Suiza), se tomaron lecturas al minuto 5 después del inicio de la reacción y hasta completar 30 min (Tovar-Pérez et al., 2017).

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza y comparación de medias con la prueba de rango múltiple de Duncan ($p \leq 0.05$), se utilizaron los procedimientos del paquete estadístico SAS 9.1

RESULTADOS

Se observó mayor crecimiento en las variedades OX-6, OX-7 y OX-11 con 5 µM de Na₂SeO₃ (Se) y una disminución con 10 µM en estas mismas variedades. Mientras que, en la variedad OX-14 el mayor crecimiento fue con 10 µM de Se. En la variedad OX-12 no hubo diferencias entre las distintas concentraciones de Se. En general, la variedad OX-11 presentó el mayor crecimiento comparado con el resto de las variedades, la OX-14 tuvo un crecimiento intermedio, mientras que la OX-6 fue la que tuvo el menor crecimiento. (Figura 1A).

Respecto al diámetro del tallo, se observó que a mayor concentración de Se, el diámetro disminuye. El mismo efecto se observó en todas las variedades evaluadas (Figura 2A).

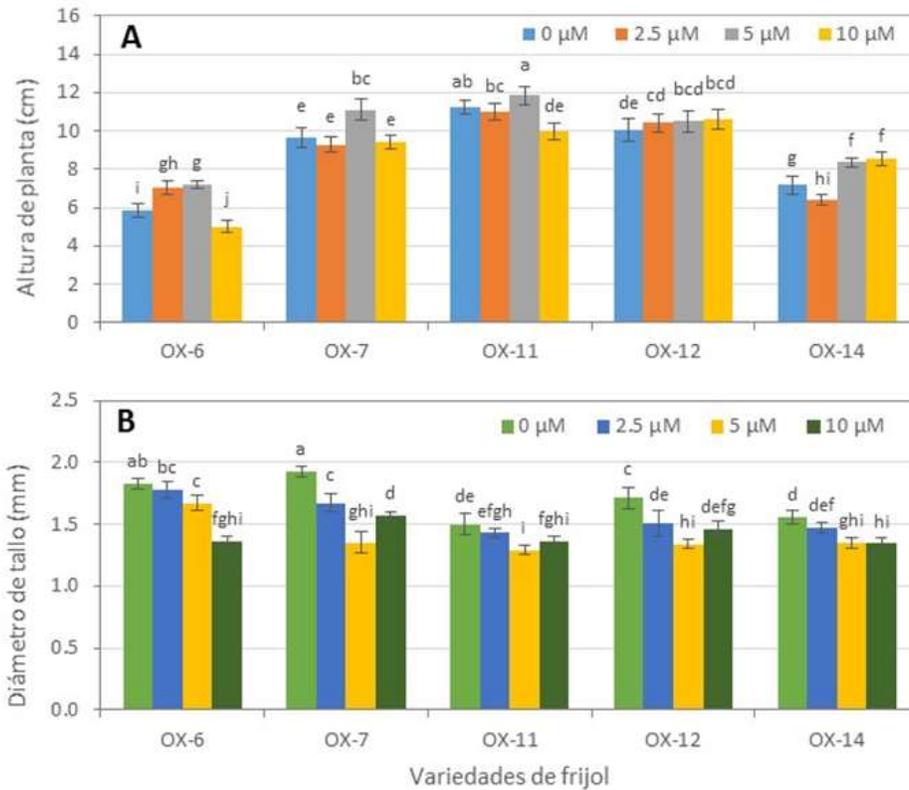


Figura 1. Efecto del selenito en el crecimiento de plantas de variedades de frijol blanco, después de 18 días de crecimiento. A) altura de la planta, B) diámetro del tallo. Medias con letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Duncan ($p < 0.05$), \pm desviación estándar.

Determinación de flavonoides y fenoles totales

La principal diferencia en el contenido de flavonoides se observó entre las variedades evaluadas. La variedad OX-11 presentó la menor concentración de flavonoides, mientras que la variedad OX-12 mostró el mayor contenido de flavonoides, principalmente con la concentración de 10 μM de Se, aunque no hubo diferencias con el testigo (0 μM). En las variedades OX-7, OX-11 y OX-14 no encontraron diferencias significativas entre los tratamientos aplicados. La variedad OX-06 presentó una tendencia con respecto a la concentración de Se, el contenido de flavonoides incrementó al aumentar la concentración de selenito de sodio (Figura 2A).

En las variedades OX-11 y OX-14 el contenido de fenoles totales fue mayor con 2.5 μM de Se, de forma contraria, con esta misma concentración se obtuvo el menor contenido fenoles totales en la variedad OX-12. En las variedades OX-7 no se observaron diferencias significativas (Figura 2B). La variedad OX-11 contrastó ampliamente entre su contenido de fenoles totales y flavonoides, comparado con el resto de las variedades estudiadas.

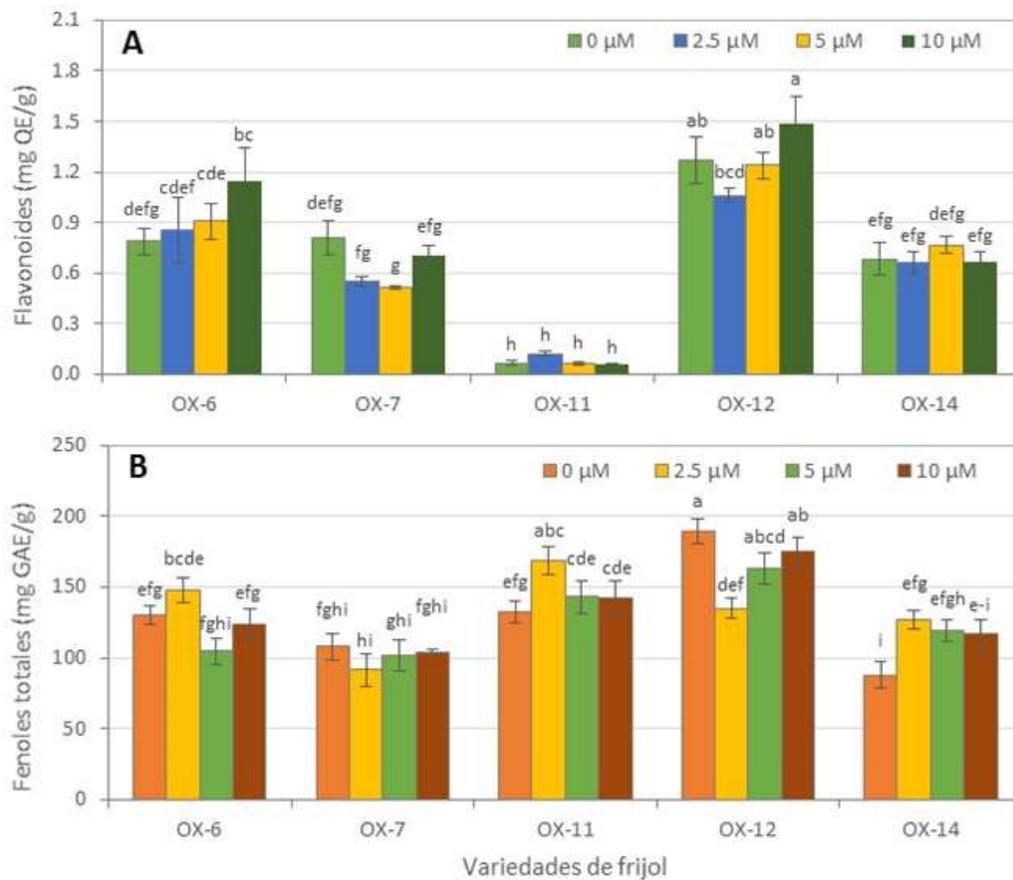


Figura 2. Efecto del selenito en el contenido de compuestos fenólicos en hojas de variedades de frijol blanco. A) contenido de flavonoides (mg QE/g), B) contenido de fenoles totales (mg GAE/g). Medias con letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Duncan ($p < 0.05$), \pm desviación estándar.

Actividad antioxidante

En el método DPPH (% DRSA) no se observó diferencia significativa entre las variedades OX-7, OX-11, OX-12 y OX-14 y los tratamientos aplicados, mientras que la variedad OX-6 presentó una diferencia significativa entre la concentración 0 y 10μM, con una tendencia a disminuir la actividad antioxidante conforme incrementa la concentración de Se (Figura 3A). Un comportamiento opuesto a lo encontrado en el contenido de flavonoides.

Mientras que por el método ABTS (%ARSA), las variedades no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 3B). No se observó una correlación entre la actividad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos.

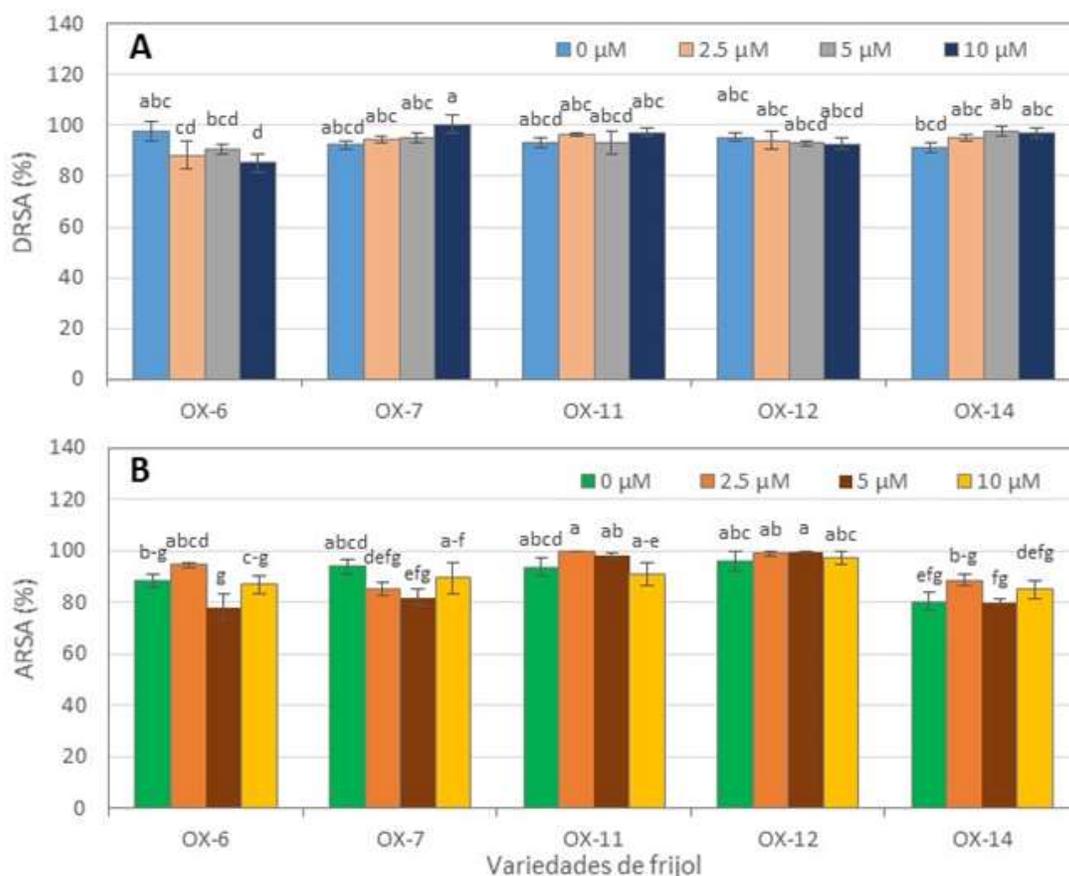


Figura 3. Efecto del selenito en la actividad antioxidante de hojas de frijol blanco crecido durante 20 días. A) método del DPPH (% DRSA), B) método del ABTS (% ARSA). Medias con letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Duncan ($p < 0.05$), \pm desviación estándar.

CONCLUSIONES

Las variedades de frijol blanco obtenidas del estado de Oaxaca respondieron de manera diferencial a las concentraciones aplicadas de selenio. La variedad OX-6 presentó menor crecimiento y mayor contenido de flavonoides y fenoles totales. La variedad OX-11 tuvo mayor crecimiento y contenido de fenoles, pero menor concentración de flavonoides, la menor cantidad de todas las variedades evaluadas. En todas las variedades, el diámetro disminuyó al incrementar concentración de selenio. En cuanto a la actividad antioxidante, por ambos métodos (DPPH y ABTS), no hubo diferencias entre los tratamientos y las variedades. Por lo tanto, el efecto benéfico del Se depende de la concentración, de la variedad y del estado de desarrollo de la planta.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al CONACYT por el financiamiento otorgado a través del Proyecto FORDECYT Núm. 292474 "Estrategias multidisciplinares para incrementar el valor agregado de las cadenas productivas del café, frijol, mango, agave mezcalero y productos acuícolas (tilapia) en la región pacífico sur a través de la ciencia, la tecnología y la innovación"

BIBLIOGRAFÍA

1. N. Alvarado-Lopez, L. M. Gómez-Oliván, J. B. Heredia, R. Baeza-Jiménez, H. S. Garcia-Galindo, L. X. Lopez-Martinez, "Nutritional and bioactive characteristics of Ayocote bean (*Phaseolus coccienus* L.): an underutilized legume harvested in Mexico. *CyTA-J. Food*, Vol. 17, 1, 2019, pp. 199-206.
2. Capistrán-Carabarin, E. N. Aquino-Bolaños, Y. D. García-Díaz, J. L. Chávez-Servia, A. M. Vera-Guzmán, J. C. Carrillo-Rodríguez, "Complementary in phenolic compounds and the antioxidant activities of *Phaseolus coccineus* L. and *P. vulgaris* L. landraces", *Foods*, Vol. 8, 8, 2019, pp. 295.
3. Chávez-Mendoza, K. I. Hernández-Figueroa, E. Sánchez, "Antioxidant capacity and phytonutrient content in the seed coat and cotyledon of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) from various regions in Mexico", *Antioxidants*, Vol. 8, 1, 2019, pp.5-19.
4. FAOSTAT, Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database, 2016
5. Y. Gutierrez, M. Cruz-Martín, C. Sánchez-García, M. Leiva-Mora, M. Acosta-Suárez, B. Roque, R. Torres, Y. Alvarado-Capó, "Contenido de fenoles totales en la testa de las semillas de tres cultivares de *Phaseolus vulgaris* L.", *Biot. Veg.*, Vol. 16, 2, 2016, pp.125-128.
6. Hawrylak-Nowak, "Changes in anthocyanin content as indicator of maize sensitivity to selenium", *J. Plant Nutr.*, Vol. 31, 7, 2008, pp.1232-1242.
7. M. Lara, "El cultivo de frijol en Mexico", *Revista Digital Universitaria*, Vol. 16, 2, 2015, pp. 2-11.
8. M. L. Lopez-Gutierrez, A. Benavides-Mendoza, H. Ortega-Ortiz, L. A. Valdez-Aguilar, M. Cabrera-De la Fuente, A. Sandoval-Rangel, "Selenio y su efecto en el estado antioxidante y la composición mineral de la lechuga", *SciELO*, Vol.6, 2015, pp.2257-2262
9. F. J. López-Bedillo, L. López, "Selenio y salud; valores de referencias y situación actual de la población española", *Nutr. Hosp.*, Vol. 28, 5, 2013, pp.1396-1406.
10. L. M. Magalhaes, F. Santos, M. A. Segundo, S. Reis, J. L. F. Lima, "Rapid microplate high-throughput methodology for assessment of Folin-Ciocalteu reducing capacity", *Talanta*, Vol. 83, 2, 2010, pp. 441-447.
11. Z. Maksimovic, D. Malencic, N. Kovacevic, "Polyphenol contents and antioxidant activity of *Maydis stigma* extracts", *Bioresour. Technol.*, Vol. 96, 8, 2005, pp. 873-877.
12. Mezeyova, A. Hegedusova, O. Hegedus, A. Vargova, M. Timoracka, M. Slosar, A. Andrejiova, T. Jurikova, J. Mezey, "Basil seeds as a source of antioxidants affected by fortification with selenium", *Folia Hort.*, Vol. 32, 1, 2020, pp. 1-10.
13. Pannico, C. El-Nakhel, M. C. Kyriacou, M. Giordano, S. R. Stazi, S. De Pascale, Y. Roupael "Combating micronutrient deficiency and enhancing food functional quality through selenium fortification of select lettuce genotypes grown in a closed soilless system", *Front. Plant Sci.*, Vol. 10, 2019, pp. 1495.
14. Pannico, C. El-Nakhel, G. Graziani, M. C. Kyriacou, M. Giordano, G. A. Soteriou, A. Zarrelli, A. Ritieni, S. De Pascale, Y. Roupael. "Selenium biofortification impacts the nutritive value, polyphenolic content, and bioactive constitution of variable microgreens genotypes" *Antioxidants*, Vol. 9, 4, 2020, pp. 1-21.
15. L. M. Pérez-Pérez, C. L. Del Toro, E. Sánchez, R. I. González, A. Reyes, J. Borboa, J. M. Soto, M. A. Flore-Cordova, "Bioaccesibilidad de compuestos antioxidantes de diferentes variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en Mexico, mediante un sistema gastrointestinal *in vitro*", *Biocencia*, Vol. 22, 1, 2020, pp. 117-125.
16. G. Tovar-Pérez, L. Guerrero-Becerra, E. Lugo-Cervantes, "Antioxidant activity of hydrolysates and peptide fractions of glutelin from cocoa (*Theobroma cacao* L.) seed", *CyTA-J. Food*, Vol. 15, 4, 2017, pp. 489-496.
17. W. Woch, B. Hawrylak-Nowak, "Selected antioxidant properties of alfalfa, radish, and white mustard sprouts biofortified with selenium", *Acta Agrobot.*, Vol. 72, 2, pp.1768.
18. Xu, S. K. C. Chang, "Total phenolic, phenolic acid, anthocyanin, flavan-3-ol, and flavonol profiles and antioxidant properties of pinto and black beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as affected by thermal processing", *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 57, 11, 2009, pp. 4754-4764.

CERIO EN EL ESTATUS DE LOS MICRONUTRIMENTOS B, MN Y ZN EN DIFERENTES ÓRGANOS DE TULIPÁN

Tsujmejy Gómez-Navor, Libia Iris Trejo-Téllez, Fernando Carlos Gómez-Merino, Yolanda Leticia Fernández-Pavía y Gabriel Alcántar-González

Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Texcoco, Estado de México, México.
gomez.tsujmejy@colpos.mx; tlibia@colpos.mx; fernandg@colpos.mx; mapale@colpos.mx;
alcantar@colpos.mx

RESUMEN

Los elementos de tierras raras (REE) como el cerio (Ce) han mostrado ejercer efectos fisiológicos positivos o negativos en plantas superiores dependiendo de su concentración. El objetivo de la presente investigación fue evaluar la influencia de distintas dosis de Ce en la concentración de los micronutrientes B, Mn y Zn en diferentes órganos de tulipán. Se usaron plantas de tulipán cultivar Jan van Nes, crecidas bajo condiciones de invernadero, durante el ciclo otoño-invierno. El Ce fue agregado a la solución nutritiva de Steiner al 50% empleada durante la producción y suministrada mediante un sistema de riego por goteo, las dosis fueron 0, 5, 15 y 25 μM a partir de $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. El experimento fue establecido en un diseño completamente al azar (DECA). La unidad experimental fue una maceta con una planta de tulipán. Posterior a los 49 días de siembra, los tallos florales fueron cosechados para la evaluación de vida poscosecha, al término de esta evaluación, se hizo una separación por órgano (tallo, hoja y flor), sometiendo a secado en una estufa de aire forzado (72 °C, 72 h). Para determinar las concentraciones B, Mn y Zn, se usó material vegetal seco de cada órgano, llevando a cabo una digestión húmeda con HNO_3 y HClO_4 . En el extracto resultante los micronutrientes fueron cuantificados con un espectrofotómetro de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES 725 Series, Agilent). Los resultados muestran que, la adición de 5 μM Ce en la solución nutritiva, disminuyó la concentración de B en 33.5% respecto al testigo en tallos de tulipán y la concentración de Zn en las hojas en 23.78% respecto al testigo, tanto que en hoja y flor no se registraron diferencias significativas. Mientras que la concentración de Mn incrementó en un 19.88 y 23.88% respecto al testigo en tallos de tulipán con la aplicación de 5 y 25 μM respectivamente. Por tanto, se concluye que el Ce tiene influencia diferencial en el estatus de los micronutrientes B, Mn y Zn en los diferentes órganos de tulipán.

INTRODUCCIÓN

El cerio (Ce) es uno de los elementos más abundantes de las tierras raras (REE), clasificado dentro del grupo de lantánidos que comprende 15 elementos con números atómicos sucesivos de 57 a 71, su símbolo es el Ce y su número atómico es 58 (Kilbourn, 2000; Turra *et al.*, 2018).

El Ce se ha empleado en la agricultura como suplemento de fertilizante, mostrando efectos fisiológicos, tanto positivos como negativos en plantas superiores dependiendo de su concentración. Concentraciones bajas tienen efectos positivos o estimulantes; mientras que, altas concentraciones causan efectos negativos (Tyler, 2004; Xia *et al.*, 2013).

En diversos estudios se han documentado que el Ce mejora el contenido de nutrientes en plantas (Liu *et al.*, 2012; Xie *et al.*, 2015; Ramírez-Olvera *et al.*, 2018), mitiga los efectos negativos de las deficiencias nutricionales (Gong *et al.*, 2011), estimula el crecimiento de las plantas (Morales *et al.*, 2013; Ramírez-Olvera *et al.*, 2018), y aumenta el sistema de defensa antioxidante (Liu *et al.*, 2012) y la síntesis de metabolitos secundarios (Xie *et al.*, 2015).

Por otra parte, los micronutrientes son elementos indispensables para el crecimiento exitoso y saludable de las plantas; alguna deficiencia de éstos causa alteraciones en el metabolismo vegetal que repercuten en la calidad y el rendimiento (Buchanan *et al.*, 2005).

En el contexto anterior, este estudio tiene como objetivo evaluar la influencia de distintas dosis de Ce en la concentración de los micronutrientes B, Mn y Zn en diferentes órganos de tulipán. Esta especie es una ornamental bulbosa que pertenece a la familia Liliaceae (NRCS, 2020), es considerada como uno de los cultivos con mayor importancia económica en México; tan solo en la Ciudad de México durante el año 2019, tuvo un valor de producción superior a los 9 millones pesos

(SADER, 2020); asimismo es apreciada en el mercado por ser una flor elegante y por poseer vistosos colores.

PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal

En la producción de tulipán se usaron bulbos comerciales del cultivar Jan van Nes, adquiridos con el proveedor de EUROBULBOS, S. de R. L. de C. V. Este cultivar presenta un color amarillo intenso. La siembra de bulbos se realizó en macetas de 7 pulgadas con un sustrato consistente en tezontle:perlita:turba (70:20:10, v:v:v). En este estudio se cosecharon tallos florales en la etapa de brote comercial (49 días después de siembra), es decir, cuando las puntas de los tépalos todavía estaban cerradas.

Tratamientos y diseño experimental

El experimento se realizó bajo condiciones de invernadero, durante el ciclo otoño-invierno, utilizando un diseño experimental completamente al azar (DECA). Se evaluaron cuatro tratamientos con nueve repeticiones cada uno. Los tratamientos evaluados fueron diferentes dosis de Ce: 0, 5, 15 y 25 μM , suministradas a partir de $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, las cuales fueron agregadas a la solución nutritiva de Steiner al 50% empleada durante el ciclo productivo y suministrada mediante un sistema de riego por goteo. La aplicación de los tratamientos se hizo desde el primer día de siembra de los bulbos. La unidad experimental fue una maceta con una planta de tulipán.

Los tallos florales cosechados de 49 días después de siembra fueron trasladados al laboratorio, etiquetados por tratamiento y colocado en un recipiente de vidrio que contenían 250 mL de agua destilada, al término de la vida en florero, se hizo una separación por órgano (tallo, hoja y flor).

Determinación de micronutrientes

Para determinar la concentración de B, Mn y Zn, los diferentes órganos de tulipán fueron previamente secados en una estufa de aire forzado a 72 °C por 72 h, una vez secas se introdujeron en un molino tipo Wiley de acero inoxidable provisto de un tamiz malla 40. Con el material vegetal seco obtenido se llevó a cabo una digestión húmeda con HNO_3 y HClO_4 . En el extracto resultante, los micronutrientes fueron cuantificados con un espectrofotómetro de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES 725 Series, Agilent).

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos fueron sometidos a análisis de varianza de acuerdo con el diseño experimental empleado y a pruebas de comparación de medias por Tukey ($P \leq 0.05$), usando el software SAS versión 9.4.

RESULTADOS

Las concentraciones de B, independiente a los tratamientos de Ce evaluados fueron mayores en flor, seguidos de hoja y tallo. En flor y hoja no se observaron efectos significativos de los tratamientos con Ce en la concentración de B; mientras que, en tallos, la adición de 5 μM Ce en la solución nutritiva, disminuyó la concentración de B en 33.5% respecto al testigo (Figura 1).

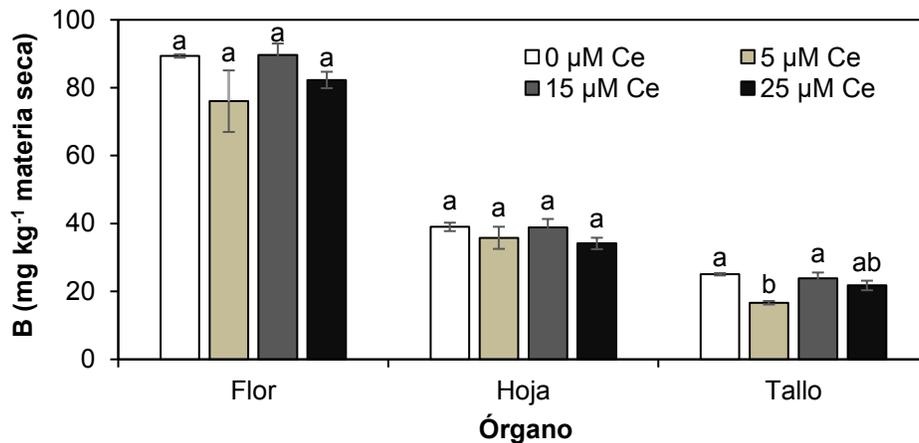


Figura 11. Concentración de boro (B) en flores, hojas y tallos de tulipán bajo suministro de Ce vía solución nutritiva. Medias ± DE con letras diferentes en cada barra, indican diferencias significativas (Tukey, $P \leq 0.05$). $n = 9$.

De la misma manera que ocurrió con B, los tratamientos con Ce solo tuvieron influencia en la concentración de Mn en el tallo. Se registró que con la aplicación de 5 y 25 µM Ce se incrementó la concentración de Mn en 19.9 y 23.9%, respectivamente, en comparación con el testigo sin Ce (Figura 2).

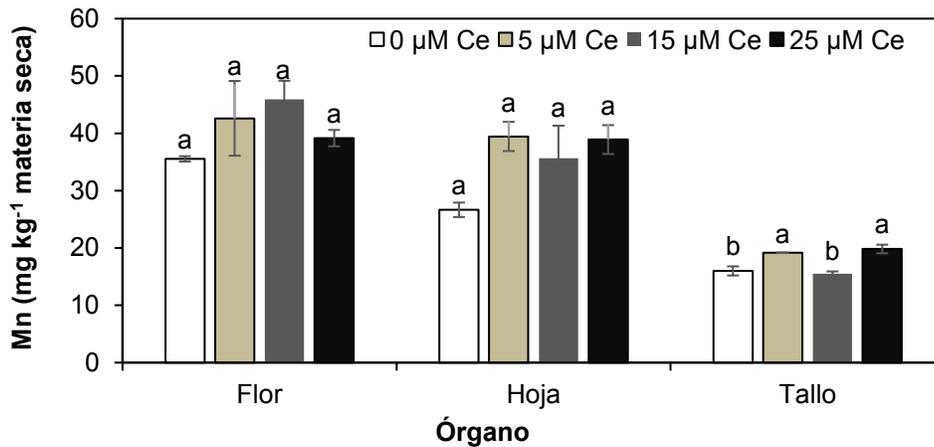


Figura 12. Concentración de manganeso (Mn) en flores, hojas y tallos de tulipán bajo suministro de Ce vía solución nutritiva. Medias ± DE con letras diferentes en cada barra, indican diferencias significativas (Tukey, $P \leq 0.05$). $n = 9$.

Las dosis de Ce evaluadas en este estudio no mostraron tener un efecto significativo en la concentración de Zn en flores y tallos de tulipán (Figura 3). Por el contrario, el tratamiento con 5 µM Ce disminuyó la concentración de Zn en hojas en 23.8%, con respecto al testigo.

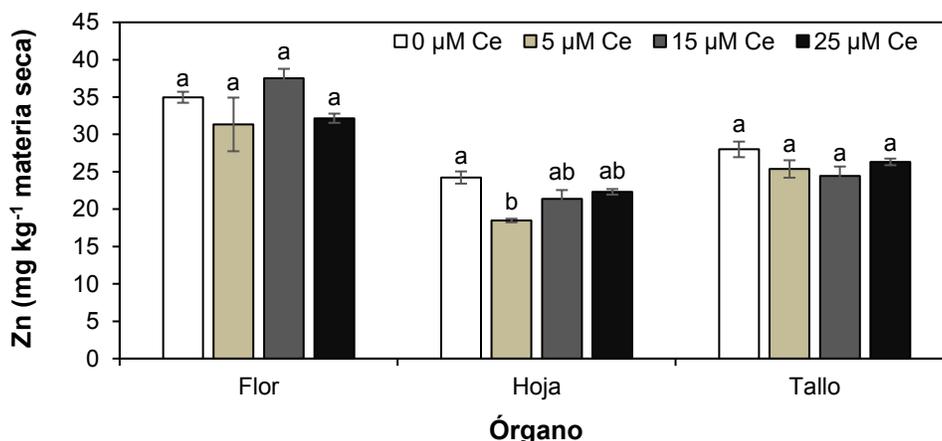


Figura 13. Concentración de zinc (Zn) en flores, hojas y tallos de tulipán bajo suministro de Ce vía solución nutritiva. Medias \pm DE con letras diferentes en cada barra, indican diferencias significativas (Tukey, $P \leq 0.05$). $n = 9$.

DISCUSIÓN

Los micronutrientes son esenciales para el crecimiento y desarrollo de una planta, desempañando funciones fundamentales en los procesos fisiológicos de las plantas como la fotosíntesis, diversas reacciones enzimáticas, etc. (Singh y Dwivedi, 2019). Los REEs como el Ce, pueden tener influencia en el estatus nutricional en diferentes cultivos (Hu *et al.*, 2006; Pošćić *et al.*, 2017; Ramírez-Olvera *et al.*, 2018). En este estudio el Ce tuvo efectos diferenciales en las concentraciones de B, Mn y Zn en los órganos que constituyen el tallo de tulipán. En flor, no se registraron diferencias significativas en ninguno de los micronutrientes evaluados bajo la exposición de diferentes dosis de Ce; sin embargo, en este órgano se tuvieron las mayores concentraciones de dichos elementos. En hoja, el Ce solo tuvo efecto en la concentración de Zn, misma que fue negativa. En tallo, dosis de 5 μM Ce disminuyó la concentración de B y aumentó la de Mn; mientras que, la adición de 25 μM Ce también incrementó la concentración de Mn. Varios autores han reportado que Ce puede alterar la concentración de micronutrientes en diferentes órganos de la planta. Según Liu *et al.* (2012), en el cultivo de arroz, diferentes dosis de Ce resultaron en la disminución de las concentraciones de Cu, Mn y Fe en brotes, mientras que la adición de 0.05 y 0.1 mM Ce aumentó la concentración de Zn y Mo en raíces, con respecto al testigo. En plántulas de *Cyclocarya paliurus*, aplicaciones foliares de nitrato de cerio, aumentaron los contenidos de Mn y Fe en hojas con el incremento de la concentración de cerio (Xie *et al.*, 2015). En maíz, diferentes dosis de Ce aumentaron la concentración B en brotes; mientras que, en raíz, disminuyeron las concentraciones de Zn y Mn conforme aumentaba la dosis de Ce (Diatloff *et al.*, 2008).

CONCLUSIONES

La concentración de los micronutrientes B, Mn y Zn en los diferentes órganos de tulipán se vieron influenciados por la aplicación de Ce en el rango de 5 a 25 mM, de manera diferencial. Sin embargo, se concluye que es necesario realizar otras investigaciones que permitan elucidar los mecanismos que el Ce ejerce en los procesos de absorción y transporte de micronutrientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. B. B. Buchanan, W. Gruissem, and R.L Jones (eds.), "Biochemistry and molecular biology of plants", John Wiley & Sons, 3rd edition, 2015.
2. B. T. Kilbourn, "Cerium and cerium compounds". Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, 2000, pp. 1-23.

3. C. F. Xia, J. C. Jin, L. Yuan, J. Zhao, X. Y. Chen, F. L. Jing, C. Q. Qin, J. Dai, and Y. Liu, "Microcalorimetric studies of the effect of cerium (III) on isolated rice mitochondria fed by pyruvate", *Chemosphere*, Vol. 91, 11, 2013, pp. 1577-1582.
4. C. Turra, "Sustainability of rare earth elements chain: from production to food—a review", *International Journal of Environmental Health Research*, Vol. 28, 1, 2018, pp. 23-42.
5. D. Liu, X. Wang, Y. Lin, Z. Chen, H. Xu, and L. Wang. "The effects of cerium on the growth and some antioxidant metabolisms in rice seedlings", *Environmental Science and Pollution Research*, Vol. 19, 8, 2012, pp. 3282-3291.
6. E. Diatloff, F. W. Smith, and C. J. Asher, "Effects of lanthanum and cerium on the growth and mineral nutrition of corn and mungbean", *Annals of Botany*, Vol. 101, 7, 2008, pp. 971-982.
7. F. Pošćić, H. Schat, and L. Marchiol, "Cerium negatively impacts the nutritional status in rapeseed", *Science of the Total Environment*, Vol. 593, 2017, pp. 735-744.
8. G. Tyler, "Rare earth elements in soil and plant systems-A review", *Plant and Soil*, Vol. 267, 1-2, 2004, pp. 191-206.
9. M. I. Morales, C. M. Rico, J. A. Hernandez-Viezcas, J. E. Nunez, A. C. Barrios, A. Tafoya, J. P. Flores-Marges, P. R. Peralta-Videa, and J. L. Gardea-Torres, "Toxicity assessment of cerium oxide nanoparticles in cilantro (*Coriandrum sativum* L.) plants grown in organic soil", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 61, 2013, pp. 6224-6230.
10. NRCS, USDA, "The PLANTS Database" (<http://plants.usda.gov>, 30 marzo 2020). National Plant Data Team, Greensboro, NC 27401-4901 USA.2020
11. P. Singh, and P. Dwivedi, P, "Micronutrients zinc and boron enhance stevioside content in *Stevia rebaudiana* plants while maintaining genetic fidelity", *Industrial Crops and Products*, Vol. 140, 2019, pp. 1-5.
12. SADER, Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER), delegación Ciudad de México. En línea: <https://www.gob.mx/agricultura/cdmx/articulos/la-floricultura-en-la-ciudad-de-mexico?idiom=es> Fecha de consulta: abril 2020
13. S. M. Ramírez-Olvera, L. I. Trejo-Téllez, S. García Morales, J. A. Pérez-Sato, and F. C. Gómez-Merino, "Cerium enhances germination and shoot growth, and alters mineral nutrient concentration in rice", *PLoS ONE*, Vol. 13, 3, 2018, pp. 1-19.
14. X. Gong, M. Hong, Y. Wang, M. Zhou, J. Cai, C. Liu, S. Gong, and F. Hong, "Cerium relieves the inhibition of photosynthesis of maize caused by manganese deficiency", *Biological Trace Element Research*, Vol. 141, 1-3, 2011, pp. 305-316.
15. Y. Xie, Y. Li, N. Liu, Y. Zhang, N. Guo, T. Wang, and X. Shang, "Effects of cerium nitrate on the growth and physiological characteristics in *Cyclocarya paliurus* seedlings", *Journal of Rare Earths*, Vol. 33, 8, 2015, pp. 898-904.
16. Z. Hu, S. Haneklaus, G. Sparovek, and E. Schnug, "Rare earth elements in soils", *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, Vol. 37, 9-10, 2006, pp. 1381-1420.

EVALUACIÓN DE LA BIODEGRADACIÓN DEL HIDROGEL DE ACRILAMIDA/ACIDO ACRÍLICO ENTRECruzADO CON LIGNINA MODIFICADA UTILIZANDO *PSEUDOMONAS PUTIDA* Y *BACILLUS SP.*

Carolina Báez Estrada¹, Humberto Daniel Jiménez Torres¹, Eulogio Orozco Guareño¹, Eire Reynaga Delgado²

¹Departamento de Química, ²Departamento de Farmacobiología. Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías, CUCEI. Universidad de Guadalajara.

kkarolina1997@hotmail.com

RESUMEN

La aprobación sucesiva de normativas acerca de la contaminación de suelos y los cambios en el uso del suelo, están aumentando la demanda de tecnologías de recuperación. Entre estas tecnologías se encuentra el uso de hidrogeles, sin embargo, aún existen limitaciones en el conocimiento de la forma en que las poblaciones microbianas nativas del suelo contaminado asimilan los compuestos utilizados en la síntesis de los hidrogeles que posteriormente serán utilizados para la descontaminación. Por lo anterior, existe la posibilidad de que la tecnología de remediación con hidrogeles puede ser tóxica para los microorganismos nativos de los suelos. En este trabajo fueron utilizadas *P. putida* y *Bacillus sp.*, dos bacterias involucradas en los procesos de biorremediación, con la finalidad de evaluar su capacidad de crecimiento en un medio de cultivo conteniendo hidrogel de acrilamida/ácido acrílico como única fuente de carbono. Las bacterias fueron cultivadas en 180 mL de caldo luria con hidrogel pulverizado al 5 % W/V. Se utilizó un cultivo control que contenía glucosa al 2 % W/V como fuente de carbono. Las condiciones de incubación fueron de 30 °C durante 6 semanas. El crecimiento de las bacterias fue evaluado semanalmente, expresado como incremento en la DO₆₀₀ frente a un blanco de caldo luria sin inocular. Los experimentos se realizaron por triplicado. Los resultados mostraron que el cultivo control exhibió un comportamiento diauxico en la tercera semana, retomando la fase de crecimiento exponencial a la cuarta semana. Las cinéticas con el hidrogel pulverizado presentaron el mismo comportamiento diauxico una semana después, además de lecturas inferiores al cultivo control. Lo anterior puede deberse a que *Bacillus sp.* es una bacteria formadora de esporas y por otro lado también a la competencia por sustrato con *P. putida*. La viabilidad y cultivabilidad de las cepas en el hidrogel fue monitoreada semanalmente mediante cultivos en agar Mueller Hinton (por triplicado). Con este trabajo se concluye que es posible que bacterias ambientales involucradas en procesos de biorremediación fueron capaces de crecer en hidrogel como única fuente de carbono y que además este hidrogel puede ser potencialmente biodegradable. Estos resultados pueden ser utilizados para la posterior síntesis de hidrogeles con compuestos menos recalcitrantes.

INTRODUCCIÓN

En los países desarrollados, la concientización y responsabilidad hacia el medio ambiente son cada vez más notorios. Antes de la década de los setentas, los objetivos de remediación se centraron en la contaminación de aire y agua; y el suelo fue confiado a la autodepuración (mecanismos de atenuación natural). La sensibilidad mundial comienza a cambiar a partir de la declaración de la Carta Europea de los Suelos desarrollada por la Comunidad Europea en 1972.

Partiendo de la atenuación natural, es que los mecanismos para la recuperación de suelos contaminados involucraron estudios de caracterización de microbiota, formación de consorcios microbianos y adición de enzimas inmovilizadas. Por otro lado, también se crearon tecnologías como la utilización de composites capaces de captar contaminantes y retenerlos.

En el año 2016 Beltrán Pineda M. y Gómez Rodríguez utilizaron las capacidades remediadoras de las plantas y microorganismos en conjunto, para la recuperar un suelo contaminado con Cd, Cr y Hg. Los microorganismos tomaron los metales y las raíces de las plantas los retuvieron en sus fibras de lignina. Pineda y Gómez obtuvieron resultados favorables, degradando los metales pesados absorbidos y retenidos en la lignina [1]. Por otro lado, Gualoto M. (2011) trabajó con cepas de las bacterias de *Pseudomona putida* y *Bacillus sp.* para la degradación de hidrocarburos, obteniendo

resultados satisfactorios con un porcentaje de degradación de 62% para la bacteria *Pseudomona putida* y un 47.45 % para el *Bacillus* sp. [2].

Aunque la biorremediación suele ser exitosa si se controlan la mayoría de las variables que pueden interferir (disponibilidad de agua y oligoelementos, temperatura, pH del suelo, etc.) suele ser un mecanismo lento cuando se practica *in situ*, pudiendo durar años. Es por esto que las nuevas tecnologías de remoción de contaminantes en suelos están encaminadas a utilizar mecanismos que absorban los contaminantes, los retengan, sean removidos y que además sean económicas. Entre estas tecnologías se encuentra la utilización de hidrogeles.

TEORÍA

Los hidrogeles son redes tridimensionales de polímeros de origen tanto natural como sintético, los cuales al estar en contacto con el agua se hidratan hasta llegar al equilibrio; y dada su estructura reticulada, no se desintegran durante el hinchamiento provocado por la captación y retención de líquido [3]. Como tecnología para descontaminación, los hidrogeles son un método efectivo tanto desde el punto de vista económico como tecnológico y en el caso de la retención de agua de hidrogeles, la porosidad de la red y las propiedades de elasticidad les permiten aplicaciones como adsorbentes para varios iones metálicos con las ventajas de que los hidrogeles son fácilmente recuperables y reutilizables [4,5]. Pero, sobre la seguridad ambiental, los hidrogeles no pueden regresar a sus monómeros iniciales, aunque son moderadamente biodegradados en el suelo por los medios iónicos y microbianos para convertirse finalmente en agua, dióxido de carbono y materia orgánica [6]. Sin embargo, existe la posibilidad de que durante los procesos de descontaminación parte de esos hidrogeles permanezcan indeterminadamente en el suelo y, por otro lado, que una vez utilizados se convierten en un residuo recalcitrante. Por lo anterior, la aplicación de hidrogeles para descontaminar el suelo debería de ser además de eficiente, sustentable.

En este proyecto se realizaron cinéticas de crecimiento de las cepas bacterianas *Pseudomonas putida* y *Bacillus* sp. en un caldo de cultivo adicionado con hidrogel de acrilamida/ácido acrílico entrecruzado con lignina modificada (AM/AAc/AMPS), diseñado para la captación de metales pesados en suelo y agua contaminados, con la finalidad de evaluar la posible biodegradabilidad del hidrogel por estas dos bacterias, frecuentemente encontradas en procesos de atenuación natural de suelos contaminados.

PARTE EXPERIMENTAL

Preparación del xerogel AM/AAc/AMPS

El xerogel (hidrogel no hidratado) de AM/AAc/AMPS fue proporcionado por el Laboratorio de Físicoquímica del Departamento de Química, el cual se sintetizó para fines de pruebas de captación de metales. Se solicitó al laboratorio un hidrogel recién sintetizado (xerogel) para llevar a cabo el experimento de crecimiento bacteriano. Para la síntesis se utilizó lignina de bajo contenido de sulfonato, cloruro de acrililo con pureza de 97%, ácido 2-acrilamido-2-metil-1-propanosulfónico (AMPS), ácido acrílico (AAc), con pureza de 99%, acrilamida (AM) con pureza de 97% provenientes de Sigma-Aldrich, tetrahidrofurano (THF) grado HPLC proveniente de Fisher Scientific con pureza de 99.9% y $K_2S_2O_8$, $NaHSO_3$ grado analítico. Se realizó la modificación de Kraft y se reticuló con lignina modificada.

El xerogel obtenido fue lavado, secado y pulverizado en un mortero para posteriormente ser tamizado hasta la obtención de un tamaño de partícula de 125 a 600 μm . La pulverización se realizó para que el xerogel tuviera mayor superficie de contacto con las bacterias durante el cultivo. El xerogel pulverizado fue tratado con luz UV durante 15 min., para fines de esterilización. Posteriormente fue almacenado en frascos de cristal estériles hasta su uso.

Preparación de las cepas bacterianas

Las cepas bacterianas utilizadas fueron proporcionadas por el laboratorio de Ingeniería Metabólica y Bio-informática del Departamento de Ingeniería Química del CUCEI. *P. putida* fue una cepa comercial (*strain* ATCC 700007 F1), mientras que *Bacillus* sp. fue aislada de muestras de agua de subsuelo contaminado con residuos de hidrocarburos totales de petróleo. Las cepas estaban conservadas en tubos cónicos tipo falcon y en refrigeración a -4 °C.

Se realizó una resiembra de las cepas donadas, para la obtención de un cultivo viable y puro para los experimentos de pre-adaptación y cinética de crecimiento en caldo de cultivo con hidrogel de AM/AAc/AMPS. Se tomaron colonias de ambas cepas y se inocularon en cajas Petri con agar Mueller Hinton (AMH, Difco®) de forma individual y por triplicado. Se incubaron a 37 ± 0.2 °C durante 48 h. Se verificó la pureza de cada crecimiento bacteriano mediante la observación morfológica en las cajas de agar y mediante la tinción de Gram.

Con los cultivos puros, se realizó la pre-adaptación 72 h antes de comenzar la cinética con la finalidad de acortar la fase *lag* del crecimiento bacteriano. Para este experimento se prepararon y esterilizaron (121 °C, 15 psi durante 15 min.) 150 mL de caldo Luria Bertani (caldo LB, Difco®) y 30 mL de glucosa al 2% W/V, por separado. Posteriormente, se transfirieron en tres tubos falcon con capacidad de 50 mL: 30 mL de caldo LB más 0.5 g de xerogel, y un cuarto tubo sustituyendo el xerogel con 1 mL de glucosa al 2% W/V, el cual funcionó como crecimiento control con fines de comparación. Se depositaron en cada tubo una colonia aislada de cada una de las cepas con un asa de nicromo. Las condiciones de incubación fueron a una temperatura de 30 ± 0.2 °C por 72 h y sin agitación. Este experimento se realizó por triplicado.

Cinética de crecimiento bacteriano en LB con hidrogel AM/AAc/AMPS

Se diseñaron y realizaron cinéticas de crecimiento bacteriano utilizando las cepas pre-adaptadas con la finalidad de verificar si era posible el crecimiento de estos microorganismos en un medio de cultivo teniendo únicamente el hidrogel como fuente de carbono. En condiciones estériles se tomaron tres botellas para cultivo (Pyrex®) con capacidad de 500 mL previamente esterilizados (121 °C, 15 psi durante 20 min.) y se depositaron 180 mL de caldo LB más 5 g de xerogel. Una cuarta botella se preparó de la misma manera, pero sustituyendo el xerogel con 5 mL de glucosa al 2%. Todos los frascos fueron inoculados con las cepas pre-adaptadas (vertiendo el contenido de los tubos falcon en las botellas de cultivo). Teniendo preparados las cuatro botellas, se mantuvieron en agitación por un minuto para homogenizar el contenido. De cada botella se tomaron 100 μ L para ser inoculados en cajas con AMH y utilizando la técnica de siembra en superficie con asa de Digrafsky para facilitar el conteo de colonias y verificar la viabilidad y cultivabilidad de las cepas durante toda la cinética. De todas las botellas se tomó 1 mL y se midió su densidad óptica (DO_{600}) para expresar el crecimiento bacteriano de forma indirecta. Esto constituyó el tiempo 1 de la cinética de crecimiento (Figura 1). Las condiciones de incubación para las botellas de cultivo fueron de 30 ± 0.2 °C de temperatura, durante seis semanas y sin agitación. Las cajas con AMH sembradas semanalmente, se incubaron a 37 ± 0.2 °C de temperatura durante 24 h. Las botellas de cultivo inoculadas y con hidrogel se denominaron como M1, M2 y M3. El control de crecimiento con glucosa se denominó Ctrl. Las cinéticas se hicieron por triplicado. Se monitoreó el crecimiento bacteriano cada semana durante seis semanas expresando el crecimiento bacteriano como aumento en la DO_{600} vs. tiempo. Los datos fueron procesados en StatGraphics Centurion XVI (StatPoint© Technonogies Inc.).

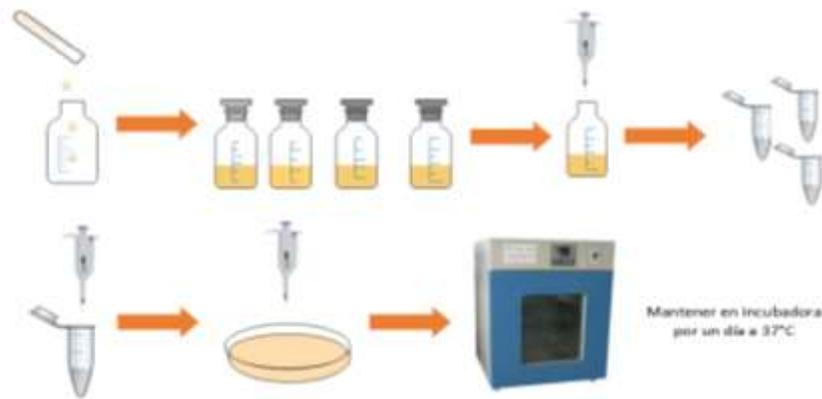


Figura 1: Esquema del proceso de inoculación y monitoreo de crecimiento y viabilidad en la cinética bacteriana.

RESULTADOS

Para monitorear el crecimiento bacteriano, se midió la biomasa en términos del incremento de la absorbancia del caldo LB a DO_{600} con un espectrofotómetro UV marca Jenway modelo Genova (US). En la Figura 2 se muestran las lecturas del crecimiento promedio final (\pm DS) con hidrogel y se comparan con el crecimiento promedio en glucosa. Claramente se observó que el crecimiento del cultivo con glucosa fue más elevado, teniendo un crecimiento promedio máximo de la DO en la quinta semana (1.529), mientras que el crecimiento promedio más elevado en el cultivo con hidrogel se monitoreo en la tercera semana (0.616), sin embargo, este valor promedio elevado no supero en ninguna etapa del experimento al crecimiento con glucosa.

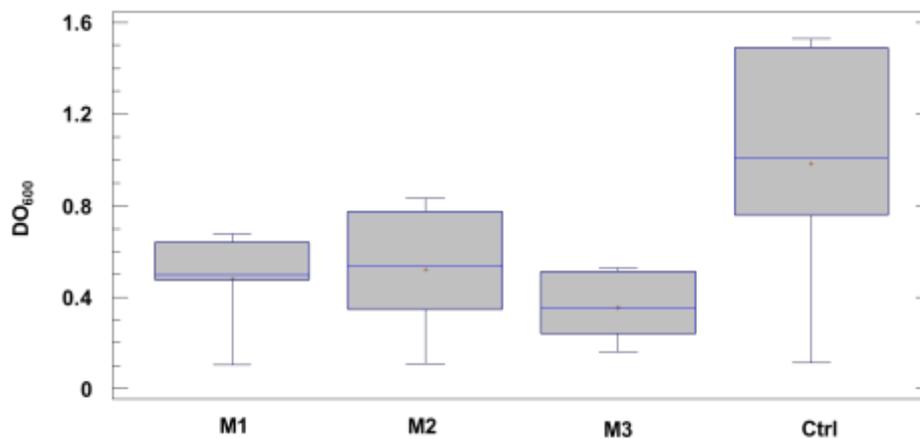


Figura 2. Crecimiento bacteriano promedio al final de la cinética de seis semanas. Botellas de cultivo con hidrogel (M1-M3) y glucosa (Ctrl).

Los crecimientos en las botellas de cultivo M1-M3, aunque gráficamente se observan diferentes, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (p -value: 0.39), y se mantuvieron con lecturas por debajo de 0.9 (Figura 3).

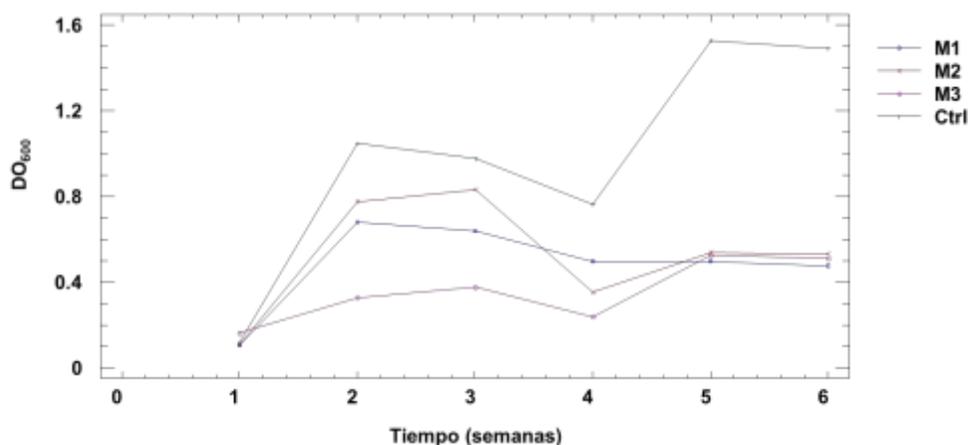


Figura 3. Crecimiento promedio bacteriano en función del aumento de la DO durante seis semanas. Botellas de cultivo con hidrogel (M1-M3) y glucosa (Ctrl).

En la cinética con glucosa fue notorio un decremento en las lecturas de DO en la semana tres retomando la fase de crecimiento exponencial a la cuarta semana. Este comportamiento denominado como diaúxico es de esperarse cuando los microorganismos utilizan sustratos mediante un metabolismo primario y secundario. Las cinéticas con el hidrogel presentaron el mismo comportamiento diaúxico una semana después, además de lecturas inferiores al cultivo control. Lo anterior puede deberse a que *Bacillus* sp. es una bacteria formadora de esporas y por otro lado también a la competencia por sustrato con *P. putida*. La viabilidad y cultivabilidad de las cepas en el hidrogel fue monitoreada semanalmente mediante cultivos en agar Mueller Hinton (por triplicado). Con los resultados obtenidos, se demuestra que es posible que bacterias ambientales involucradas en procesos de biorremediación fueron capaces de crecer en hidrogel como única fuente de carbono y que además este hidrogel puede ser potencialmente biodegradable. Estos resultados preliminares pueden ser utilizados para la posterior síntesis de hidrogeles con compuestos menos recalcitrantes, para pruebas piloto de biodegradación *in situ*.

CONCLUSIONES

En este trabajo se muestran los resultados preliminares de las pruebas de biodegradabilidad de un hidrogel de AM/AAC/AMPS. El evaluar la toxicidad de este tipo de tecnologías para la recuperación de suelos contaminados permite a los investigadores reconsiderar la composición de los hidrogeles, por un lado, y por otro lado estimar la duración de los componentes y sus posibles efectos en la microbiota de los suelos contaminados. Se realizó la comparación de crecimiento de cultivos de *P. putida* y *Bacillus* sp. con hidrogel y con glucosa, dado que esta última es una fuente de energía de fácil asimilación, mientras que, en las cinéticas con hidrogel, las bacterias se enfrentan a compuestos que no están disueltos y que además uno o más de estos pueden ser tóxicos y mortales para las cepas. Se observó un comportamiento diaúxico en las cinéticas con hidrogel, mostrando que los componentes de este también son tomados en el metabolismo secundario como sucede con la glucosa.

BIBLIOGRAFÍA

1. M., Beltrán Pineda, A., & Gómez Rodríguez, "Biorremediation of heavy metal cadmium (Cd), chrome (Cr) and mercury (Hg), biochemical mechanisms and genetic engineering: a review. Rev. Fac. Cienc. Basc., Vol.12, 2, 2016, pp. 172-197. <https://doi.org/10.18359/rfcb.2027>
2. M., Gualoto, "Biorremediación de hidrocarburos utilizando cepas antárticas", in Seminario Ecuador en la Antártida: historia, perspectivas y proyecciones, At Quito Ecuador, 2011. Available in:

https://www.researchgate.net/publication/291334590_BIORREMEDIACION_DE_HIDROCARBUROS_UTILIZANDO_CEPAS_ANTARTICAS

3. U. Faheem, et al. "Classification, processing and application of hydrogels: A review", Mater. Sci. Eng. C, Vol. 57, 2015, pp. 414-433.
4. H., Shalla, Z., Yaseen, A. B., Mushtaq, A. R., Tauseef & M., Masrat, "Recent review for removal of metal ions by hydrogels", Sep. Scie. Technol., 54:1, 2019 pp. 89-100, DOI: 10.1080/01496395.2018.1503307
5. A.E. Halah, & F. López-Carrasquero, "Applications of hydrogels in the adsorption of metallic ions", Cien. Ing., Vol. 39, 1, 2018, pp. 57-69.
6. M. J., Zohuriaan-Mehr and K. Kouros, "Superabsorbent Polymer Materials: A Review". Iran. Polym. J., Vol. 17, 6, 2008, pp. 451-477.

EVALUACIÓN DEL DISEÑO HIDROLOGICO Y VERIFICACIÓN ACTUAL DE ALMACENAMIENTOS DE AGUA DE LLUVIA PARA USOS AGROPECUARIOS EN EL ESTADO DE COLIMA

Gloria Vidrio Llamas, Cesar E. Gómez Delgadillo

Centro Universitario de Los ALTOS, Universidad de Guadalajara

RESUMEN

Los bordos para almacenamiento de agua de lluvia y cuya estructura coadyuva al control de avenidas y recuperación ecológica de las riveras, mejora el aprovechamiento de las áreas de agostadero o apacentamiento a través de la distribución del agua para usos de abrevadero, contribuyendo además a mejorar la economía familiar con el cultivo de peces. Para su estudio y diseño hidrológico se requieren el mayor número posible de datos existentes en las estaciones pluviométricas la cantidad del agua de escurrimiento y la precipitación promedio en el área de la cuenca o cercanas a ella, cantidad y niveles de agua disponible para almacenamiento, viabilidad y determinación de la vida útil de la obra además de los diferentes gastos de agua generados durante la avenida máxima. La viabilidad de este tipo de obras está en función de los estudios previos para su diseño, sin embargo a la fecha han transcurrido más de 20 años y según los parámetros de cálculo, se les brinda una seguridad de 25 a 40 años. Por lo que resulta importante verificar el funcionamiento de la obra, vertedor de demasías y el estado obra de almacenamiento, uso pecuario o agrícola, azolvamiento, contaminación y posible mantenimiento de la obra. Otro factor importante a considerar es el cálculo de la avenida máxima con los datos de precipitación en la zona desde el año en que fueron construidos a la fecha, pues la modificación generada en este parámetro de diseño por efecto del cambio climático es notable y no se consideró en el diseño original de esta infraestructura. Para el presente proyecto se trabajó con información recabada en 18 bordos de arcilla, construidos en el municipio de Cuauhtémoc del estado de Colima, durante los años 1985 a 1996, haciendo una visita a estas obras para determinar su estado actual. Del total observado, 73.24% tienen un nivel de 80% de agua y 85% de funcionalidad en la obra de toma y vertedor de demasías, con 100 % de eficacia en los diferentes niveles de almacenamiento. Por otro lado el restante 16.75 %, presentan deficiencias en el funcionamiento de la obra de toma 10% de estos últimos presentan un nivel muy bajo de almacenamiento por la disminución del agua de lluvia que se ha tenido en los 3 últimos años. Con la información de campo se corrobora la veracidad de los cálculos hidrológicos aplicados, para el cálculo de la vida útil de este tipo de obras. En algunos casos se requieren de trabajos de desazolve con el objeto de preservación de la misma obra, considerando que actualmente existen restricciones por parte de CONAGUA para construir este tipo de obras que además preservan los ecosistemas aledaños.

INTRODUCCIÓN

Un pequeño almacenamiento denominado bordo, constituido por una cortina de arcilla compactada y cuyas dimensiones sin ser de gran magnitud, requieren de estudios previos al diseño y construcción de la obra, sin embargo no por ser una obra de pequeña infraestructura no requieran de estudios: topográfico, geológico, hidrológico, y mecánica de suelos, ya que el objeto de diseño y construcción de este tipo de obras es brindar un beneficio a largo plazo, y en base a los resultados de estudios hidrológicos estos podrían tener eficiencia en su funcionamiento lo que se le denomina: vida útil hasta de más de 25 años en promedio. Los bordos para almacenamiento de agua, tienen la principal función de captación del agua de lluvia y cuya estructura coadyuva al control de avenidas, se tiene una buena recuperación ecológica de las riveras, con lo que además se tiene un aprovechamiento al máximo de las áreas de agostadero o apacentamiento a través de la distribución del agua para usos de abrevadero. Pudiendo contribuir además a mejorar la economía familiar con el cultivo de peces.

TEORÍA

Para el diseño de un pequeño almacenamiento de agua de lluvia, se llevan a cabo estudios con el objetivo de determinar las características hidráulicas de las obras de toma y de excedencias, así como la capacidad de almacenamiento de la obra, en función de la cantidad del agua de escurrimiento, originada a partir de la lluvia que se precipita en la cuenca de captación y de los volúmenes necesarios para la obra de toma, capacidad de azolves y capacidad útil.

Dentro de los procedimientos habituales que se siguen para la elaboración de los estudios hidrológicos de las presas o bordos de arcilla se buscan el mayor número posible de datos hidrológicos que permitan definir el régimen de la corriente por aprovechar, el cálculo del almacenamiento económico factible y la determinación de las condiciones de la avenida máxima entre otros, se buscan los datos de precipitación existentes en las estaciones pluviométricas en el área de la cuenca o cercanas a ella, para determinar la precipitación promedio en la cuenca. Concentración de aguas, según características del terreno, Coeficiente de escurrimiento, tomando en consideración las pendientes principales, la forma de concentración de las aguas, la cubierta vegetal existente, la permeabilidad de los terrenos y algunos otros datos de interés, se podrá determinar en el campo, el coeficiente de escurrimiento que deba adaptarse en cada caso particular, bien sea deducido prácticamente, o por comparación de cuencas que guarden semejanzas con la que se estudia. Con estos datos se recurre al método Indirecto aunque menos preciso, consiste en deducir el régimen de la corriente en función de la precipitación del área de la cuenca y el coeficiente de escurrimiento, puede arrojar resultados aceptables si los factores que están en juego son determinados con suficiente precisión y buen juicio.

El estudio hidrológico es determinar el funcionamiento hidrológico de la obra derivados del escurrimiento y lluvias captados en el área de cuenca, cantidad y niveles de agua disponible para almacenamiento, viabilidad y determinación de la vida útil de la obra además de los diferentes gastos de agua generados durante la avenida máxima.

Figura 1. Bordo “la compuerta” Mpio. Cuauhtémoc Colima



La experiencia mundial indica que un gran porcentaje de los fracasos en las obras hidráulicas, es debido a la subestimación de la magnitud de la avenida máxima de la corriente que es posible esperar y por lo tanto, de la deficiente capacidad de la obra de excedencias para dar paso a dicha avenida., su magnitud está en función de muchos factores, siendo principalmente los siguientes: Intensidad y duración de las tormentas, localización y amplitud de las tormentas en la cuenca de captación, trayectoria de la tormenta, áreas y formas, topografía, pendiente de la cuenca y de las corrientes principales, geología, vegetación existente, estado de saturación de la cuenca de captación

RESULTADOS

Del total observado, 73.24% tienen un nivel de 80% de agua y 85% de funcionalidad en la obra de toma y vertedor de demasías, con 100 % de eficacia en los diferentes niveles de almacenamiento. Por otro lado el restante 16.75 %, presentan deficiencias en el funcionamiento de la obra de toma

10% de estos últimos presentan un nivel muy bajo de almacenamiento por la disminución del agua de lluvia que se ha tenido en los 3 últimos años.

RELACION DE BORDOS UBICADOS EN EL MUNICIPIO DE CUAUHTÉMOC, ESTADO DE COLIMA							
No	Nombre	Mpio	Volumen almacenamiento en proyecto M ³	Volumen almacenamiento estimado actual M ³	Longitud vertedor	has	Fam.
1	Camichin	Cauhtémoc	45,462	31,823	13	75	5
2	El Chaleco	Cauhtémoc	14,194	7,523	15	79	5
3	La Mojonera	Cauhtémoc	43,553	34,842	10	80	8
4	El Mango	Cauhtémoc	20,041	16,033	10	102	9
5	El Ahilote	Cauhtémoc	17,604	12,323	8	80	4
6	El Adobe	Cauhtémoc	24,210	16,947	6	83	13
7	La Clavellina	Cauhtémoc	27,063	15,155	7	120	10
8	Los Corazones	Cauhtémoc	24,689	19,751	8	170	12
9	La Loberita	Cauhtémoc	90,769	72,615	30	95	8
10	Los Magueyes	Cauhtémoc	32,548	26,038	10	150	15
11	Tizate	Cauhtémoc	12,524	10,019	10	115	12
12	La Hondonada	Cauhtémoc	31,930	22,351	10	100	10
14	Parota Quemada	Cauhtémoc	37,321	26,125	10	150	10
15	Ojo De Agua	Cauhtémoc	15,550	12,440	11	90	12
16	La Huiguera	Cauhtémoc	33,499	23,449	10	88	13
17	Rosa Morada	Cauhtémoc	109,642	76,749	30	120	7
18	La Compuerta	Cauhtémoc	34,571	24,200	10	48	6

Figura 2. Bordo “el ojo de agua” Mpio. Cauhtémoc Colima



CONCLUSIONES

Con la información de campo obtenida mediante visitas a los sitios de estudio se corrobora la veracidad de los cálculos hidrológicos aplicados para el cálculo de la vida útil y funcionamiento de los vertedores y obras de toma de este tipo de estructuras. Sin embargo los efectos del cambio climático han alterado la cantidad de agua de lluvia y las variaciones de temperatura incrementan los niveles de evaporación disminuyendo con esto el nivel de almacenamiento de agua en los bordos. a lo largo del tiempo, los bordos tienden a capturar grandes cantidades de sedimento, disminuyendo la capacidad de agua almacenada y en algunos casos podría perderse completamente (De la Mora 2016), por lo que se requieren de programas de apoyo para llevar a cabo actividades de desazolve con el objeto de preservación de la misma obra, es de particular importancia el mantenimiento, considerando que actualmente existen restricciones por parte de CONAGUA para construir este tipo de obras que además preservan los ecosistemas aledaños. El mantenimiento aplicado a bordos para la restauración de la degradación de los recursos naturales, es una estrategia para regenerar los acuíferos y aumentar el recurso agua para la agricultura y una producción sustentable (Grande *et al.*, 2005).

BIBLIOGRAFÍA

1. Arteaga T., R.E. 1985. Normas y Criterios Generales que rigen el proyecto de un Bordo de Almacenamiento. Depto. de Irrigación, UACH., Chapingo, México.
2. Colegio de Postgraduados (COLPOS). 1980. MANUAL para proyectos de pequeñas obras hidráulicas para riego y abrevadero. Tomo II. Chapingo. México.
3. CONAGUA. *Estadísticas del Agua en México. Edición 2010*. México, D.F: Comisión Nacional del Agua, 2010.
4. SAG. 1977. Manual para proyectos de pequeñas obras hidráulicas para riego y abrevadero, estudios hidráulicos y diseño de obras. Instructivo de gabinete. Colegio de Posgraduados. Chapingo, México.
5. Secretaría De Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca Y Alimentación. 2010. Presas con cortina de tierra compactada para abrevadero y pequeño riego. Subsecretaría de Desarrollo Rural. Dirección General de Apoyos Para el Desarrollo Rural. México, D.F. 21 pág. Tomado de: <http://www.sagarpa.gob.mx/desarrolloRural/Documents/fichasCOUSSA/Presas%20de%20tierra%20compactada.pdf> Fecha de acceso: 18 de julio de 2014.
6. SARH. 1988. Pequeños almacenamientos. Coordinación general de apoyo a la producción. Chapingo, México.
7. Vidrio LL. G. Flores L.H.E, Chávez D.A.A. De La Mora O.C., Martínez D. T.E. 2016. "Diseño de pequeños almacenamientos de agua de lluvia" Guadalajara, México. Ed. Prometeo

OBTENCIÓN DE LOS COMPONENTES BIOACTIVOS DE LA PULPA RESIDUAL DEL BENEFICIO HÚMEDO DEL CAFÉ

María Carmen Fernández Martínez¹, Carmen Lidia Danza-Merino², Jorge Yáñez-Fernández²

¹Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada del Instituto Politécnico Nacional, ²Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología del Instituto Politécnico Nacional
mfernandezm@ipn.mx; jyanezfe@ipn.mx

RESUMEN

Los residuos del beneficio húmedo del café (BHC) han sido considerados como una fuente contaminante de los efluentes de agua y en consecuencia de su entorno. Los principales residuos contaminantes durante este proceso son la pulpa, aguas mucilaginosas y las aguas residuales del lavado. Del fruto procesado el 60% son desechos sólidos de los cuales el 40 % corresponde a la pulpa y el resto al mucílago y cascarilla.

En la actualidad la pulpa no tiene una aplicación específica, por lo que el presente trabajo busca su caracterización fisicoquímica y evaluar los componentes bioactivos de la misma, empleando un proceso de extracción en tanque agitado. Los frutos frescos presentaron los parámetros de color: luminosidad de 30, las coordenadas de color a^*+27 y b^*+22 indicaron una tendencia hacia el color rojo/amarillo, lo cual orienta sobre el estado de maduración de la cereza de café. La cereza del café fresca presenta un alto contenido de humedad de 71 %, 21.8% de carbohidratos, 3.6% de fibra cruda, 1.3% de proteínas, 0.52% de extracto etéreo y 1.7% de cenizas. La pulpa del fruto después del beneficio, presentó valores de pH y sólidos solubles ($^{\circ}$ Brix) de 4.3 y 8.2 ± 0.28 respectivamente. La extracción de compuestos bioactivos (fenólicos) de la pulpa residual del BHC se realizó con una mezcla etanol-agua al 50% en una relación 1:4 (muestra seca/ disolvente) y agitación a 530 rpm, muestreo cada 30 min y una temperatura de 35 a 38°C, durante 360 minutos de proceso. La cinética mostró un comportamiento típico de un sistema en extracción sólido-líquido, en donde se presenta primero una etapa de incremento lineal en la concentración de los componentes extraídos, hasta un punto máximo, a partir del cual el sistema llega a un equilibrio en donde no es posible incrementar la extracción. Se observó una concentración máxima de componentes fenólicos de 243.24 mg de ácido gálico/g muestra y una actividad antioxidante 466.6 mmol Equivalentes de trolox/g muestra, ambos a 180 minutos de proceso. Los resultados muestran que la pulpa residual del proceso del BHC tienen un potencial para su aprovechamiento como fuente primaria de componentes bioactivos con aplicación en la industria alimentaria o farmacéutica.

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial el café es uno de los más importantes productos agrícolas (Blinová et al., 2017) y México se encuentra en el onceavo lugar dentro de los principales productores de café con una producción del 2.4% a nivel mundial en el 2018 (Secretaría de Agricultura y Desarrollo rural, 2020). Durante el proceso de transformación del fruto como cereza hasta grano de café terminado, se generan cantidades significativas de desechos sólidos y agua residual, que van desde el 30% al 50 % siendo los principales residuos la cáscara y la pulpa durante el procesamiento en seco o húmedo (Oliveira & Franca 2015; Blinová et al., 2017).

Dentro de los principales residuos generados durante el proceso del café se incluyen cáscaras, paja, hojas, pulpa y bagazo, los cuales en la práctica común son quemados o usados como alimento para animales y en el mejor de los casos como composta (Kumar et al. 2017). Estos desechos agroindustriales contienen azúcares, proteínas, pectinas, taninos y compuestos fenólicos; algunos de ellos no son tan adecuados para ser utilizados como alimento en animales, pero presentan un gran potencial económico dentro de la industria farmacéutica o de los alimentos, y la valorización de estos componentes se presenta como una importante contribución para el beneficio medioambiental (Pandey et al., 2000; Kumar et al. 2017). Varios procesos que utilizan algunos de estos residuos agroindustriales han sido desarrollados para obtener productos con valor agregado como etanol, ácidos orgánicos y metabolitos secundarios entre otros (Pandey et al., 2000; Bonilla-Hermosa et al., 2014).

La pulpa de la cereza del café es uno de los primeros subproductos obtenidos durante el proceso del beneficio húmedo o seco del café y representa alrededor del 29% del peso seco de la cereza (Blinová et al., 2017). Esta pulpa es rica en polifenoles y cafeína, componentes con una importante actividad antioxidante que pueden tener una potencial aplicación en la industria de los alimentos. Es por esta razón que el evaluar los procesos de extracción podría ser el soporte para una potencial valorización de este tipo de subproductos.

TEORÍA

Las plantas de café pertenecen a la familia de las *Rubiaceae*, las cuales incluyen alrededor de 80 especies, pero solo dos especies destacan, debido a su empleo como bebidas. Estas son *Coffea arabica*, con una producción aproximada de 75 % de la producción mundial y *C. canephora*, mejor conocida como café robusto, con una producción mundial de 24 % (Narita y Inouye., 2014). El grano de café procesado proviene del fruto de la planta café (también llamado cereza), el cual presenta diferentes formas anatómicas y morfológicas, con composiciones químicas únicas. Básicamente la cereza consiste en una piel externa y suave, y otra dura o pericarpio; verde en estado inmaduro, pero rojo-violeta o intenso cuando está maduro, aunque dependiendo de los genotipos algunos pueden presentar colores naranjas o amarillos (Esquivel & Jiménez, 2012).

El proceso de transformación es una actividad importante en la industria del café, debido a que convierte la fruta del café en un grano listo para la preparación de café líquido. Los dos métodos básicos para la obtención del grano de café difieren en complejidad y en la calidad del café crudo y licor resultante son el método húmedo y el método seco (Murthy & Naidu, 2012; Figueroa et al., 2016).

El procesamiento del café comienza con la conversión de las cerezas de café en granos de café verde, y comienza con la eliminación de la pulpa y la corteza utilizando un método húmedo o seco. Dependiendo del método de procesamiento de las cerezas de café, ya sea proceso húmedo o seco, los residuos sólidos obtenidos tienen diferentes terminologías: pulpa o cáscara, respectivamente (Pandey et al., 2000; Mussatto et al., 2011).

La pulpa de café es el primer subproducto obtenido durante el procesamiento y representa el 29% del peso seco de toda la baya, se obtiene durante el procesamiento húmedo de la cereza y por cada 2 toneladas de café producido se obtiene 1 tonelada de pulpa de café (Roussos et al., 1995; Murthy & Naidu, 2012). Esta pulpa húmeda es rica en azúcares, proteínas y minerales, pero también en polifenoles, los cuales en la actualidad son moléculas de alto valor agregado en la industria, debido a sus propiedades antioxidantes, anti-inflamatorias, anti-bacterianas y anti- cancerígenas (Bonilla-Hermosa et al., 2014).

Los componentes fenólicos han tenido un gran impacto en la salud debido a su alta capacidad antioxidante, una importante concentración de estos se encuentra en la cáscara y tejido de los frutos (C. da Silva, et al., 2020). En la actualidad existen disponibles diferentes metodologías para extracción de componentes bioactivos, algunas más eficientes que otras, sin embargo, una de las técnicas convencionales y sencillas, que pueden dar una primera aproximación a la eficiencia de extracción es el de tanque agitado.

PARTE EXPERIMENTAL

Acondicionamiento de la materia prima

La materia prima empleada fue cereza de café de la especie *Coffea arabica* L. proveniente de cultivos de Tenango de Doria en el estado de Hidalgo. La cereza fue seleccionada para homogenizar el lote y posteriormente es lavada y sanitizada con hipoclorito de sodio en una concentración de 10 ppm. Posteriormente fue congelada a -20 C hasta su uso. Previo a su análisis las muestras fueron descongeladas 24 horas antes a temperatura de refrigeración (10 °C).

Caracterización química

La cereza fue analizada empleando los métodos oficiales de análisis (AOAC, 1997), determinando el contenido de humedad, proteína (Nx6.25), grasa, fibra cruda y cenizas. El contenido de sólidos solubles fue expresado como °Bx y determinado con un refractómetro manual (American Optical Co., USA), mientras que el pH fue determinado con potenciómetro (510 pH OaKton, LA.USA). El total de

carbohidratos como azúcares, fue estimado colorimetricamente por el método de Dubois (Dubois et al., 1956) y azúcares reductores por el método del DNS (Bello et al., 2006).

Color

El color de las muestras fue medida de acuerdo a los parámetros de la escala CIELAB L*, a*, y b* (Mapari et al., 2006), empleando un colorímetro @Konica Minolta Colorimeter CR-10.

Polifenoles y actividad antioxidante

El contenido de polifenoles totales fue estimado por el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu (Singleton et al., 1999) y la actividad antioxidante por el método del radical libre DPPH+ (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo) de acuerdo a Kuskoski et al., (2005).

Beneficio húmedo

Una vez caracterizada la cereza de café, se prosiguió con el beneficio húmedo el cual consistió en el remojo de la cereza con agua a temperatura ambiente en una relación 1:5 (sólido/líquido) durante 24 horas. Al pasar este tiempo se separaron del agua las cerezas de café, y se sometieron a despulpado manual ejerciendo presión sobre la cereza y así obtener la pulpa y el café pergamino. La pulpa beneficiada se extendió sobre unas charolas para secarla a temperatura ambiente por 48 aproximadamente. Posteriormente la pulpa seca fue reducida en su tamaño en dos pasos: 1) molienda mediante un molino manual de discos y 2) Un molino eléctrico Hamilton Beach Brands Inc, modelo 8035R, el cual permitió obtener un polvo fino y uniforme que fue tamizado en una malla del #30.

Extracción sólido-Líquido

El agente de extracción fue etanol al 50% en una relación 1:4 (materia seca beneficiada/disolvente) y temperatura ambiente. Se empleo un reactor con una agitación a 530 rpm, utilizando un impulsor de hojas inclinadas y durante la extracción se tomó muestra cada 30 minutos durante un tiempo total de proceso de 6 h.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos de la caracterización de la pulpa de la cereza fresca y beneficiada se muestran en la tabla 1. Aquí se presentaron cambios en los sólidos solubles (°Bx), pH y acidez, en donde la pulpa después del beneficio presentó una disminución, debido a la disolución de los azúcares y ácido durante el remojo en el beneficio. El análisis químico proximal respecto a humedad, fibra cruda, extracto etéreo, cenizas y proteína (Tabla 2) muestra resultados coincidentes con los reportados por otros autores Rovira, (2016), Silva et. al., (2013), Braham y Bressani, (1978). Los valores reportados por diferentes autores pueden variar por factores como la región, diferencia de temperatura entre la noche y el día, la altura de la zona de cultivo por ejemplo a mayor altitud se ralentiza el metabolismo de los cafetos, lo cual provoca que la planta aumente la producción de azúcares y por lo tanto la acidez. (Rovira, 2016).



Figura 1. Fruto del cafeto (cereza), obtenido de productores de Tenango de Doria en el estado de Hidalgo, México.

Tabla 1. Datos experimentales de caracterización de la pulpa de café

Análisis	Pulpa fresca	Pulpa beneficiada
pH	4.3±0.0	4.52±0.023
Acidez (g ácido málico/100 mL de muestra)	0.017±0.0	0.008491±0.0
Sólidos soluble (°Bx)	8.2±0.28	2±0.057
Color (Cereza)		
L*	30	--
a*	27	--
b*	22	--
Cromaticidad	34.82	--
Ángulo hue	21.8°	--

Los datos son valores promedio ± Desviación estándar (n=3)

Tabla 2. Análisis químico de la pulpa de la cereza fresca

Análisis	Pulpa Fresca Experimental	Pulpa fresca Teóricos*
Humedad (%)	71.0±1.34	76.7
Carbohidratos (%)	21.8	23.3
Extracto etéreo (%)	0.52±0.04	0.48
Proteína (%)	1.3±0.06	2.1
Fibra cruda (%)	3.6±0.02	3.4
Cenizas (%)	1.7±0.03	1.5
Azúcares totales (mg Glucosa/g muestra)	4.35 ±0.01	--
Azúcares reductores (mg Glucosa/g muestra)	5.60 ±0.18	--
Capacidad antioxidante (mmolET/g muestra)	4.35 ±0.01	--
Compuestos fenólicos (mg AG/g muestra)	5.60 ±0.18	--

Los datos son valores promedio ± Desviación estándar (n=3) *Fuente: Braham y Bressani, 1978.

En la tabla 1 se muestran los resultados de color de la cereza, donde los parámetros de color en el espacio CIELAB fueron: luminosidad de 30 y las coordenadas de color a^*+27 y b^*+22 indicaron una tendencia hacia el color rojo/amarillo, lo cual orienta sobre el estado de maduración de la cereza de café, como se observa en la figura 1.

La cinética de extracción de fenoles totales (Figura 2) mostró un comportamiento típico de un sistema en extracción sólido-líquido, en donde se presenta primero una etapa de incremento lineal en la concentración de los componentes extraídos, hasta un punto máximo, a partir del cual el sistema llega a un equilibrio en donde no es posible incrementar la extracción. Se observó una concentración máxima de componentes fenólicos de 243.24 mg de ácido gálico/g muestra y una actividad antioxidante 466.6 mmol Equivalentes de trolox/g muestra, ambos a 180 minutos de proceso. Por otro lado, los resultados mostraron que existe una correlación directa entre la concentración de fenoles extraídos y la actividad antioxidante a lo largo de la cinética.

Los componentes fenólicos obtenidos durante el proceso de extracción en tanque agitado de la pulpa de café en este trabajo, fueron superior a los valores reportados para chocolate oscuro (1860 mg/100g), nuez (1816 mg/100g), nuez de castilla (1576 mg/100g) (Pérez-Jiménez, et al., 2010). También, el té negro, quien es uno de los productos catalogado como rico en componentes fenólicos, reporta valores entre 250 y 300 mg/g muestra (Valenzuela B.,2004). Por otro lado, Serna-Jiménez, et al., (2018) menciona durante un proceso de extracción es importante la relación de sólidos/disolvente, pero en particular el tiempo y la temperatura de extracción tienen efecto significativo en la concentración de polifenoles en la pulpa de café.

Los resultados obtenidos hasta el momento indican que la pulpa como subproducto del procesamiento de café, tiene una concentración de componentes fenólicos y capacidad antioxidante, que pueden ser aprovechados para su potencial aplicación en alimentos o farmacia.

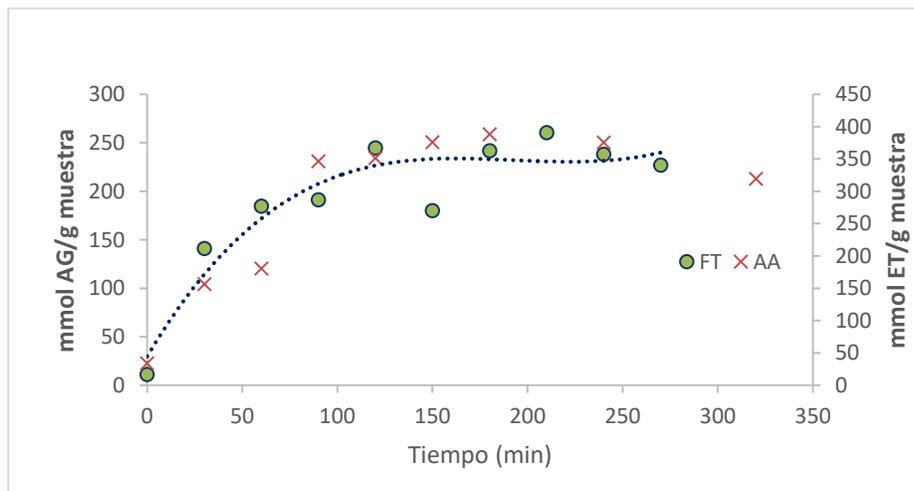


Figura 2. Cinética de extracción en tanque agitado de fenoles en pulpa beneficiada
FT: fenoles totales, AA: actividad antioxidante

CONCLUSIONES

A través de un proceso en tanque agitado es posible obtener un extracto con una actividad antioxidante y concentración significativa de polifenoles. De esta manera, es posible considerar a la pulpa de café como un sub-producto del beneficio húmedo con una potencial aplicación en la industria de los alimentos o farmacéutica.

BIBLIOGRAFÍA

1. AOAC. (1997). Official Methods of Analysis, 15th Ed, Association of Official Analytical Chemists. Washington DC, Estados Unidos.

2. Bello G.D, Bocourt E.C., Díaz M.Y. (2006). Determinación de azúcares reductores totales en jugos mezclados de caña de azúcar utilizando el método del ácido 3,5 dinitrosalicílico, ICIDCA. Sobre Los Deriv. La Caña Azúcar. XL, 45–50.
3. Blinová, L., Sirotiak, M., Bartošová, A., & Soldán, M. (2017). Review: Utilization of Waste From Coffee Production, Research Papers Faculty of Materials Science and Technology Slovak University of Technology; 25(40), 91-101.
4. Bonilla-Hermosa V.A., Duarte W.F., Schwan R.F. (2014). Utilization of coffee by-products obtained from semi-washed process for production of value-added compounds. Bioresource Technology; 166 142–150
5. Braham, J.E. y Bressani, R. (1978). Composición química de la pulpa de café y otros subproductos. In Pulpa de Café Composición, Tecnología y Utilización. Bogotá. pp. 19-31
6. C. da Silva L., Souza M.C, Sumere B.R., Silva L.S., da Cunha T., Barbero G.F, Bezerra R.M.N, Rostagno M.A. (2020). Simultaneous extraction and separation of bioactive compounds from apple pomace using pressurized liquids coupled on-line with solid-phase extraction. Food Chemistry; 318, 126450
7. Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural (2020). Gobierno de México. Recuperado 15 de abril de 2020, de Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural website: <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/mexico-onceavo-productor-mundial-de-cafe?idiom=es>.
8. Figueroa G.A, Homann T. and Rawel H. M. (2016). Coffee Production Wastes: Potentials and Perspectives. Austin Food Sci.; 1(3): 1014.
9. Kovalcika A., Obruca S., Marova I. (2018) Valorization of spent coffee grounds: A review. Food and Bioproducts Processing; 110 104–119.
10. Kumar S.S, Swapna T.S, Sabu A (2017). Coffee husk: a potential agro-industrial residue for bioprocess. In: Waste to wealth, energy, environment, and sustainability, pp 97-109.
11. Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J., & Fett, R. (2005). Application of several chemical methods to determine antioxidant activity in fruit pulps. Ciencia y Tecnología de Alimentos, Campinas, 25(4), 726-732.
12. Mapari SA, Meyer AS, Thrane U. (2006) Colorimetric characterization for comparative analysis of fungal pigments and natural food colorants. J Agric Food Chem. 54(19):7027 - 7035.
13. Murthy P.S, Naidu M.M. (2012). Sustainable management of coffee industry by-products and value addition-A review. Resour Conserv Recy; 66: 45-58.
14. Mussatto, S.I., Machado, E.M.S., Martins, S. & Teixeira J.A. (2011). Production, Composition, and Application of Coffee and Its Industrial Residues. Food Bioprocess Technol; 4, 661.
15. Narita Y., Inouye K. (2014). Review on utilization and composition of coffee silverskin. Food Research International, 61. 16-22
16. Oliveira L.S, Franca A. S., (2015). An overview of the potential uses for coffee husks. In: Coffee in Health and Disease Prevention, Preedy VR, editor. Academic Press, Elsevier, Amsterdam; pp. 283 - 291. Chapter 31.
17. Pandey, A., Soccol, C.R., Nigam, P., Brand, D., Mohan, R., Roussos, S. (2000). Biotechnological potential of coffee pulp and coffee husk for bioprocesses. Biochem. Eng. J. 6, 153–162.
18. Patricia Esquivel, Víctor M. Jiménez. (2012). Functional properties of coffee and coffee by-products. Food Research International; 46. 488–495
19. Pérez-Jiménez, J., Neveu, V., Vos, F., & Scalbert, A. (2010). Identification of the 100 richest dietary sources of polyphenols: An application of the Phenol-Explorer database. European Journal of Clinical Nutrition; 64(Suppl. 3), S112–S120.
20. Roussos M., Aquifihuatl A., Trejo-Hernandez I., Perraud G., Favela M., Ramakrishna M. (1995). Biotechnological management of coffee pulp— isolation, screening, characterization, selection of caffeine-degrading fungi and natural microflora present in coffee pulp and husk.
21. Rovira, J. 2016. La acidez en el café, percepción en la boca. Revista Fórum Café, 68(1), 24-28. http://www.forumdelcafe.com/system/files/flipping_book/revista_68/index.html#24/z

22. Serna-Jiménez, Johanna Andrea, Torres-Valenzuela, Laura Sofía, Martínez-Cortínez, Katherine, & Hernández-Sandoval, María Camila. (2018). Aprovechamiento de la pulpa de café como alternativa de valorización de subproductos. *Revista ION*, 31(1), 37-42.
23. Singleton V.L., Orthofer R. and Lamuela-Raventós R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin- Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* 299, 152-178
24. Valenzuela B., Alfonso. (2004). El consumo de té y la salud: características y propiedades beneficiosas de esta bebida milenaria. *Revista chilena de nutrición*, 31(2), 72-82.

CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE CEPAS DE *AZOSPIRILLUM SP.* AISLADAS DE LOMBRICOMPOSTA

Yurizi Pérez Arzeta¹, Yareth Tacuba Badillo¹, Octavio Oropeza Mariano², Jose Alfredo Jimenez Valdez³, Gerardo Huerta Beristain¹ y Daysi Navez Gonzalez³

¹Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Guerrero; ²Centro Regional Campus Costa Chica, Universidad Autónoma de Guerrero; ³Centro de Investigación Especializada en Microbiología
arzetaurizti@gmail.com

RESUMEN

Azospirillum es un género bacteriano responsable de estimular el crecimiento de las plantas mediante fijación de nitrógeno, producción de fitohormonas, etc. La utilización indiscriminada del uso de plaguicidas y fertilizantes químicos en la agricultura ha afectado al ambiente en general y principalmente a los suelos de cultivo. En este sentido, la agricultura debe transformarse de tal manera que sea una actividad sustentable, inocua y amigable con el ambiente; una estrategia para mitigar o contrarrestar los impactos negativos ocasionados por la fertilización química, corresponde al uso de microorganismos como biofertilizantes. Por tal motivo, el objetivo del presente trabajo fue, identificar por caracterización bioquímica bacterias del género *Azospirillum* aisladas de lombricomposta con diferentes sustratos. El aislamiento se realizó a partir de 5 muestras de lombricomposta con diferentes sustratos: T1: Lombricomposta con excretas de chivo, T2: Lombricomposta con excretas de conejo, T3: Lombricomposta con materia orgánica (residuos orgánicos de cocina), T4: lombricomposta con excretas de chivo y materia orgánica y T5: Lombricomposta con excretas de conejo y materia orgánica. El aislamiento se realizó pesando 1 g de cada muestra de lombricomposta utilizando la técnica de diluciones seriadas y el conteo de bacterias se realizó por la técnica de número más probable (NMP/100g de suelo) en medio de cultivo selectivo NFb. El aislamiento y purificación de las cepas del género *Azospirillum* se realizó en medio rojo Congo. La identificación de las especies de *Azospirillum* se realizó mediante 18 pruebas bioquímicas (movilidad, catalasa, oxidasa, TSI, citrato de Simons, fermentación de diferentes azúcares, etc.) además de pruebas macro y micromorfológicas. En los tratamientos 1, 2, 4 y 5 se obtuvieron 28 NMP/100g de suelo, solo en el T3 se obtuvo 120 NMP/100g de suelo. En el medio de cultivo rojo Congo se aislaron 20 cepas características del género *Azospirillum* y de acuerdo con las pruebas bioquímicas dos cepas denominadas T1-1.2 y T1-6.1 del tratamiento 1 tienen 76.4% y 52.9% de características bioquímicas similares a *Azospirillum brasilense*. Sin embargo, las 18 cepas restantes no se ha podido establecer la especie de manera específica lo que sugiere realizar otras pruebas. En conclusión, 10 % de las cepas aisladas corresponden al género *Azospirillum* y estas fueron aisladas solo del tratamiento de lombricomposta con excretas de chivo (T1).

INTRODUCCIÓN

Las bacterias promotoras de crecimiento (BPC) son parte de la microbiota que se encuentra en el suelo, estas estimulan a la planta para su crecimiento, producen en ellas todo tipo de beneficios, mejorando la disponibilidad o la absorción de minerales y otro tipo de compuestos (nitratos, fosfatos, etc.), ayudan a la producción de hormonas necesarias en el desarrollo de los frutos (fitohormonas, giberelinas). Además, protegen a plantas y cultivos contra posibles agentes patógenos y ayudan a disminuir la contaminación de los suelos, ya sea por contaminantes de tipo orgánico o inorgánico, los cuales son absorbidos a través de la raíz. Dentro de los géneros de BPC más estudiados están: *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Azotobacter* y *Azospirillum*. (Cid, M. I. 2006);

Las bacterias del género *Azospirillum* tienen la capacidad de fijar nitrógeno en las raíces de las plantas y al ser inoculadas en la rizosfera, hace que aumente la densidad y longitud de los pelos radicales, dándole a las raíces gran capacidad de absorción de agua y nutrientes del suelo, que le permite a la planta mantener sustancias esenciales en los tallos y hojas. Gracias a los diferentes tipos de investigación de las funciones de los microorganismos benéficos en la agricultura, se puede llegar a suplir los fertilizantes químicos. (Loredo et, al 2004)

La lombricomposta es un método de composteo, que ayuda a mejorar la materia orgánica, ya que apoya como fertilizante o mejorador de suelos y se obtiene de todo tipo de materia orgánica a partir la digestión de las lombrices. (Gómez et al., 2007).

Las lombrices se alimentan de la materia orgánica y como desechos nos dan el humus, que es un material semejante a la tierra, blando y de color oscuro con olor. Este contiene grandes cantidades de minerales para las plantas, bacterias benéficas para el crecimiento de ellas y protegen las raíces del suelo. (Gómez et al., 2007).

PARTE EXPERIMENTAL

Los medios de cultivo que se utilizaron fueron NFb para el crecimiento de *Azospirillum*, agar rojo Congo para la purificación de cepas de *Azospirillum* (Guzmán, et, al 2012) El aislamiento de *Azospirillum* se realizó a partir de 5 muestras de lombricomposta con diferentes sustratos: T1: Lombricomposta con excretas de chivo, T2: Lombricomposta con excretas de conejo, T3: Lombricomposta con materia orgánica (residuos orgánicos de cocina), T4: lombricomposta con excretas de chivo y materia orgánica y T5: Lombricomposta con excretas de conejo y materia orgánica. Se tomaron 10 g de cada muestra de lombricomposta y se diluyeron en 90 ml de solución salina al 0.85%, tomándose como la dilución 10^{-1} . A partir de ésta se realizaron diluciones seriadas hasta obtener la dilución 10^{-6} , cada dilución se sembró en medio semisólido NFb con tres repeticiones y se incubaron a 30 °C por cinco días o hasta observar crecimiento y presencia de película. Se registraron los tubos con crecimiento como el Número Más Probable (NMP/100 g) de suelo de lombricomposta de bacterias potencialmente fijadoras de nitrógeno. Se tomó con un hisopo un inóculo de los tubos con medio NFb donde hubo crecimiento bacteriano y se inocularon en placas de Petri con medio rojo Congo y se incubaron a 30 °C por 5 días. Se tomaron como muestras positivas donde hubo crecimiento de colonias aisladas, rojas escarlatas y se realizó la descripción macroscópica de las colonias tomando en consideración las siguientes características: tamaño, forma, elevación, consistencia, además se realizó la descripción microscópica como: forma y coloración de Gram (Salom et,al 2017). Finalmente se realizaron pruebas bioquímicas para su identificación como: Catalasa, Oxidasa, fermentación de galactosa, fermentación de manitol, fermentación de dextrosa, fermentación de xilosa, citrato de Simmons, galactosa como única fuente de carbono, sacarosa como única fuente de carbono, dextrosa como única fuente de carbono, fructosa como única fuente de carbono, lactosa como única fuente de carbono manitol como única fuente de carbono.

RESULTADOS

Para cada uno de los tratamientos T1, T2 y T5 se obtuvieron 28 NMP/100g, solo el T3 se obtuvo 120 NMP/100g (tabla 1), los tubos que presentaron crecimiento bacteriano en forma de película en la superficie fueron seleccionados para inocular en medio rojo Congo obteniendo en total 20 cepas (tabla 2).

Tabla 1. Resultados del NMP/100g de suelo de lombricomposta en medio semisólido NFb. T1: Lombricomposta de desechos de chivo, T2: Lombricomposta de desechos de conejo, T3: Lombricomposta de materia orgánica, T4: lombricomposta de chivo-materia orgánica y T5: Lombricomposta de conejo-materia orgánica

Tratamiento	NMP/100g suelo
T1	28 NMP
T2	28 NMP
T3	120 NMP
T4	28 NMP
T5	28 NMP

Tabla 2. Número de cepas purificadas en medio rojo Congo de cada tratamiento T1: Lombricomposta de desechos de chivo, T2: Lombricomposta de desechos de conejo, T3: Lombricomposta de materia orgánica, T4: lombricomposta de chivo-materia orgánica y T5: Lombricomposta de conejo-materia orgánica.

Tratamientos	Cepas puras
T1	4
T2	1
T3	5
T4	3
T5	7
TOTAL	20

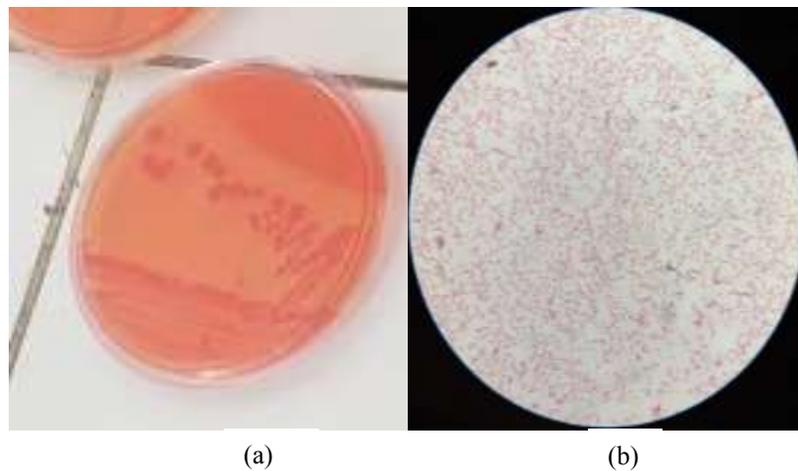


Figura 1. Colonias bacterianas aislada en medio rojo Congo. Se observan colonias rojas escarlata (a). Tinción de Gram de las colonias aisladas en medio Rojo Congo. Se observan bacterias Gram negativas (b).

Tabla 3: Pruebas bioquímicas realizadas a las cepas aisladas de lombricomposta T1-1.2 y T1-6.1 y comparación con la cepas *Azospirillum brasilense*, Pruebas bioquímicas: 1: prueba Gram, 2: Catalasa, 3: Oxidasa, 4: fermentación de galactosa, 5: fermentación de manitol, 6: fermentación de dextrosa, 7: fermentación de xilosa, 8: citrato de Simmons, 9: galactosa como única fuente de carbono, 10: sacarosa como única fuente de carbono, 11: dextrosa como única fuente de carbono, 12: fructosa como única fuente de carbono, 13: lactosa como única fuente de carbono, 14: manitol como única fuente de carbono.

Cepa	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
T1-1.2	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
T1-6.1	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-
A. <i>brasilense</i>	-	+	+	-	-	-	-	+/-	-	-	-	+	-	-

CONCLUSIONES

Se aislaron 20 cepas características del género *Azospirillum* y de acuerdo con las pruebas bioquímicas dos cepas denominadas T1-1.2 y T1-6.1 del tratamiento 1 tienen 76.4% y 52.9% de características bioquímicas similares a *Azospirillum brasilense*. Sin embargo, las 18 cepas restantes no se ha podido establecer la especie de manera específica, se sugiere realizar otras pruebas. En conclusión, 10 % de las cepas aisladas corresponden al género *Azospirillum* y estas fueron aisladas solo del tratamiento de lombricomposta con excretas de chivo (T1).

BIBLIOGRAFÍA

1. Cid, M. I. Aislamiento y caracterización de bacterias promotoras crecimiento vegetal de la rizósfera de Lolium. VALDIVIA-CHILE.(2006)
2. Jesús Borboa Flores, F. J.-M. Halobacterias promotoras del crecimiento vegetal en Brassica oleracea. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. (2016)
3. Loredo-Osti, L.-R. E.-V. BACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL ASOCIADAS CON GRAMÍNEAS: UNA REVISIÓN. *Tierra Latinoamericana*, (2004) pp 228-230.
4. Morales, M. R. Taller de elaboración de lombricomposta. *Universidad Iberoamericana* .(2011)
5. Ronald Farrera-Cerrato, A. A. *Microbiología Agrícola* . México : Trillas.(2007)
6. Sergio Gómez Rosales, J. A. alternativas para el reciclaje de excretas animales: producción de humus de lombriz . *INIFAP*,(2007) pp. 2-11.
7. Salom, E. V. Tinción de Gram: cómo se hace y para qué se utiliza. *Ciencia today*, (2017) pp 1-3.
8. Andrés Guzmán, M. O. Selección y caracterización de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (RPCV) asociadas al cultivo de algodón (*Gossypium hirsutum*). *Revista Colombiana de Biotecnología* (2012).

DESARROLLO Y FORMULACIÓN DE UNA POMADA CON POLVO, TIZANA Y ACEITE DE AZADIRACHTA INDICA (NEEM)

María Antonieta Barajas Mendoza, María Virgen Montelongo, Adriana Velarde Avalos, César Ricardo Cortez Álvarez y Monserratt Abud González

Universidad de Guadalajara
maestra_antonieta@yahoo.com.mx

RESUMEN

Las pomadas son sistemas heterogéneos ideales para la incorporación de agentes terapéuticos en polvo, aceites y sustancias hidrofílicas. Esta forma farmacéutica permite una óptima incorporación de un producto natural y/o una sustancia activa para la administración tópica.

Las plantas contienen fitoquímicos con propiedades curativas, aunque no todas han sido comprobadas científicamente. La investigación basada en numerosos artículos científicos manifiesta que el árbol de Neem contiene sustancias responsables de efectos terapéuticos de acción tópica, entre las plantas con potencial actividad biológica se encuentra el Neem cuyo aceite es utilizado en el tratamiento de dermatosis al presentar acción bactericida, antihistamínica, analgésica, vasodilatadora y vermífuga.

Mientras que las hojas poseen sustancias con propiedades antioxidantes, antifúngicas y antimicrobianas, entre estas sustancias se encuentra la Gedunina, ácido margósico, Naheedina y compuestos fenólicos de la corteza. La actividad biológica del neem, se atribuye a la presencia de polifenoles en la planta, los cuales son metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en el reino vegetal y su capacidad antioxidante se debe a la reactividad del grupo fenol.

La combinación de tres elementos de este producto natural a una forma farmacéutica en pomada, permite que las sustancias con efectos tópicos que se encuentran en el aceite y en las hojas, estén disponibles en una sola forma farmacéutica.

Metodología

El polvo de Neem se obtuvo deshidratando las hojas del árbol, se sometieron a un proceso de escaldado en agua por un tiempo de 30 segundos a 90°C, posteriormente se secaron en una estufa de convección a 55 °C durante 48 horas para luego ser pulverizadas mecánicamente.

El concentrado acuoso se obtuvo a partir de polvo de Neem por aplicación de calor (tizana). Las infusiones de Neem, se prepararon agregando 5 g de hojas frescas y 1 g de hojas secas, cada una en 250 mL de agua destilada. A partir de las hojas frescas, hojas secas y pulverizadas, se obtuvieron infusiones a 90 °C a diferentes tiempos: 5, 8, 10, 12 y 15 minutos de permanencia en el agua. Cada una de las infusiones se filtró y se dejaron enfriar a temperatura ambiente.

El aceite se obtuvo por compresión de las semillas del árbol y extracción con solventes.

Se desarrolló una base para pomada a partir de un diseño experimental unifactorial donde la variable independiente fue la concentración de las materias primas utilizadas.

Basado en una serie de pruebas piloto se establece el orden de incorporación de los elementos del producto natural.

Resultados

Se obtuvo una pomada estable, untuosa, agradable al tacto; logrando la dispersión homogénea del polvo y la incorporación estable de la tizana y aceite.

Conclusión

Lograr obtener una pomada estable a la adición de polvo, tizana y aceite de Neem representó un gran reto ya que al tratarse de un sistema heterogéneo conteniendo éstos 3 elementos, fue necesario la realización de un gran número de pruebas piloto para obtener un producto con calidad.

INTRODUCCIÓN

El Neem o nim, *Azadirachta indica*, también conocido popularmente por otros nombres como lila india o margosa, es un árbol originario de la India.

Este árbol ocupa un lugar importante dentro de medicina ayurvédica. Con usos medicinales y terapéuticos se utilizan las hojas, las flores, los frutos y la corteza, mientras que el aceite de neem se extrae de sus semillas.

El aceite de neem tiene un color marrón y un olor contundente que puede ser incluso algo desagradable, por eso este aceite vegetal se suele mezclar con aceites esenciales y así se potencian algunas de las propiedades que posee.

El aceite de neem se aplica de forma externa, para uso interno se puede tomar el extracto o tintura, la infusión de sus hojas y flores.

El neem posee principios activos como el nimbin, la quercitina y alcaloides como la margosina.

Los antiguos indios descubrieron muchos usos terapéuticos de este árbol, cuyo nombre actual deriva del sánscrito nimba, que significa otorgar salud. Entre otras, destaca su utilidad contra la lepra, las enfermedades de piel, las fiebres, las lombrices intestinales y los insectos parásitos. Incluso a los pacientes incurables se les aconsejaba que pasaran la mayor parte del día a la sombra del árbol, que comieran sus hojas tiernas en ensalada o sus hojas cocidas como verduras, que aliviaran su sed con infusiones hechas con distintas partes del árbol, incluso con la maloliente resina que exudan los árboles centenarios. Otro consejo que se les daba es que emplearan los jóvenes tallos del árbol, repletos de antiséptica savia, como cepillos para la higiene bucal. De todos modos, esta costumbre estaba también muy extendida entre las personas sanas y, al igual que la antigua obligación religiosa de comer hojas tiernas y flores de neem sazonadas con especias el día de Año Nuevo, continúa siendo hoy una práctica bastante común en la India.

Considerado como la panacea para todos los males y capaz de sobrevivir con los climas más áridos y en los suelos más pobres, el árbol de los mil usos empezó a extenderse por todo el subcontinente indio y también por otros países con los que la India tenía relaciones comerciales y culturales, los que hoy corresponden a Sri Lanka, Birmania, Tailandia, Indonesia y Malasia. En fechas mucho más recientes, el neem fue introducido en Filipinas, Vietnam, Hainán, Yemen, Arabia saudí y gran parte de África tropical, desde Mozambique, Kenya y Sudán hasta Camerún, Senegal y Mauritania, así como en varias islas del Caribe y de Oceanía, en Nicaragua y en algunas zonas de México. Después de haber sido ignorado durante siglos por el mundo occidental, el árbol de los mil usos también se ha empezado a cultivar en Queensland (Australia) e incluso en los enclaves más tropicales de California y Florida. En la época de la creación de los grandes tratados de medicina ayurvédica (Caraksamhita y Susrutasamhita, siglos I y II d.C.), el neem ya entraba en la composición de numerosos preparados. Aunque entonces los médicos lo recetaban sobre todo como panchango, combinación de las cinco partes del árbol —hojas, corteza, frutos, flores y raíces—, sin mezclarlo con otras plantas, posteriormente, al evolucionar la medicina ayurvédica, fueron cobrando importancia las preparaciones multiherbales como Nimbadi kashyam—una decocción de neem, jengibre, cúrcuma, Adathoda vasica, Phyllanthus emblica y otras plantas, que se utiliza para las enfermedades de la piel—, Jatyadi tailamy muchas otras que todavía se utilizan hoy día.

En el siglo XIX, los médicos alopáticos, tanto europeos como indios, que oficiaban en la India descubrieron que la corteza de neem era efectiva contra la malaria y empezaron a recetarla con entusiasmo —el fármaco vegetal fue incluido en la Pharmacopeia of India (1896) y en la Practical Materia Medica (1900)— hasta que, poco a poco, este popular remedio fue desplazado por las sales de quinina importadas de Inglaterra. Todavía hoy, sin embargo, en muchas zonas de la India en las que la población no tiene acceso a fármacos más eficaces, continúan utilizándose con profusión las decocciones de corteza de neem para aliviar las fiebres palúdicas. Denominada Margosaen alusión al nombre que le dieron al árbol en el siglo XVI los colonizadores portugueses de la India, la corteza de neem fue incluida en el Pocket Manual of Homeopathic Materia Medica (1927), en la Indian Homeopathic Pharmacopeia (1970) y en otros tratados homeopáticos que fueron publicándose durante el siglo XX. En medicina tradicional, la corteza de neem también se utiliza para aliviar inflamaciones e irritaciones cutáneas y curar heridas, hemorroides y encías sangrantes. La savia, por su parte, se emplea para curar diversas dermatosis incluidas hasta hace poco las tremendas úlceras de la lepra. La goma, similar a la arábica, se utiliza como emulgente para el dolor de garganta y las flores como vermífugos, para aliviar la tos y varias dolencias oculares, entre ellas las cataratas. Los frutos, también con poder vermífugo, sirven para tratar los trastornos urinarios, purificar la sangre y curar los granos sangrantes. El aceite se considera todavía como un remedio óptimo para los

eccemas, abscesos, lesiones lepróticas, para la psoriasis y la caspa, para matar piojos y para aliviar comezones. Utilizado en masajes, se considera asimismo ideal para combatir el reumatismo y los dolores articulares. Las hojas, por su parte, se emplean en la inducción del parto y el tratamiento de los trastornos posteriores, para la higiene íntima (por sus propiedades antiinflamatorias y antisépticas), para inducir la lactación (propiedad que también se utiliza a veces en la industria láctica), para combatir distintas afecciones cutáneas y para tratar la diabetes. Las hojas del neem se empleaban para aliviar los síntomas de la viruela y del sarampión, para tratar las úlceras e incluso para contrarrestar —no por su pretendida capacidad de destruir la ponzoña, sino más bien por su probable efecto anticoagulante— el veneno de la temible víbora de Russell.

TEORIA

Investigación científica

La práctica de emplear plantas con fines medicinales se lleva a cabo desde la antigüedad, por lo que los investigadores de la industria farmacéutica han considerado a las plantas como fuente de nuevos productos que incluyen: medicamentos, suplementos alimenticios, antioxidantes naturales y productos antibacterianos. El número de plantas medicinales en México asciende aproximadamente a 4,500 de especies de las cuales solo el 11% se ha estudiado químicamente, el 2.6% de forma biodirigida y sólo el 1.9% con estudios farmacológicos y toxicológicos (Kakuko *et al.*, 2005). Además, las plantas, por su origen natural, son biodegradables y tienen menos impacto negativo sobre la salud humana y el ambiente. Si bien es conocido que las plantas contienen fitoquímicos con propiedades curativas, no se han probado científicamente todas las propiedades que se les atribuyen comercialmente. Por esta razón es importante realizar investigaciones cuyo rigor científico permita generar conocimiento acerca de sus propiedades.

Tras una serie de infructuosos estudios realizados a principios del siglo XX, la eficacia terapéutica del neem y la utilización industrial de su aceite en la fabricación de jabones y otros productos empezó a investigarse a fondo durante la II Guerra Mundial. Más tarde, en 1963, CR Mitra, con los auspicios del Instituto Tecnológico del Aceite en la India, publicó un libro que contenía toda la información existente en la época sobre la obtención del aceite de neem, su composición química y su utilización farmacológica e industrial. En la década siguiente, gracias a los esfuerzos de la Neem Mission y de otros organismos, el jabón de neem empezó a entrar con fuerza en los hogares indios, al tiempo que comenzaba a emplearse la torta obtenida como residuo de la extracción del aceite para fertilizar los cultivos y para incrementar la eficiencia de los abonos nitrogenados. Los agricultores indios sabían desde antiguo que durante las plagas de langostas, éstas evitan posarse en los árboles de neem y que, pese a su legendaria voracidad, incluso llegan a morir de hambre si no tienen otras plantas a su alcance. En la década de los sesenta, Pradhan y Jotwani divulgaron este conocimiento entre la comunidad científica. Una década después, cuando gracias a sus esfuerzos y los de otros científicos indios se incluyó el neem en una lista de 2.000 plantas que se investigaron por su acción insecticida, tan sólo el árbol de los mil usos dio unos resultados prometedores. Y no sólo se descubrió que el neem era efectivo contra más de 200 especies de insectos plaga, incluidos varios mosquitos y chinches vectores de enfermedades, sino también que era seguro para los seres humanos y otros animales homeotérmicos. Aislado poco después e identificado como azadiractina por unos científicos británicos, el principio activo contra los insectos atrajo la atención de numerosos investigadores en todo el mundo, entre ellos el alemán Heinrich Shmutterer, quien ya en 1959 había descubierto que el neem fue el único árbol que sobrevivió a una plaga de langostas que asoló una zona de Sudán.

Aceite de Neem

El aceite de Neem es un aceite vegetal extraído de las frutas y semillas del Árbol de Neem, un árbol de hoja perenne endémico del subcontinente y que ha sido introducido en otras muchas zonas de los trópicos. Este aceite es quizás el producto comercialmente más importante de los derivados del árbol de Neem. Es usado en agricultura y en medicina.

Características

El aceite de Neem suele ser de color marrón más o menos oscuro, amargo y tiene un olor bastante fuerte que se dice que está entre el del cacahuete y el del ajo. Está compuesto principalmente

de triglicéridos y una importante cantidad de compuestos triterpenoides, que son los responsables del sabor amargo. De modo natural es hidrófobo y para que pueda ser emulsionado en agua para poder aplicarlo debe ser formulado con surfactantes apropiados.

El aceite de neem también contiene esteroides (campesterol, beta-sitosterol, estigmasterol) y un amplio abanico de triterpenoides entre los que se encuentra la azadiractina que es el más conocido y estudiado. La azadiractina contenida en el aceite de neem varía de 300 a 2500 ppm dependiendo de la tecnología usada en la extracción y la calidad de las semillas utilizadas.

Algunas de las propiedades curativas adjudicadas a las hojas, corteza, frutos, flores y raíces del árbol de neem.

Antiséptico: Los antisépticos tienen muchas aplicaciones terapéuticas legítimas enfocados principalmente al uso como agentes antiinfecciosos tópicos, los que tienen siempre valor para tratar infecciones locales causadas por microorganismos refractarios a la quimioterapia sistémica. Los antisépticos son especialmente útiles en la preparación preoperatoria del paciente .

Antiparasitario (contra la malaria): Las cepas del Plasmodios son resistentes a múltiples drogas, siendo considerado el neem efectivo para tratar este padecimiento a partir de las decocciones de corteza de neem para aliviar las fiebres palúdicas, sobre todo en muchas zonas en donde la población no tiene acceso a fármacos más eficaces.

Antifúngico: Las propiedades de los antifúngicos que determinan utilidad y aplicabilidad deben tener un amplio espectro, siendo los agentes mas valiosos son aquellos que son letales contra los hongos, la acción rápidamente mortal es una propiedad útil.

Antimicrobianos: El uso clínico de agentes antibióticos representa la aplicación práctica controlada y dirigida de fenómenos que se producen en forma natural y continúa en los hábitats naturales de los microorganismos. Los primeros investigadores que reconocieron las potencialidades clínicas de los microorganismos como agentes terapéuticos fueron Pasteur y Joubert quienes registraron sus observaciones. La era moderna de la del tratamiento con antimicrobianos empezó en 1936.

Analgésico: El alivio del dolor, es relativamente selectivo, por que no incluye otras modalidades sensoriales, tacto, vibración, vista, oído, etc.), los pacientes dicen a menudo que el dolor no desaparece pero se siente más cómodo. El dolor sordo continuo se alivia más eficazmente que el dolor breve intermitente.

Vasodilatadores: Los vasodilatadores periféricos son sustancias que dilatan las arteriolas e incrementan el flujo sanguíneo en los numerosos lechos vasculares sistémicos, especialmente en las extremidades. La vasodilatación puede mejorar la circulación en las áreas isquémicas a través de los vasos colaterales.

Para tratar enfermedades de la piel: Muy utilizada para tratar irritaciones e inflamaciones cutáneas que afectan a un gran número de la población, y que pueden ser de ligeras a graves.

Para el tratamiento de la psoriasis vulgaris: La psoriasis es una enfermedad crónica, determinada genéticamente, caracterizada por sucesivos brotes de placas eritemato-descamativas en las superficies extensoras de la piel y cuero cabelludo, siendo la artropatía la única manifestación extracutánea.

Psoriasis vulgar: es la forma más frecuente. Las lesiones son crónicas y se localizan además de en los lugares ya mencionados, en la piel de abdomen y sacro.

La complejidad del padecimiento origina que el propósito de los preparados para el tratamiento sea múltiple.

Clasificación y propiedades de las bases para pomadas

Las pomadas son preparados semisólidos para aplicación externa sobre la piel o las mucosas que habitualmente contienen sustancias medicinales, aunque no siempre y estas pueden incorporarse tanto en polvo, aceite y en soluciones acuosas. Se reconocen cuatro clases generales de bases para pomadas, las que a continuación se clasifican en cinco clases a propósito de indicar en forma más definitiva algunas diferencias en las principales propiedades de las bases:

Bases hidrocarbonadas (oleosas)

Bases de absorción (anhidras)

Bases de absorción tipo (w/o)
Bases emulsificadas tipo o/w
Bases hidrosolubles

Principales características de los ingredientes incluidos en las formulas propuestas

- Vaselina blanca; Es unamezcla purificada de hidrocarburos semisólidos obtenidos del petróleo, totalmente decolorada. Puede contener un estabilizador adecuado. Masa untuosa blanca o muy ligeramente amarilla, transparente en capas finas, funde entre 38°C y 60°C. Se emplea como protector y como base para pomadas y ungüentos.

- Alcohol cetílico; Se presenta en forma de copos, gránulos, cubos untuosos, blancos, ligero olor característico, funde entre 45°C y 50°C. Insoluble en agua, soluble en alcohol y aceites vegetales. Imparte una textura suave a la piel y se usa ampliamente en cremas cosméticas y pomadas.

- Lauril sulfato de sodio: Pequeños cristales blancos o de color amarillo pálido con un suave olor característico. Soluble 1 gramo en 10 mL de agua. Se usa como agente surfactante y tensioactivo de sistemas heterógeneos, pomadas, emulsiones y suspensiones.

- Propilenglicol: Líquido límpido incoloro, viscoso y casi inodoro; sabor ligeramente acre, miscible con agua, disuelve muchos aceites volátiles, inmiscible con aceites fijos. Se usa como disolvente y humectante en productos farmacéuticos y cosméticos.

- Ácido esteárico: Sólido duro, blanco o ligeramente amarillo, algo vidrioso y cristalino o polvo blanco, funde al rededor de 55.5°C. Prácticamente soluble en agua se usa como agente solidificante en pomadas y supositorios a los que les dá cuerpo.

- Alcohol estearílico: Se presenta como copos o gránulos blancos, untuosos, con un leve olor característico, funde de 55°C a 60°C. Es insoluble en agua, soluble en alcohol o aceites vegetales. Se usa como agente surfactante activo, como estabilizador de sistemas emulsionados y para aumentar su capacidad para retener agua.

- Polisorbatos: Líquido oleoso color ámbar, olor suave característico. Muy soluble en agua, soluble en alcohol. Es un surfactante no iónico, empleado como surfactante y tensioactivos, para formar emulsiones O/W en productos farmacéuticos, cosméticos y otros tipos de productos.

- Glicerina: Es un solvente excelente, aunque su espectro no es tan amplio como el del agua o el del alcohol. Se usa como estabilizador de los sistemas heterogéneos.

- Mmetilparabeno: Antiséptico y conservador que se emplea en diversos preparados farmacéuticos en concentraciones del 0.05 a 0.25 %, se presenta en forma de polvo cristalino blanco con un tenue olor característico, funde a unos 126°C, ligeramente soluble en agua, soluble en 3 mL de alcohol, soluble en glicerina, aceites y grasas. La combinación de dos o más esteres del ácido p-hidroxibenzoico presenta una acción sinérgica.

- Propilparabeno: Cristales incoloros o polvo blanco, funde a unos 96°C. Un gramo se disuelve en 2500 mL de agua y en 1.5 mL de alcohol. Se usa como conservador al 0.02 %, a menudo se usa en combinación sinérgica con el metilparabeno.

PARTE EXPERIMENTAL

Técnicas de preparación

Para fabricar la pomada con neem se utiliza la técnica de dispersión de fases por mezclado mecánico.

Se llevó a cabo una investigación bibliográfica, con el objetivo de obtener datos útiles para la elaboración de una Base para pomada, que permita la inclusión del aceite, tisana y polvo de neem con estabilidad a largo plazo, que garantice la conservación de las propiedades químicas y fisicoquímicas de la sustancia (neem), permitiendo el cumplimiento de los efectos terapéuticos esperados.

Se proponen diversas fórmulas Base para el Desarrollo de las Pruebas Piloto que permitan establecer las características y propiedades del producto obtenido y decidir, entre todos los excipientes y disolventes, cuál representa la mejor opción para la formulación, a partir de las técnicas de fusión y dispersión con mezclado mecánico, observando los resultados que se obtienen para la toma de decisiones con respecto al cambio de las variables en los ensayos, permitiendo mejorar la

integración de los componentes de la fórmula, logrando la estabilidad del sistema así como la obtención de un producto con aspecto y untabilidad agradables.

Desarrollo de Pruebas Piloto

Se preparó cada una de las fórmulas y se compararon entre sí para establecer sus características físicas de acuerdo a la proporción de agua, vaselina y alcohol espesante hidrofílico como lo es el estearílico, cetílico, cetoestearílico, analizando la consistencia, untabilidad, aspecto y fluidez.

FORMULA 1
Alcohol estearílico
Vaselina blanca
Lauril sulfato de sodio
Propilenglicol
Metilparabeno
Propilparabeno
Agua

Resultado fórmula 1: Se obtuvo una pomada de consistencia semisólida con una viscosidad adecuada que permite la untabilidad, de aspecto agradable y con una fluidez adecuada.

FORMULA 2
Alcohol cetílico
Acido estéarico
Polisorbato 60
Aceite de cacahuete hidrogenado
Propilenglicol
Metilparabeno
Agua

Resultado fórmula 2: Se obtuvo una pomada muy fluida, con baja untabilidad, por lo que el aspecto no es agradable presenta consistencia ligera por la gran proporción de líquidos que maneja, por lo que esta fórmula se descarta, ya que, aunque falta adicionar el polvo de neem, este no es suficiente para darle la viscosidad esperada.

FORMULA 3
Alcohol cetoestearílico
Vaselina líquida
Vasellina blanca
Polisorbato 80
Propilparabeno
Agua

Resultado fórmula 3: Esta fórmula resultó ser muy oleosa de aspecto graso, ya que el 60% de su composición es de naturaleza oleosa lo que no permite que la untabilidad sea agradable, no fluye adecuadamente ni cuenta con la viscosidad esperada que permita dispersar el neem de manera homogénea.

RESULTADOS

Componentes	Fórmula Final
Alcohol estearílico	
Vaselina blanca	
Propilenglicol	
Lauril sulfato de sodio	
Glicerol	
Propilparabeno	
Metilparabeno	
Aceite de neem	
Tizana de neem	
Polvo de neem	
Fragancia	
Agua destilada	

La fórmula seleccionada requiere de una buena proporción de agua, la que se sustituyó por la tizana de neem, la proporción de vaselina es adecuada para obtener una buena lubricación y suavidad, en cuanto al alcohol estearílico, es necesario para obtener una consistencia semisólida. Además contiene una pequeña proporción de lauril sulfato de sodio, lo que contribuye a la estabilidad de las fases heterogéneas (vaselina y agua). Esta fórmula incluye dos conservadores, los cuales actúan sinérgicamente contra el desarrollo de hongos y bacterias. Con esta fórmula se realizaron varias pruebas piloto para valorar el comportamiento del sistema obteniendo un producto semisólido con buena consistencia al momento de adicionar el aceite y polvo de neem (previamente tamizado), en diferentes pasos y momentos de la preparación, al mismo tiempo se describió el procedimiento de elaboración, el cuál demostró ser repetible y reproducible permitiendo obtener el producto final con las características esperadas, aplicando la técnica de dispersión por mezclado mecánico de la marca tor-rey, favoreciendo la integración de los componentes y disminuyendo el efecto grasoso. La pomada presentó una textura poco pastosa después de incluir el polvo de neem, por lo que se adiciona glicerol al 14% para suavizar la fórmula final. El olor desagradable de la pomada es característico del Neem, por lo que se debió corregir con diversas fragancias encontrando que la fragancia de naranja es la que enmascara muy bien este olor.

Se obtuvo una pomada estable color verde, untuosa, agradable al tacto ya que no se perciben grumos del polvo de Neem, lo que significa que el tamaño del polvo es el adecuado, logrando la dispersión homogénea del polvo así como la incorporación estable de la tizana y aceite de Neem. La consistencia, aspecto, fluidez y untabilidad fueron las esperadas, lo que da como resultado que la fórmula y porcentajes seleccionados fueron los adecuados.

CONCLUSIONES

Lograr obtener una fórmula de pomada estable que permitiera la inclusión de la tizana, aceite y polvo de neem, con características adecuadas a la untabilidad, fluidez y aspecto agradable, fue todo un reto, ya que se debía encontrar la mejor técnica para obtener un producto semisólido con buena consistencia, siendo estos, sistemas heterogéneos de naturaleza inestable, fue necesario un gran número de pruebas piloto, en donde se jugó con las variables de inclusión de cada uno de los ingredientes seleccionados, así como con los porcentajes que permitieran obtener una base de pomada estable.

Implementar la técnica de mezclado mecánico para la obtención de la pomada base, requirió de diversas estrategias para lograr definir los parámetros ideales para esta fórmula, describiendo

finalmente el procedimiento de elaboración del producto, estableciendo la proporción de los componentes, adaptándose a la técnica descrita.

Se puede concluir que se alcanzó el objetivo de este proyecto, ya que siendo las pomadas, productos heterogéneos constituidos por dos o más fases, se obtuvo un producto estable, de consistencia adecuada con aspecto y olor agradables, conteniendo tizana, aceite y polvo de Neem, para aplicación tópica.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. R. Genaro, "Farmacia de Remington" 20° Ed., Tomo I y II, Ed. Médica Panamericana, Buenos Aires 2003, pp. 980, 1197, 1200, 1203, 1204, 1212.
2. Goodman y Gilman, "Las Bases Farmacológicas de la terapéutica" 6ª Ed., Ed. Médica Panamericana, Buenos Aires, 1982, pp. 943 – 946.
3. Raymond C Rowe, Paul J Sheskey and Marian E Quinn, "Handbook of Pharmaceutical Excipients" 6° Ed., Tomo I y II, Pharmaceutical Press, 2009, pp. 155, 290, 441, 449, 481, 592, 596, 766.
4. I. Clavijo, "Formulario Básico de Medicamentos Magistrales", Editorial Distribuciones el Cid, Valencia. 2001, pp 69, 70, 104.
5. J.B. Wilkinson – R.J. Moore, "Cosmetología de Harry" Díaz de Santos, S.A., Madrid, España. 1990, pp. 18, 29, 770, 756, 783.
6. A. R. Genaro, "Farmacia de Remington" 17° Ed., Tomo I y II, Ed. Médica Panamericana, Buenos Aires 1987, pp. 1585, 1587.
7. Carlos Romero, "Extracción del aceite de la semilla de neem (Azadirachta indica)", (Departamento de Química Tecnológica, Facultad de Ingeniería, Universidad de Carabobo. Naganagua. Venezuela 2005), CIENCIA 13(4), 464 – 474, 2005
8. Yadira López Pantoja, "Efecto antimicrobiano de extractos crudos de neem (Azadirachta Indica A.Juss) y Venadillo, contra E. Coli, y S. Aureus y el Bacteriófago P22", (Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica, A.C. Distrito Federal, México 2007) pp 117 - 125
9. Manuel Pijoan, "El Neem, La farmacia de la aldea", Etnofarmacia, OFFARM, Vol 23, 5, 2004, pp. 128 – 133.
10. Clara Azalea Berenguer Rivas, "Toxicidad a dosis repetidas de Azadirachta indica A. Juss. (árbol del Nim)", Revista Cubana de Plantas Medicinales., Vol 15, 3, 2010, pp. 143 – 151.
11. SS Pandey, AK Jha, Vineet Kaur, "Aqueous extract of neem leaves in treatment of Psoriasis Vulgaris", Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology (IJDVL), Vol. 60, 2, 1994, pp. 63 – 67.

COMPOSICIÓN PROXIMAL Y FITOQUÍMICA DE *STENOCACTUS MULTICOSTATUS* SUBSP. *ZACATECASENSIS* (CACTACEAE)

Xochitl Aparicio Fernández¹, Laura Cecilia Quiroz Reynoso¹, Sofía Loza Cornejo¹ y Laura Gabriela Espinosa Alonso²

¹Centro Universitario de los Lagos, Universidad de Guadalajara, ²Instituto Politécnico Nacional - CIIDIR Sinaloa.
aflatoxinas@hotmail.com

RESUMEN

Las cactáceas forman una de las familias de plantas más representativas de la flora Mexicana y un grupo biológico originario del continente americano. La mayor parte de las especies habitan en las regiones áridas y semiáridas del país. Para nuestros ancestros tuvieron un significado divino, aun en la actualidad se usan en ceremonias religiosas, rituales, creencias y costumbres de algunos grupos étnicos. Diversas investigaciones mencionan su importancia como fuente de alimento, sus propiedades químicas y su posible contribución como fuentes de fitoquímicos con actividad biológica, además de su potencial económico. Sin embargo siguen siendo escasos los estudios de índole química en especies del género *Stenocactus*. Con el propósito de ampliar la información sobre la composición química de las especies de este género, esta investigación se realizó con ejemplares de *Stenocactus multicostatus* subsp. *zacatecasensis*, recolectados en el municipio de Lagos de Moreno, Jalisco, México. Para los análisis correspondientes las plantas se dividieron en tres porciones: media-apical, basal y raíz. A cada fragmento se le determinó la composición química proximal (humedad, ceniza, proteína, lípidos, fibra cruda, extracto libre de nitrógeno); el perfil fitoquímico (alcaloides, cumarinas, esteroides (triterpenos), flavonoides, taninos, quinonas, saponinas) aplicando pruebas químicas colorimétricas en cuatro extractos de cada porción, obtenidos con disolventes de diferente polaridad (hexano, acetato de etilo, etanol al 80%, y agua tridestilada); y la cuantificación de pigmentos fotosintéticos (clorofilas *a*, *b* y carotenoides). Los resultados obtenidos mostraron una mayor cantidad de humedad y lípidos en la parte media-apical; mayor cantidad de extracto libre de nitrógeno en la parte basal y mayor cantidad de ceniza, proteína cruda y fibra cruda en la raíz. Los compuestos fitoquímicos detectados en las tres porciones de la especie fueron alcaloides, cumarinas, flavonoides, saponinas y esteroides (triterpenos), así como la ausencia de quinonas y taninos, también en las tres fracciones. En cuanto a los pigmentos fotosintéticos, solo se detectaron en la parte media-apical, siendo ausentes en la parte basal y la raíz. Se concluye que, la presencia de fitoquímicos fue variada y abundante en *Stenocactus multicostatus* subsp. *zacatecasensis*; por lo cual se considera una planta con potencial para ser utilizada como fuente de fitoquímicos con actividad biológica.

INTRODUCCIÓN

Las cactáceas son plantas dicotiledóneas pertenecientes al orden Caryophyllales y a la familia Cactaceae, se distribuyen ampliamente en América, de donde son originarias; se desarrollan en hábitats variados, aunque en las regiones desérticas son más abundantes y diversas. Sus características morfológicas y fisiológicas les han permitido colonizar exitosamente estos ambientes, así como expresarse en una gran diversidad de formas. México es el centro de concentración de cactáceas más importante, con cerca de 68 géneros y aproximadamente 689 especies, que habitan en regiones áridas y semiáridas del país, particularmente en la porción sureste del Desierto Chihuahuense. Jalisco se compone de 125 municipios, entre ellos Lagos de Moreno que cuenta con la mayor cantidad de elementos xeromorfos destacando las cactáceas por su abundancia y diversidad y en especial el género *Stenocactus*.

Las cactáceas desempeñan un papel muy importante en diversos ámbitos, constituyen una destacada fuente de alimentación, forraje y medicina herbolaria, además de poseer indudablemente un gran significado cultural e histórico. A pesar de su importancia biológica, cultural, ecológica, económica y fitogeográfica, diversas causas han puesto a las cactáceas en riesgo, a tal grado de que la familia completa está incluida en el apéndice II de la Convención sobre el Tráfico Internacional de Especies Silvestres de Flora y Fauna Amenazadas (CITES). Debido a su singularidad, algunas

especies del género *Stenocactus* son apreciadas por los coleccionistas y son buscadas por su rareza, lo que ha llevado a que sean extraídas del campo y su sobreexplotación las ha puesto en riesgo. Tal es el caso de *Stenocactus multicostatus* subsp. *zacatecasensis* con gran importancia ornamental, pero fuertemente amenazada. En cuanto a estudios referentes a la composición química de cactáceas globosas incluyendo las especies del género *Stenocactus*, hay poca información disponible o se concentra en algunas especies tradicionalmente reconocidas por su riqueza fitoquímica. Con base en lo anterior, en esta investigación se estudió la composición proximal, que es un análisis cuantitativo de metabolitos primarios que da a conocer el contenido de humedad, ceniza, proteína cruda, lípidos, fibra cruda y extracto libre de nitrógeno; también se analizó el perfil fitoquímico, que de forma cualitativa identifica la presencia o ausencia de metabolitos secundarios, como alcaloides, cumarinas, esteroides (triterpenos), flavonoides, quinonas, taninos y saponinas; así como el contenido de pigmentos fotosintéticos: clorofilas (*a*, *b*) y carotenoides presentes en el tallo y raíz de *Stenocactus multicostatus* subsp. *zacatecasensis* recolectada dentro del municipio de Lagos de Moreno, Jal., con la finalidad de que en un futuro la información obtenida en este estudio sea utilizada como referencia para el aprovechamiento de la especie, en el área alimenticia o en el área biológica.

TEORÍA

Características de la familia Cactaceae. Es originaria del continente Americano, comprende cerca de 2,000 especies de distribuidas en aproximadamente 125 géneros (Areces, 2004). Probablemente su existencia comenzó durante el Eoceno, 50 ó 60 millones de años atrás. Poseen adaptaciones especiales que les permiten desarrollarse en medios muy variados, aunque la mayoría son nativas de regiones áridas y semiáridas. Crecen especialmente en regiones desérticas, las más cálidas de América, unas pocas especies son epifitas en las selvas tropicales saturadas de humedad y otras son saxícolas adheridas a las infructuosidades de las rocas (Rivas, 1998). Para soportar las altas temperaturas y largos periodos de sequía, estas plantas han desarrollado diversos mecanismos de adaptación que incluyen tejidos suculentos (tejidos carnosos capaces de almacenar la mayor cantidad de agua) ya sea en los tallos, en las hojas o en el sistema radicular; un sistema radicular capaz de almacenar agua y sustancias nutritivas, la sustitución de hojas por espinas que actúan como condensadoras de la humedad atmosférica, además de brindar protección y reflejar parte de la luz solar directa. Otras adaptaciones que presentan las cactáceas son la presencia de ácidos orgánicos que originan compuestos higroscópicos, modificaciones que impiden la evaporación del agua (ramificación escasa, desaparición de hojas, células epidérmicas estrechas, formación de cutículas de cera impermeables, secreciones mucilaginosas) y el desarrollo del metabolismo ácido-crasuláceo (CAM) que consiste en la apertura nocturna de sus estomas para la captación y fijación del CO₂ para que posteriormente se realice la fotosíntesis durante el día, y con ello, evitar la pérdida de agua por transpiración (Rivas, 1996; 1998).

Importancia de la familia Cactaceae. Las cactáceas son clave para la estabilidad de las comunidades bióticas en las zonas áridas y semiáridas, además de ser recursos con un gran potencial económico (Bárceñas-Abogado y Jiménez-Castañeda, 2010). Han sido consideradas, por nuestros ancestros y contemporáneos, una fuente de alimento y medicamentos de origen natural. Algunas especies han llegado a tener un significado divino, aun en la actualidad se usan en ceremonias religiosas, rituales, creencias y costumbres de algunos grupos étnicos, tal es el caso del peyote (*Lophophora williamsi*), un cacto pequeño con propiedades alucinantes que hasta la fecha es parte de las tradiciones costumbristas de varios étnicos como los huicholes, tarahumaras, coras y tepehuanes. Entre los grupos étnicos y la población rural, las cactáceas han sido apreciadas como un recurso alimenticio importante, especialmente por lo suculento de sus tejidos y por la gran cantidad de azúcares y pigmentos de sus frutos. Además, desde la época prehispánica hasta la actualidad, las cactáceas proveen de forraje, fármacos, gomas, jabones, colorantes, cercas vivas, leña, ornato y proteínas y grasas de las semillas de algunas especies (Bárceñas-Abogado y Jiménez-Castañeda, 2010). La mayoría presenta frutos y cladodios comestibles que a su vez pueden ser procesados a una amplia variedad de nuevos productos. Numerosas investigaciones científicas confirman que los productos derivados de cactáceas son de gran interés en el ámbito alimentario por el gran número de nutrientes potencialmente activos y por las propiedades multifuncionales de los frutos, tallos, flores y semillas

para la producción o elaboración de alimentos y suplementos alimenticios con una función promotora de la salud (Nazareno, 2010).

Las cactáceas son importantes desde el punto de vista económico por su valor comestible. Sobresale de la familia el género *Opuntia*, cuyos tallos jóvenes conocidos como nopales, se consumen como verdura; además de su uso comestible, en ellos se cultiva la “cochinilla” que es fuente de un atractivo colorante denominado grana. También sus frutos ya maduros (tunas y joconostles) son comestibles (Prieto-García y col., 2008). La mayoría de las especies del género *Stenocereus* también producen frutos comestibles llamados pitahayas, con la característica de que al madurar pierden sus espinas y facilitan su comercialización y consumo. Otros cactus que se consumen son las biznagas del género *Echinocactus* y *Ferocactus*, que se utilizan para la elaboración del tradicional dulce acitronado de biznaga. El consumo humano es el uso más común que los antiguos pobladores dieron a las cactáceas hasta nuestros días (Arreola-Nava, 1999; Granados, 1999). Además de su uso como fuente de alimento y como plantas medicinales, algunas otras especies de Cactaceae se han aprovechado para diversos fines: como cercos vivos (órganos), fijadoras de suelo para evitar la erosión, como fuente de forrajes y fuente de mucílagos, gomas y pectinas. Todo lo anterior muestra lo valioso de la familia Cactaceae, desde el punto de vista biológico, ecológico, económico y fitogeográfico (Alanís y Velasco, 2008). Con base en lo anterior, existe un marcado interés en la aplicación de nuevas tecnologías para la adquisición de nuevos conocimientos sobre la naturaleza y propiedades químicas de la familia Cactaceae, para un mejor aprovechamiento de las especies; lo que generará nuevos trabajos de investigación (Nazareno y Padrón-Pereira, 2011). Cabe señalar que varias de las especies del género *Stenocactus* que crecen en la Región Altos Norte del estado de Jalisco son extraídas en forma clandestina, lo que, aunado a la acelerada transformación de los ambientes donde crecen, ha provocado que este grupo se encuentre amenazado. *Stenocactus multicostatus* subsp. *zacatecasensis*, está fuertemente amenazada. Ha sufrido una gran pérdida de hábitat y una gran fragmentación, producto de las actividades agropecuarias y el desarrollo urbano de la región; aunado a eso, la gran demanda que tiene en el mercado de plantas ornamentales, tanto a nivel nacional como internacional, hace que esta especie esté incluida en el apéndice II de la CITES, el cual hace referencia a las especies que no necesariamente están en peligro de extinción pero que pueden llegar a estarlo, a menos que se controle estrictamente su comercio (CITES, 2002, Benítez y Dávila, 2002). Con base en lo anterior se ha sugerido su re-categorización como especie amenazada y/o en peligro de extinción.

Características morfológicas del género *Stenocactus*. Son plantas solitarias o cespitosas, globosas a cortamente cilíndricas; tallos con costillas de 30-120, delgadas, sinuosas, (excepto *S. coptonogonus* con cerca de 10 costillas rectas y gruesas); aréolas escasas en cada costilla, espinas radiales aciculares, divergentes, en número variable; espinas centrales 3 aplanadas, anchas, fuertes, ascendentes, recurvadas; flores que emergen de las aréolas más jóvenes, campanular-infundibuliformes; pericarpelo y tubo receptacular corto, con escamas imbricadas, anchas, deltoideas, de márgenes papiráceos, axilas desnudas; segmentos del perianto blancos a amarillos con una franja media purpúrea; estambres numerosos inclusos; fruto seco, subgloboso a oblongo, con escamas papiráceas, seco; semillas obovadas, de testa negra, diminutamente foveolada o reticulada (Arreola-Nava, 1996). Este género es exclusivo de México, se distribuye en los estados del Altiplano Mexicano: Aguascalientes, Chihuahua, Coahuila, Durango, Guanajuato, Jalisco, Nuevo León, San Luis Potosí y Zacatecas (Arreola-Nava, 1996; Guzmán y col., 2003). Guzmán y col. (2007), registran para México 18 especies del género *Stenocactus* incluyendo: *S. crispatus*, *S. coptonogonus*, *S. dichroacanthus* subsp. *violaciflorus*, *S. phyllacanthus* que se muestran en la figura 1.



Figura 14. Imágenes de algunas especies del género *Stenocactus*. A) *S. crispatus*, B) *S. coptonogonus*, C) *S. dichroacanthus* subsp. *violaciflorus*, D) *S. phyllacanthus*. Tomadas de <http://www.cactuspedia.info/>

Descripción morfológica de *Stenocactus multicostatus* subsp. *zacatecasensis*. Es una planta solitaria o cespitosa, globosa a cortamente cilíndrica; raíz tuberosa; tallo de hasta 15 cm de largo y cerca de 10 cm de diámetro, color verde pálido; costillas 30-55, sinuosas, aréolas 2-3 por costilla; espinas radiales 10-15; aciculares, comprimidas lateralmente, de 8-15 mm de largo, blancas, divergentes, adpresas al tallo; espinas centrales 3, aplanadas, anilladas, blancas-grisáceas a rosa pálido, hasta 2.6 cm de largo y de 1-2 mm de ancho, la espina de enmedio es más larga y más ancha que las laterales de hasta 3.2 cm de largo y 3 mm de ancho, setosa, ascendente; flor campanulada-infundibuliforme, de aproximadamente 4 cm de largo y 3-4 cm de diámetro; segmentos del perianto blancos a rosa claro con una franja media color púrpura a violeta; la floración tiene lugar de diciembre a marzo; las flores son diurnas y persisten durante varios días, como se muestra en la figura 2.



Figura 15. Imágenes de la morfología de *Stenocactus multicostatus* subsp. *zacatecasensis*. Tomadas de <http://www.cactuspedia.info/>

Su fruto es seco, globoso, de 1 cm de largo; las semillas son pequeñas (2 mm de diámetro), redondas de color gris oscuro, con testa negra gruesamente reticulada, hilo basal amplio y truncado; fructifica en junio y julio (Arreola-Nava, 1996; Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991b). *Stenocactus multicostatus* subsp. *zacatecasensis* se puede propagar por enraizamiento de esquejes, hijuelos e injertos; no obstante algunas especies silvestres presentan dificultades para su propagación vegetativa, debido a la poca o nula producción de hijuelos, crecimiento lento y en algunos casos el tamaño reducido de sus semillas y bajos índices de viabilidad (Soltero-Quintana, 1996). Es una

especie con gran potencial ornamental (Arreola-Nava, 1996; Bravo-Hollis, 1978), riqueza fitoquímica (Almaraz-Abarca, 2007), y con gran importancia ecológica dado que se le atribuyen 22 compuestos fenólicos diferentes, presentes en el polen y 25 insectos asociados a su floración, entre los cuales se tiene la certeza de que once de ellos cumplen la función de polinizadores (Ramírez-Freire y col. 2008). Hasta la fecha se tienen reportes acerca de su biología reproductiva pero no de la composición química del tallo y raíz de la especie. Se distribuye cerca de los 1800 m s.n.m. en pastizal y matorral xerófilo, especialmente en los estados de Zacatecas, Jalisco, Durango hasta Coahuila y Chihuahua (Arreola-Nava, 1996; Taylor, 1983; Guzmán y col., 2003).

PARTE EXPERIMENTAL

Se recolectaron veinte ejemplares de la especie *Stenocactus multicostatus* subsp. *zacatecasensis* durante los meses de Abril-Mayo de 2019, en la zona montañosa cercana a la comunidad “El Puesto”, dentro del municipio de Lagos de Moreno, Jal. (Arreola-Nava (1996). Los ejemplares se trasplantaron en tierra fértil en contenedores de plástico (macetas) y se sometieron a un proceso de adaptación de dos meses a condiciones de invernadero en el Centro Universitario de los Lagos, U. de G. Durante su proceso de adaptación se monitorearon las variables ambientales: riego, pH de la tierra, temperatura, humedad e iluminación. Para los análisis respectivos el tallo se dividió en dos porciones: media-apical y basal, la raíz fue analizada completa. Cada porción de la planta se fragmentó en cubos 1 cm de lado y se procesó de acuerdo al método a utilizar.

Análisis proximal. Determina el contenido nutricional, incluyendo humedad (secado en estufa), ceniza (calcinación), proteína cruda (micro-kjeldahl), lípidos crudos (soxhlet), fibra cruda (digestión química) y extracto libre de nitrógeno (por diferencia) de la muestra analizada. Los métodos empleados se describen en Kirk y col. (2008). Todos los análisis respectivos se realizaron tres veces por triplicado en cada porción de la planta. Los resultados se reportan en base seca.

Perfil fitoquímico. Los fitoquímicos presentes en las diferentes partes de la cactácea en estudio, previamente deshidratada (14-28 °C; 44-58% HR), se extrajeron secuencialmente con cuatro disolventes de polaridad creciente: n-hexano, acetato de etilo, etanol al 80 % y agua tridestilada (Del Castillo-Ochoa y col., 2004). Las determinaciones del perfil fitoquímico se realizaron por triplicado usando técnicas cualitativas de acuerdo a las metodologías propuestas por Domínguez (1973). La presencia de alcaloides se detectó mediante los reactivos de Warner, Mayer, Dragendorff y Hager. La detección cualitativa de cumarinas se realizó mediante la aplicación de luz UV solución de KOH. Los reactivos de Libermann-Burchard y Salkowski se usaron para evidenciar la presencia de esteroides. Los flavonoides se detectaron mediante la prueba de Shinoda y la de las saponinas mediante la formación de espuma y con el reactivo de Rosenthaler. Se utilizó cloruro férrico (FeCl₃) para la detección presuntiva de taninos y, como prueba confirmatoria las soluciones acuosas de gelatina, sal y gelatina-sal. La presencia de quinonas se detectó con hidróxido de sodio (NaOH) y tolueno en solución acuosa, después de tratar los extractos con H₂O₂ y H₂SO₄. Todas las técnicas empleadas fueron descritas por Sánchez-Herrera et al. (2011).

Cuantificación de pigmentos fotosintéticos (clorofilas *a* y *b*) y carotenoides. Su contenido se analizó con base en el método propuesto por Rodés-García y Collazo-Ortega (2006), basado en la medición espectrofotométrica de los pigmentos previa extracción con acetona al 80%. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado en la epidermis de la parte media-apical y basal de la cactácea.

Análisis estadístico. Se calcularon los parámetros estadísticos descriptivo-comparativos para las variables cuantitativas. Fueron analizados mediante el procedimiento GLM ANOVA del paquete estadístico SAS 9.1. Se estimaron los valores de significancia a un nivel de probabilidad de 0.05 en el error tipo I. Al encontrarse diferencias se utilizó la prueba de rango múltiple de Tukey para las comparaciones de medias.

RESULTADOS

Análisis proximal. La composición proximal de las diferentes porciones de *S. multicostatus* subsp. *zacatecasensis* se muestran en el cuadro 1, los resultados se expresan en base seca. Todas las variables cuantificadas en las tres porciones (humedad, ceniza, proteína, lípidos, fibra cruda y ELN), presentaron diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 1. Composición química proximal en las tres porciones de *S. multicosatus* subsp. *zacatecasensis*. Los resultados se expresan en porcentajes.

	Media-Apical	Basal	Raíz
Humedad	85.59 ± 0.23 ^a	82.76 ± 0.38 ^b	80.87 ± 0.24 ^c
Ceniza	13.23 ± 0.04 ^b	12.61 ± 0.18 ^c	14.57 ± 0.12 ^a
Proteína	1.49 ± 0.02 ^b	1.06 ± 0.01 ^c	1.68 ± 0.02 ^a
Lípidos	2.53 ± 0.01 ^a	1.24 ± 0.01 ^b	1.0 ± 0.00 ^c
Fibra cruda	15.9 ± 0.05 ^c	17.69 ± 0.03 ^b	27.04 ± 0.04 ^a
Extracto libre de nitrógeno	66.86 ± 0.07 ^b	67.4 ± 0.19 ^a	55.71 ± 0.11 ^c

Los resultados son expresados en base seca. Los datos representan la media ± error estándar.

^{ab}Letras distintas en la misma fila indican diferencias estadísticas significativas (P<0.05).

El mayor contenido de humedad se presentó en la parte media-apical con un 85.59 ± 0.23%, seguido de la parte basal con 82.76 ± 0.38%, y por último la raíz, la cual presentó el contenido más bajo, con un 80.87 ± 0.24%. Esta diferencia podría deberse a que las cactáceas están especializadas para almacenar agua en su tallo, mientras que su raíz tiene como función principal la absorción de la misma. El menor contenido de ceniza se presentó en la parte basal de la especie con un porcentaje de 12.61 ± 0.18%, los valores más altos fueron para la parte media-apical con 13.22 ± 0.04% y la raíz con 14.57 ± 0.12%. Probablemente esto se deba a que la raíz principal de *S. multicosatus* subsp. *zacatecasensis* se caracteriza por ser de forma tuberosa y esto a la vez le dé la capacidad de almacenar minerales de la capa superficial del suelo para posteriormente ser transportados hasta la parte superior de la cactácea y llevar a cabo la fotosíntesis y otras reacciones metabólicas vegetales esenciales para su crecimiento y desarrollo. El mayor porcentaje de proteína se encontró en la raíz con 1.68 ± 0.02%, el porcentaje medio lo presentó la parte media-apical con 1.49 ± 0.02%, y el porcentaje más bajo se encontró en la parte basal con 1.06 ± 0.01%. Con respecto al valor más alto, posiblemente esto se deba a que la raíz principal de la especie tiene la capacidad de fijar y almacenar sustancias nutritivas como algunas sales nitrogenadas, las cuales son indispensables dentro del metabolismo vegetal. El contenido de lípidos de la parte media-apical, basal y raíz fue de 2.53 ± 0.01%, 1.24 ± 0.01% y 1.0 ± 0.00% respectivamente. El mayor porcentaje de lípidos se registró en la parte media-apical, esto puede explicarse debido al hecho de que las cactáceas desarrollan sobre la epidermis de las partes aéreas una cutícula de cera o barrera de cera (lípidos), para evitar la pérdida de agua y de otras moléculas. En el caso de *S. multicosatus* subsp. *zacatecasensis*, esta cutícula solo se desarrolla en la parte superior (media-apical), ya que es la que está expuesta a las condiciones extremas de su hábitat. El contenido de fibra cruda fue de 15.90 ± 0.05% para la parte media-apical, 17.69 ± 0.03% para la parte basal y 27.04 ± 0.04% para la raíz. El valor más alto se presentó en la raíz y el más bajo en la porción media-apical, esta variación probablemente se deba a la edad de la planta ya que la parte más joven presentó el porcentaje más bajo y la raíz el valor más alto. También se puede atribuir a las características morfológicas de cada porción de la especie, ya que las raíces secundarias de la cactácea en estudio son muy fibrosas. El ELN representa una aproximación al contenido de hidratos de carbono no estructurales como, almidón, azúcares reductores y no reductores. Los resultados de esta variable en las diferentes porciones de la especie estudiada fueron: 66.86 ± 0.07% para la parte media-a, 67.40 ± 0.19% para la parte basal y 55.71 ± 0.11% para la raíz. Esta variabilidad en el contenido de ELN en las diferentes porciones podría deberse a que los carbohidratos no estructurales como la glucosa son resultado de la fotosíntesis la cual se lleva a cabo en la parte superior del tallo de la especie estudiada, para posteriormente ser almacenados en la parte basal, esto podría explicar porque el mayor contenido de ELN se presentó en la parte media-apical y en la parte basal.

Perfil fitoquímico. La tabla 2 muestra el perfil fitoquímico en los cuatro extractos de diferente polaridad (hexano, acetato de etilo, etanol al 80% y agua) de las porciones media-apical, basal y raíz de

Stenocactus multicostatus subsp. *zacatecasensis*. Los resultados se representan según la intensidad de color que presentó la reacción.

Tabla 2. Perfil fitoquímico en extractos de diferente polaridad porciones pical, basal y raíz de *Stenocactus multicostatus* subsp. *zacatecasensis*.

Pruebas cualitativas	Media-Apical				Basal				Raíz			
	A	E	AE	H	A	E	AE	H	A	E	AE	H
Alcaloides	+++	++	-	-	+++	+++	-	-	+++	++	-	-
Cumarinas	++	+++	-	-	++	+++	+	+	++	+++	-	-
Esteroles	-	+	-	+	-	++	++	+	-	-	++	+
Flavonoides	+++	++	-	-	+++	++	-	-	++	+	-	-
Quinonas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Taninos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saponinas	+++	-	-	-	+++	-	++	+	++	-	-	++

Ensayo positivo: (+) (Contenido: + poco, ++ medio, +++ abundante); Ensayo negativo: (-)
Abreviación de los extractos: (A) Agua, E (Etanol al 80%), AE (Acetato de Etilo), H (Hexano)

El análisis cualitativo para alcaloides mostró abundancia de estos metabolitos en las tres porciones de la especie en estudio. Los extractos de mayor polaridad (acuoso, etanólico) presentaron el mayor contenido de éstos, mientras que los extractos menos polares (acetato de etilo, hexano) no los presentaron en ninguna porción. La abundancia de alcaloides en los extractos más polares supone su presencia en forma de sales de ácidos orgánicos (Arango-Acosta, 2008). La presencia de cumarinas fue abundante en las porciones del tallo (media-apical, basal) y la raíz de la cactácea en estudio. Los extractos acuoso y etanólico de las tres porciones de la planta presentaron mayor concentración de cumarinas, mientras que los extractos menos polares (acetato de etilo, hexano) indicaron únicamente la presencia de cumarinas en la parte basal de la planta y en menor contenido. La gran incidencia de cumarinas en los extractos acuoso y etanólico, es un indicativo de la estructura química que poseen estos compuestos en la planta analizada, lo cual supone que son hidroxycumarinas (cumarinas simples hidroxiladas) ya que en esta forma son solubles en agua, etanol y acetato de etilo; además, bajo luz ultravioleta a 365 nm mostraron fluorescencia amarilla o verde, lo que hace suponer la presencia de furanocumarinas. Los resultados del perfil fitoquímico para esteroides (triterpenos) muestran poca presencia de estos compuestos tanto en las porciones del tallo (media-apical, basal), así como en la raíz de la especie en estudio. Cabe destacar, que la parte basal y la parte media-apical presentaron el mayor y menor contenido, respectivamente. Estos metabolitos secundarios estuvieron presentes de forma moderada en el extracto etanólico y en el de acetato de etilo, su incidencia fue baja en el extracto de hexano y nula en el extracto acuoso; estos resultados fueron similares en las tres porciones. Los resultados obtenidos en las pruebas cualitativas para la detección de flavonoides muestran su presencia abundante en las tres porciones de la planta estudiada. Las porciones media-apical y basal presentaron la mayor concentración de este grupo de fitoquímicos, mientras que la raíz presentó el menor contenido. Los extractos de mayor polaridad presentaron mayor contenido de flavonoides, mientras que no estuvieron presentes en los extractos menos polares. El análisis cualitativo mostró la ausencia de quinonas en las tres porciones de la planta analizada, ya que no se presentó cambio de coloración en las pruebas químicas colorimétricas para la identificación de estos metabolitos secundarios. Tampoco se detectó presencia de taninos; la prueba de cloruro férrico así como las pruebas confirmatorias arrojaron como resultado la ausencia de estos metabolitos secundarios en las tres porciones de la especie examinada. Los resultados del análisis cualitativo muestran la presencia de saponinas en las tres porciones (media-apical, basal, raíz) de la especie en estudio. La parte media-apical y la zona basal presentaron mayor contenido

de estos compuestos, mientras que la raíz mostró la menor concentración. El extracto acuoso de la parte media-apical y basal presentó mayor presencia de saponinas, mientras que el etanólico no mostró este tipo de fitoquímicos en ninguna porción de la planta. Los extractos de menos polares (acetato de etilo, hexano) registraron menor concentración de estos compuestos en la parte basal y raíz de la cactácea.

Pigmentos fotosintéticos. La cuantificación de pigmentos fotosintéticos se llevó a cabo en las porciones del tallo (media-apical y basal) de la cactácea. Dado que la parte media-apical es la porción fotosintética de la cactácea, los resultados muestran la presencia de clorofila *a*, *b* y carotenoides únicamente en esta porción. La concentración de clorofila *a* y *b* para la porción fotosintética fue de 0.53 mg/g MF y 0.33 mg/g MF, respectivamente. Mientras que el contenido de carotenoides fue de 0.07 mg/g MF, como se muestra en la tabla 3.

Tabla 3. Concentración de pigmentos fotosintéticos (mg/g MF) en las porciones del tallo de *S. multicosatus* subsp. *zacatecasensis*.

	Clorofila total mg/g MF	Clorofila a mg/g MF	Clorofila b mg/g MF	Carotenoides mg/g MF
Media-Apical	0.86 ± 0.002	0.53 ± 0.003	0.33 ± 0.002	0.07 ± 0.001
Basal	-	-	-	-

Los datos representan la media ± error estándar (n=9), mg/g MF (miligramos por gramo de materia fresca).

CONCLUSIONES

La composición proximal de la especie en estudio es similar a la de otras cactáceas; contiene la mayor cantidad de humedad y lípidos en la porción media-apical y la concentración más alta de ceniza, proteína y fibra en la raíz. El perfil fitoquímico, se mostró la presencia de alcaloides, cumarinas, flavonoides y saponinas de forma abundante a moderada en las tres porciones (media-apical, basal y raíz), baja presencia de esteroides y ausencia de quinonas y taninos. Se registró la presencia de clorofila *a*, *b* y carotenoides únicamente en la parte medial-apical de la planta en estudio. Por la presencia de fitoquímicos diversos en el tallo y raíz de *Stenocactus multicosatus* subsp. *zacatecasensis*, se propone a esta cactácea como una fuente de fitoquímicos para su estudio y potencial uso en el área biomédica o farmacológica.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alanís, F., Velasco, C. G., 2008. Importancia de las cactáceas como recurso natural en el noreste de México. *Ciencia UANL*. 11 (001), 5-11.
2. Almaraz-Abarca, N., Graca Campos, M. D., Delgado-Alvarado, A., Ávila-Reyes, J. A., Naranjo-Jiménez, N., Herrera-Corral, J., Tomatas, F.A., Almeida, J. A., Vieira, A., 2007. Fenoles del polen de *Stenocactus*, *Echinocereus* y *Mammillaria* (Cactaceae). *Polibotánica*. 23, 37-55.
3. Arango-Acosta, G. J., 2008. *Reconocimiento de Alcaloides*. En: Arango, G. J. (Eds.), *Alcaloides y compuestos nitrogenados*. Editorial Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia, p. 7-14.
4. Areces, A., 2004. Cactaceae. En: Nathan, S., Mori, S., Henderson, A., Stevenson, D., Helad, S. (Eds.), *Flowering plants of the neotropics*. Princeton University Press. Princeton, New Jersey, USA, p. 73-76.
5. Arreola-Nava, H. J., 1996. Contribución al conocimiento de las cactáceas de los municipios de Lagos de Moreno y Ojuelos de Jalisco, México. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. Estado de México, México, p. 143.

6. Arreola-Nava, H. J., 1999. Taxonomía del pitayo (*Stenocereus* (Berger) Ricc.). En: Pimienta-Barrios, E., (Eds.), *El pitayo en Jalisco y especies afines en México*. Universidad de Guadalajara: Fundación Produce Jalisco, A. C., México, p. 234-240.
7. Bárcenas-Abogado, P., Jiménez-Castañeda, V., 2010. Pitayas y Pitahayas (*Stenocereus* spp. e *Hylocereus* spp.) recursos agrícolas en el Valle de Tehuacán, Puebla. *Sociedades Rurales, Producción y Medio Ambiente*. 10 (19), 101-119.
8. Benítez, H., Dávila, P., 2002. Las cactáceas mexicanas en el contexto de la CITES. *Biodiversitas*, boletín bimestral de la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, CONABIO. 40, 8-11.
9. Bravo-Hollis, H., 1978. Morfología de las cactáceas. En: Bravo, H. H. (Eds.), *Las cactáceas de México*. Vol. I. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., p. 20-62.
10. Bravo-Hollis, H., Sánchez-Mejorada, H., 1991b. Utilidad de las cactáceas. En: Bravo, H. H. (Eds.), *Las cactáceas de México*. Vol. III. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., p. 501-537.
11. CACTUSPEDIA, The fascinating world of cacti and succulents 2013. Cactus and succulents description sheets by genus: *Echinofossulocactus* (synonyms: *Stenocactus*). Disponible en: <http://www.cactuspedia.info/index.htm> Accesado el 19/03/2016
12. CITES. 2002. Cactaceae checklist. En: D. Hunt (Ed.), *Royal Botanic Gardens, Kew Surrey*. ISBN 0 947643427.
13. Del Castillo-Ochoa, S., Gonzáles-Lavaut, J. A., González-Guevara, J., Prieto-González, S., Urquiola-Cruz, A., 2004. Identificación fitoquímica de las hojas y ramas de la *Helietta cubensis* Monach-Moldenke, especie endémica de Cuba. *Revista Cubana de Farmacia* 38 (1), 5-7.
14. Domínguez, X. A., 1973. Reconocimiento de metabolitos secundarios. En: Domínguez X. A. (Eds.), *Métodos de Investigación Fitoquímica*. Editorial Limusa. México, p. 1-281.
15. Granados, D., 1999. Las pitayas de México. *Ciencia y Desarrollo*. 145 (2), 58-67.
16. Guzmán, U., Arias, S., Dávila, P. 2003. Catálogo de Cactáceas Mexicanas. Universidad Nacional Autónoma de México/Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad. México, D.F., p. 315.
17. Guzmán, U., Arias, S., Dávila, P., 2007. Catálogo de autoridades taxonómicas de las cactáceas (Cactaceae: Magnoliopsida) de México. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM. Base de datos SNIB-CONABIO, Proyectos Q045 y AS021. México.
18. Nazareno, M. A., 2010. New insights about medicinal uses and health-beneficial properties of cactus products. En: Proceedings (oral presentation) of the VII International Congress on Cactus Pear and Cochineal, VII General Meeting of the FAO-ICARDA International Technical Cooperation Network on Cactus Pear and Cochineal, Agadir, Morocco. 17-22.
19. Nazareno, M. A., Padrón-Pereira, C. A., 2011. Nuevas Tecnologías desarrolladas para el aprovechamiento de las cactáceas en la elaboración de alimentos. Componentes funcionales y propiedades antioxidantes. *Revista Venezolana: Ciencia Tecnología y Alimentos*. 2 (1), 202-238.
20. Prieto-García, F., Méndez-Marzo, M. A., Pérez-Cruz, E., Filardo-Kerstupp, S., Cruz-Martínez, B. R., 2008. Morfología, tamaño y distribución de partículas en semillas de cinco especies del género *Opuntia*. *Universidad y Ciencia, Trópico Húmedo*. 24 (2), 159-162.
21. Ramírez-Freire, L., 2008. La floración de cinco especies de cactáceas y sus insectos asociados en el área natural protegida "Sierra Corral de los Bandidos", municipio de García, Nuevo León. Tesis inédita de maestría, Facultad de Ciencias Biológicas, UANL. México, p. 135.
22. Rivas, R. M., 1996. Familia Cactaceae, características generales. En: *Cactáceas y suculentas del Jardín Botánico Lankester*. Editorial Universidad Estatal A Distancia (EUNED). San José, Costa Rica, p. 1-120.
23. Rivas, R. M., 1998. Familia Cactaceae, características generales. En: *Cactáceas de Costa Rica*. EUNED. San José, Costa Rica, p. 1-15.

24. Rodés-García, R., Collazo-Ortega, M., 2006. Cuantificación de algunas propiedades de los pigmentos fotosintéticos. *En*: Rodés, G. R., Collazo, O. M. (Eds.), *Manual de prácticas de fotosíntesis*. Publisher UNAM. La prensa de Ciencias. México, p. 160.
25. Sánchez-Herrera, R., Sotelo-Olague, M. A., Aparicio-Fernández, X., Loza-Cornejo, S. 2011. *Coryphantha* spp. proximate composition and phytochemical profile. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 13: 36-47.
26. Soltero-Quintana, R., 1996. Micropropagación de dos especies de la Línea B *Strombocacti* (*Cactaceae*). Tesis de Maestría en Procesos Biotecnológicos, CUCEI, Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco. México, p. 55.
27. Taylor, N. P., 1983. Comments on proposal 673 to conserve 5408 *Stenocactus* (Schumann) Berger (1929) over various generic names (Cactaceae). *Taxon*. 32 (4), 641-643.

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE MEZQUITE *PROSOPIS LAEVIGATA* DE CINCO LOCALIDADES DEL ESTADO DE GUANAJUATO

Martha Castillo Anguiano, Raquel Castro Soriano, Martha Patricia Sandoval Anguiano

Universidad de Guanajuato-Escuela de Nivel Medio Superior de Irapuato.
martha_910@ugto.mx, coordacad@hotmail.com, paty_sa1@yahoo.com.mx

RESUMEN

Ya que las especies del género *Prosopis* tienen una gran variabilidad, se debe realizar la tarea de caracterizarlas morfológicamente para su mejoramiento, conservación y aprovechamiento sustentable. En este trabajo se evaluaron 30 accesiones de la especie *Prosopis laevigata*, utilizando el método de componentes principales, por medio del cual se formaron tres grupos diferentes con 10 características morfológicas que se estudiaron, que explican el 77.337% de la varianza total. El primer componente incluye: Pares de espinas en 20 cm, No. de ramas principales. El Dosel y la longitud media de espinas contribuyeron a la formación del segundo componente. Para el tercero el perímetro del tronco y Número de espinas ayudaron a integrarlo

Después de realizar un análisis jerárquico por medio del cual se generó un dendrograma que traza la cercanía genética entre las diferentes accesiones, al mismo tiempo muestra la variabilidad de las diferentes accesiones dentro de la especie, generando diversos grupos. Hay tres distancias genéticas en las que se pueden separar las accesiones de mezquite, 16 Accesiones de mezquite, forman el primer grupo formado por accesiones de tres localidades, ubicadas a 7.14 unidades de distancia genética; un segundo conjunto con 9 accesiones procedentes de Abasolo e Irapuato (3 y 6 respectivamente) y un tercero, formado por 5 accesiones provenientes de Romita e Irapuato respectivamente, con una distancia genética de 25 para la accesión número 25 procedente de Romita.

INTRODUCCIÓN

Según lo establecido por Rzedowsky (1981), la clasificación taxonómica de las especies del género *Prosopis* tiene dificultades de acuerdo, debido a la excesiva variabilidad entre plantas individuales y entre individuos dentro de una especie bien delineada y entre los híbridos generados entre diferentes especies. La morfología de la mayoría de las especies de *Prosopis* varía con el área, con los factores genéticos y la interacción de los mismos tiene como consecuencia que se presente una variación genotípica y fenotípica muy grande, que debe ser caracterizada para aumentar la sustentabilidad de la especie.

El objetivo del trabajo fue el estudiar la variabilidad y las relaciones filogenéticas entre las accesiones de la especie de *Prosopis laevigata* Rzedowski (1981) de cinco localidades del Estado de Guanajuato.

PARTE EXPERIMENTAL

Accesiones en estudio

Se evaluaron 30 accesiones de *Prosopis laevigata*, originarias de cinco localidades diferentes del Estado de Guanajuato: Victoria, Romita, Silao, Irapuato y Abasolo. Todas las accesiones fueron caracterizadas morfológicamente y evaluadas por el programa Statistical Program of Social Science (SPSS 18.0). Las características que se evaluaron para cada accesión son: Perímetro del tronco, altura del fuste, número de ramas principales, altura del árbol, dosel, pares de espinas en 20 cm., longitud media de espina, número de hojas en 20 cm, número de pinas y número de foliolos

Análisis de datos

Medidas para el análisis de caracterización

Se estudió el arreglo entre las 30 accesiones y las 10 variables para establecer el índice de distancia, por medio de la distancia Euclidiana; así como el coeficiente de correlación. Se llevó a cabo la caracterización morfológica del material por el método de los componentes principales y el análisis de los conglomerados jerárquicos.

RESULTADOS

Los datos de las accesiones fueron analizados con los estadísticos descriptivos de promedio, máximo, mínimo y desviación estándar de cada variable. En la tabla 1 se reporta los resultados.

Tabla 1. Desviación estándar de diez características morfológicas de *Prosopis laevigata* de cinco localidades del Estado de Guanajuato.

	Victoria	Romita	Silao	Irapuato	Abasolo
1	1.15	2.52	2.17	11.5	1
2	3.21	16.2	14	1.7	1.15
3	0.58	0.33	0	17.4	16.1
4	17.3	46.8	24.1	0.52	0
5	20	79.8	13.9	31.8	5
6	0.58	2.44	1.1	30.3	37.5
7	13.9	9.2	4.72	1.91	0.58
8	0.58	2.35	1.1	8.64	8.72
9	0.58	1.45	1.1	1.9	0.58
10	4.16	9.51	9.42	1.03	1.15

Tabla 1. Nomenclatura: 1.- Perímetro del tronco. 2.- Altura de fuste. 3.- No. de ramas principales. 4.- Altura de árbol. 5.- Dosel. 6.- Pares de espinas en 20 cm. 7.- Longitud media de espinas. 8.- No. de hojas en 20 cm. 9.- No. de pinas. 10.- No. de folíolos por pina.

Análisis Morfológicos

Análisis de componentes principales

El análisis de Componentes principales dio como resultado que los tres primeros, constituyen el 77.337% de la varianza total (Tabla 2). El primero explica un 49.657 %, el segundo un 15.373% y el tercero el 12.307%

Componente	Total	% de la var	Var Acumulada
	1	5.353	49.657
2	1.308	15.373	65.029
3	1.073	12.307	77.337

Tabla 2. Valores diferencias y proporciones de varianza para los tres principales componentes entre 30 accesiones de *Prosopis laevigata*

En el Primer componente, las variables que tienen mayor peso son: Pares de espinas en 20 cm, Número de ramas principales y Número de pinas con valores de 0.905, 0.880 y 0.802 respectivamente, así como Número de folíolos por pina que lo hace de forma negativa -0.916 (Tabla 3) Para el segundo componente, las variables que más influyen son: Dosel con un alto 0.925 y Longitud media de espinas con un valor de 0.502. Para el tercer componente, el perímetro del tronco es la variable que más contribuyó a su formación con un 0.917 en cambio, correlacionó de forma inversa el número de folíolos por pina. En este trabajo, las variables que muestran más contribución a la estructura de follaje fueron: número de ramas principales y número de pinas para el primer componente. Por otro lado, para el componente dos, las variables más destacadas fueron el dosel y la longitud media de espinas. Joseua *et al* (2007) encontraron que el número de pinas por hoja tuvieron gran participación en la formación de cinco grupos morfológicos. En cambio, Burghardt *et al.* (2000), determinaron que variables como largo y ancho de pina y longitud de folíolo evaluadas con análisis de componentes principales, fueron adecuadas para diferenciar plántulas de 8 especies

de *Prosopis*, cultivadas en condiciones uniformes, en el Chaco semiárido del norte de Córdoba y sur de Santiago del Estero, Argentina.

	Componente		
	1	2	3
Perímetro del tronco cm	.041	-.001	.917
Altura de fuste cm	-.536	.425	-.177
Número ramas principales cm	.880	-.055	-.167
Altura de árbol m	-.842	.475	-.135
Dosel cm	.081	.925	.015
Pares de espinas en 20 cm	.905	-.097	.187
Longitud media de espinas mm	-.547	.502	.105
Número de hojas en 20 cm	.764	-.017	-.153
Número de pinas	.802	.051	.424
Número de folíolos por pina	-.916	.092	-.251
Longitud de vainas cm	.041	-.001	.917
Grosor de vainas mm	-.536	.425	-.177
Semillas por vaina	.880	-.055	-.167
No. de vainas en 1/20 de dosel	-.842	.475	-.135

Tabla 3. Matriz de componentes de la caracterización de Mezquite *Prosopis laevigata* de cinco localidades del Estado de Guanajuato

El análisis de Componentes principales dio como resultado que los tres primeros, suman el 60.977% de la varianza total. El primero explica un 49.65 %, el segundo un 15.37 % y el tercero el 12.30% (Tabla 3).

Análisis de la distancia genética entre diversas accesiones

El dendrograma obtenido por el método de vinculación inter- grupos (Figura 1), divide en *tres grupos* a las plantas en estudio. El primero formado por 16 individuos de *Prosopis laevigata*, con un coeficiente de distancia de 7.14 procedentes 3 de Victoria, 5 de Silao y 8 de Romita; mientras que para un segundo grupo está formado por 9 individuos ubicados 3 en Abasolo y 6 en Irapuato, con una distancia de 11.11 y el tercer grupo formado por cinco individuos, de los cuales se encuentran cuatro en Irapuato y el quinto es de Romita con una distancia genética de 25, lo cual puede interpretarse como que la variación de *Prosopis laevigata* es intermedia. En cambio Joseau, *et al* (2007) encontraron *cinco grupos* en su estudio hecho en Argentina con *Prosopis chilensis*, *P. flexuosa*, *P. alba* y *P. nigra*, a un nivel del 70%, que es el equivalente a una distancia de 17.5.

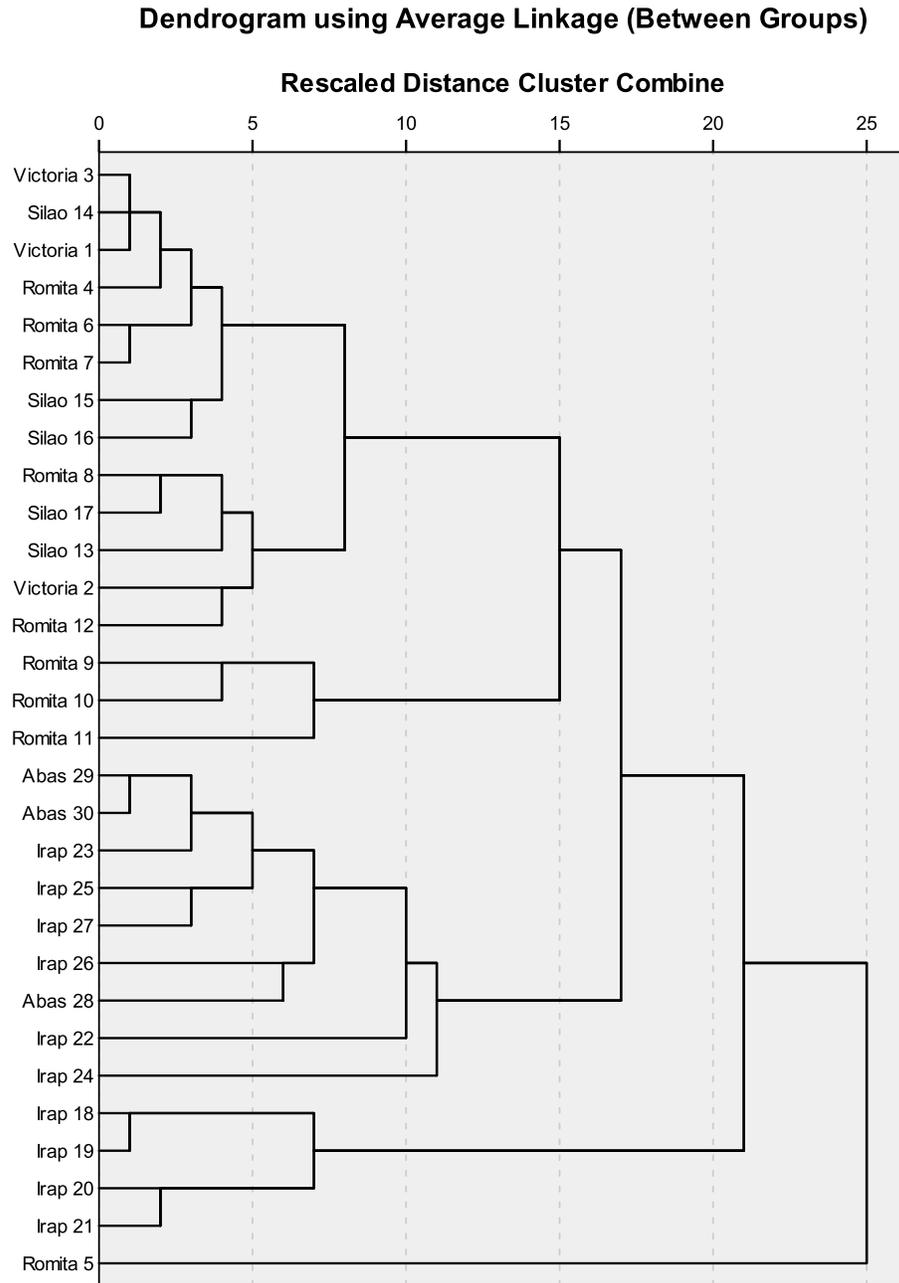


Figura 1. Dendrograma de distancia obtenido a partir de 30 accesiones de *Prosopis laevigata* de cinco localidades del Estado de Guanajuato.

La distancia genética entre los diferentes individuos de *Prosopis laevigata* con mayor cercanía fue de 1.1 para el primer subgrupo formado por 3 integrantes (3, 14 y 1). La mayor diversidad se encuentra en las accesiones de mezquite procedentes de Romita e Irapuato, una probable causa es su procedencia de diferentes puntos geográficos y estados fenológicos, así como a la interacción genotipo-medio ambiente.

CONCLUSIONES

La variabilidad más grande fue del Mezquite procedente de Victoria de entre las cinco localidades en estudio y 25 unidades de distancia genética.

Las accesiones originarias de Irapuato mostraron la segunda mayor variabilidad, con una distancia genética de 1.1 hasta 11.1 unidades.

La menor variabilidad genética fue de las accesiones procedentes de Victoria (mostró ser el grupo más compacto, con una distancia que va desde 1.1 hasta 5.0 unidades de distancia genética.

Se requiere continuar los estudios para otras localidades del Estado de Guanajuato, para conservar nuestra biodiversidad.

Deben hacerse estudios comparativos de plantas madre y su descendencia, así como evitar la destrucción del hábitat, que está ocasionando la pérdida de biodiversidad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Burghardt, Alicia D. Brizuela, M.M., Palacios, R. A. (2000). Variabilidad en plántulas de algunas especies de *Prosopis* L. (Fabaceae). En busca de descriptores morfológicos multitequinal [en línea], [fecha de consulta: 5 feb de 2020] disponible en: <[HTTP://REDALYC.UAEMEX.MX/REDALYC/SRC/INICIO/ARTPDFRED.JSP?ICVE=42800904](http://REDALYC.UAEMEX.MX/REDALYC/SRC/INICIO/ARTPDFRED.JSP?ICVE=42800904)> ISSN 0327-9375
2. Franco, T., e Hidalgo, R., (2003), En Análisis Estadístico de Datos de Caracterización Morfológica de Recursos Fitogenéticos. Boletín Técnico no. 8, Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), Cali, Colombia, 89 pp.
3. Joseau, M.J. Díaz, M.d.P., Julio, N.B., Verga A.R. (2007). Caracterización morfológica y genética de poblaciones del género *Prosopis* del Chaco semiárido del norte de Córdoba y sur de Santiago del Estero. Ciencia e Investigación Forestal-Instituto Forestal/Chile. Volumen 13, número 3. 2007. 427-448.

ANÁLISIS PARAMÉTRICO DE MELANINA DERIVADA DE CÁSCARA DE NUEZ

Osvaldo Ramos Espinoza¹, Elizabeth Quintana Rodríguez³, Rafael Uzarraga Salazar² y Domancar Orona Tamayo^{3*}

¹ Instituto Tecnológico Superior de Purísima del Rincón-ITSPR, ² Universidad Veracruzana-UV, ³ Centro de innovación Aplicada en Tecnologías Competitivas-CIATEC A.C.

*dorona@ciatec.mx

RESUMEN

Muchos de los procesos agroindustriales generan diferentes subproductos o residuos que pueden derivar en problemas de hacinación, incremento de roedores, insectos plaga y microorganismos indeseados, así como quemaduras de esquilmos que producen grandes cantidades de CO₂ que pueden generar diversos problemas ambientales y de salud. Sin embargo, estos materiales son ricas fuentes de compuestos bioactivos como son compuestos fenólicos y pigmentos útiles en diferentes industrias. Los pigmentos presentan un papel importante en los aditivos alimenticios y cosméticos, su demanda en los últimos años ha ido en crecimiento ya que existe un interés creciente por colorantes derivados de fuentes naturales como alternativa natural frente a los colorantes sintéticos. Un pigmento de alto interés es la melanina de color marrón oscuro o negro con un alto peso molecular formado por la polimerización oxidativa de los grupos fenoles e indoles en plantas, animales y microorganismos. El amplio espectro de actividades biológicas que posee la melanina incluyen la protección contra la radiación UV, lisis enzimática, antioxidantes, antimicrobiana y capacidad de quelación de metales. En este trabajo evaluamos diferentes parámetros de actividad in vitro para la melanina extraída de cáscaras de nuez. Analizamos la capacidad antioxidante contra DPPH y ABTS, así como su capacidad de quelación a metales, estabilidad térmica y de radiación contra luz UV artificial y natural. La capacidad antioxidante de la melanina mostro un alto nivel antioxidante con valores de IC₅₀ de 30.05 ±0.4 µg/ml y 6.02 ±3.45 µg/m para DPPH y ABTS, respectivamente. Se encontró que la actividad de quelación de metales contra Fe⁺² presento un IC₅₀ de 0.03±5.8µg/ml. Por otro lado, la estabilidad térmica, radiación con luz UV artificial y natural mostraron una inestabilidad a temperaturas altas. Encontramos que el factor de protección solar del pigmento es muy bajo con respecto a cremas comerciales y no ofrece una protección contra la radiación UV, sin embargo, podemos tener en cuenta que el pigmento puede servir como un fuerte antioxidante y quelante en diferentes formulaciones de interés cosmético y alimenticio.

INTRODUCCIÓN

La utilización de colorantes dentro de la industria de alimentos como en la de cosméticos ha sido clave para su producción [19]. Debido a regulaciones legales y demanda del consumidor hoy en día existe un interés creciente por colorantes derivados de fuentes naturales como alternativa frente a los colorantes sintéticos quienes a menudo son percibidos como nocivos o dañinos para la salud [1]. Los pigmentos presentan un papel importante en los aditivos cosméticos y su demanda en los últimos años ha ido en crecimiento notable. Normalmente los productos derivados de fuentes naturales son considerados seguros en comparación de los productos sintéticos en términos de valor nutricional y efectos terapéuticos [25].

El aprovechamiento de los residuos agroindustriales permite obtener por medio de procesos ecoamigables materias primas con alto valor agregado, que son primordiales para la producción industrial de productos con interés económico y social. Uno de estos productos con un valor agregado es la melanina derivada de cáscaras de nuez. La melanina es un pigmento natural de color marrón oscuro o negro con un alto peso molecular formado por la polimerización oxidativa de los grupos fenoles e indoles en plantas, animales y microorganismos [12]. Este pigmento posee un amplio espectro de actividades biológicas que incluyen la protección contra la radiación UV, lisis enzimática, antioxidantes, y capacidad para quelar iones metálicos [12][9][3].

La mayoría de los cánceres de piel suceden en las áreas del cuerpo que se exhiben con mayor frecuencia al sol, como la cara, el cuello, la cabeza y manos [5]. Los efectos nocivos para la piel por la radiación solar son causados principalmente por la luz ultravioleta (UV). Las personas son conscientes de los posibles riesgos del foto-envejecimiento y el cáncer de piel que ocurren como

resultado de la sobreexposición al sol. Cada año, cerca de un millón de personas son diagnosticadas con cáncer de piel y aproximadamente 10,000 mueren por este melanoma [23].

Debido a estos hechos, las sustancias protectoras solares son humectantes, cremas, lociones, champús, y preparaciones para la piel [13]. La aplicación constante de estas sustancias protectoras solares genera un efecto positivo en la reducción de los daños provocados por la radiación ultravioleta. Sin embargo, es necesario que la formulación cosmética del protector solar sea muy eficiente [11].

Por lo tanto, este trabajo tiene como objetivo evaluar los parámetros de actividad *in vitro* y fisicoquímicas de la melanina derivada de residuos de cáscaras de nuez contra los oxidantes DPPH y ABTS. Así como analizar la actividad de quelación de metales contra radicales de hierro. Además, de las propiedades de solubilidad en diferentes solventes orgánicos e inorgánicos, su capacidad de protección solar y por último la estabilidad de la melanina a la luz UV natural y artificial. Determinar estas propiedades del pigmento podrían ser utilizadas en diferentes industrias de interés cosmético, alimenticio y farmacéutico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de melanina derivada de cáscara de nuez

El método de obtención de la melanina de la cáscara de nuez empleado fue descrito por Sava y col [22]; Wang y col [28]. La cáscara fue lavada con agua corriente sumergiéndola en agua 25 °C (1:10) añadiéndole NH₃·H₂O para ajustar el pH a 10.5 (10g/100g) hasta una concentración final de 2g/100g. Posteriormente fue incubada a temperatura ambiente (24h). La mezcla fue filtrada y el filtrado fue ajustado a un pH de 2.5 con 2M HCl y de nuevo fue filtrada para la obtención de la melanina cruda.

Obtención de melanina purificada

La melanina cruda fue hidrolizada con 7 M HCl durante 6 h a 100°C, los residuos que no fueron hidrolizados se centrifugaron a 10 000 rpm por 10 min y se resuspendió en 10% NH₃·H₂O, secuencialmente se realizaron tres lavados con cloroformo y acetato de etilo. La fase acuosa fue acidificada con 1M de HCl y el residuo filtrado se lavó con agua.

El residuo (materia sólida) fue nuevamente disuelto en 1M NH₃·H₂O y filtrado. El sobrenadante fue acidificado con 1M HCl y el residuo filtrado fue lavado con H₂O para la obtención de la melanina purificada.

Actividad antioxidante

Actividad antiradical contra DPPH

La actividad antioxidante de la melanina de nuez fue medida utilizando el método descrito por Chen y col. [4] con modificaciones. Se preparó una solución de DPPH 180 µM en metanol 80%. Se tomaron 500 µl de melanina (2 mg/ml en NaOH 1 N) a diferentes concentraciones (0.1-160 µg/ml) y fueron mezcladas con 1 ml de DPPH y 1 ml de metanol 80%. La mezcla se agitó vigorosamente en vortex y después se mantuvieron 30 min en oscuridad. Se realizaron lecturas a 517 nm con el volumen total en celda cuarzo de los 2.5 ml de la mezcla. Los ensayos fueron analizados por triplicado.

La capacidad de eliminación del radical DPPH fue calculada utilizando la siguiente ecuación:

$$\%I = [1 - (A_i - A_j)/A_c] \times 100$$

Donde *A_c* (C2) es la absorbancia del DPPH sin la muestra (1 ml de DPPH + 1.5 ml de metanol 80%), *A_i* es la absorbancia de la muestra ensayada (500 µl melanina de nuez + 1 ml DPPH 1 ml metanol 80%), *A_j* (C1, menor y mayor concentración, 0.1-160 µg/ml) es la absorbancia de la muestra sin DPPH (500 µl melanina de nuez + 2 ml de metanol 80%).

Actividad antiradical contra ABTS

La actividad antioxidante de la melanina de nuez fue medida utilizando el método descrito por Chen y col. [4] con algunas modificaciones. La solución stock ABTS se preparó a través de una reacción de oxidación química con persulfato de amonio (APS). Las soluciones de ABTS (7 mM, 9 ml) y APS (2.45 mM, 45 ml) fueron disueltas en agua y después mezcladas para posteriormente incubarlas por

16 h a 25 °C en oscuridad antes de su uso. La concentración de la solución radical ABTS se ajustó con metanol (100%) a una absorbancia de 0.700 ± 0.02 y lectura a 734 nm. Se tomaron 500 μ l de la melanina de nuez (2 mg/ml en NaOH 1 N) a diferentes concentraciones (0.1-160 μ g/ml) fueron mezclados con 1 ml de ABTS y 1 ml de metanol 80%. La mezcla fue agitada en vortex y mantenida 6 min en oscuridad. Se realizaron lecturas a 734 nm. Los ensayos fueron analizados por triplicado.

La capacidad de eliminación del radical ABTS fue calculada utilizando la siguiente ecuación:

$$\%I = [1 - (A_i - A_j)/A_c] \times 100$$

Donde A_c (C2) es la absorbancia del ABTS sin la muestra (1 ml de ABTS + 1.5 ml de metanol 80%), A_i es la absorbancia de la muestra ensayada (500 μ l melanina de nuez + 1 ml ABTS 1 ml metanol 80%), A_j (C1, menor y mayor concentración, 0.1-160 μ g/ml) es la absorbancia de la muestra sin ABTS (500 μ l melanina de nuez + 2 ml de metanol 80%).

Actividad de quelación

La quelación de iones ferrosos por los pigmentos de melanina de nuez y EDTA fue basada con el método modificado de Dinis y col. [6]. Se tomaron alícuotas de 1 ml de la melanina de nuez (2 mg/ml en NaOH 1 N) a diferentes concentraciones (0.1-160 μ g/ml), fueron mezclados con de FeCl₂ 2 mM (500 μ l). La reacción se inició con la adición de 5 mM de ferrozina (1 ml), la mezcla se agito vigorosamente y se dejó reposar 10 min a temperatura ambiente. La lectura se realizó a 562 nm y realizados por triplicado.

La inhibición del pigmento de melanina de nuez sobre la actividad de quelación de metales se calculó en porcentaje con la siguiente ecuación:

$$\%I = [1 - (A_i - A_j)/A_c] \times 100$$

Donde A_c (C2) es la absorbancia de FeCl₂ sin la muestra (1 ml de FeCl₂ + 1.5 ml de ferrozina 5mM), A_i es la absorbancia de la muestra ensayada (1 ml melanina de nuez + 1 ml de ferrozina + 500 μ l de FeCl₂), A_j (C1, menor y mayor concentración, 0.1-160 μ g/ml) es la absorbancia de la muestra sin FeCl₂ (1ml melanina de nuez + 1.5 ml de ferrozina 5mM). Los controles contenían FeCl₂ y ferrozina. Se utilizó EDTA en comparación.

Ensayo de solubilidad

La medición del porcentaje de solubilidad del pigmento en distintos solventes fue descrita Roy y Rhim [21] con algunas modificaciones. Se añadieron 10 mg de melanina de nuez a 1 ml de cada solvente (agua, NaOH 1 N, Na₂CO₃ 1 N, y solventes orgánicos comunes; como benceno, cloroformo, acetato de etilo, etanol, metanol, ácido acético, éter, éter de petróleo, hexano y acetona) bajo agitación durante 1 h a 30°C, posteriormente se procedió a centrifugar a 10,000 rpm durante 10 min. El pellet obtenido fue secado en estufa a 60°C por 24h.

El porcentaje de solubilidad fue calculado utilizando la siguiente ecuación:

$$\%Solubilidad = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \times 100$$

Donde W1 es el peso de la muestra inicial y W2 es el peso de la muestra seca que no solubilizada.

Estabilidad fisicoquímica de la melanina

Efecto de la Temperatura

Para el ensayo de estabilidad a la temperatura, se utilizó el método modificado de Wang y col., [28]. A partir de una solución de melanina a una concentración de 2 mg/ml fue sometida a un tratamiento térmico de 25, 37, 50 y 100 °C durante 3 h tomando mediciones cada hora. Las muestras fueron enfriadas en un baño de hielo antes de realizar la lectura a longitud de absorción máxima en el espectro UV-Vis (λ_{max}) de la melanina.

Efecto del pH.

Muestras de melanina a concentraciones de 2 mg/ml fueron ajustadas a pH de 3, 4, 8, 9,10 y 12 con NaOH o HCl. Las muestras se mantuvieron a una temperatura constante de 25 °C por 30 min, posterior a este tiempo, las soluciones fueron analizadas en un espectrofotómetro UV con un barrido de 190-220 nm.

Efecto de la Luz.

La solución de melanina (2mg/ml) se mantuvo bajo luz natural, oscuridad y UV por 30 días con toma de muestras cada 10 días y analizadas con un espectrofotómetro UV a la λ_{max} .

Determinación in vitro del FPS (Factor protección solar)

La determinación del factor de protección solar del pigmento de melanina se realizó de acuerdo a lo descrito por Kedor-Hackmann y col. [11]. Para ello y con la finalidad de obtener muestras diluidas de 0.2 mg/ml se pesaron 1 g de cada crema fotoprotectora comercial (pharmalife y Dr. Simi), pigmento de melanina y ZnO como referente de comparacion por sus propiedades de proteccion solar,. los cuales fueron disueltos en 50 ml de etanol en agitacion durante 5 min, seguido de un filtrado con algodón. Se tomaron alicuotas de 5 ml de cada muestra y fueron disueltas con etanol a un volumen final de 25 ml. Posteriormente, una alícuota de 5 mL de la última dilución fue transferida y aforada con etanol a un matraz de 25 mL, hasta una concentración de 0.2 mg/ml. Los productos de FPS deben tener un amplio rango de absorbancia para la región UV, por ello los espectros de absorcion de las muestras en solucion fueron obtenidas en el rango de la misma región que va de los 200- 400 nm empleando celdas de cuarzo y etanol como blanco. Los datos obtenidos se obtuvieron en el rango de 290- 320, cada 5 nm con 3 determinaciones en cada punto. El factor de proteccion solar fue determinado de acuerdo a la siguiente ecuación Mansur y col. [14].

$$SPF_{SPECTROPHOTOMETRIC} = CF \times \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda)$$

Donde *EE* es el espectro del efecto eritemal; *I* es la intensidad espectral solar; *Abs* es la absorbancia de la muestra y *CF* es un factor de corrección (=10) previamente determinado por Mansur y col. [14]. Los valores de *EE*(λ) \times *I*(λ) son constantes determinados por Sayre y col. [20] mostrados en la tabla 1.

Tabla 1. Constantes determinadas determinados por Sayre y col. para el cálculo de FPS.

Longitud (λ nm)	290	295	300	305	310	315	320	Total
EExI	0.015	0.0817	0.2874	0.3278	0.1864	0.0839	0.018	1

EE : Es el espectro del efecto de eritemal.

I : es la intensidad espectral solar.

Análisis estadístico

Todos los experimentos se realizaron por triplicado. Los resultados fueron expresados como promedios de los valores obtenidos, \pm es la desviación estándar y fueron analizados usando el análisis univariado de varianza (ANOVA) y prueba Tukey. Los análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando el programa Minitab 17.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Actividad antioxidante

El 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) y el ácido 2,2'-azino- bis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico (ABTS) son radicales libres estables muy utilizados para medir la capacidad antioxidante de diferentes

compuestos bioactivos [17]. El DPPH muestra una absorbancia máxima a 517 nm y el ABTS a los 734 nm, cuando los radicales localizan una especie donante de protones como lo es un antioxidante los radicales serán eliminados y las absorbancias disminuirán en ambas especies oxidantes analizadas [8]. Los radicales libres quienes son causantes de mecanismos de lesión y muerte celular [26] y es por ello que se buscan nuevos compuestos bioactivos con una alta capacidad antioxidante. La capacidad de eliminación de radicales de la melanina de nuez fue medida contra los radicales oxidantes DPPH (Figura 2) y ABTS (Figura 1) mostrando un alto nivel antioxidante, cuyos valores IC_{50} fueron de $30.05 \pm 0.4 \mu\text{g/ml}$ y $6.02 \pm 3.45 \mu\text{g/ml}$, respectivamente correspondientes al 50%, estableciendo un mayor efecto antioxidante del pigmento de melanina contra el radical ABTS. Se ha reportado que la melanina derivada de semillas de girasol tiene una capacidad antioxidante del 87% ($544.3 \mu\text{g/ml}$) [10], y de 1000 mg/l para obtener una inhibición antioxidante del 9.8% [19]. Estos son valores inferiores a los que reportamos en este trabajo. Estos resultados determinan la posible utilización de la melanina de nuez como fuerte antioxidante en formulaciones de utilidad cosmética y alimenticia.

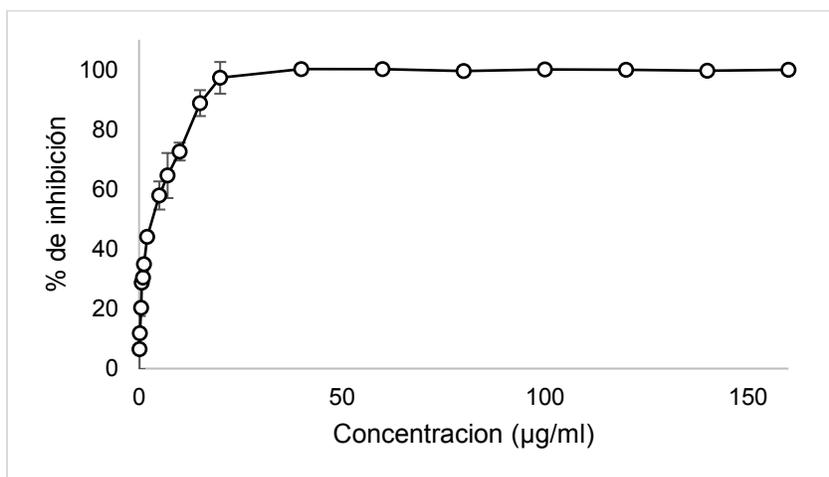


Figura 1. Capacidad antioxidante de la melanina sobre ABTS.

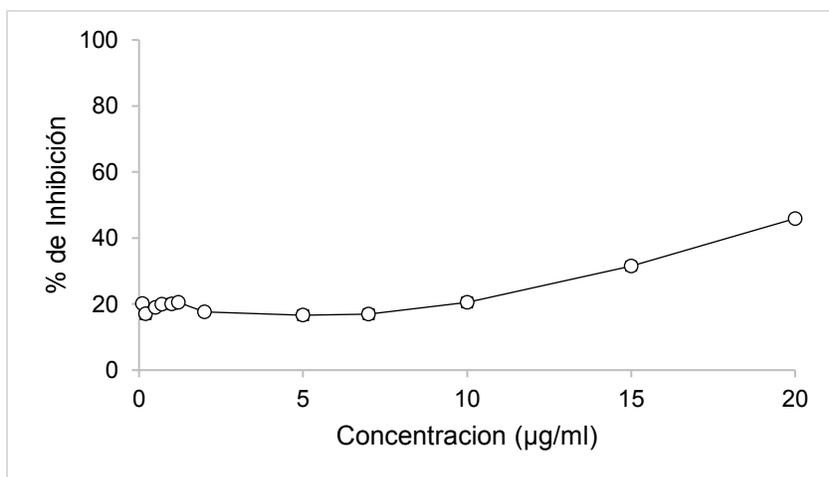


Figura 2. Capacidad antioxidante de la melanina sobre DPPH.

Actividad de quelación

Muchas de las enfermedades más antiguas para el hombre son debido a la intoxicación por metales pesados [7] que derivan en una gran variedad de efectos adversos sobre la salud, incluyendo el

cáncer. Cuando se genera una intoxicación por un metal, por ejemplo, el plomo, el quelante de primera elección suele ser el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) quien se une al plomo para la formación de un compuesto altamente estable, soluble y no ionizado, y así ser excretado fácilmente por la orina por filtración glomerular [18].

La quelación de iones ferrosos por los pigmentos de melanina de nuez y EDTA (Figura 3) presentaron un IC_{50} de $0.03 \pm 5.8 \mu\text{g/ml}$ para el pigmento siendo notablemente superior al del EDTA quien presento un IC_{50} de $24.03 \pm 3.4 \mu\text{g/ml}$. Cuando una especie presenta una buena actividad antioxidante esta puede servir como un indicador significativo para la actividad quelante [15]. Un estudio de la quelación de metales de *Cinnamomum burmannii* (CBM) y *Osmanthus fragrans* (OFM) reportaron que el IC_{50} requerido para CBM oscila entre 0.20 a 0.25 mg/ml, para OFM oscila entre 0.25 a 0.35 mg/ml [8]; valores destacablemente inferiores a los encontrados en este trabajo. Un estudio presentado por Panchanathan y col. [20] presentó valores de quelación de metales con un IC_{50} que oscila entre 1 a 1.5 mg/ml, siendo hasta 40 veces mayor con respecto a nuestros datos.

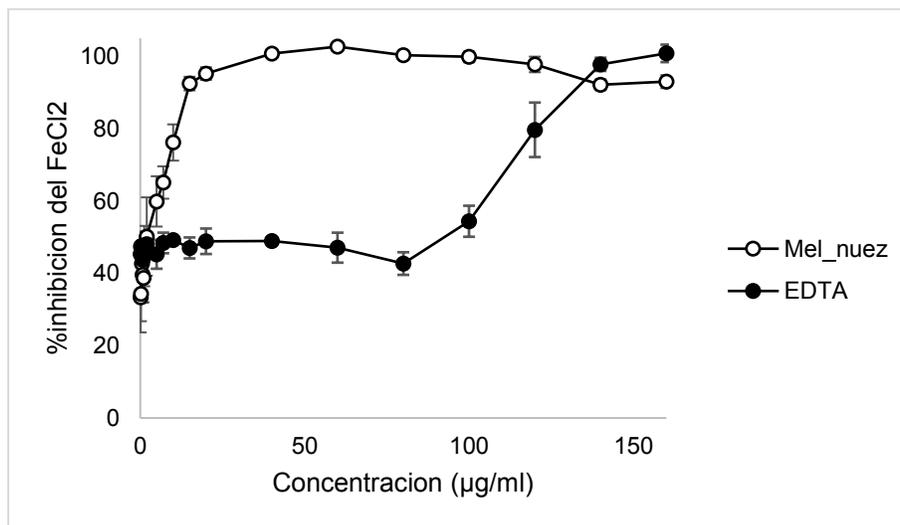


Figura 3. Inhibición de la Melanina (A) y EDTA (B) sobre la actividad quelante de metales.

Solubilidad

La medición del porcentaje de solubilidad del pigmento en distintos solventes mostro que la melanina de nuez es poco soluble en solventes orgánicos como por ejemplo etanol, cloroformo y metanol, pero soluble en alcalinos ($29.66 \pm 5.27\%$ NaOH y $16.15 \pm 4.43\%$ Na_2CO_3) y en agua ($32.63 \pm 10.77\%$) ($P > 0.05$). Los resultados obtenidos cuantitativamente difieren a los obtenidos de manera cualitativa, ya que la solubilidad observada visualmente en NaOH fue superior, sin embargo, el resultado en porcentaje para el hidróxido de sodio no fue el esperado, esto posiblemente a los cristales de la sal que quedaron después del proceso de secado (Tabla 2). El mayor porcentaje de solubilidad se presentó en el agua. Estos resultados son similares a los encontrados por Wang y col. [28]. Sin embargo, ellos obtuvieron una ligera solubilidad en el agua, que a diferencia de nosotros tenemos la mayor solubilidad en esta, así mismo se corrobora una buena solubilidad en NaOH y ligera en Na_2CO_3 . Además la solubilidad en solventes orgánicos es congruente a lo reportada por ellos. En otro estudio llevado a cabo por Yong-Yang y col. [29], se indicó que la melanina era insoluble en agua y solventes orgánicos, difiriendo a nuestro resultado de solubilidad en agua. Conjuntamente al estudio se señala que la mayor solubilidad se presenta en el NaOH caliente. Esto último comparte la posible hipótesis, ya que los ensayos de temperatura han sido ampliamente concentrados por el calentamiento de la solución de NaOH en que se ensaya la melanina de nuez [29].

Tabla 2. Solubilidad de melanina de nuez.

Solvente	Solubilidad (%)
Agua	32.63±10.77 ^a
NaOH 0.1N	29.66±5.27 ^a
Na ₂ CO ₃ 0.1N	16.15±4.43 ^b
Benceno	7.36±1.92 ^{b,c}
Hexano	3.29±0.44 ^{b,c}
Metanol	11.6±1.01 ^{b,c}
Etanol	12.52±0.70 ^{b,c}
Éter de petróleo	6.12±2.28 ^{b,c}
Cloroformo	12.01±0.69 ^{b,c}
Acetato de etilo	9.31±3.35 ^{b,c}
Acetona	9.69±2.33 ^{b,c}
Ácido Acético	7.81±1.09 ^c

Espectros UV-VIS

El barrido espectral UV-Vis del pigmento de melanina se analizó con una concentración de 2 mg/ml en el intervalo de longitud de 200 a 800 nm. Como se puede observar en la Figura 5, el espectro UV-Vis del pigmento de melanina exhibió un pico máximo de absorción de 4.287 a una longitud de onda de 290 nm. Considerándose como el punto de absorción máxima (λ_{max}). Este resultado es similar al estudio de Zhao y col. [30], donde indican que la longitud de onda del pico de absorción máxima fue de 292 nm para melanina de cáscaras de girasol y que la concentración de melanina se correlacionaron positivamente a esta longitud. Por otro lado, el espectro de absorción de OFM muestra un pico típico a 205.0 nm y CBM muestra un pico típico a 278.0 nm en la región ultravioleta [8]. Con estos análisis se concluye que el pigmento es una melanina similar a las encontradas en otras semillas.

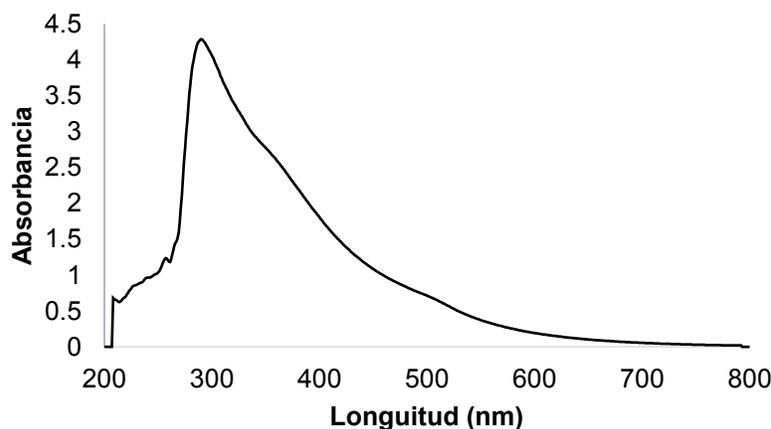


Figura 5. Espectros UV-VIS de melanina de nuez

Espectros IR

La espectroscopia infrarroja (IR) permite la caracterización de grupos funcionales gracias a la presencia de un enlace o la deformación del mismo. En la Figura 6, se muestra el espectro IR de la melanina extraída de la cáscara de nuez en comparación con la melanina comercial. Se puede visualizar la absorbancia de luz infrarroja en el eje vertical en función de la frecuencia y la longitud de onda en el eje horizontal que se presentan en cada una de las muestras. Este resultado presenta que la melanina de cáscara de nuez tiene similitud a la melanina comercial. Un análisis detallado de los grupos funcionales de la estructura de la melanina de nuez (a) y la melanina comercial (b) (Tabla 3), mostraron estiramientos de los enlaces -OH o -NH en la región de onda 3348.18 cm^{-1} para (a) y 3197.14 cm^{-1} (b). El alargamiento del enlace del grupo funcional para hidrocarburos alifáticos C=O (cetonas, ésteres de ácidos carboxílicos) en la onda 1711.89 cm^{-1} para (b). El estiramiento a 1605.88 cm^{-1} para (a) y 1600.34 cm^{-1} (b) corresponde a los enlaces CH de los grupos CH_2 y CH_3 . Las deformaciones de C-N y N-H en amidas o alargamiento del enlace C-N del indol se presentan en 1514.72 cm^{-1} para (a). Los estiramientos C-O de grupos ácidos, ester y fenoles y del grupo acetilo de polisacáridos en 1200.97 cm^{-1} (a) y 1199.45 cm^{-1} (b). El estiramiento C-O de grupos ácidos, ester y fenoles y del grupo acetilo de polisacáridos se mostró en 1105.67 cm^{-1} (a). El alargamiento de enlace C-N a 1057.78 cm^{-1} . Estas características IR corresponden a la estructura típica de la melanina, estableciendo la similitud en la estructura de ambas melaninas evaluadas. Un estudio de la melanina de avena [27] comparte similitud en la estructura con la melanina de nuez, ya que se observan vibraciones del estiramiento del C-O del grupo fenólico -OH mostrándose en la longitud de onda de 1224 cm^{-1} , mientras que el pigmento de nuez lo muestra a 1200.97 cm^{-1} . La vibración de alquenos en se localizó a 1605.88 en la melanina de nuez, la cual es similar a la melanina comercial. Los anillos aromáticos presentan un estiramiento C-C a 1510 cm^{-1} , característico de los fenilos para la melanina sintética [15], similar a la melanina de nuez y de avena [27]. Estableciendo que las bandas características del OH de los grupos carboxílico y fenólico son identificados de manera oportuna en el espectro IR de melanina de nuez al igual que el de la melanina de avena [16].

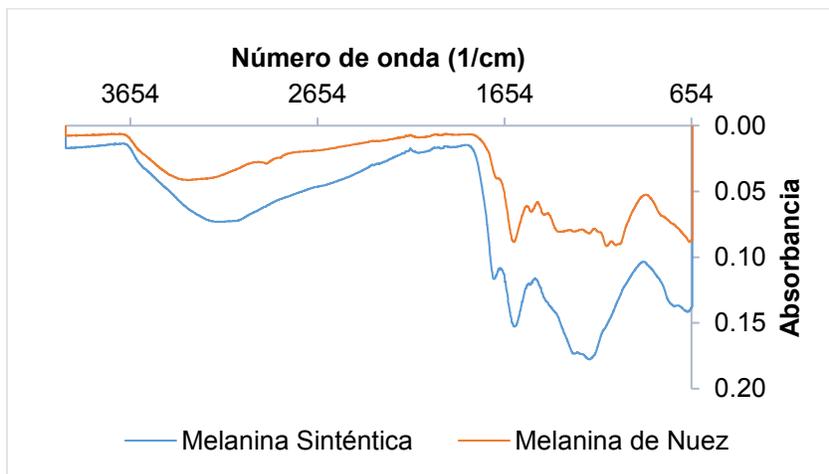


Figura 6. Espectro IR de melanina de nuez y melanina sintética.

Tabla 3. Comparación de grupos funcionales de melanina de nuez y sintética.

	Melanina Nuez (a)	Melanina Sintética (b)	Grupo Funcional
Número de Onda (cm ⁻¹)	3348.18	3197.14	Grupo O – H / N – H (3100-3300 cm ⁻¹)
		1711.89	Hidrocarburos alifáticos, alargamiento de enlace C = O
	1605.88	1600.34	Alquenos, vibración de enlaces C = C / C – H
	1514.72		Deformación de enlace N – H o alargamiento de enlace C – N en indol
	1200.97	1199.45	Alargamiento de enlace C – OH fenólico
	1105.67		Vibración en C – O
	1057.78		Alargamiento de enlace C – N

Estabilidad

Efecto de la temperatura en la estabilidad de la melanina de nuez

Para la evaluación del efecto de temperatura, se obtuvieron cambios en la estabilidad de la melanina con respecto al tiempo (Figura 8). Como se puede observar en la figura, cuando se aplica una temperatura de 100 °C con incubación por tres horas, se obtienen absorbancias que superan el umbral de medición, de manera similar, cuando se aplica una temperatura de 50 °C, a partir de las 2 h existió un incremento en la medición, en contraste a temperaturas entre 25 y 37 °C, encontramos una estabilidad con respecto al tiempo. Los resultados indican que, a mayor temperatura y tiempo, se obtiene inestabilidad del pigmento, no así a temperaturas menores. Esto puede deberse a que el pigmento de melanina puede degradarse a temperaturas mayores de 50 °C y al paso del tiempo puede presentar una degradación o rompimiento de grupos funcionales. Un estudio hecho por Wang y col. [28] difiere totalmente en los resultados que nosotros presentamos, ya que ellos presentan una estabilidad lineal en el efecto de la temperatura sobre la melanina de OFM, es decir, la melanina de OFM es estable a altas temperaturas. Otro estudio del análisis del efecto de la temperatura sobre el pigmento de melanina de *Actinoalloteichus* spp. [20] considera ser más estable que OFM de [28]. Se considera que la melanina es estable a temperaturas de 25 a 50°C [20][28].

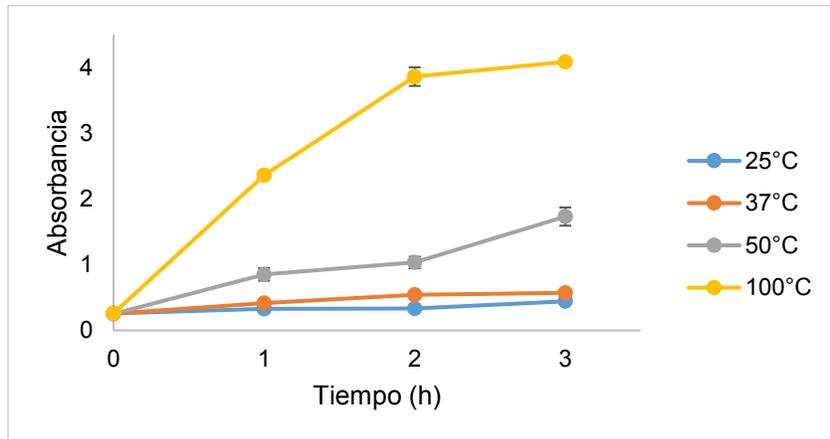


Figura 8. Estabilidad térmica de melanina con respecto al tiempo.

Efecto del pH en la estabilidad de la melanina de nuez

En la Figura 9 se muestran los valores del efecto de pH sobre la absorción del espectro de melanina en un barrido de 190 a 220 nm. Los resultados indicaron la sensibilidad de la melanina a diferentes valores de pH, siendo los pH alcalinos los más estables para el pigmento, ya que a pH ácidos presento una degradación. Se ha reportado que la melanina es estable solo entre rangos de pH 4–11 [28]. La estabilidad del pigmento a pH alcalinos se debe al factor influyente en la cual es soluble el pigmento de melanina (en NaOH), por lo tanto nuestros resultados son congruentes a los que han sido reportados [28][20].

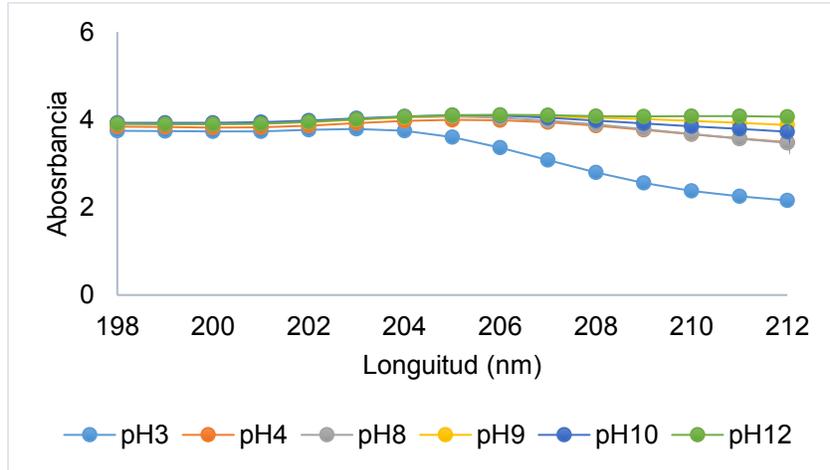


Figura 9. Efecto del pH en la estabilidad de la melanina de nuez

Efecto de la Luz en la estabilidad de la melanina de nuez

En la Figura 10 se muestran los valores del efecto de las distintas fuentes de luz (UV artificial, natural y oscuridad) sobre la absorción del espectro de melanina a una longitud máxima ($\lambda_{max} = 290 \text{ nm}$). Los valores obtenidos determinaron la inestabilidad en las fuentes de luz UV artificial y natural. El efecto de la luz natural presento una inestabilidad posiblemente por calentamiento que beneficio la solubilidad del pigmento en el solvente. Una ligera estabilidad se mostró en oscuridad. Al igual que en el efecto de la temperatura estos valores deben tomarse con cautela, ya que la absorbancia también excede el rango de la medición y, por lo tanto, puede haber una sobreestimación del pigmento. Por lo tanto, la combinación de radiación y calor podría llevar a que el pigmento no sea

estable a estas condiciones debido a una degradación de la molécula. Un estudio de Wang y col. [28] demostraron una estabilidad del pigmento de *Osmanthus fragrans* durante 15 días. Los resultados obtenidos en este estudio difieren en que la melanina de nuez tendría que ser estable ante el efecto de UV, puesto que el pigmento es reportado como protectores contra la luz ultravioleta [11].

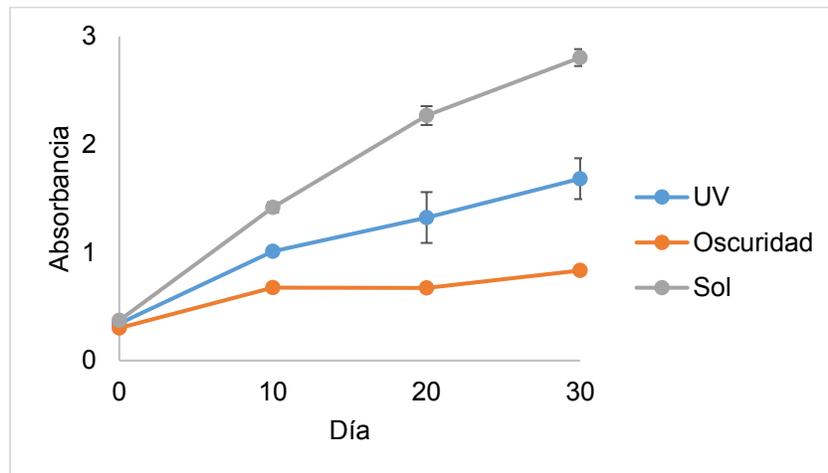


Figura 10. Estabilidad de melanina de nuez a diferentes fuentes de Luz.

FPS

Los datos obtenidos del factor de protección solar fueron determinados en muestras de melanina de nuez, 2 cremas comerciales (pharmalife y Dr. Simi), pigmento de melanina y ZnO como referente. Los valores de FPS obtenidos para los protectores solares comerciales fueron de 15.741 y 6.218 para Dr.simi y Pharmalife, respectivamente, difiriendo notablemente en el valor FPS declarado para su comercialización correspondiente a un FPS 50+. Por otro lado, el pigmento de melanina obtuvo un valor mayor frente al referente control de ZnO (0.605). La muestra analizada del pigmento de melanina de nuez presentó un factor protección solar in vitro de valores muy bajos, esto posiblemente a que la actividad de fotoprotección generada obedece a la capacidad de absorción de la radiación UV, es decir, es proporcional a la concentración y longitud donde se genera la absorción máxima para el analito, que es a 290 nm. Asimismo, es posible que los valores bajos sean restringidos a la región utilizada por el método de Sayre y col., (1979), ya que se ubica solo en la región UVB (290-320 nm) y no involucra así todo el rango UV (200-400 nm) el cual es importante para la eficacia de los productos de FPS en el amplio rango de UV. Un estudio de la elaboración de un FPS a partir de extractos de líquenes obtuvo valores bajos (0.16) iniciales de FPS, similares a los nuestros. Por lo tanto, se sugiere aumentar la concentración del pigmento.

Tabla 4. Factor de protección solar (FPS) (P>0.05)

Muestra	FPS promedio
ZnO	0.605±0.0021 ^a
Melanina	0.715±0.0033 ^b
Pharmalife	6.218±0.21 ^c
Dr.simi	15.741±0.0043 ^d

CONCLUSIÓN

Con base a los resultados obtenidos se ha determinado que el pigmento de melanina derivada de la cáscara de nuez ha presentado una alta capacidad antioxidante, así como una alta capacidad de quelación a metales de Fe⁺². Además, presenta similitud en su estructura con la melanina comercial

o sintética. Por otro lado, la solubilidad mostro que el pigmento es insoluble en solventes orgánicos, pero ligeramente soluble en alcalinos y agua. El espectro UV-Vis del pigmento de melanina exhibió un pico de absorción máxima a longitud de onda de 290 nm, similar a los obtenidos con melaninas naturales y sintéticas. Por otro lado, se denoto una inestabilidad de la melanina a temperaturas altas y a fuentes de luz UV; mientras que, frente al pH, mostro una estabilidad a pH alcalinos. Los valores obtenidos en el factor de protección solar determinaron que el pigmento de melanina tiene poco efecto protector contra los rayos UV. Sin embargo, podemos tener en cuenta que el pigmento puede servir como un fuerte antioxidante y quelante.

REFERENCIAS

1. Assous, M., Abdel-Hady, M., y Medany, G. (2014). Evaluation of red pigment extracted from purple carrots and its utilization as antioxidant and natural food colorants. *Annals of Agricultural Science*, 1-7.
2. Barragán-Novoa, N. (2018). Elaboración de una crema bloqueadora a partir del extracto metanólico del liquen. Ibagué: Universidad de Ibagué.
3. Casadevall, A., Rosas, A. L., y Nosanchuk, J. D.. (2000). Melanin and virulence in *Cryptococcus neoformans*. *Current Opinion in Microbiology*, 354-358.
4. Chen, Y., Xie, M. Y., Nie, S. P., Li, C., y Wang, Y. X. (2008). Purification, composition analysis and antioxidant activity of a polysaccharide from the fruiting bodies of *Ganoderma atrum*. *Food Chemistry*, 231-241.
5. Díaz, E., Castillo-Menéndez, M. D., Sabatés-Martínez, M., Cubrelo-Alonso, M. I., y Ramos-Viera, N. (2005). Radiación Ultravioleta. Fotoenvejecimiento cutáneo. *Revista Electrónica de las Ciencias Médicas de Cienfuegos*, 14-33.
6. Dinis, T., Madeira, V., y Almeida, L. (1994). Action of phenolic derivates (acetoaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 161-169.
7. Ferrer-Dufol, A. (2003). Metal poisoning. *Anales del sistema sanitario Navarra*, 141-153.
8. Huang, S., Yingming, P., Dianhua, G., Xilin, O., Shaoqing, T., Ekunwe, S. I., y Hengshan, W. (2010). Antioxidant activities and UV-protective properties of melanin from the berry of *Cinnamomum burmannii* *Osmanthus fragrans*. *Medicinal Chemistry Research*, 475-481.
9. Jacobson, E. S. (2000). Pathogenic roles for fungal melanin. *Clinical Microbiology Reviews*, 708-717.
10. Kartushina, Y. N., Nefedieva, E. E., Sevriukova, G. A., Gracheva, N. V., & Zheltobryukhov, V. F. (2017). Technological Desition of Extraction of Melanin from the Waste of Production of Sunflower-Seed Oil. *Earth and Environmental Science*, 1-7.
11. Kedor-Hackmann, E. R., E. Abreu-Dutra, D. A. Gonçalves da Costa-Oliveira, y M. A. Miritello-Santoro. «Determination of sun protection factor (SPF) of sunscreens by ultraviolet spectrophotometry.» *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 2004: 381-385.
12. Langfelder, K., Streibel, M., Jahn, B., Haase, G., y Brakhag, A. A. (2003). Biosynthesis of fungal Melanin and their importance for human pathogenic fungi. *Fungal Genetics and Biology*, 143-158.
13. López-Tricas, J. M. (18 de junio de 2019). Obtenido de Info-Farmacia: Info-Farmacia Sitio web: <http://www.info-farmacia.com/medico-farmaceuticos/informes-tecnicos/seguridad-de-los-filtros-solares-1>
14. Mansur, J. S., Breder, M. N., Mansur, M. C., y Azulay, R. D. (1986). Determinacion del factor de proteccion solar por espectrofotometria. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 121-124.
15. Meir, S., Kanner, J., Akiri, B., y Hadas, S. P. (1995). Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defense systems of various senescing leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1813-1815.
16. Mohan, J. (2002). *Organic Spectroscopy: Principles and Applications*. Alpha Science International.

17. Muñoz-Juárez, M. A., y Gutiérrez, D. M. (2008). Determinación de actividad antioxidante de diversas partes del árbol. Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, 1-4.
18. Nogué-Xarau., S. (2018). Utilización del EDTA y otros quelantes en la intoxicación por plomo. Boletín de Antídotos de Cataluña, 1-7.
19. Önder, Ö., y Yüksel, K. (2018). Extraction, purification, antioxidant properties and stability conditions of phytomelanin pigment on the sunflower seeds. International Journal of Secondary Metabolite, 140-148.
20. Panchanathan, M., Jayachandran, V., Kalimuthu, S., Kannan, S., & Se-Kwon, K. (2013). Isolation and characterization of biologically active melanin from *Actinoalloteichus* sp. MA-32. International Journal of Biological Macromolecules, 263-274.
21. Roy, S., y Rhim, J. W. (2019). Carrageenan-based antimicrobial bionanocomposite films incorporated with ZnO nanoparticles stabilized by melanin. Food Hydrocolloids, 500-507.
22. Sava, V., Galkin, B., Hong, M. Y., Yang, P. C., y Huang, G. S. (2001). A novel melanin-like pigment derived from black tea leaves with immuno-stimulating activity. Food Research International, 337-343.
23. Sax, B. W. (200). Educating Consumers about sun protection. Pharmacological Reviews., 48-50
24. Sayre, R. M., Agin, P. P., Levee, G. J., y Marlowe, E. (1979). Comparison of in vivo and in vitro testing of suncreening formulas. Photochemistry and Photobiology, 559-566.
25. Shujing, S., Zhang, X., Sun, S., Zhang, L., Shan, S., y Zhu, H. (2015). Production of natural melanin by *Auricularia auricula* and study on its molecular structure. Food Chemistry, 801-807.
26. Slater, T. F. (1987). Free radical mechanism in tissue injuries. Biochemical journal, 1-9.
27. Vargaa, M., Berkesi, O., Darula, Z., May, N. V., & Palágyi, A. (2016). Structural Characterization of Allomelanin from Black Oat. Phytochemistry, 313-320.
28. Wang, H., Yingming , P., Xujie , T., y Zhiqing , H. (2005). Isolation and characterization of melanin from. LWT-Food Science, 496-502.
29. Yong-gang , T., Ya-zhen, S., Ying-gang, T., Ming-yong, X., y Jie , C. (2009). Physicochemical characterisation and antioxidant activity of melanin from the muscles of Taihe Black-bone silky fowl (*Gallus gallus domesticus* Brisson). Food Chemistry, 1345-1350.
30. Zhao, P., Wang, Y., Wei, M., Guo, T., Zhang , Y., Qi, W., . . . Lin, Y. (2012). Study on extraction, identification and antioxidant activity of melanin of sunflower seed shell. Science and Technology of Food Industry.

RENDIMIENTO DE FRIJOL (*PHASEOLUS VULGARIS* L.) EN SUELOS BIORREMEDIADOS DEL VALLE DEL GUADIANA, DURANGO

Ixchel Abby Ortiz-Sánchez, Sonia Valdez-Ortega*, Erika Cecilia Gamero-Posada, Oscar Gilberto Alaniz Villanueva, Yolanda Torres López y Jesús Armando García Chávez

Tecnológico Nacional de México campus Valle del Guadiana

* sonia.vo@vguadiana.tecnm.mx

RESUMEN

La producción de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) en el estado de Durango, es una de las actividades económicas y sociales más importantes; sin embargo, se ve afectada por la calidad del suelo debido a su ubicación geográfica, microclima y tipo de relieve; la erosión eólica, degradación física, degradación química, explotación y manejo de monocultivos son las afectaciones más importantes que en conjunto ocasiona una disminución de fertilidad de suelo hasta 17.4 %. Una disminución de fertilidad repercute en bajos rendimientos en los cultivos y calidad de sus productos, lo que conlleva un decremento en el valor económico de las cosechas. Esto es debido al empobrecimiento de las características físicas, químicas y microbiológicas del suelo. Ante esta problemática, la remediación biológica de suelos es propuesta como una alternativa de solución donde la incorporación de desechos orgánicos permite aumentar las condiciones productivas del suelo y al mismo tiempo, aumentar la producción y calidad de los cultivos. El objetivo de la presente investigación fue evaluar el rendimiento del cultivo de frijol pinto saltillo producido en suelos previamente tratados bajo diferentes manejos de biorremediación. Este proceso consistió en la aplicación directa al suelo de yeso agrícola, estiércol de vaca, lodos residuales, té de estiércol y testigo (suelo degradado), para posteriormente establecer el cultivo. El cultivo se desarrolló bajo un manejo de temporal, dado que no se aplicó riego de forma inducida. La variable dependiente fue el rendimiento de frijol (ton ha^{-1}). Los resultados fueron analizados mediante la prueba de ANOVA, la cual indicó la existencia de diferencia estadística entre los tratamientos. El rendimiento más alto se obtuvo donde se aplicó lodos residuales al suelo, obteniendo 3.85 ton ha^{-1} de frijol; en contraparte, donde se aplicó estiércol se obtuvo un rendimiento de 1.58 ton ha^{-1} el cual fue el más bajo. Los tratamientos con yeso agrícola y té de estiércol, resultaron con rendimientos de 2.15 y 2.86 ton ha^{-1} respectivamente. El uso de lodos residuales libre de sustancias tóxicas es una alternativa sustentable, ya que puede someterse al proceso de compostaje y ser usados para mejorar la calidad del suelo y como fertilizante por su elevado contenido de materia orgánica, macro y micro nutrientes, lo que promueve un aumento en la productividad de los cultivos en suelos degradados. Los resultados encontrados son alentadores al tener como referente que la producción de frijol en el municipio de Durango en época de temporal, alcanza una producción máxima de 0.5 ton ha^{-1} . No obstante, ante la necesidad de seguir buscando alternativas que mejoren la producción agrícola, es recomendable probar diferentes dosis de los materiales utilizados en la biorremediación de suelos en esta investigación, que permitan el incremento de la productividad y calidad de los cultivos básicos.

INTRODUCCION

La producción de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es una de las actividades económicas y sociales más importantes en el estado de Durango (Estrada, 2018) ya que es una fuente importante de mano de obra y de ingreso, así como una garantía de seguridad alimentaria vía autoconsumo (FIRA, 2020). En esta entidad, la superficie promedio anual sembrada con frijol durante el periodo 2014 a 2018 fue de 246 mil hectáreas, con una producción promedio anual de 131 mil toneladas de grano (INFOSIAP, 2019). En el mismo periodo, el rendimiento medio obtenido en temporal fue de 550 kg ha^{-1} y las clases comerciales de grano más populares para la siembra son: pinto, negro y flor de mayo. Uno de los factores que limitan la producción del cultivo es la calidad del suelo. Durango es una de las entidades más afectadas debido a su ubicación geográfica, microclima y tipo de relieve; es mayormente afectado por la erosión eólica (17.9 %), degradación física (52.2%) y degradación química lo cual ocasiona una disminución de fertilidad de suelo hasta el 17.4 %. Al existir una disminución de fertilidad ocasiona baja producción en los cultivos y/o calidad de los productos, esto

debido al empobrecimiento de las características físicas, químicas y microbiológicas del suelo. Ante esta problemática la remediación biológica es una alternativa de solución en donde las actividades metabólicas de ciertos organismos permiten la degradación, transformación o remoción de los contaminantes a productos metabólicos inocuos (Volke y Velasco, 2002). Ante esta problemática, la remediación biológica de suelos es propuesta como alternativa de solución donde la incorporación de desechos orgánicos, como es el caso del estiércol de bovino y sus derivados y los lodos residuales. Trejo et al., (2013) mencionan que al aplicar el estiércol de Bovino cada año incrementa la materia orgánica del suelo hasta en un 189 y 180 % ; lo cual demuestra la bondad del estiércol convirtiéndose en una excelente alternativa para satisfacer la demanda nutrimental del cultivo. Respecto a los lodos residuales cuando no contienen sustancias tóxicas, pueden ser compostados y ser usados para mejorar la calidad de los suelos y fertilizante por su elevado contenido de materia orgánica, macro y micro nutrientes; esto promueve un aumento en la productividad de los cultivos, y estimulan la población microbiana para que impulse la degradación de contaminantes orgánicos (Martínez-Prado et al., 2011). Por tal motivo, el objetivo de este trabajo fue evaluar el rendimiento del cultivo de frijol pinto saltillo producido en suelos previamente tratados bajo diferentes manejos de biorremediación.

TEORIA

A nivel mundial se cultivan alrededor de 33.8 millones de hectáreas de frijol. De acuerdo con información de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), entre 2013 y 2017 la producción mundial de frijol creció a una tasa promedio anual de 5.9 por ciento, para ubicarse en 31.4 millones de toneladas. En México, el frijol es la cuarta especie más importante, con base en la superficie utilizada para su cultivo y se sitúa únicamente después del maíz, pastos y sorgo. En 2018, se sembraron con frijol 1.68 millones de hectáreas, las cuales fueron cultivadas principalmente en condiciones de temporal (secano). El estado de Durango es uno de los principales productores de frijol en México y en esta entidad se siembra anualmente 16% de la superficie nacional y se obtiene 12 % del frijol producido en nuestro país (INFOSIAP, 2019). En Durango, los suelos donde se cultiva frijol son delgados (poco profundos), arenosos y con valores bajos para la capacidad de retención de humedad, fertilidad y contenido de materia orgánica (Rosales y Flores, 2018). Con ello, se agravan los problemas causados por el estrés hídrico, se reduce el rendimiento y disminuye la calidad comercial del grano de frijol producido localmente. En los últimos años se ha detectado una alta pérdida de la fertilidad de los suelos. El incremento de degradación de los suelos representa un serio problema en detrimento de la base de recursos de tierras, de la calidad ambiental y de la misma productividad de las explotaciones agropecuarias. La incorporación de materia orgánica, es una de las recomendaciones agronómicas más importantes para el mejoramiento de la fertilidad y retención de humedad del suelo (Rosales et al., 2019). Actualmente el uso de desechos orgánicos es una alternativa sustentable, ya permite aumentar las condiciones productivas del suelo y al mismo tiempo aumentar la producción y calidad de los cultivos; tal es el caso del estiércol, té de estiércol y los lodos residuales. La aplicación de estiércol, en dosis estimada para cubrir el requerimiento de N del cultivo permite obtener rendimientos de materia seca iguales o mayores al uso de fertilizante químico; esto indica que es posible sustituir parcial o totalmente el fertilizante químico en el cultivo de maíz forrajero por estiércol o compost, sin afectar el rendimiento (Figueroa et al. 2010). El té de composta, solución resultante de la fermentación aeróbica de composta en agua, puede utilizarse como fertilizante, debido a que contiene nutrimentos solubles y microorganismos benéficos (Ingham, 2005). Recientemente se han realizado estudios que reportan que los lodos residuales que en México han significado un grave problema pueden ser reutilizados sin riesgos a la salud y al ambiente, demostrado que incrementan del 10 al 85% el rendimiento de los cultivos en relación con fertilizantes comunes, debido a que poseen un alto contenido de materia orgánica y nutrientes, los cuales pueden ser reciclados al ser aprovechados por las plantas, si son dispuestos adecuadamente en los suelos (Abad, 1998). Estos desechos podrían ser aprovechados después de ser sometidos a diversos procesos de estabilización, generando biosólidos que podrían aplicarse como fertilizante dependiendo de las características del suelo (Oropeza, 2006).

PARTE EXPERIMENTAL

Área de estudio.

El trabajo se realizó en ciclo agrícola verano-otoño 2019, en el campo agrícola del Tecnológico Nacional de México campus Instituto Tecnológico del Valle del Guadiana, ubicado en el kilómetro 22.5 de la carretera Durango-México Ejido Villa Montemorelos, Durango, Dgo.

Tratamientos y diseño experimental.

Los tratamientos de biorremediación de suelo se muestran en el Cuadro 1. Se utilizó un diseño de bloques al azar con 3 repeticiones por tratamiento. La variable dependiente fue rendimiento de frijol (ton ha^{-1}).

Cuadro 1. Tratamientos.

No.	Tratamiento	Descripción	Dosis
T1	Yeso agrícola	Químico	1 ton ha^{-1}
T2	Estiércol	Orgánico	6.5 ton ha^{-1}
T3	Lodo residual		5 ton ha^{-1}
T4	Te de estiércol		220 L ha^{-1}
T5	Testigo absoluto	Sin tratamiento	0

Manejo agronómico del cultivo.

Los tratamientos de biorremediación y el químico se aplicaron al suelo cinco meses antes de la siembra. La siembra del cultivo de frijol se realizó en julio, lo cual correspondió al ciclo primavera-verano de 2019. Se fertilizó de manera foliar a los 56 días después de la siembra (DDS) con la dosis 08-24-41.5 para nitrógeno (N), fósforo (P_2O_5) y potasio (K_2O). El control de la maleza se logró mediante dos escardas y una aplicación de herbicida (Flex Biw®). Se efectuó una aplicación de insecticida (IMILAND®) para el control del picudo de la vaina (*Apion* spp.). No se aplicaron riegos de manera manual, por lo que se manejó como cultivo de temporal. Se llevó a cabo un monitoreo durante cada una de las etapas fisiológicas del cultivo para verificar que el cultivo tuviera un desarrollo positivo. Las plantas estudiadas fueron cosechadas en madurez, se secaron al sol y se colocaron en bolsas de papel para su trilla manual. Posteriormente se determinó el rendimiento (ton ha^{-1}) con el peso de 100 semillas en cada repetición de tratamiento evaluado.

Análisis estadísticos.

Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA, $p \leq 0.05$). Se realizó la comparación de medias, con base en la prueba de Tukey ($\alpha \leq 0.05$). El análisis de varianza y la comparación de medias se obtuvieron con el programa de cómputo InfoStat®.

RESULTADOS

El análisis de varianza de los datos obtenidos de la evaluación del efecto de los tratamientos de biorremediación de suelo sobre el rendimiento del cultivo de frijol, mostró diferencia significativa ($p < 0.05$). En la Figura 1 se muestra la comparación de medias de los rendimientos del cultivo de frijol; donde el tratamiento orgánico a base de lodos residuales (T3) con un rendimiento de 3.85 ton ha^{-1} de frijol fue el de mayor rendimiento. Lo anterior se debe a que los lodos residuales aumenta el contenido de macronutrientes como es el nitrógeno, potasio y magnesio en los suelos y esto hace que aumente su fertilidad y productividad (Acosta, et al. 2012). Los tratamientos con yeso agrícola y té de estiércol, resultaron con rendimientos de 2.15 y 2.86 ton ha^{-1} respectivamente. El tratamiento donde se aplicó estiércol (T4) se obtuvo un rendimiento de 1.58 ton ha^{-1} el cual fue el más bajo. Los resultados son alentadores al tener como referente que la producción de frijol en el municipio de Durango en época de temporal, alcanza una media de producción de 0.5 ton ha^{-1} .

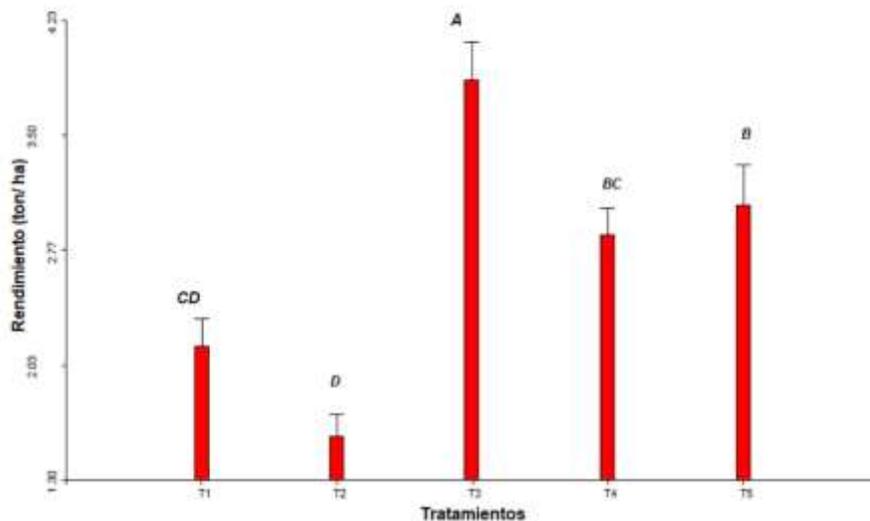


Figura 1. Comparación de medias de tratamientos.

†Medias con diferente letra indican diferencia significativa, con base en la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

CONCLUSIONES

Con esta investigación abre la posibilidad de utilizar la incorporación de desechos orgánicos al suelo como es el caso de los lodos residuales como una opción para sustituir los fertilizantes químicos que se aplican al cultivo de frijol para su nutrición. Los lodos residuales ya que es un material orgánico y rico en nutrientes, pueden ser utilizados para mejorar sus propiedades fisicoquímicas del suelo y consecuentemente su fertilidad y productividad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Abad, M. 1998. La gestión de los residuos orgánicos. pp. 27-37. En: F. Orozco PyW. Osorio (Eds.), Residuos Orgánicos. Aprovechamiento Agrícola como Abono y Sustrato. Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo. Comité Regional de Antioquia. Universidad Nacional de Colombia. Impresos Caribe, Ltda. Medellín, Colombia.
2. Acosta, Yudith, Zárraga, Anghie, Rodríguez, Lesdybeth, El Zauahre, Maziad Cambios en las propiedades fisicoquímicas en el proceso de compostaje de lodos residuales. *Multiciencias* [en línea]. 2012, 12, 18-24 [fecha de Consulta 3 de Junio de 2020]. ISSN: 1317-2255. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=90431109003>.
3. Estrada F., A. C. 2018. Rendimiento y calidad de grano en líneas mejoradas de frijol cultivadas en Durango. Tesis de Licenciatura. Instituto Tecnológico del Valle del Guadiana (ITVG). Villa Montemorelos, Dgo, Méx. 50 p.
4. Figueroa, V. U., Cueto, W. J., Delgado, A. J., Núñez, H. G., Reta, S. D., Quiroga, G. H., Faz, C. R., y Márquez, R. J. 2010. Estiércol de bovino lechero sobre el rendimiento y Recuperación aparente de nitrógeno en maíz forrajero, Revista Terra Latinoamericana. Volumen 28. Número 4 361-369 p.
5. FIRA (Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura). 2020. Panorama Agroalimentario. Frijol 2016. Consultado en línea 20/04/2020. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/200638/Panorama_Agroalimentario_Frijol_2016.pdf.

6. INFOSIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2019. Anuario estadístico de la producción agrícola. Documento consultado en línea. 23 de abril de 2020. http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/AvanceNacionalCultivo.do
7. INGHAM, R. E. 2005. The Compost Tea Brewing Manual. 5th Edition. Soil Foodweb Inc, Corvallis, Oregon. USA. 79 p.
8. Martínez-Prado A., Pérez-López M. E., Pinto-Espinoza J., Gurrola-Nevárez B.A. y Osorio-Rodríguez A.L. (2011). Biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos empleando lodos residuales como fuente alterna de nutrientes Rev. Int. Contam. Ambie. 27(3) 241-252.
9. Oropeza, G. N. 2006. Lodos residuales: estabilización y manejo. *Caos Conciencia*. 1: 51-58 p.
10. Rosales S., R. 2018. Importancia del desarrollo de nuevas variedades mejoradas de frijol para Durango. Folleto Técnico Núm 101. INIFAP-CIRNOC-Campo Experimental Valle del Guadiana. Durango, México. 28 p.
11. Rosales S., R., C. M. Reyes R., S. B. Rosales A., J. C. Ríos S., I. A. Ortiz S., and S. Valdez O. 2019. Common bean monocrop effects on soil chemical degradation in Durango, México. *The Annual Report of the Bean Improvement Cooperative* 62(1): 93-94.
12. Trejo-Escareño, Héctor Idilio, Salazar-Sosa, Enrique, López-Martínez, José Dimas, & Vázquez-Vázquez, Cirilo. 2013. Impacto del estiércol bovino en el suelo y producción de forraje de maíz. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 4(5), 727-738. Recuperado en 03 de junio de 2020, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342013000500006&lng=es&tlng=es.
13. Volke, T. y Velasco, J. (2002). Tecnologías de remediación para suelos contaminados. Instituto Nacional de Ecología, México, 64 pp.

FOSFITO Y ESTRÉS ABIÓTICO EN PIGMENTOS FOTOSINTÉTICOS EN CAÑA DE AZÚCAR

César Antonio Casasola-Elizondo; Fernando Carlos Gómez-Merino; Gabriel Alcántar-González; Yolanda Leticia Fernández-Pavía; Libia Iris Trejo-Téllez.

Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Estado de México. C. P. 56230.
casasola.cesar@colpos.mx

RESUMEN

Las plantas están expuestas a una amplia variedad de factores de estrés abiótico, siendo la escasez en la disponibilidad de agua la más importante. El estrés hídrico en su sentido más amplio abarca tanto la sequía como el estrés por frío y por salinidad, y junto con las temperaturas extremas son los principales problemas de la agricultura. El fosfito (Phi) está emergiendo como un novedoso bioestimulante vegetal, ya que es un análogo estructural de fosfato (Pi). El Phi es eficientemente absorbido y rápidamente movilizado por el xilema y floema; sin embargo, todavía hace falta una comprensión más profunda del efecto que tiene en el metabolismo vegetal. La caña de azúcar además de su importancia económica en el mundo presenta plasticidad metabólica, posee un ciclo de establecimiento prolongado sin necesidad de requerimientos nutricionales constantes, lo que la hace una especie ideal para estudiar la absorción radical de Phi como bioestimulante en la solución nutritiva de plantas que son sometidas a estrés hídrico y salino. En este estudio se aclimataron vitropiantas de caña de azúcar durante dos meses y medio en charolas de polietileno, después fueron trasplantadas en agua a raíz desnuda con solución nutritiva de Steiner (SNS) a 10% durante 16 días, posteriormente se incrementó la SNS a 20% durante 34 días. Durante todo el tiempo en agua se eliminaron las hojas maduras para evitar la proliferación de hongos en los tallos y se rotaron plantas para evitar etiolación por zona. Los tratamientos consistieron en probar el efecto del fosfito en la concentración de clorofila *a*, clorofila *b* y carotenoides en plantas de caña de azúcar variedad CP 72-2086 tanto en condiciones testigo (ausencia de estrés) como en condiciones de estrés (150 mM NaCl y 5% PEG 6000), originándose los siguientes seis tratamientos adicionados a la SNS a 25%: 1) Testigo, 2) Testigo + Phi, 3) 150 mM NaCl, 4) 150 mM NaCl + Phi, 5) Polietilenglicol (PEG) a 5% y 6) PEG a 5% + Phi. La aplicación de tratamientos duró 16 días y la SNS se renovó cada siete días. Los resultados de la presente investigación se interpretaron mediante un análisis de varianza y las medias se compararon con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). En condiciones de abasto suficiente de fósforo como fosfato en la SNS, la adición de Phi incrementó en 12.79% la concentración de clorofila *a*, en 18.14% la de clorofila *b* y en 8.59% la de carotenoides. También se observó un aumento en la producción de biomasa fresca de planta, en tanto que la adición de 150 mM NaCl como estrés salino fue más perjudicial que el estrés hídrico inducido con el 5% de PEG 6000. Bajo condiciones de salinidad, la adición de Phi a la solución nutritiva incrementa la concentración de clorofila *a* en 34.18% respecto al tratamiento que no se le adicionó el bioestimulante, y se observa que el Phi mitiga los efectos negativos inducidos por el estrés.

INTRODUCCIÓN

El concepto de estrés supone la aparición de un factor externo que influye de manera negativa en las condiciones de vida que son óptimas para una planta (Gerszberg & Hnatuszko-Konka, 2017), es una restricción que limita la tasa de fotosíntesis y reduce la habilidad de las plantas para convertir energía en biomasa (Parihar *et al.*, 2015).

El estrés hídrico es el principal factor limitante en la agricultura mundial (Elansary *et al.*, 2020), es la condición donde el suministro de agua que llega a la planta es muy bajo o donde la tasa de transpiración que presentan las plantas es intensa (Misra *et al.*, 2020). Por otra parte, el estrés salino es el efecto adverso del exceso de minerales como Na^+ y Cl^- en la planta (Parihar *et al.*, 2015), es responsable del desequilibrio en la homeostasis iónica celular, lo que requiere un ajuste osmótico rápido a través de la flexibilidad morfológica y la biosíntesis de los metabolitos secundarios (Leitão & Enguita, 2016). Los rendimientos de la mayoría de las plantas se ven afectados a concentraciones de NaCl superiores a 100 mM.

El ion fosfito (PO_3^-) es un ion poliatómico con un átomo central de fósforo, geométricamente es un tetraedro y el ácido conjugado del anión fosfito es el ácido fosforoso (H_3PO_3 ; Sevrain *et al.*, 2017), es un análogo estructural del fosfato (Pi) que es eficientemente absorbido por el sistema de transporte de Pi y rápidamente movilizado por el xilema y el floema de las plantas (López-Arredondo & Herrera-Estrella, 2013). Actualmente el Phi está emergiendo como un inductor potencial de respuestas metabólicas beneficiosas en las plantas, ya que ha demostrado su efectividad contra diferentes factores de estrés y ha mejorado el rendimiento y la calidad de los cultivos (Gómez-Merino & Trejo-Téllez, 2015). Un bioestimulante vegetal es cualquier sustancia o microorganismo que es aplicado a las plantas con el objetivo de mejorar su eficiencia nutricional, rasgos de calidad del cultivo y tolerancia al estrés abiótico, independientemente de su contenido de nutrientes (du Jardin, 2015). La caña de azúcar es un cultivo tropical y subtropical importante que se usa principalmente para producir etanol y azúcar, sin embargo, también existe una importante actividad económica asociada con la producción de otros productos incluidos el ron, la alimentación animal y la melaza (Begcy *et al.*, 2012). El ciclo de establecimiento en suelo del cultivo es largo y sin necesidad requerimientos nutricionales constantes en la etapa inicial de crecimiento, posee la capacidad de aclimatarse a los cambios ambientales mediante ajustes en los rasgos morfológicos y fisiológicos (Sales *et al.*, 2018), así que un proceso clave para comprender su metabolismo es la fotosíntesis, debido a su sensibilidad y que está fuertemente influenciado por las condiciones ambientales (Bağa *et al.*, 2019). Por lo anterior, el objetivo principal de esta investigación fue evaluar el efecto de factores de estrés (salinidad y sequía) en combinación con Phi en algunos pigmentos fotosintéticos de plantas de caña de azúcar var. CP 72 2086.

PARTE EXPERIMENTAL

Este estudio se realizó en un invernadero tipo túnel con cubierta plástica (temperatura media de 21.8 °C, HR de 55.63% y punto de rocío de 10.2 °C). Se utilizaron vitroplantas de caña de azúcar variedad CP 72 2086, las cuales se aclimataron durante 2.5 meses en charolas de polietileno de 72 cavidades con un volumen de 40 mL, utilizando una mezcla de turba y agrolita (1:1, v/v) como sustrato. Posteriormente y con el fin de aclimatar las plantas a cultivo en agua, éstas fueron trasplantadas a raíz desnuda a charolas de 2.5 L de capacidad con solución nutritiva de Steiner (SNS) al 10% de concentración (Steiner, 1984) y se mantuvieron así durante 16 días, posteriormente se traspasaron a recipientes de 20 L de capacidad con SNS al 20% durante 34 días. Todo el tiempo en agua se eliminaron las hojas maduras para evitar la proliferación de hongos en los tallos y se rotaron plantas en su misma charola para evitar etiolación por zona.

Se evaluaron condiciones testigo (ausencia de estrés) y condiciones de estrés (150 mM NaCl y 5% PEG 6000), en combinación con ausencia y presencia de Phi (0 y 0.0375 mol_c Phi m⁻³). Se usó polietileno 6000 (PEG) al 5% para obtener un alto potencial osmótico (-0.50 Bar a una temperatura de 25°C), el cual se estimó utilizando la ecuación de Michel y Kaufmann (Michel & Kaufmann, 1973) y así inducir estrés hídrico. Los niveles seleccionados de Phi corresponden a 0 y 15% del P total como fosfato en la solución de Steiner al 25%. El NaCl, el PEG y el H_3PO_3 empleados como fuentes fueron de las marcas J.T. Baker (USA), Merck (Germany) y Sigma Aldrich-Merck (Germany), respectivamente. Los seis tratamientos evaluados fueron: 1) Testigo, 2) Testigo + 0.0375 mol_c Phi m⁻³, 3) 150 mM NaCl, 4) 150 mM NaCl + 0.0375 mol_c Phi m⁻³, 5) Polietilenglicol (PEG) a 5% y 6) PEG a 5% + 0.0375 mol_c Phi m⁻³. Los tratamientos fueron adicionados a la SNS a 25% y tuvieron una duración de 16 días. La SNS se cambió cada siete días; asimismo, para reponer pérdidas por evapotranspiración se adicionó solución extra cada dos días.

Después del periodo de tratamientos se muestrearon hojas de plantas de caña de azúcar que se almacenaron a una temperatura de -80 °C en un ultracongelador Thermo Fisher Scientific (Forma 700 Series, Model: 703; Marietta, OH; EEUU) y posteriormente se determinaron las concentraciones foliares (µg/g) de clorofila *a*, clorofila *b* y carotenoides por el método espectrofotométrico de clorofilas y carotenoides (Sumanta *et al.*, 2014), utilizando como solvente extractor acetona al 80% y midiendo absorbancias a 663.2, 646.8 y 470 nm con un espectrofotómetro (JENWAY, 6715 UV/Vis. Spectrophotometer Multi-cell change; UK). Los datos se interpretaron mediante un análisis de varianza (ANOVA; Univariado modelo lineal generalizado), con ayuda del programa estadístico

RStudio (RStudio Team, 2015), corroborando antes que se cumplieran los supuestos de normalidad, independencia y homogeneidad de varianza.

RESULTADOS

Las clorofilas se encuentran en los cloroplastos y son los principales pigmentos que conducen a la fotosíntesis al absorber la luz y traducirla en energía química, existen variedad de investigaciones que documentan que la disminución en la concentración de clorofilas en las plantas son resultado de factores inducidos por estrés abiótico (Agathokleous *et al.*, 2020), coincidiendo con lo reportado en la presente investigación, donde el factor estrés, inducido por NaCl y PEG disminuye la concentración de pigmentos fotosintéticos en comparación con el testigo (Cuadro 1).

Cuadro 1. Concentración de pigmentos fotosintéticos ($\mu\text{g/g}$) en plantas de caña de azúcar var. CP 72 2086.

Factor	Clorofila a	Clorofila b	Carotenos
Estrés			
Testigo	93.2 \pm 8.3 a	24.4 \pm 4.5 a	19.2 \pm 1.6 a
NaCl	59.2 \pm 10.7 b	18.7 \pm 4.5 b	13.2 \pm 1.7 b
PEG	84.7 \pm 7.2 a	23.7 \pm 3.0 ab	18.6 \pm 1.3 a
Pr(>F)	<0.0001	0.0219	<0.0001
Bioestimulante			
Sin Phi	74.3 \pm 14.1 a	20.4 \pm 4.5 a	16.3 \pm 3.5 a
Con Phi	83.8 \pm 18.9 a	24.1 \pm 4.2 a	17.7 \pm 2.7 a
Pr(>F)	0.1760	0.0502	0.2720
Tratamiento			
Testigo	89.2 \pm 7.2 a	22.0 \pm 4.2 ab	18.3 \pm 1.1 a
Phi	97.1 \pm 8.2 a	26.8 \pm 3.5 a	20.1 \pm 1.6 a
NaCl	50.6 \pm 2.1 c	15.7 \pm 1.2 b	11.9 \pm 0.7 b
NaCl + Phi	67.9 \pm 8.1 b	21.8 \pm 4.7 ab	14.5 \pm 1.3 b
PEG	83.0 \pm 10.2 ab	23.6 \pm 2.8 ab	18.7 \pm 1.9 a
PEG + Phi	86.3 \pm 2.9 a	23.7 \pm 3.6 a	18.5 \pm 0.6 a
Pr(>F)	<0.0001	0.0090	<0.0001

Los datos representan la media calculada de $n=4$ plantas para los niveles de estrés, bioestimulante y tratamiento. Medias \pm DE con letras distintas de cada columna son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$).

También debe entenderse el modo de acción de los bioestimulantes vegetales, siendo éstos, promotores del crecimiento de las plantas y mitigadores del estrés, que al tener una acción combinada, buscan una agricultura más sostenible y resiliente (Rouphael & Colla, 2020) concordando con el factor bioestimulante y factor tratamiento (Cuadro 1) que incrementan la concentración de clorofila *a*, clorofila *b* y carotenos al adicionar Phi a la solución nutritiva ante situaciones de estrés salino y déficit hídrico.

La clorofila juega un rol importante en la fotosíntesis de las plantas y se sabe que altas concentraciones de NaCl (100-200 mM) reducen sustancialmente el contenido de pigmentos fotosintéticos como son la clorofila *a* y la clorofila *b* (Huang, 2018; Theerawitaya *et al.*, 2019), coincidiendo con lo reportado en el Cuadro 1 donde se observa reducción significativa de pigmentos

fotosintéticos en 36.48%, 23.36% y 31.25% de concentración de clorofila *a*, clorofila *b* y carotenos en plantas de caña sometidas a estrés salino.

La degradación de pigmentos fotosintéticos como son la clorofila *a*, clorofila *b* y carotenos esta en función del genotipo a estudiar, el grado de exposición a la sal y el periodo de incubación (Theerawitaya *et al.*, 2019), sin embargo, se posee evidencia suficiente para concluir que la adición de Phi en condiciones salinas incrementa significativamente la concentración de clorofila *a* en un 33.99% contra el tratamiento salino sin bioestimulante (Cuadro 1).

En la presente investigación no se contó con evidencia suficiente para demostrar que la dosis de PEG utilizada afectara significativamente la concentración de pigmentos fotosintéticos en plantas de caña de azúcar, sin embargo, da Silva *et al.* (2012) concluyen en su investigación que el contenido de clorofila en hojas debe considerarse una variable de prioridad en programas de mejora genética con el objetivo de obtener genotipos más productivos y tolerantes al estrés hídrico.

CONCLUSIONES

La inducción de estrés salino por 150 mM NaCl vía radicular en la solución nutritiva de Steiner al 25% redujo significativamente la concentración de clorofila *a*, clorofila *b* y carotenos en hojas de caña de azúcar var. CP 72 2086. El aporte de Phi a dos concentraciones (0.0 y 0.0375 mol_c m⁻³) vía radicular en la SNS al 25% incremento la concentración de pigmentos fotosintéticos en hojas de caña de azúcar var. CP 72 2086. Se cuenta con evidencia suficiente para concluir que la adición de Phi vía radicular a la solución nutritiva como bioestimulante, incrementó significativamente la concentración de clorofila *a* en hojas de plantas de caña de azúcar bajo condiciones de estrés salino.

BIBLIOGRAFÍA

1. Agathokleous, E., Feng, Z., & Peñuelas, J. (2020). Chlorophyll hormesis: Are chlorophylls major components of stress biology in higher plants? *Science of the Total Environment*, 726, 38. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138637>
2. Bąba, W., Kompała-Bąba, A., Zabochnicka-świętek, M., Luźniak, J., Hanczaruk, R., Adamski, A., & Kalaji, H. M. (2019). Discovering trends in photosynthesis using modern analytical tools: More than 100 reasons to use chlorophyll fluorescence. *Photosynthetica*, 57(2), 668–679. <https://doi.org/10.32615/ps.2019.069>
3. Begcy, K., Mariano, E. D., Gentile, A., Lembke, C. G., Zingaretti, S. M., Souza, G. M., & Menossi, M. (2012). A Novel Stress-Induced Sugarcane Gene Confers Tolerance to Drought, Salt and Oxidative Stress in Transgenic Tobacco Plants. *PLoS ONE*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044697>
4. da Silva, P. P., Soares, L., da Costa, J. G., da Silva Viana, L., de Andrade, J. C. F., Gonçalves, E. R., ... Neto, C. E. R. (2012). Path analysis for selection of drought tolerant sugarcane genotypes through physiological components. *Industrial Crops and Products*. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.11.015>
5. du Jardin, P. (2015). Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*, 196, 3–14. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021>
6. Elansary, H. O., Mahmoud, E. A., El-Ansary, D. O., & Mattar, M. A. (2020). Effects of water stress and modern biostimulants on growth and quality characteristics of mint. *Agronomy*. <https://doi.org/10.3390/agronomy10010006>
7. Gerszberg, A., & Hnatuszko-Konka, K. (2017). Tomato tolerance to abiotic stress: a review of most often engineered target sequences. *Plant Growth Regulation*. <https://doi.org/10.1007/s10725-017-0251-x>
8. Gómez-Merino, F. C., & Trejo-Téllez, L. I. (2015). Biostimulant activity of phosphite in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196, 82–90. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.035>
9. Huang, R. D. (2018). Research progress on plant tolerance to soil salinity and alkalinity in sorghum. *Journal of Integrative Agriculture*. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(17\)61728-3](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(17)61728-3)
10. Leitão, A. L., & Enguita, F. J. (2016). Gibberellins in *Penicillium* strains: Challenges for endophyte-plant host interactions under salinity stress. *Microbiological Research*. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.11.004>

11. López-Arredondo, D. L., & Herrera-Estrella, L. (2013). A novel dominant selectable system for the selection of transgenic plants under in vitro and greenhouse conditions based on phosphite metabolism. *Plant Biotechnology Journal*, 11(4), 516–525. <https://doi.org/10.1111/pbi.12063>
12. Michel, B. E., & Kaufmann, M. R. (1973). The Osmotic Potential of Polyethylene Glycol 6000. *Plant Physiology*. <https://doi.org/10.1104/pp.51.5.914>
13. Misra, V., Solomon, S., Mall, A. K., Prajapati, C. P., Hashem, A., Abd_Allah, E. F., & Ansari, M. I. (2020). Morphological assessment of water stressed sugarcane: A comparison of waterlogged and drought affected crop. *Saudi Journal of Biological Sciences*. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.02.007>
14. Parihar, P., Singh, S., Singh, R., Singh, V. P., & Prasad, S. M. (2015). Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: a review. *Environmental Science and Pollution Research*. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3739-1>
15. Rouphael, Y., & Colla, G. (2020). Editorial: Biostimulants in Agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 11(February), 1–7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00040>
16. RStudio Team (2015). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.
17. Sales, C. R. G., Ribeiro, R. V., Hayashi, A. H., Marchiori, P. E. R., Silva, K. I., Martins, M. O., ... Machado, E. C. (2018). Flexibility of C4 decarboxylation and photosynthetic plasticity in sugarcane plants under shading. *Environmental and Experimental Botany*. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.10.027>
18. Sevrain, C. M., Berchel, M., Couthon, H., & Jaffrès, P. A. (2017). Phosphonic acid: Preparation and applications. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*. <https://doi.org/10.3762/bjoc.13.219>
19. Steiner, A. A. (1984). The universal nutrient solution. In 6. *International Congress on Soilless Culture, Lunteren (Netherlands), 29 Apr-5 May 1984*. ISOSC.
20. Sumanta, N., Haque, C. I., Nishika, J., & Suprakash, R. (2014). Spectrophotometric Analysis of Chlorophylls and Carotenoids from Commonly Grown Fern Species by Using Various Extracting Solvents. *Research Journal of Chemical Sciences Res. J. Chem. Sci.*, 4(9), 63–69. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1340072>
21. Theerawitaya, C., Tisarum, R., Samphumphuang, T., Singh, H. P., Takabe, T., & Cha-um, S. (2019). Expression levels of vacuolar ion homeostasis-related genes, Na⁺ enrichment, and their physiological responses to salt stress in sugarcane genotypes. *Protoplasma*, 257(2), 525–536. <https://doi.org/10.1007/s00709-019-01450-7>

DIVULGACIÓN DEL ESTUDIO CIENTÍFICO EN GENÉTICA DE LAS LEVADURAS INVOLUCRADAS EN LA ELABORACIÓN DEL MEZCAL

Andreas Fenix Díaz Hernández¹, Eugenio Mancera Ramos², Miranda Patricia Martínez Rodríguez¹, Estefanía Ramírez Nuñez¹, Frida Scandra Herrera Cué¹ y María Azucena Carballo Huerta¹

¹Universidad Iberoamericana León, ²Cinvestav Irapuato.
andreassdh12@gmail.com

RESUMEN

Las levaduras ascomicetas, además de ser excelentes organismos modelo para el estudio de la biología molecular y evolutiva, tienen una estrecha relación con el humano, han sido utilizadas desde hace miles de años para la elaboración de alimentos. Actualmente son esenciales en procesos biotecnológicos para la síntesis de sustancias de interés comercial. En el caso del mezcal, las fermentaciones son realizadas por levaduras provenientes del agave y del ambiente dentro de la producción. Muchos de los actores que participan en la producción del mezcal desconocen estos procesos biológicos, por lo que se consideró importante dar a conocer estas investigaciones a los públicos objetivos. A partir del análisis del proceso, síntesis de información y proceso creativo gráfico, se realizaron productos de diseño que permitieron dar a conocer estos procesos de evolución molecular de la población de las levaduras a la comunidad vinculada a la agricultura o aquellos que trabajen directamente con el mezcal, desde los inversionistas hasta los campesinos. La metodología utilizada para la comunicación gráfica de los conceptos, fue a partir del modelo argumentativo de Toulmin, que permite identificar desde el punto de vista lógico la estructura de un texto presentado por un sujeto argumentador para presentar su tesis y exponer una serie de razones para desembocar a una conclusión. Esta estructura o esquema es representada por metáforas, metonimias o sinécdoques, que se construyen a partir del acuerdo previo de las personas que son el público meta de la comunicación. Los elementos de comunicación gráfica seleccionados van desde la gama cromática, el uso de la tipografía, el diseño de símbolos y viñetas, así como la estructura base del formato. Los resultados fueron dos infografías y un tríptico que permiten identificar claramente el proceso de investigación genética de las levaduras que son utilizadas durante el proceso de fermentación del mezcal.

INTRODUCCIÓN

“La ciencia y la tecnología han transformado no solo las actividades humanas sino también el mundo en el que vivimos... Los gobiernos, científicos y en general la sociedad moderna apuesta a la ciencia y la educación como una forma de resolver los problemas” (CIO, s.f.).

Actualmente, cualquier individuo, tiene acceso a la información, esto permite mayor alcance cultural en la persona, pero el exceso de esta ocasiona cortinas de humo y pérdidas de esta. Es así como las instituciones se han visto obligadas a actualizar sus programas educativos y permitir el uso de la información siempre y cuando esta sea analizada y cuente con los datos necesarios para poder ser tomada en cuenta y comprobar su veracidad.

Los centros de investigación se han comprometido con la sociedad y buscan la divulgación de sus conocimientos desde artículos científicos hasta revistas, carteles, etc. Para adquirir una formación científica es necesario desarrollar capacidades, habilidades y actitudes que constituyan a tener seres humanos críticos, reflexivos y responsables de lo que ocurre a su alrededor, conscientes de las problemáticas y dispuestos a trabajar en colectivo para proponer e implementar propuestas de solución (CIO, s.f.).

La colaboración de alumnos de la Universidad Iberoamericana León de la carrera de Diseño y arte visual con el Cinvestav Irapuato, en el marco de la materia de Taller de Síntesis y Evaluación I, permitió identificar necesidades para elaboración de materiales gráficos para los distintos proyectos de investigación. En el primer acercamiento con el investigador el Dr. Eugenio Mancera Ramos del Cinvestav, se realizó una entrevista para identificar sus necesidades.

El objetivo de comunicación de este proyecto tiene como finalidad dar acceso a información relevante a toda la población sobre el tema de la investigación científica de las levaduras involucradas en la

elaboración del mezcal. Con el fin de dar a los públicos involucrados mayor conocimiento de los procesos y permitir su acercamiento con el cuerpo académico del Cinvestav.

De igual manera se busca un aprendizaje mutuo. Elaborar diseños para brindar parte de nuestro conocimiento a los investigadores mientras los diseñadores aprenden a leer y comprender textos de divulgación científica para así, en conjunto ser capaces de explicarles a los demás.

TEORIA

La ciencia se ha visto envuelta en muchas ramas asociadas a la biología últimamente, como es el caso de la ingeniería genética, la cual es la encargada de estudiar el ADN de todo organismo, este está dividido en subunidades llamadas genes, es por ello por lo que... "la carga genética de un determinado organismo no puede ser idéntica a la de otro, aunque se trate de la misma especie. Sin embargo, debe ser, en rasgos generales, similar para que la reproducción se pueda concretar" (Obeso, s.f.).

Al igual que la ingeniería genética, la biología molecular es una disciplina científica que tiene como objetivo el estudio de los procesos que se desarrollan en los seres vivos la diferencia es que esta lo estudia desde un punto de vista molecular, es el estudio de la estructura, función y composición de las moléculas biológicamente importantes (Mancera, s.f.).

Por consiguiente, la evolución molecular es el estudio de aquel cambio que ocurre en las moléculas a nivel ácido nucleico o proteico, estos "se acumulan a través de grandes periodos de tiempo y permiten la diversificación y formación de las especies" (Torres, p.23, 2009).

Al existir una gran variedad de especies, se constituyen poblaciones, que evolucionan con el tiempo, el Ing. J. De Jesús Medina Basurto plantea que casi todas las especies están formadas por una o 7 más poblaciones de individuos que se cruzan entre sí. Pero, a qué se le denomina población, en la ciencia existe la población como el conjunto de seres vivos de una misma especie en un mismo lugar o bien, la población biológica, la cual, es el conjunto de organismos de una misma especie coexistiendo en un mismo espacio y tiempo; estos comparten propiedades biológicas, ocasionando, una producción alta de cohesión reproductiva y ecológica del grupo (Medina, 2016).

Existe una cantidad infinita de levaduras, estas son hongos que se forman sobre medios de cultivo, la mayoría de las veces, son constituidas por células aisladas que suelen ser esféricas, ovoideas, elipsoides o alargadas.

"Las levaduras son organismos aerobios, muchas especies son fermentadoras... suelen fermentar unos pocos glúcidos, principalmente hexosas y disacáridos" (Unsa, 2007). Las levaduras son clave en la vinificación, ya que son los responsables de la fermentación alcohólica. (Torija, 2002).

En el caso del mezcal, las fermentaciones son realizadas por las levaduras provenientes del agave y del ambiente dentro de la producción. Esto hace que estas fermentaciones no sean producto de la acción de una única especie, sino de una sucesión de especies y cepas de levadura diferentes a lo largo de la fermentación (Pérez, p.452, 2013).

Los principales elementos que ayudan a la levadura a su crecimiento son el carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno...El fósforo y azufre también son importantes en este aspecto. El calcio, magnesio, potasio, hierro y sodio, entre otros son demandados por la levadura en pequeñas cantidades, sirven como balance iónico, precursores de aminoácidos y vitaminas o incluso como reguladores de estrés por temperatura. (Alcázar, p.27, s.f.)

"A diferencia del tequila el mezcal se elabora utilizando diferentes especies de agave como materia prima. Además el proceso de fermentación se realiza de forma espontánea ocasionando una gran variabilidad en el sabor y aroma del mezcal" (Alcázar, p.11, s.f.)

El modelo argumentativo del filósofo Stephen Toulmin (Dalsgaard, Dindler, and Fritsch, 2013), establece seis pasos o categorías que sirven para planear, analizar y valorar la calidad de los argumentos en los artículos de investigación. Este modelo (fig. 1. Célula argumentativa) se basa en una lógica inductiva en la que a partir de unas evidencias se deriva una aserción (conclusión, tesis, proposición o hipótesis). Sin embargo, para realizar este movimiento con efectividad se necesita de una conexión o garantía. En el proceso del diseño este modelo permite identificar las premisas que deberán cumplirse para lograr el objetivo de comunicación. Las garantías se logran a partir de imágenes, metáforas, valores cromáticos y secuencia del mensaje para llegar a la conclusión deseada.

Fig. 1. Célula argumentativa



PARTE EXPERIMENTAL

Definición de elementos gráficos:

a. Tipo de ilustración: Cómic Trazos gruesos y calca con transparencias (Fig 2. Estilos de ilustración) Este tipo de ilustración permite una abstracción alta y con trazos geométricos que permite mayor claridad y correlación entre la investigación y los gráficos. La ilustración de contornos es minimalista cuenta con un delineado ligero en color negro, y dentro solo se percibe un color puro. Para las infografías el estilo de calca con transparencia es muy sutil y se otorga para brindarle pertenencia a las ilustraciones dentro del texto, dejando en claro que lo más importante es el contenido textual y no los gráficos.

Fig. 2. Estilos de ilustración



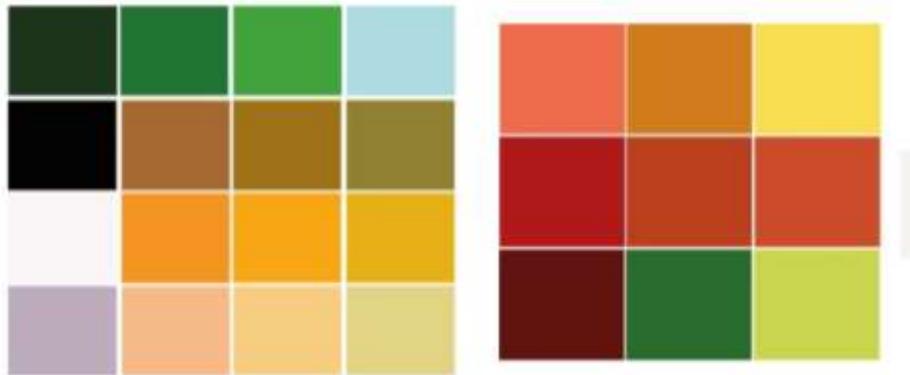
b. Formato: Tamaño carta para tríptico y tamaño poster para infografías.

El tamaño carta (28 x 21.5 cm) es ideal para un tríptico ya se puede proporcionar a cualquiera de manera fácil y sencilla y ocupa un espacio tan reducido que puede guardarse en el portafolio o bolsa de la persona. En cuanto a las infografías, se diseñó a partir del formato estándar de 60 x 90 cm que permite una fácil impresión en *plotter*.

c. Paleta de colores: Verdes y fríos (Fig. 3. Paleta de colores)

El uso del verde hace referencia al mezcal y a la naturaleza, los colores cálidos naranjas reflejan el proceso de fermentación, mientras que los azules se usan para buscar un equilibrio visual.

Fig. 3. Paleta de colores



d. Fuentes: Descendencia Romana (Fig. 4. Fuentes tipográficas)

Los tipos de fuentes presentados descienden de tipografías romanas, dotando de seriedad al contenido de la infografía.

Fig. 4. Fuentes tipográficas

LILITA ONE
RUBIK ONE Ralway

RESULTADOS

Métodos Experimentales

Colecta de muestras de mosto en fermentación 

Aislamiento de levaduras 

Extracción de material genético 

Análisis de la información genética 

INVESTIGADORES

Dr. Eugenio Mancera
Tel. (462) 623 96 00 Ext. 3665
Cinvestav, Unidad Irapuato, Guanajuato.

Dr. Alexander de Luna
Tel. (462) 166 3000 Ext. 3068
UCA-Langebio, Cinvestav Irapuato, Guanajuato.

Dra. Lucía Morales
Tel. (442) 1992 62 31
Laboratorio Internacional de ILIICH-UNAM Juriquilla, Querétaro.

Responsables del desarrollo experimental

Dra. Adriana Espinosa
Ing. Porfirio Gallegos

Este proyecto cuenta con el apoyo de investigadores de instituciones de investigación científica ajenas.



LEVADURAS DEL MEZCAL



Este es un proyecto de investigación científica con fines de lucro. La muestra y la información que se obtenga no se aplicarán con fines comerciales.

¿SABÍAS QUÉ?



Las levaduras son hongos diminutos, que solo se alcanzan a ver con la ayuda de los microscopios. Su existencia ha ayudado a entender conceptos básicos de la biología y hasta curar enfermedades.

Estos hongos han sido fundamentales para el desarrollo de la humanidad. Las levaduras fermentan productos básicos como:



No se sabe mucho sobre la vida de las levaduras por lo que este proyecto procura aportar conocimiento científico sobre cómo viven y se adaptan dependiendo del ambiente en el que se encuentran.

- ### ¿QUÉ QUEREMOS SABER?
- 1** ¿Qué tan posibles que sean autóctonas?
 - 2** ¿Qué tan diversas son en México?
 - 3** ¿A caso varían sus características por región o por el tipo de agave utilizado?
 - 4** ¿Cómo llegan las levaduras a las fermentaciones?

AGRADECEMOS A LOS

PRODUCTORES



PARTICIPANTES

MEZCAL YEASTS



AS SCIENTISTS, WE SEEK TO IDENTIFY THESE YEASTS IN ORDER TO HELP MEZCAL PRODUCERS IMPROVE THEIR WORK.

HISTORY

Mezcal is an artisanal beverage produced in Mexico. It's production results from the fermentation of the agave juice.

The name comes from the nahuatl and means:

COOKED MAGUEY



YEASTS DURING THE PROCESS

Yeasts perform the fermentation of the agave juice modifying the results. They are responsible for many of the flavors of the mezcal.

It's important to mention that these yeasts are wild. They come from the environment and there's

NO NEED OF INOCULATION



PRODUCTION & STUDY

The production of this drink has grown exponentially in the last years worldwide.

The variety of flavors that mezcal has is

HIGHLY APPRECIATED

CINVESTAV is investigating the varieties of this resource



Dr. Eugenio Mancera

LEVADURAS MEZCALERAS



CRECIMIENTO

La producción del mezcal ha crecido exponencialmente en las últimas décadas ya que su rico sabor es cada vez más apreciado internacionalmente



¿Y LAS LEVADURAS?

Las levaduras involucradas en el proceso de fermentación son responsables de muchos de los sabores del mezcal, sin embargo estas son desconocidas ya que son silvestres, lo que significa que provienen del medio ambiente.



INVESTIGACIÓN

Investigadores del CINVESTAV están identificando estas levaduras para ayudar a los productores a mejorar la fabricación del mezcal.



CONCLUSIONES

El diseño es una herramienta de apoyo para compartir conocimiento de una manera distintiva y creativa. Todo texto, tiene su naturaleza, tiene su esencia por lo que el diseñar sobre moda no va a ser lo mismo que diseñar sobre ciencia. Crear contenido para información científica es complicado ya que se deben usar recursos abstractos con un nivel de claridad y comprensión muy grande, los colores deben darle la seriedad que se merece al igual que los tipos de fuentes, todo en conjunto debe generar un diseño respetable, entendible e informativo.

El texto debe ser claro y muy específico para así evitar malentendidos, es importante establecer un orden y jerarquía en el documento para así dar un mensaje claro a quien lea el documento.

Este proyecto, tomó meses en desarrollarse debido a que se tienen que hacer los ajustes adecuados, las primeras propuestas no estaban representando por completo al centro de investigaciones por la paleta de colores que se estaba manejando era demasiado suave no se transmitía muy bien el mensaje. Así que se tuvieron que realizar cambios muy notorios tanto en los formatos para contar como mayor espacio, como en lo colores ya que se buscaba satisfacer las necesidades del proyecto y eso implicaba colores más neutros. Realmente fue difícil crear contenido con este tipo de información pero los resultados fueron buenos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aguadé. (2014). Evolución molecular: El reloj de la vida. Recuperado de <https://metode.es/revistas-metode/monograficos/evolucion-molecular-el-reloj-de-la-vida.html>

2. Ancasi, E.G (2004). Levaduras; Manual de microbiología. Recuperado de: <http://www.unsa.edu.ar/biblio/repositorio/malim2007/4%20levaduras.pdf> Almeida, O.L (2009-2010). Ingeniería genética. Ciencias naturales. Recuperado de: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/IngenieriaGenetica_13407.pdf
3. Alcázar Valle, M.E. (Sin año). Capacidades fermentativas y generación de volátiles de cepas de levadura aisladas en diferentes estados productores de mezcal. CIATEJ. Recuperado de: <https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1023/91/1/Elba%20Montserrat%20Alcazar%20Valle.pdf>
4. Cinvestav. (2020). Ingeniería Genética. Recuperado de <https://www.cinvestav.mx/Departamentos/Ingenieria-Genetica>
5. Centro de Investigaciones en Óptica. (s.f.) Divulgación Científica. Recuperado de: https://www.cio.mx/archivos/compendio_de_investigaciones_cientificas_en_mexico/cap_4_Divulgacion_Cientifica.pdf
6. Dalsgaard, Dindler, Fritsch.et (2013). Design Argumentation in academic design education. Nordic Design Research Conference. Recuperado de: https://cursos.leon.uia.mx/online/pluginfile.php/376591/mod_resource/content/1/Modulo%20de%20Toulmin.%20Argumentación%20en%20el%20diseño.pdf
7. Medina, J. (2016, agosto). Genética de poblaciones y evolución. ResearchGate. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/306256143_GENETICA_DE_POBLACIONES_Y_EVOLUCION
8. México Desconocido. (2010). La historia del mezcal, bebida caída del cielo. Recuperado de: <https://www.mexicodesconocido.com.mx/mezcales.html>
9. Pérez, E, González, J.C, Chávez, M.C y Cortés, P.C. (2013, mayo, 01). Caracterización fermentativa de levaduras productoras de etanol a partir de jugo de agave cupreata en la elaboración de mezcal. Revista Mexicana de Ingeniería Química. Recuperado de: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmiq/v12n3/v12n3a8.pdf>
10. Ramos. (2016-2017). Educación y aprendizaje. UNICEF México. Recuperado de: <https://www.unicef.org/mexico/educaci%C3%B3n-y-aprendizaje>
11. Secretaria de trabajo y previsión social. (diciembre,2019). Producción de mezcal; Prácticas en el sector agroindustrial. Recuperado de: http://www.stps.gob.mx/bp/secciones/dgsst/publicaciones/prac_seg/prac_chap/PS%20mezcal.pdf
12. Torres, A. (2009, enero). Evolución molecular. ResearchGate. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/327606544_Evolucion_Molecular

PESO FRESCO DE PLÁNTULAS DE CHILE POBLANO EXPUESTAS A METALES DE TRANSICIÓN

María de la Luz María Buendía-Valverde¹, Libia I. Trejo-Téllez¹, Fernando C. Gómez Merino¹, Tarsicio Corona-Torres¹, Serafín Cruz-Izquierdo¹, Rodrigo A. Mateos-Nava²

¹Colegio de Posgraduados Campus Montecillo. ²Facultad de Estudios Zaragoza, UNAM. luzmaria_buendia@hotmail.com

RESUMEN

La dispersión de metales al ambiente producto de la quema de combustibles fósiles, es un problema de salud pública para muchos países industrializados. En las plantas, los metales no esenciales, aún en concentraciones relativamente bajas, pueden inhibir la germinación, provocar desequilibrio nutrimental, clorosis y reducción del crecimiento. Este trabajo tuvo como objetivo estudiar el efecto que produce el cadmio (Cd), el talio (Tl) y el vanadio (V) en el peso fresco de plántulas de Chile Poblano variedad "Capulín". Las concentraciones de Cd, Tl y V evaluadas fueron 0, 25 y 50 μM . La unidad experimental consistió en una caja Petri con 10 semillas, éstas fueron hidratadas con soluciones de Cd, Tl y V en concentraciones de 0, 25 y 50 μM , las cajas fueron distribuidas completamente al azar dentro de una cámara de germinación a 32 °C durante 15 d. Posteriormente se determinó el peso individual de cada plántula usando una balanza analítica. Con los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza y prueba de comparación de medias (LSD, $P \leq 0.05$). Las plántulas de Chile Poblano presentaron efectos diferenciales ante la exposición de Cd, Tl y V. Las concentraciones 25 y 50 μM Tl y de 50 μM V mostraron efectos significativos y negativos respecto al testigo; mientras que, las dosis Cd evaluadas no afectaron el peso de biomasa de plántula. Se concluye que, en Chile Poblano, dosis de 25 y 50 μM de Tl y V son perjudiciales para la acumulación de biomasa fresca.

INTRODUCCIÓN

Los metales no esenciales se han convertido en uno de los principales problemas para muchos países alrededor del mundo, aunque en forma natural se encuentran a bajas concentraciones, conforme avanza la industrialización en las zonas urbanas, se desarrollan también los problemas ambientales que provocan estos elementos a los organismos que son parte de estos entornos (Maluszynski, 2009).

La liberación de efluentes industriales, la quema de combustibles fósiles y la mala disposición de residuos han provocado en las últimas cinco décadas la dispersión de muchos metales como el cadmio (Cd), talio (Tl) y vanadio (V), los cuales son tema de investigación debido a que, por sus propiedades fisicoquímicas pueden alterar diversos procesos fisiológicos en los organismos (Cuadro 1) (Järup, 2003; Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006).

Cuadro 1. Propiedades fisicoquímicas del Cd, Tl y V (WHO, 1988; WHO, 1996; EPA, 1999).

Metal	Masa atómica (uma)	Densidad relativa (g cm^{-3})	Punto de fusión (°C)	Punto de ebullición (°C)
Cd	112.41	8.64	320.9	765.0
Tl	204.38	11.85	303.5	1457.0
V	50.94	6.11	1910.0	3407.0

En los suelos, la contaminación por metales ocurre principalmente por el uso de aguas residuales para riego de hortalizas, éste es un factor determinante que afecta drásticamente la seguridad alimentaria y salud pública (Reyes *et al.*, 2016).

Las afectaciones provocadas por el Cd, Tl y V se deben principalmente a su exposición prolongada, además, estos metales tienen la característica de bioacumularse en los organismos vivos, y al formar parte de la cadena alimenticia pueden permanecer por años y hasta décadas, por esto, es común encontrar reportes de altas concentraciones de metales en alimentos como carne, pescado, frutas y plantas (Li *et al.*, 2015). Lo anterior es confirmado en diversas investigaciones donde se reporta la

presencia de altas concentraciones de mercurio (Hg), arsénico (As), plomo (Pb), Cd, zinc (Zn), níquel (Ni) y cromo (Cr) en diversas hortalizas como la lechuga, calabaza, brócoli y papa (Reyes *et al.*, 2016).

En las plantas, los metales pueden alterar diversos procesos fisiológicos como la fotosíntesis, el alargamiento y la respiración celular. De manera general los metales pesados bloquean grupos funcionales esenciales de biomoléculas a través de la sustitución de iones esenciales por los de los metales, ocasionando inhibición de la germinación, desequilibrio nutrimental, reducción del crecimiento y clorosis (Hourí *et al.*, 2020).

Uno de los principales aportes de Mesoamérica para el mundo es la domesticación de *Capsicum annuum* L., actualmente México es el segundo exportador, después de China, siendo Sinaloa el principal estado productor, por la importancia que representa este cultivo, se seleccionó como la planta modelo para este estudio (SAGARPA, 2019).

Durante el proceso de fotosíntesis, las plantas transforman energía solar en energía química que es almacenada en forma de biomasa (Carrillo, 2004). En la literatura existen reportes acerca de que algunos metales no esenciales pueden disminuir la biomasa de algunas plantas, por lo anterior, el presente estudio tuvo como objetivo determinar el efecto del Cd, Tl y V en el peso fresco de plántulas de chile Poblano.

PARTE EXPERIMENTAL

Como material vegetal se utilizaron semillas híbridas de chile Poblano variedad "Capulín" debidamente desinfectadas con NaClO al 2% (0.33 mL L⁻¹). Como fuentes de Cd, Tl y V se utilizaron cloruro de cadmio (CdCl₂, CAS 10108-64, Sigma Aldrich), acetato de talio (CH₃COOTl, CAS 563-68-5 Sigma Aldrich), metavanadato de amonio (NH₄VO₃, CAS 7803-55-6, Alfa Aesar). Los tratamientos evaluados se presentan en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Concentraciones utilizadas en los tratamientos individuales durante la germinación de semillas de chile Poblano.

Metal	(μM)		
Cd	0	25	50
Tl	0	25	50
V	0	25	50

Cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones. La unidad experimental consistió en una caja Petri con 10 semillas,

las cuales fueron distribuidas completamente al azar dentro de una cámara de germinación (Thermo Scientific, modelo 310M, USA) a 32 °C. Las semillas se mantuvieron debidamente hidratadas durante 15 d con la solución del metal correspondiente.

Después de 15 d de incubación, cuando las semillas habían germinado, se determinó el peso fresco de cada plántula 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

Se observó que las plántulas de chile Poblano provenientes de los tratamientos 25 y 50 μM Cd tienen menor peso fresco en 4.1 y 7.2%, respectivamente, en comparación con el testigo; sin embargo, las diferencias no son significativas (Figura 1). Chen *et al.* (2003) reportaron disminución de la biomasa fresca de plantas de rábano (*Raphanus sativus*) y zanahoria (*Daucus carota var. Sativa*) expuestas de 20 a 150 mg Cd kg⁻¹. Por otra parte, Seth *et al.* (2007), reportan una disminución de la biomasa fresca de *Spirodela ptyrhiza* L. al aplicar una concentración de 0.1 a 2 μM Cd comparado con el testigo, después de 7 d de exposición.

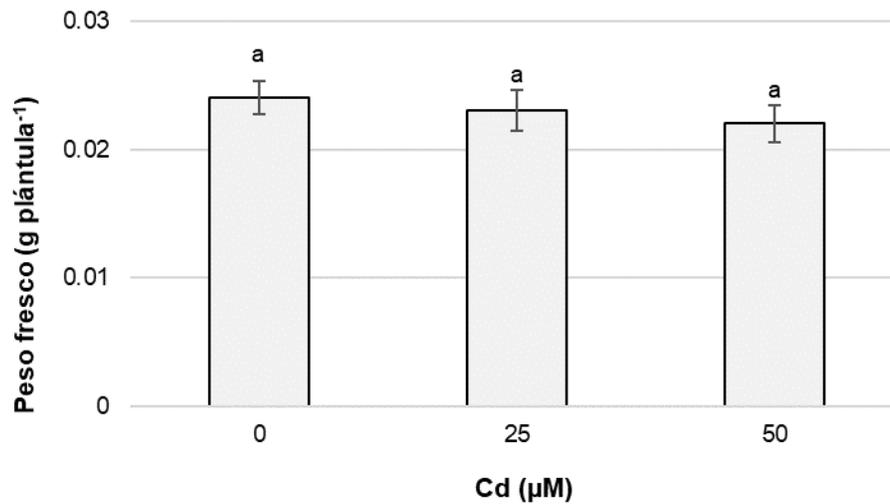


Figura 1. Peso fresco de plántulas obtenidas de semillas de chile Poblano tratadas con 0, 25 y 50 μM Cd. Medias \pm DE con letras distintas indican diferencias significativas (LSD, $P \leq 0.05$).

Por otra parte, el tratamiento con 25 y 50 μM TI provocan efectos significativos y negativos en el peso fresco de plántula en chile Poblano, debido a que se producen reducciones del 11.7 y 22.0% respectivamente, en comparación con el testigo (Figura 2). En la literatura no existen reportes del efecto que el TI tiene en la biomasa fresca en chile Poblano ni en otras especies vegetales. Elementos como el arsénico (As), metaloide considerado de alta peligrosidad, disminuyen la biomasa fresca de *Spirodela ptyrhiza* L. al aplicarlo en dosis de 1 a 20 μM respecto al testigo, después de 7 d de exposición (Seth et al., 2007).

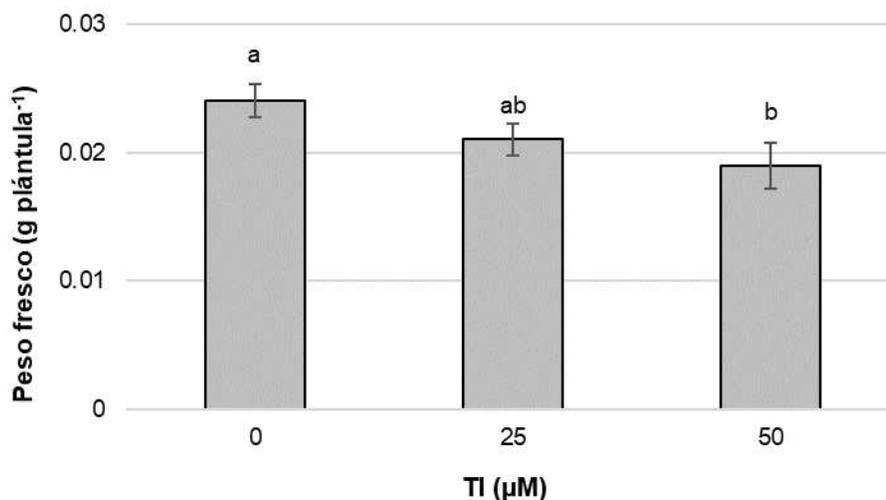


Figura 2. Peso fresco de plántulas obtenidas de semillas de chile Poblano tratadas con 0, 25 y 50 μM TI. Medias \pm DE con letras distintas indican diferencias significativas (LSD, $P \leq 0.05$).

La exposición a la concentración de 25 μM V disminuye el peso fresco de plántula en 5.1% respecto al testigo; mientras que, el tratamiento con 50 μM V lo reduce en 34%, este último tratamiento es significativa diferente al testigo (Figura 3). Este mismo efecto se ha reportado con tratamientos de 80 mg $\text{NH}_4\text{VO}_3 \text{ L}^{-1}$, donde se reduce la biomasa fresca de plantas de mostaza verde China (*B. campestris* ssp. *Chinensis* var. *parachinensis*) cultivadas en hidroponía (Vachiraparama y

Jirakiattikul, 2008). Sin embargo, contrario a lo obtenido en nuestro estudio, Saco *et al.* (2013) reportan que concentraciones de 160 y 240 μM V incrementan la biomasa fresca de plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivadas en un sistema hidropónico.

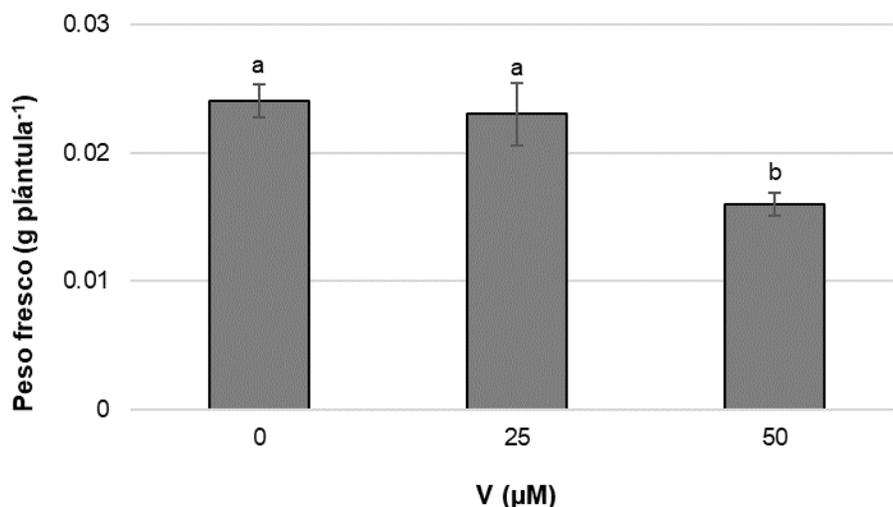


Figura 3. Peso fresco de plántulas obtenidas de semillas de chile Poblano tratadas con 0, 25 y 50 μM V. Medias \pm DE con letras distintas indican diferencias significativas (LSD, $P \leq 0.05$).

CONCLUSIONES

Se concluye que el Cd, Tl y V provocan efectos diferenciales en la biomasa fresca de plántulas de chile Poblano expuestas a concentraciones de 25 y 50 μM . El metal menos tóxico en las concentraciones evaluadas, en la biomasa de plántulas de chile Poblano fue el Cd. Por tanto, la toxicidad en este estudio fue en el siguiente orden creciente: $\text{Tl} > \text{V} > \text{Cd}$.

BIBLIOGRAFÍA

1. 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.
2. D. Saco, S. Martín, P. San José, "Vanadium distribution in roots and leaves of *Phaseolus vulgaris*: morphological and ultrastructural effects", *Biologia Plantarum* Vol. 57, 1, 2013, pp. 128-132.
3. EPA, Environmental Protection Agency, "Toxicological review of cadmium and compounds", Washington, D. C. 1999, 85 p.
4. J. J. Rodríguez-Mercado, M. A. Altamirano-Lozano, "Vanadio: contaminación, metabolismo y genotoxicidad", *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* Vol. 22, 4, 2006, pp. 173-189.
5. L. Carrillo, "Energía de biomasa", 1ª. Edición, 2004, 82 p.
6. L. Järup, "Hazards of heavy metal contamination", *British Medical Bulletin*, Vol. 68, 2003, pp. 167-182.
7. M. J. Maluszynski, "Thallium in environment", *Institute of Environment Protection, Poland Journal of Environmental Protection and Natural Resources* Vol. 40, 2009, pp. 31-38.
8. N. Li, Y. Kang, W. Pan, L. Zeng, Q. Zhang, J. Luo, "Concentration and transportation of heavy metals in vegetables and risk assessment of human exposure to bioaccessible heavy metals in soil near a waste-incinerator site, South China", *Science of the Total Environment* Vol. 521-522, 2015, pp. 144-151.

9. N. Vachirapatama, Y. Jirakiattikul, "Effect of vanadium on growth of Chinese green mustard (*Brassica campestris* ssp. *chinensis* var. *parachinensis*) under substrate culture". Songklanakarin Journal of Science and Technology, Vol. 30, 4, 2008, pp. 427-431.
10. SAGARPA, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, "Resumen Nacional del "Avance de Siembras y Cosechas". 2019. En línea: <http://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-agricola-33119>.
11. SAS Institute Inc., "SAS/STAT Users Guide", Version 9.3. SAS Institute Inc., Cary, N. C., USA. 2011.
12. T. Hourri, Y. Khairallah, A. Al Zahab, B. Osta, D. Romanos, G. Haddad, "Heavy metals accumulation effects on the photosynthetic performance of geophytes in Mediterranean reserve". Journal of King Saud University – Science Vol. 32, 1, 2020, pp. 874-880.
13. WHO, "Thallium", World Health Organization, International Programme on Chemical Safety (IPCS), Environmental Health Criteria 192, 1996, Ginebra.
14. WHO. Vanadium. World Health Organization. International Programme on Chemical Safety (IPCS), Environmental Health Criteria, 81, 1988, Ginebra.
15. Y. Reyes, I. Vergara, O. Torres, M. D. Lagos & E. E. G. Jiménez, "Contaminación por metales pesados: Implicaciones en salud, ambiente y seguridad alimentaria", Ingeniería Investigación y Desarrollo Vol. 16, 2, 2016, pp. 66-77.
16. 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.

EVALUACION DE EXTRACTO DE OREGANO EN CULTIVO DE FRIJOL PINTO SALTILLO CONTRA TIZON DE HALO

Sonia Valdez Ortega, Erika Cecilia Gamero Posada*, Ixchel Abby Ortiz Sanchez, Oscar Gilberto Alaniz Villanueva, Armando Montelongo Maturino y Arnulfo Cordova Corral

Tecnológico Nacional de México campus Valle del Guadiana.

*erika.gp@vguadiana.tecnm.mx

RESUMEN

El presente experimento se llevó a cabo en el laboratorio de biotecnología vegetal y en el campo del Instituto Tecnológico del Valle del Guadiana ubicado en el Ejido Villa Montemorelos Durango. En este proyecto se evaluó el uso de extracto de orégano y tratamiento químico en cultivo de frijol infectado con la bacteria *Pseudomonas syringae*, causante de la enfermedad del tizón de halo, la cual se tomó de una sepa del laboratorio de biotecnología vegetal que se aisló de semilla de frijol var. Pinto Saltillo. Para la obtención del extracto de orégano se utilizó la técnica de arrastre por vapor, esta solución se aplicó al bloque correspondiente cada semana durante el ciclo, se realizó un diseño experimental de bloques al azar de 4 bloques con 4 repeticiones los cuales fueron; semillas infectadas (I), semillas no infectadas (SI), semillas con tratamiento químico (Q) y semillas inoculadas con extracto de orégano (EO). Las variables por evaluar fueron: número de vainas por planta, número de granos por planta, peso seco de la raíz, peso seco de la planta. Los resultados obtenidos fueron analizados mediante análisis estadístico de Friedman, con el programa Infostat el cual indico que hay diferencias significativas entre tratamientos. En cuanto al número de vainas por planta, el tratamiento Q es el mejor, pero es estadísticamente igual a los tratamientos EO e I, mostrando diferencias significativas con SI; con respecto al número de granos por planta y peso seco de la planta, el mejor tratamiento fue el Q seguido de EO, ambos sin mostrar diferencias con el tratamiento I; los resultados de peso seco de raíz, indican que le mejor tratamiento fue I seguido del EO y Q, éstos mostrando diferencias con el tratamiento SI. Cabe mencionar que, al aplicar el tratamiento de extracto de orégano, la enfermedad causada por *Pseudomonas syringae* se observó solo en las hojas primarias y al continuar el desarrollo de la planta el tizón no se propago, ya que al momento de que las hojas cayeron a consecuencia del desarrollo foliar las hojas secundarias no presentaron la presencia de la enfermedad. Se puede concluir que el tratamiento con extracto de orégano tuvo resultados similares a los de tratamiento químico, por lo que puede ser una alternativa a los productos químicos, siendo estos productos amigables con el medio ambiente además de ser más económicos, con lo que se fomenta la agricultura orgánica.

INTRODUCCION

El frijol, es el cultivo de mayor importancia económica, alimenticia y social en Durango. En México el cultivo del frijol, con frecuencia es atacado por enfermedades bacterianas como son el Tizón Común y de Halo, los cuales tienen una amplia distribución en las zonas productoras de esta leguminosa (Campos, 1991; Navarrete, 1996).

El Tizón de Halo, inducido por *Pseudomonas syringae*, provoca la defoliación prematura de las plantas y puede llegar a causar la muerte de plantas jóvenes de genotipos susceptibles (Campos, 1991; Navarrete y Acosta, 2000).

Los extractos de diferentes especies vegetales han demostrado ser muy efectivos en el manejo de plagas y enfermedades, así como su utilización para proteger los cultivos e incrementar la calidad de producción, ya que tienen la propiedad de ser menos tóxicos y más fácilmente degradables. Estos productos han sido estudiados por muchos años y diferentes especies de orégano han demostrado actividad biológica tales como: antifúngica, antibacterial, insecticida, nematocida y antioxidante, (Cueto Wong; 2010).

TEORIA

En México, el grano de frijol por su alto contenido de proteína es básico para la alimentación de su población; ocupa el segundo lugar en importancia nacional después del maíz. La producción de las leguminosas, principalmente el frijol ha disminuido una tasa de 3.2%, con respecto a un crecimiento

de población más rápido que la producción. El frijol es una leguminosa que constituye una fuente de proteínas e hidratos de carbono natural; además es abundante en vitamina B como: niacina, ácido fólico y tianina; también proporciona hierro, cobre, zinc, fósforo, potasio, magnesio y calcio, contiene un alto contenido de fibra. Existen múltiples variedades de frijol que se caracterizan por su tamaño, color, forma y tipo de crecimiento. Se considera que en total existen 70 especies; en México están ascienden a 50, destacan cinco especies que se han domesticado *Phaseolus vulgaris* L. (frijol común), *Phaseolus coccineus* L. (frijol ayocote), *Phaseolus lunatus* L. (frijol comba), *Phaseolus dumosus* (frijol gordo) y *Phaseolus acutifolius* Gray (frijol tepari). En México se cultivan cerca de 70 variedades, de acuerdo con la norma son: negros, pintos, bayos, amarillos y rosados. El cultivo del frijol presenta características propias y definidas en el marco de la soberanía alimentaria, en virtud de que representa un alimento principal para la población rural y urbana. El frijol que se produce y consume en México, proviene en gran parte de genotipos nativos o criollos, y en menor nivel de variedades mejoradas, las cuales presentan ventajas agronómicas y también de calidad. En ambos casos, pero particularmente en los genotipos nativos, -cuya siembra tradicionalmente es para autoconsumo-, es común, además de la producción de grano seco, aprovechar el cultivo para obtener vainas tiernas o ejotes.

En México, existe una gran cantidad de enfermedades bacteriológicas que atacan a los cultivos causando grandes pérdidas en la producción y calidad del producto, tal es el caso de la bacteria *Pseudomonas syringae* (Tizón de halo), afectando principalmente al cultivo del frijol. Ésta enfermedad bacteriana se ubica dentro de los primeros cuatro problemas fitosanitarios que afectan al cultivo (López, 1991). Los estados donde se presenta con más frecuencia son: Chihuahua, Nuevo León, Tamaulipas, Zacatecas, Aguascalientes, Jalisco, Estado de México, Tlaxcala, Puebla y Durango (Campos, 1987; Navarrete y Acosta, 2000). En este último, el cultivo de frijol es de gran importancia económica alimenticia y social en el estado, ya que ocupa el segundo lugar a nivel nacional por la producción que registra (Rosales et al., 2009; Rosales et al., 2016). Este tipo de enfermedad se encuentra presente en un 83 % de las áreas de producción de semilla y hasta un 79 % en campos comerciales del cultivo, siendo la temperatura superior a 27 °C y una alta humedad relativa los factores que optimizan su desarrollo e infestación (Fourie, 2002). De no efectuar un control eficiente durante el ciclo agrícola, es capaz de causar severos daños que se ven reflejados en la disminución de la calidad del grano y rendimiento del frijol hasta un 47 %, lo cual reduce el precio de venta y los beneficios económicos obtenidos por los productores (López, 1991). Entre las soluciones propuestas para el control de esta enfermedad, se encuentra la aplicación de pesticidas químicos, sin embargo, han tenido efectos negativos sobre el ambiente, incluso sobre aspectos relacionados con la calidad de vida de las poblaciones humanas. Asimismo, se ha demostrado que su eficacia puede ser de corta duración y que algunas plagas y patógenos pueden presentar resistencia a los ingredientes activos de los productos (López et al., 2005). Otra opción es el empleo de productos orgánicos que contienen toxinas o sustancias que inhiben el desarrollo de las enfermedades.

El empleo de extractos vegetales para el control de plagas y enfermedades en el marco de una agricultura sostenible constituye una alternativa promisoriosa, debido a su elevada efectividad, bajo costo y no ser contaminantes del ambiente (Rodríguez et al., 2000).

Algunos extractos vegetales poseen actividad antimicrobiana y fungicida que no perjudican al cultivo, sino por el contrario favorecen la producción o el rendimiento de las cosechas; entre ellos se encuentran los extractos y aceites esenciales de orégano (García et al., 2006). Estos bioproductos se caracterizan por la presencia de determinados compuestos de origen natural, los cuales forman parte de las estrategias defensivas de las plantas (Villalobos, 1996) y son agrupados en compuestos nitrogenados, fenólicos y terpenoides (Harborne, 1993).

Pseudomonas syringae

Los primeros síntomas en hojas pueden variar entre manchas café sin aureola y manchas color café oscuro o negro con aureolas amarillas y brillantes

Es necesario aislar la bacteria y realizar pruebas de laboratorio para determinar qué patógeno es el que está presente ya que se puede confundir con otras causas

La bacteria se conoce por poder sobrevivir en plantas hospederas y no-hospederas en un estado no-parasítico, y se pueden propagar desde estas plantas en condiciones frías y húmedas. Las lesiones son indispensables para la infección y el patógeno puede invadir las lesiones causadas por otra enfermedad. (Steve et al., 2011).

PARTE EXPERIMENTAL

El presente experimento se llevó a cabo en el laboratorio de biotecnología vegetal y en el campo del Instituto Tecnológico del Valle del Guadiana ubicado en carretera Durango-México Km. 22.5 a 24°01'00' latitud norte, 104°40'00' longitud oeste, elevación 1860m en el Ejido Villa Montemorelos, Dgo.

Aislamiento de la cepa de tizón de halo.

Para la obtención de la bacteria se utilizó una cepa del laboratorio de biotecnología vegetal que fue aislada de frijol variedad pinto saltillo, el proceso consistió en realizar previa asepsia correspondiente en el área donde se trabajó, se preparó el medio de cultivo para posteriormente sembrar la bacteria, para esto se utilizó una asa de siembra que se sumergió en etanol para después colocarla sobre el fuego del mechero hasta que llegó al rojo vivo, se dejó enfriar un poco, luego se toma una muestra de la caja con la sepa de *pseudomonas syringae*, para sembrarla y reproducirla en las cajas petri con el medio de cultivo preparado previamente, se utilizó la técnica de siembra de estrías por cuadrante, posteriormente se introducen a la estufa microbiológica por 48 horas para el correcto desarrollo de la bacteria, pasado este tiempo se sacan de la estufa verificando su crecimiento para después guardarlas en el refrigerador hasta su utilización.

Infección de semilla a sembrar

Para la infección de las semillas de frijol se procedió a sacar las cajas sembradas del refrigerador para luego con la utilización de búfer de fosfatos vaciar un poco sobre la caja con la bacteria para despegarla del medio de cultivo con la utilización de una varilla en L, posteriormente se vació la bacteria sobre el frijol colocado previamente en un envase, para su correcta infección se llenó con búfer y agua destilada hasta quedar por arriba de la semilla.

Área experimental y distribución de tratamientos.

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con 4 tratamientos y 4 repeticiones de cada uno, los tratamientos utilizados fueron semillas infectadas (I), semillas sin infectar (SI), semillas infectadas con tratamiento químico (Q) y semillas inoculadas con extracto de orégano (EO), las variables dependientes a analizar fueron: número de vainas por planta, número de granos por planta, peso seco de la raíz, peso seco de la planta.

La siembra en el cuadro experimental se realizó de manera manual para tener un mejor diseño y precisión y optimizar las demás actividades planeadas como las mediciones y aplicaciones de los tratamientos, se sembraron 2 semillas en cada espacio para garantizar la germinación con una separación de 10 cm cada una, la siembra de la semilla infectada se realizó al final por precaución de no infectar los demás tratamientos.

Producción de extracto de orégano.

Para la obtención del extracto de orégano a evaluar se utilizó la técnica de arrastre por vapor, la cual consistió en colocar 200 gr de material seco en una olla de presión adaptada con 3 L de agua, se tapó con un tapón de hule para evitar pérdida de vapor. Se conectó la olla a un condensador con un tapón de hule horadado cerciorándose que no se tuvieran fugas de vapor, y con la corriente de agua de abajo hacia arriba.

Con un mechero o una placa calefactora se calentó la mezcla hasta ebullición con el fin de generar vapor, recuperando de esta manera el extracto. Se suspendió el calentamiento cuando empezó a verse la mezcla deshidratada, posteriormente se colocó el extracto embudo de separación, obteniendo así el aceite esencial y el extracto acuoso.

El extracto obtenido se colocó en frascos ámbar y se almacenaron en refrigeración hasta su uso. El material vegetal utilizado durante el experimento fue obtenido comercialmente en la ciudad de Durango, Dgo.

Para aplicar el extracto, se diluyo 1 litro de extracto de orégano por cada litro de agua común cada ocasión que se aplica el tratamiento en los cuadros experimentales teniendo así una concentración al 50% de la solución.

Manejo agronómico del cultivo.

Para el tratamiento químico se utilizó estreptomycin+oxitetraciclina la cual es usada como antibiótico para controlar enfermedades causadas por bacterias, la preparación indicada es de 60g de este producto por cada 100 litros de agua común, en este caso solo se utilizó 1.2 g con 2 litros de agua por cada aplicación en los cuadros experimentales.

El modo de aplicación tanto del tratamiento químico y del extracto de orégano fue con mochila aspersora para así asegurar el total cubrimiento del follaje con los productos en cada una de las plantas estudiadas de cada tratamiento, la dosis utilizada aproximadamente por planta fue de 25ml. Por cada cuadro experimental se tomaron 20 plantas para realizar las evaluaciones correspondientes a partir de los 14 días después de la siembra (DDS), ya que a los 7 DDS no fue posible la toma de datos por cuestiones climáticas (aplicación de productos, medición de germinación, identificación de plantas).

Las mediciones de cada planta se realizaron con un vernier y cuando ya no fue posible, con un metro de madera, las medidas se tomaron de la superficie al tallo y otra de la superficie a la hoja más alta. Para la identificación de cada planta en cada tratamiento experimental se utilizaron etiquetas de papel encerado identificando cada una con número de planta, tratamiento y bloque, esto para tener una óptima y acertada toma de datos.

Las escardas realizadas fueron de manera manual con un azadón esto para proteger las etiquetas de identificación y también el cuidado de las plantas seleccionadas a evaluar.

Una vez concluido el tiempo del experimento se procedió a recolectar las 20 plantas por tratamiento para ser llevadas al laboratorio y cuantificar el número de vainas por planta y el número de granos por planta, posteriormente se colocaron las plantas en papel y se dejaron por varios días hasta sequedad, para poder obtener los datos de peso seco de la raíz y el peso seco de la planta.

RESULTADOS

Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente en el programa computacional Infostat, mediante el análisis estadístico de Friedman, el cual indico que hay diferencias significativas entre tratamientos. Como se muestra en el Cuadro 1, en cuanto al número de vainas por planta, el tratamiento Q obtuvo mayor número de vainas por planta con una media de 2.94, sin embargo, es estadísticamente igual a los tratamientos I y EO (con medias de 2.71 y 2.61 respectivamente), mostrando diferencia significativa con SI y un valor de la media de 1.74. Con respecto al número de granos por planta el mejor tratamiento resulto ser Q con una media de 2.92, seguido de EO con una media de 2.75, ambos sin mostrar diferencias con I que obtuvo una media de 2.71, teniendo los resultados anteriores diferencia significativa con SI con una media de 1.62; de la misma manera, en el peso seco de la planta, el mejor tratamiento fue el Q con una media de 2.76, seguido de EO con una media de 2.74, sin mostrar diferencia con el tratamiento I con una media de 2.73, siendo el tratamiento SI el único significativamente diferente con una media de 1.77; finalmente para el peso seco de la raíz los resultados indican que le mejor tratamiento fue I con una media de 2.93 seguido del EO y Q (con medias de 2.71 y 2.57 respectivamente), éstos mostrando diferencias con el tratamiento SI con una media de 1.79.

Cuadro 1. Comparación de medias de variables agronómicas de calidad de frijol infectado con tizón de halo bajo la aplicación de extracto de orégano.

Tratamiento	No. de vainas por planta	No. Granos por planta	Peso seco de la planta	Peso seco de raíz
SI	1.74 A	1.62 A	1.77 A	1.79 A
EO	2.61 B	2.75 B	2.74 B	2.71 B
I	2.71 B	2.71 B	2.73 B	2.93 B
Q	2.94 B	2.92 B	2.76 B	2.57 B

†Medias con una letra común no son significativamente diferentes, según la prueba de Friedman ($P > 0.05$).

Cabe mencionar, que, al aplicar el tratamiento de extracto de orégano, la enfermedad causada por *Pseudomonas syringae* se observó solo en las hojas primarias y al continuar el desarrollo de la planta el tizón no se propago, ya que al momento de que las hojas cayeron a consecuencia del desarrollo foliar las hojas secundarias no presentaron la presencia de la enfermedad.

CONCLUSIONES

Al observar los resultados favorables con la aplicación de esta solución a partir del extracto de orégano se puede decir que el tratamiento con extracto de orégano tuvo resultados similares a los del tratamiento químico por lo que se puede concluir que el uso de extracto de orégano en el manejo cultural del frijol puede ser una alternativa orgánica recomendada de control de enfermedades bacterianas o fitosanitarias como el tizón de halo. A pesar de no aumentar el rendimiento del cultivo, es una opción viable de tratamiento ya que puede resultar más económico aunado a que es amigable con el medio ambiente, lo que fomenta la agricultura orgánica.

BIBLIOGRAFIA

1. J. Campos, "Enfermedades del frijol", Ed. Trillas, Primera Edición, México, pp. 70-73
2. Cueto, "Productos Naturales para el Control de Agentes Fitopatógenos" Comunidad de Instituciones de Educación Superior de la Laguna. Encuentro Regional de Investigadores, 2010.
3. Fourie, "Distribution and severity of bacterial diseases on dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in South Africa", *Phytopathology*. Vol.150, No. 4-5: 2002, pp. 220-226.
4. C.E. García, V.M. Quezada, L.J. Moreno, H.G. Sánchez, M.E. Moreno, R.M. Pérez, "Actividad antifúngica de aceites esenciales de canela (*Cinnamomum zeylanicum blume*) y orégano (*Origanum vulgare* L.) y su efecto sobre la producción de aflatoxinas en nuez pecanera" *Revista Mexicana de Fitopatología*, Vol. 24, No. 1, 2006, pp. 8-12.
5. J. B. Harborne, "Handbook of bioactive compound from plants", *Phytochemical Dictionary*, 1993, pp. 791
6. F. L. López, "Definición de prioridades de investigación fitopatológica para la zona templada del Altiplano Central de México. *Agric. Téc. Méx.*, Vol. 17, 1991, pp. 17-54
7. B. A. López, B. S. López, E. M. Mendoza "Efecto de extractos vegetales en el crecimiento de *Rhizoctonia solani* Kun *in vitro* y en plantas de frijol susceptible", Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. CIGA, ITA, No. 33, 2005
8. M.R. Navarrete, "Variación patogénica de *Xanthomonas campestris* pv. *Phaseoli* en México y resistencia del frijol al tizoón común", Tesis de Doctorado, Colegio de Posgraduados, Instituto de Fitosanidad, 1996, pp. 1-11
9. M. R. Navarrete, J. A. Acosta, "Resistencia del frijol al tizón de halo en el Valle de México y progreso de la enfermedad". *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 23, 2000, pp. 17-28.

10. J.M. Prudencio, R. Navarrete. J. Navarrete, J.A. Acosta, “Dinámica de los tizones común y de halo del frijol en el Valle de México”, *Agricultura Técnica en México*, Vol. 34, No. 2, 2008, pp. 213-223.
11. T. Rodríguez, D. Morales, M. A. Ramírez, “Efecto de extractos vegetales sobre el crecimiento in vitro de hongos Fitopatógenos”, *Revista Cultivos Tropicales*, Cuba, Vol. 21, No. 2, 2000, pp. 79-82
12. S. Rosales, G. J. Acosta, P. F. J. Ibarra, R. E. Cuéllar, B. C. Nava, “Validación de variedades y líneas mejoradas de frijol en Durango”, *Publicación Especial. INIFAP-CIRNOC-Campo Experimental Valle del Guadiana*. Durango, Méx., No. 27, 2009, pp.93
13. H. S. Taha, S. A. Bekheet, M. K. El-Bahr. “A new concept for production and scaling up of bioactive compounds from Egyptian date palm (Zaghloul) cultivar using bioreactor. *Food Agriculture*, Vol. 24 Num 5, 2012, pp. 425-433.

CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES TOTALES EN CEMPASÚCHIL (*TAGETES ERECTA*) VAR. INCA EN RESPUESTA A DIFERENTES PORCENTAJES DE SOMBREADO

María Guadalupe Peralta Sánchez, Gabriel Alcántar-González, Fernando C. Gómez-Merino, Olga Tejeda-Sartorius, Libia I. Trejo-Téllez

Colegio de Postgraduados Campus Montecillo
mgperalta@colpos.mx, alcantar@colpos.mx, fernandg@colpos.mx, olgats@colpos.mx,
tlibia@colpos.mx

RESUMEN

Los azúcares son producto de la fotosíntesis, y tienen gran influencia en la calidad de la flor. En esta investigación se evaluaron los efectos de cuatro porcentajes de sombreado (0, 30, 50 y 70%) en plantas de cempasúchil (*Tagetes erecta* L.) var. Inca cultivado en hidroponía en invernadero, en la concentración de azúcares totales en hojas y en inflorescencias. Como sustrato se empleó una mezcla de tezontle/perlita (60:40, v:v). Los tratamientos fueron evaluados en un diseño experimental completamente al azar, con veinte repeticiones cada uno. Se usó un sistema de riego por goteo, con solución nutritiva Steiner al 30%. La cosecha de inflorescencias se realizó manualmente cuando éstas alcanzaron su mayor apertura, lo cual ocurrió 38 días después del inicio de tratamientos (ddit). La determinación de azúcares totales se hizo a partir de 1 g de materia fresca de hojas e inflorescencias por el método de la antrona. En hojas de plantas sometidas a porcentajes de sombreado de 50 y 70%, se observaron incrementos significativos en la concentración de azúcares en comparación con el resto de los tratamientos. En las inflorescencias, se observan concentraciones ligeramente superiores en los tratamientos con mayor sombreado; sin embargo, estos incrementos no fueron significativos. Se concluye que el mayor sombreado afecta de manera positiva la acumulación de azúcares en hojas.

INTRODUCCIÓN

Los factores ambientales afectan la distribución de las plantas y ejercen un efecto selectivo hacia aquellas que tienen una mejor adaptación (Rosa *et al.*, 2009). El estrés abiótico afecta diferentes procesos celulares como el crecimiento, la fotosíntesis, la partición del carbono, el metabolismo de carbohidratos y lípidos, la homeostasis osmótica, síntesis de proteínas y expresión génica (Rosa *et al.*, 2009; Vélez-Ramírez *et al.*, 2017).

Dentro de los factores ambientales que influyen a las plantas superiores está la luz, la cual impulsa la fotosíntesis como fuente de energía y controla muchos procesos fisiológicos (Chen *et al.*, 2019). Además de ser la principal fuente de energía, la luz juega un papel regulador y de señalización en los procesos metabólicos y de desarrollo (Eckstein *et al.*, 2012). El exceso de luz puede afectar el crecimiento de las plantas y como consecuencia provocar una reducción en la productividad como resultado la fotoinhibición (Gonçalves *et al.*, 2005). Para evitar este estrés, las plantas han desarrollado diversos mecanismos de protección que limitan la absorción de luz, como los movimientos de la lámina foliar o la presencia de pelos o tricomas en las hojas (Eckstein *et al.*, 2012). Una de las principales biomoléculas del metabolismo vegetal son los azúcares, los cuales son producidos durante la fotosíntesis. Estas moléculas sirven como sustratos en procesos energéticos y en la síntesis de compuestos metabólicos y estructurales (aminoácidos, ácidos grasos y celulosa). Así también, son el principal material de almacenamiento en las plantas (Eckstein *et al.*, 2012). La sacarosa es la principal azúcar transportable en las plantas y es degradada por la enzima invertasa a fructosa y glucosa.

Los azúcares solubles no solo funcionan como recursos metabólicos y constituyentes estructurales de las células como se indicó previamente, sino que también actúan como señales que regulan diversos procesos asociados con el crecimiento y desarrollo de las plantas. Pueden actuar directamente como señales negativas o como moduladores de la sensibilidad de la planta, por tanto, pueden desempeñar un papel importante en las respuestas celulares a las señales remotas inducidas por el estrés (Rosa *et al.*, 2009).

Las respuestas de las plantas pueden ser activadas por cambios en la intensidad, calidad de la luz y el fotoperiodo, entre los cuales la calidad de la luz actúa con efectos complejos en la morfología y fisiología de la planta (Chen *et al.*, 2019).

Por otra parte, el género *Tagetes* (Asteraceae) incluye 53 especies anuales y perennes nativas del continente americano, desde el sureste de Estados Unidos hasta América del Sur. Varias especies de *Tagetes*, comúnmente llamadas cempasúchil, son plantas ornamentales y medicinales bien conocidas que se cultivan en todo el mundo (Cicevan *et al.*, 2016). El objetivo de esta investigación fue evaluar diferentes porcentajes de sombreado con la implementación de malla sombra en el cultivo, en la concentración de azúcares solubles totales en hojas e inflorescencias de cempasúchil.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en hidroponía en el Campus Montecillo del Colegio de Postgraduados, Texcoco, Estado de México (19° 29' N y 98° 53' O y 2250 m de altitud), bajo condiciones de invernadero. Se utilizaron plántulas de cempasúchil (*Tagetes erecta* L.) var. Inca, adquiridas con la empresa Plántulas de Tetela. Las plántulas fueron trasplantadas a macetas de plástico conteniendo como sustrato una mezcla de tezontle:perlita (60:40, v:v). Las plantas fueron irrigadas a través de un sistema de riego por goteo, con la solución nutritiva Steiner al 30 %, pH 5.5.

La aplicación de tratamientos inició cuando se observó la aparición del primer botón floral. Se evaluaron cuatro porcentajes de sombreado (0, 30, 50 y 70 %) con malla sombra de color negro. La cosecha de inflorescencias se realizó manualmente cuando éstas alcanzaron su mayor apertura, lo cual ocurrió 38 días después del inicio de tratamientos (ddit). La determinación de azúcares totales se hizo a partir de 1 g de materia fresca de hojas e inflorescencias por el método de la antrona. Estos resultados fueron analizados estadísticamente mediante un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias por Tukey con un nivel de confianza de 95% con el software Statistical Analysis System (SAS, 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Concentración de azúcares totales en hojas e inflorescencias con diferentes porcentajes de sombreado

Las concentraciones de azúcares totales en hojas e inflorescencias de plantas de cempasúchil tratadas con diferentes niveles de sombreado se presentan en la Figura 1.

En hojas de plantas sometidas a porcentajes de sombreado de 50%, se observan incrementos significativos en la concentración de azúcares en comparación con el resto de los tratamientos, excepto con el tratamiento 70% de sombreado, con el cual no existe diferencia (Figura 1A). Zhu *et al.* (2018) reportan que las hojas maduras son los principales órganos fotosintéticos que fijan el carbono atmosférico para producir sacarosa para suministrar a los tejidos no fotosintéticos a través del transporte a larga distancia mediado por el floema en la mayoría de las plantas.

En las inflorescencias, los tratamientos de sombreado no influyeron la concentración de azúcares como se observa en la Figura 1B).

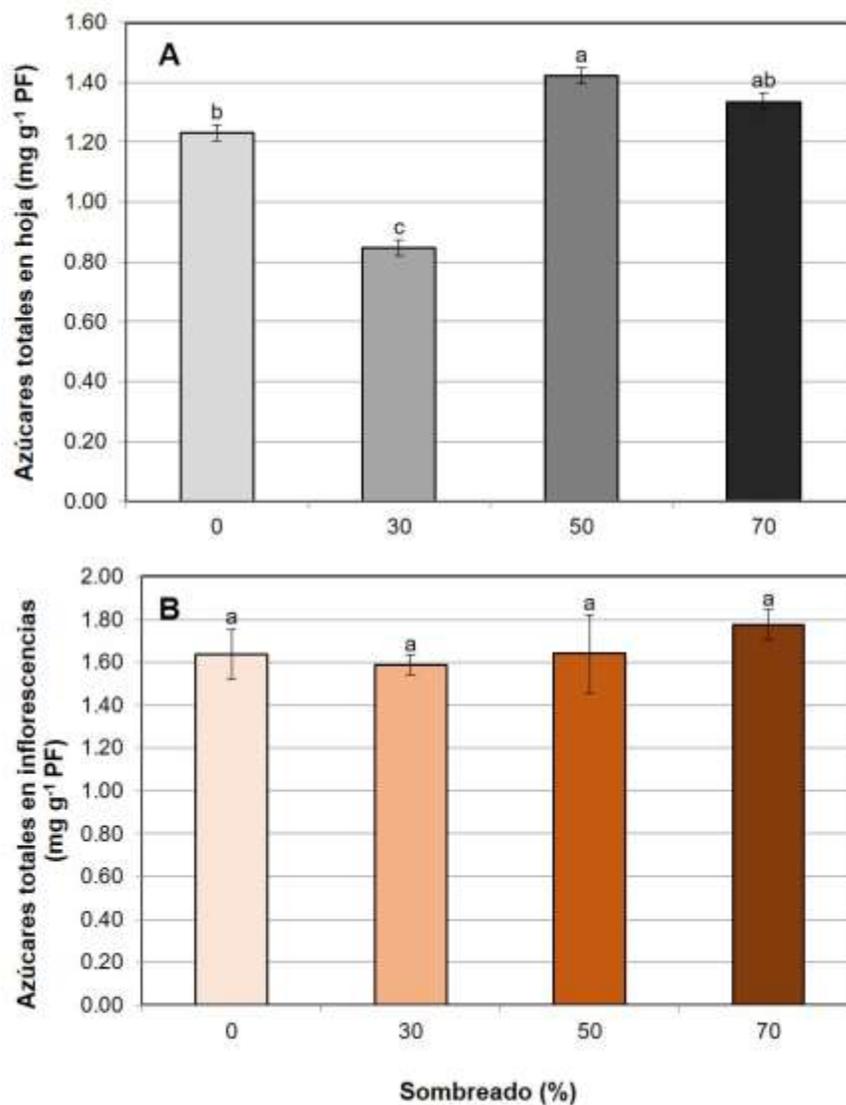


Figura 1. Azúcares totales en hojas (A) e inflorescencias (B) de plantas de cempasúchil var. Inca, tratadas por 38 días con diferentes porcentajes de sombreado en fase de floración. Barras \pm DE con letras diferentes en cada subfigura indican diferencias estadísticas entre tratamientos (Tukey, $P \leq 0.05$). PF= peso fresco.

Las hojas e inflorescencias testigo (sin sombreado) tienen valores de concentración de azúcares inferiores en 92.24 y 92.06%, respectivamente, en comparación con el tratamiento de sombreado a 70%. Contrario a lo aquí obtenido, Páez *et al.* (2007) mencionan que la radiación más baja (30% de la radiación total) redujo la concentración de carbohidratos totales en hojas de verdolaga (*Portulaca oleracea* L.) al 18%, en comparación con las plantas que crecieron bajo luz total (100%). Por otra parte, Watson *et al.* (2002) mencionan que diferentes niveles de sombreado (0, 25 y 47 %) tuvieron un efecto significativo en las concentraciones de glucosa y sacarosa en plantas de fresa. Las concentraciones de sacarosa en la fruta mostraron diferencia significativa entre el testigo sin sombreado (0.7%) y el tratamiento consistente en 47% de sombreado (0.1 %) en todas las fechas de cosecha. Hou *et al.* (2018) indicaron que el sombreado incrementa los niveles de azúcares solubles en *Rosa hybrida* L. Del mismo modo, Samojeden *et al.* (2018) mencionan que las plantas de *Cordia americana* bajo sombra presentaron mayor contenido de azúcares solubles con respecto

a las plantas expuestas a pleno sol. Vélez-Ramírez *et al.* (2017) demostraron que la luz continua altera el metabolismo de los carbohidratos a nivel transcripcional en plantas de tomate, el contenido de sacarosa y almidón se correlaciona negativamente con la eficiencia cuántica máxima de PSII bajo cuatro tratamientos con luz. Asimismo, el metabolismo de la sacarosa juega un papel fundamental en el desarrollo de las hojas de las plantas (Zhu *et al.*, 2018).

CONCLUSIONES

Se concluye que, en cempasúchil var. Inca, el mayor sombreado afecta de manera positiva la acumulación de azúcares en hojas; mientras que, el sombreado no tiene influencia en la concentración de azúcares en las inflorescencias.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. Eckstein, P. Zięba, and H. Gabry's. "Sugar and light effects on the condition of the photosynthetic apparatus of *Arabidopsis thaliana* cultured *in vitro*". J. Plant Growth Regul. 2012. 31: 90-101.
2. A. I. Vélez-Ramírez, N. Carreño-Quintero, D. Vreugdenhil, F. F. Millenaar, and W. V. Leperen. "Sucrose and starch content negatively correlates with PSII maximum quantum efficiency in tomato (*Solanum lycopersicum*) exposed to abnormal light/dark cycles and continuous light". Plant Cell Physiol. 2017. 58(8): 1339-1349.
3. A. Páez, P. M. Páez, M. E. González, A. Vera, D. Ringelberg, y T. J. Tschaplinski. "Crecimiento, carbohidratos solubles y ácidos grasos de verdolaga (*Portulaca oleracea* L.) sometida a tres niveles de radiación". Rev. Fac. Agron. (Luz). 2007. 24: 642-660.
4. C. G. Samojeden, A. C. Artusi, H. A. A. Delavatti, S. V. Milesi, R. L. Cansian, C. Kissmann, and T. L. Sausen. "Light environment influences the flood tolerance in *Cordia americana* (L.) Gottschling, and J. S. Mill.". An. Acad. Bras. Cienc. 2018. 90(3): 2945-2953.
5. J. F. C. Gonçalves, D. C. S. Barreto, U. M. dos S. Junior, A. V. Fernandes, P. de T. B. Sampaio, and M. S. Buckeridge. "Growth, photosynthesis and stress indicators in young rosewood plants (*Aniba rosaeodora* Ducke) under different light intensities". Braz. J. Plant Physiol. 2005 17(3): 325-334.
6. J. Zhu, J. Qi, Y. Fang, X. Xiao, J. Li, J. Lan, and C. Tang. "Characterization of sugar contents and sucrose metabolizing enzymes in developing leaves of *Hevea brasiliensis*". Front. Plant Sci. 2018. 9: 58.
7. M. Rosa, C. Prado, G. Podazza, R. Interdonato, J. A. González, M. Hilal, and F. E. Prado. "Soluble sugars-Metabolism, sensing and abiotic stress". Plant Signal. Behav. 2009. 5(4): 388-393.
8. R. Cicevan, M. Al Hassan, Sestras A. F., Prohens J., O. Vicente, R. E. Sestras, and M. Boscaiu. "Screening for drought tolerance in cultivars of the ornamental genus *Tagetes* (Asteraceae)". PeerJ. 2016. 4: e2133.
9. R. Watson, C. J. Wrigth, T. McBurney, A. J. Taylor, and R. S. T. Linforth. "Influence of harvest date and light integral on the development of strawberry flavor compounds". J. Exp. Bot. 2002. 53(377): 2121-2129.
10. SAS High-Performance Forecasting 2.2: User's Guide. (Vol. 1 & 2). Cary, NC: SAS Institute Inc. Ver. 9). 2002. 652 p.
11. W. Hou, Y. Luo, X. Wang, Q. Chen, B. Sun, Y. Wang, Z. Liu, H. Tang, and Y. Zhang. "Influence of shading on ornamental and physiological characteristics during flower development of groundcover rose (*Rosa hybrida* L.)". AIP Conference Proceedings 1956. 2018. 020010.
12. X. Chen, L. Wang, T. Li, Q. Yang, and W. Guo. "Sugar accumulation and growth of lettuce exposed to different lighting modes of red and blue LED light". Sci. Rep. 2019. 9: 6926.

EVALUACIÓN DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN Y CONTAMINACIÓN EN MEDIO DE CULTIVO QUÍMICO Y ORGÁNICO EN LA PROPAGACIÓN *IN VITRO* DE DOS ESPECIES DE AGAVE

Andrea Guadalupe Martínez –Enríquez¹, Yasmín Díaz-Ortega^{1*}, Ixchel Abby Ortiz-Sánchez¹, Erika Cecilia Gamero-Posada¹, Sonia Valdez-Ortega¹, Guillermo González-Cervantes²

¹Tecnológico Nacional de México campus Valle del Guadiana, ²Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Relación Agua, Suelo, Planta, Atmósfera- Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias.
*yasmin_30_95@hotmail.com

RESUMEN

En México el género *Agave* es uno de los más representativos por su abundancia e importancia económica y cultural. El *Agave durangensis* Gentry, también conocido como maguey cenizo, es de gran importancia económica y representa una forma de sustento para la industria regional productora de mezcal en el estado de Durango. Por otra parte, el *Agave victoriae-reginae* T. Moone es una especie altamente demandada para uso ornamental. Es una especie catalogada en peligro de extinción por la norma oficial mexicana NOM-059SEMARNAT-2010. Por tal motivo, el cultivo de tejidos vegetales (CTV) es una herramienta invaluable para la resolución de problemas básicos y aplicados en la biología vegetal. El objetivo de la presente investigación fue comparar el efecto entre un medio de cultivo químico y uno orgánico en la germinación y contaminación de *A. durangensis* Gentry y *A. victoriae-reginae* T. Moone. Para la realización de este estudio, se establecieron las semillas de dichas especies siguiendo la metodología tradicional de la técnica de CTV con dos Tratamientos: 1) medio MS al 50 % de su concentración sin reguladores de crecimiento y 2) medio a base de lixiviado (LC) al 20 % sin reguladores, con 12 repeticiones para cada uno de ellos, en ambas especies. Para el *A. durangensis* Gentry se observó que el tratamiento orgánico presentó un 53.33 % de semillas germinadas a los 5 días de incubación; por su parte, el tratamiento químico presentó el 48.33 % de semillas germinadas; estos datos, permiten aseverar que el lixiviado promueve en menor tiempo, la germinación de más de la mitad de las semillas. Con respecto a la contaminación de las semillas, el análisis demostró que el medio químico presentó un 61.66% de contaminación, mientras que el medio orgánico obtuvo un porcentaje significativamente bajo, 8.33% de semillas contaminadas. Para el *A. victoriae-reginae* T. Moone los resultados obtenidos mostraron que, en el medio MS, la semilla germinó en los primeros días de establecido el cultivo. Sin embargo, a partir de los 10 y hasta los 24 días del establecimiento, el medio a base de LC lo igualó en el número de semillas germinadas, por lo que no se detectó diferencia significativa entre los dos tratamientos. En cuanto a la contaminación, no se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos, no obstante, la tendencia observada fue que el medio de cultivo a base de LC presentó la contaminación más baja (1.66 %) en comparación con el medio MS (13.33 %). El caso de éxito de este experimento se expone como base en la producción de plantas *in vitro* de forma orgánica. Esto permitirá hacer más eficiente la producción de plantas mediante esta técnica al reducir los costos.

INTRODUCCIÓN

En México, el género *Agave*, es uno de los más representativos por su abundancia e importancia económica y cultural, ya que se le ha aprovechado desde hace siglos como alimento, bebida, usos medicinales, combustible, ornato, fibras, abono y para la construcción de viviendas (García-Mendoza, 2007). El *Agave durangensis* Gentry, también conocido como maguey cenizo, es de gran importancia económica y representa una forma de sustento para la industria regional productora de mezcal en estado de Durango. De su aprovechamiento en campo se obtiene como materia prima la piña mediante el proceso de jimado, quedando las hojas como residuo, mismas que representan aproximadamente el 50% de la planta (González, 2011). Su reproducción se lleva a cabo por semilla, bulbillo o por rizomas. Su crecimiento es muy lento y la maduración toma de 8 a 10 años y florece solo una vez durante su ciclo de vida, al cabo del cual la planta muere (Nobel, 1998). Este cultivo habita en zonas áridas y semiáridas de México, en Durango se encuentran 24 especies

del género *Agave*, siendo el *Agave durangensis* una de las más importantes debido que mantiene la industria del mezcal en esa entidad (Almaraz et al. 2009). La Noa (*Agave victoriae-reginae* T. Moore) es una especie que se encuentra con mayor grado de amenaza en su supervivencia, mismo, que es de relevancia para la flora nacional y en particular de la Comarca Lagunera, por su nivel de endemismo y por el papel que desempeña en la estructuración de los ecosistemas áridos de nuestro país. Es por eso, que se encontró dos de las causas de la devastación de esta planta; la destrucción del hábitat y el saqueo de ejemplares con fines comerciales (Cruz, 2008).

El cultivo de tejidos vegetales es una herramienta muy útil en la resolución de problemas básicos aplicados en la biotecnología vegetal. Se ha demostrado su utilidad para estudiar, propagar y conservar especies hortícolas, ornamentales y principalmente aquellas que presentan problemas en su conservación como cactáceas, árboles y muchas más especies (Malabadi, et al. 2004; Portillo et al. 2007; Ramírez et al. 2007). En la técnica de cultivo de tejidos vegetales *in vitro*, se utilizan medios de cultivo de origen químico compuestos por sales inorgánicas como suministro de nutrientes, pero representa una importante inversión en la producción de plantas. Estos medios se pueden adquirir con proveedores especializados en materiales de laboratorios, ya sea preparados o en reactivos por separado; no obstante, el costo es alto y variable dependiendo de su tipo y composición. Hoy en día como una alternativa sustentable y de bajo costo, se está utilizando Lixiviado de Compost como medio de cultivo el cual es de origen orgánico y presenta gran eficacia en la nutrición vegetal, ya que contiene los elementos necesarios que demandan las plantas para su desarrollo. Por tal motivo, el objetivo de este trabajo fue evaluar el uso de lixiviado de compost como medio de cultivo basal en la reproducción *in vitro* de *A. durangensis* y *A. victoriae-reginae*.

TEORÍA

El cultivo de células y tejidos vegetales se refiere al conjunto de técnicas usadas para crecer células, tejidos u órganos vegetales *in vitro*, bajo condiciones asépticas, controladas y libres de microorganismos (Street, 1977; Calva y Ríos 1999). Se basa en el principio de totipotencia, que indica que cualquier célula vegetal contiene una copia íntegra del material genético de la planta a la que pertenece sin importar su función o posición en ella, y por lo tanto tiene el potencial para regenerar una nueva planta completa (Fert y Paul, 2000). Involucra a diferentes técnicas de cultivo de material vegetal diverso, incluyendo a los protoplastos (células desprovistas de su pared celular), células, tejidos, órganos y plantas completas. Mediante éstas y otras técnicas de cultivo, es posible obtener plantas libres de microbios en un medio nutritivo aséptico (estéril) en condiciones ambientales controladas (Höxtermann, 1997).

El cultivo se incuba bajo condiciones ambientales de luz, temperatura y humedad controladas, que junto con las fisicoquímicas y nutricionales conducen el desarrollo del explante hacia la formación de una masa celular amorfa denominada callo (desdiferenciación celular acompañada de crecimiento tumoral), o bien generar una respuesta morfogénica por la cual se forman órganos (organogénesis) o embriones (embriogénesis somática) (López, 1996). Es decir, la propagación *in vitro* abarca dos vías de regeneración de plantas completas (morfogénesis): la embriogénesis somática y la organogénesis (Levitus et al. 2010).

El cultivo de tejidos vegetales (CTV) es una herramienta invaluable para la resolución de problemas básicos y aplicados en la biología vegetal, ya que por una parte ofrece una serie de sistemas modelo ideales para la investigación fisiológica, bioquímica, genética y estructural, y por otro lado tiene una aplicación práctica en la clonación, conservación y manipulación *in vitro* de cualquier material vegetal (Pérez et al. 1999). De esta forma, Villalobos y Thorpe (1991), refieren que las técnicas de cultivos asépticos han contribuido no sólo a un mejor entendimiento de la diferenciación celular, sino a un mejor aprovechamiento de tal evento en la explotación más eficiente de las plantas. En este último aspecto se resaltan los siguientes usos de las técnicas del cultivo *in vitro*: propagación masiva de plantas, especialmente para especies de difícil propagación por otros métodos o en vías de extinción, clonación de individuos de características agronómicas muy deseables durante todo el año, obtención de plantas libres de virus, producción de semillas sintéticas, conservación de germoplasma, obtención de metabolitos secundarios, producción de nuevos híbridos, mejora genética de plantas, germinación de semillas, etc. (Sergentín, 2006). Se ha demostrado su gran utilidad para estudiar, propagar y conservar especies hortícolas, ornamentales y principalmente

aquellas que presentan problemas en su conservación como cactáceas y árboles entre muchas más (Malabadi et al. 2004; Portillo et al. 2007; Ramírez et al. 2007).

Un medio de cultivo es una solución acuosa en donde se encuentran disueltas sales minerales que aportan los elementos esenciales Macronutrientes (N, P, K, S, Ca y Mg) y Micronutrientes (Fe, B, Mn, Zn, Cu, Mo, y Co). Normalmente es imprescindible una fuente de carbono, generalmente la sacarosa, debido a la escasa actividad fotosintética de los tejidos *in vitro*. Además, el medio puede ser enriquecido con aminoácidos, vitaminas y reguladores del crecimiento. Los medios de cultivo se pueden utilizar de forma líquida o con un agente gelificante como el agar. Las exigencias minerales varían con la especie, la naturaleza del tejido y su estado fisiológico, pero, además, también varían con el método de cultivo y el tipo de organogénesis estudiado (Badillo et al. 2009). La elección de un medio de cultivo adecuado para la especie, tipo de explante y respuesta esperada determina en gran medida el éxito o fracaso de los cultivos *in vitro*, por lo que siempre resulta un punto crítico al ser determinado experimentalmente.

En teoría, los requerimientos nutricionales de los tejidos vegetales cultivados *in vitro* deben ser similares a los que se presentan en la planta completa bajo condiciones normales. Sin embargo, existen algunas diferencias importantes que deben ser consideradas. Por ejemplo, la adición de una fuente de carbono y algunas otras sustancias orgánicas; ya que en estas condiciones la tasa fotosintética generalmente se encuentra disminuida. En la actualidad, se ha desarrollado una gran cantidad de medios de cultivo diferentes que cumplen con los requerimientos nutricionales necesarios para sostener el crecimiento de los tejidos vegetales cultivados *in vitro*. Algunos de estos medios son específicos y se adaptan a un solo tipo de tejido o a una determinada especie vegetal. Otros medios de cultivo son de uso más general, es decir, pueden ser aplicados al cultivo de una amplia gama de especies y tejidos diferentes (Badillo et al. 2009).

La fracción líquida que se obtiene del proceso de compostaje del estiércol se conoce como lixiviados de compost, extractos de compost y té de compost y presenta como ventaja una densidad más uniforme (Simpson, 1986) (Figura 1). Los lixiviados han sido considerados, tradicionalmente, como un fertilizante líquido orgánico. Este material está siendo utilizado para el control de plagas y enfermedades, puesto que tienen una gran abundancia y diversidad de microorganismos benéficos, por lo que no son considerados pesticidas (Litterick et al. 2004). Otros contienen químicos antimicrobianos que inhiben el crecimiento de hongos; dada la gran variedad de lixiviados es muy difícil determinar el número de microorganismos benéficos presentes (Capulín et al. 2001).



Figura 1. Lixiviado de compost.

El compostaje ha sido una técnica utilizada desde siempre por los agricultores como una manera de estabilizar los nutrientes de residuos de material orgánico para su uso como fertilizante. El compostaje es un proceso aerobio más que anaerobio combina fases mesófilas (15 a 40 °C) y termófilas (40 a 70 °C) para conseguir la reducción de los residuos orgánicos y su transformación en un producto estable y valorizable. Puede definirse el compost como el producto que se obtiene al someter la materia orgánica a un proceso de fermentación aerobia que la transforma en una mezcla estable, lo más homogénea posible y que guarde una relación entre sus componentes que

le confieran un buen valor agronómico. Así mismo otros estudios realizados demuestran que los extractos de compost poseen componentes activos de bacterias (*Bacillus*), fermentos (*Sporobolomyces* y *Cryptococcus*) y hongos, además de antagonistas químicos como fenoles y aminoácidos, los cuales tienen efectos positivos sobre el crecimiento y condiciones sanitarias de las plantas (Makarewicz, 2006).

Los lixiviados están compuestos por un amplio rango de componentes inorgánicos, naturales y xenobióticos. Al considerar el tratamiento de los lixiviados, es importante resaltar las características que han sido identificadas como la alta biodegradabilidad, concentraciones altas de sustancias como nitrógeno amoniacal que resulta tóxico para muchos organismos, y altos contenidos de sólidos suspendidos.

El nombre del género agave se deriva del vocablo griego agave (noble, admirable), descrito por el botánico sueco y padre de la taxonomía moderna, Carlos Linneo en 1753, siendo como género más importante en la familia monocotiledónea Agavaceae (Nobel, 1998). Es un grupo de plantas que se encuentran únicamente en los territorios del continente americano, reportándose una cantidad aproximada de 200 especies, distribuidos desde el sur de Estados Unidos, hasta territorios de Venezuela y Colombia. México es el país con la mayor cantidad de especies de Agaves. Los registros establecen que la cantidad de especies de Agaves en México ascienden a 150, lo que corresponde al 75% del total de especies existentes. Es importante mencionar, que del total de especies del género *Agave* reportadas en México, el 69% de los taxones son endémicos en diferentes estados (García, 2007).

Los agaves son plantas perennes, frecuentemente propagadas por hijuelos, con raíces duras y fibrosas; además cuentan con un tallo corto y grueso. Sus hojas son grandes, suculenta-fibrosas que terminan en una espina y que están dispuestas en forma de roseta, los márgenes de las hojas presentan pequeñas espinas en forma de gancho (Figura 2). Las inflorescencias son bracteadas, escamosas y paniculadas. Las semillas son planas, negras y ovaladas, un lado es más redondo mientras que el otro es delgado, en el cual tiene una pequeña abertura. La roseta llega a medir aproximadamente 2m de ancho y 1.5 m de alto, las hojas son anchas y cóncavas con un color verde grisáceo, y estas cuenta con una espina al final del ápice, sus espinas son grandes y prominentes, su inflorescencia es ramificada y puede llegar a medir 4.5 m de alto, la floración se presenta de julio a noviembre y su reproducción es tanto sexual como asexual.

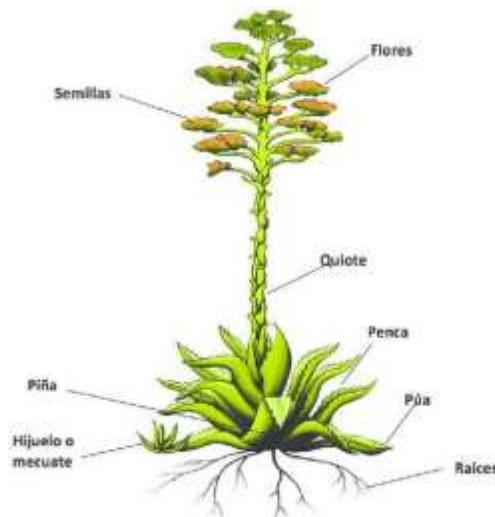


Figura 2. Morfología del agave.

En la actualidad los agaves son utilizados principalmente como materia prima para la producción de bebidas alcohólicas destiladas como lo son el tequila, el mezcal, el sotol y la bacanora (Lappe Oliveras et al. 2008) y para la obtención de fructo-oligosacáridos que actúan como prebióticos y fibras

dietéticas, ayudando a la función intestinal, digestión y estimulación del sistema inmune (López et al. 2012; Ávila et al. 2011). Además, en las últimas décadas se ha impulsado el estudio del uso de algunas especies de *Agave* como posible materia prima para la elaboración de bio-combustibles, así como en la elaboración de compuestos bio-activos y para la bioremediación de suelos. Muchas de estas especies producen semillas re-calcitrantes o no-viables, y como consecuencia son propagados principalmente de manera asexual. Por lo que se ha reducido la diversidad genética, teniendo como desventaja ser sujetas a un mayor número de enfermedades y plagas de insectos.

La Noa (*Agave victoriae-reginae* T. Moore), nombrada así por Thomas Moore en el año de 1875, cuyo nombre fue asignado en honor a la Reina victoria de Inglaterra y tiene su centro de origen en México, debido a que aquí se encuentra distribuida la mayoría de especies de este género, su distribución geográfica natural se extiende al Norte hasta al Suroeste de los Estados Unidos de Norte América y al Sur hasta Nicaragua (Gentry, 1982). Dentro de la gran cantidad de especies endémicas del género *Agave* en México, se presenta *A. victoriae-reginae*, una especie altamente demandada para uso ornamental tanto nacional como internacionalmente por sus características particulares (García, 2007). Sin embargo *A. victoriae-reginae* es una especie catalogada en peligro de extinción por la norma oficial mexicana NOM-059SEMARNAT-2010 y por el Apéndice II de la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES) (González, 2011). La especie tiene una alta demanda ornamental por lo que sus poblaciones han sido afectadas seriamente por la extracción indiscriminada de individuos adultos para el comercio ilegal de plantas de ornato, y por la destrucción del hábitat debido a la extracción de materiales para la construcción.

Taxonomía

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta Clase:

Liliopsida

Subclase: Liliidae

Orden: Asparagales

Familia: Agavaceae

Subfamilia: Agavoideae

Género: *Agave*

Especie: *Agave victoriae-reginae*. T.Moore 1875

La planta es una roseta solitaria o a veces cespitosa, rara vez surculosa, acaule o con tallo corto no visible, compacta, globosa; presenta por lo regular 70 hojas, o hasta 200 -500 (Figura 3), densamente imbricadas, de color verde con bandas blancas angostas sobre las dos caras y los márgenes, rígidas o rara vez flexibles, lanceoladas o estrechamente oblongas, aquilladas o rara vez redondeadas sobre el dorso, a veces de sección casi triangular de 6-22 cm de largo, de 1,5-4,8 cm de ancho; espina terminal recta o retorcida, con frecuencia acompañada con 1 a 3 dientes cortos que coronan a los ángulos de la hoja, inflorescencia ascendente o erecta; flores en grupos de tres o a veces en pares; semillas negras, opacas o lustrosas, de forma semicircular a lacrimiformes (González et al. 2011).



Figura 3. Ejemplar de *A. victoriae-reginae* T. Moore.

Tiene una altura de hasta 30 cm; cuando no tiene la inflorescencia llamada quiote, el cual es una vara central con floración ramificada en la cúspide que fructifica y madura dando semillas; esta alcanza hasta una altura de poco más de un metro; ocurriendo esto sólo una vez en su vida (de aproximadamente 5 años o más dependiendo del entorno y condiciones climáticas) entre los meses de junio a agosto; muriendo posteriormente la planta. Se desarrolla sobre escarpes de pendiente pronunciada en la Sierra Madre Oriental al oeste de Nuevo León y en las serranías transversales que atraviesan Coahuila hasta el este de Durango en asociaciones vegetales de matorral xerófilo y matorral submontano. Prefiere establecerse en suelos de tipo calcáreo (Gentry, 1982) por lo que se considera especie calcícola-apomórfica (Del Castillo 1996, Bravo y Sánchez, 1991) y puede poseer semillas con adaptaciones para la hidrodispersión.

En Durango, se encuentra la especie *A. durangensis* la cual se aprovecha como materia prima para la industria mezcalera, actividad que representa el sustento de muchas de las poblaciones del sur del estado, principalmente en los municipios de Tamazula, Mezquital, Nombre de Dios, Súchil y Durango (González et al. 2009; Ávila, 2010). Sin embargo, la explotación del agave ha provocado una disminución cada vez más evidente de sus poblaciones naturales (Vargas, 2009).

Taxonomía

Reino: Plantae

División: Tracheophyta

Clase: Equisetopsida

Orden: Asparagales

Familia: Asparagaceae

Género: *Agave*

Especie: *Agave durangensis*. Gentry, 1982

Los individuos adultos de *A. durangensis* tienen una altura de 80 a 120 cm y 120 a 180 cm de cobertura, son de color gris glauco, hojas anchas con dimensiones de 40 a 90 de largo por 14 a 22 de ancho, lanceoladas, con espina de 4 a 6 cm de largo, acanalada en la parte superior; la inflorescencia mide 7 a 8 cm de altura; flores amarillas de 70 a 80 cm de largo, los tépalos externos de 10 a 12 mm de longitud, semillas pequeñas (Gentry, 1982). El tallo de esta especie es corto, cenizo. Presenta hojas lanceoladas, derechas o curvas, planas o cóncavas especialmente hacia el ápice, gruesas y convexas en la base; ásperas, espinosas, con márgenes crenados o con espinas de uno a dos cm de largo, aplanadas, ampliamente separadas (Figura 4). El tallo floral varía de 7 a 8 m de altura, con 18 a 30 ramificaciones hacia la parte superior, brácteas pedunculares de 15 a 25 cm de longitud. Flores en pequeños grupos; de 60 a 80 mm de longitud; casi erectas; de color amarillo; con ovario ínfero de 30-45 mm. Las semillas son pequeñas, con forma alunada u ovada; bordes pequeños que están levantados semejando alas.



Figura 4. Ejemplar de *A. durangensis* Gentry.

PARTE EXPERIMENTAL

La presente investigación se realizó en el Centro Biotecnológico “Noa Biotecnología en plantas” ubicado en la ciudad de Torreón Coahuila, en el periodo comprendido de Agosto- Noviembre 2019.

La semilla de *A. victoriae-reginae* fueron colectadas en la región de Peñoles de la ciudad Torreón, Coahuila y las de *A. durangensis* provenientes de la zona de Nombre de Dios del Estado de Durango. Para preparación del medio de cultivo químico se empleó la técnica de Murashige y Skoog (1962) utilizando los componentes al 50%. Al medio de cultivo se añadió 30 gr L⁻¹ de sacarosa para la etapa de germinación y el pH se ajustó a 5.7± 0.01 empleando HCl 2% y NaOH 4%. En estado líquido, se vertió 25 mL del medio de cultivo por frasco los cuales se esterilizaron en autoclave a 121°C con 15 lb de presión por un periodo de 20 minutos. Una vez solidificado el medio, se distribuyó en frascos de 4 Oz, vertiendo 20 mL en cada uno de ellos. Posteriormente los frascos se esterilización en autoclave a 121° C, 15 lb por 15 min.

En la preparación del medio de cultivo orgánico a base de lixiviado de compost (LC) se empleó 200 mL de lixiviado de compost disueltos en un litro de agua destilada, vitaminas y nitratos; se ajustó el pH a 5.7 empleando HCl 2% y NaOH 4%. Posteriormente se vació el medio en los frascos y se esterilizó por 15 minutos en autoclave a una temperatura de 121 °C y 4 PSI de presión.

El área experimental estuvo conformada por 12 frascos. El diseño experimental que se utilizó fue un completamente al azar con 12 repeticiones cada uno de los tratamientos tanto en el *Agave victoriae-reginae* y *Agave durangensis*. Los tratamientos fueron: Medios de Cultivo químico (MS) al 50 % y Medio de cultivo orgánico (LC) al 20%. Las variables dependientes evaluadas fueron el porcentaje de germinación y el porcentaje de contaminación de ambas especies.

Se seleccionaron 240 semillas con base en su apariencia, 120 semillas correspondientes a *A. victoriae-reginae* y 120 semillas de *A. durangensis*. Se les aplicó un tratamiento pre-germinativo en agua destilada durante 48 horas (Figura 5). En la desinfección de las semillas se lavó en tres ocasiones con agua corriente con jabón comercial Axió® al 1 %. Posteriormente se agregaron 100 mL de Ultramil 500 (fungicida) el cuál es preparado con 5 gr L⁻¹. Seguido de ello se pusieron las semillas en alcohol al 70% durante 3 minutos en agitación constante y se realizan 3 enjuagues con agua destilada estéril. Dentro de la campana de flujo laminar se realizó el lavado con cloro al 10% en agitación constante por 10 minutos y se realizan 3 enjuagues con agua destilada estéril.



Figura 5. Selección y desinfección de semilla.

La siembra de las semillas se llevó a cabo bajo condiciones de esterilidad dentro de la campana de flujo laminar desinfectada con alcohol al 70%. Los materiales tales como bisturí, pinzas de precisión rectas, mecheros y cajas Petri se desinfectados mediante luz UV por un periodo de 15 minutos. La semilla se colocó a una profundidad aproximada de 3 mm en los frascos con los medios de cultivos químicos y orgánicos (Tratamientos de MS 50 % y LC 20%). Una vez sembrados los frascos se etiquetaron y se asperjaron con alcohol 70% y se trasladaron al cuarto de incubación donde se mantuvieron con un fotoperiodo de 11 horas luz con una temperatura de 24°C.

Análisis de datos.

Los datos obtenidos para las dos especies de Agave se les realizó prueba de Shapiro- Wilks, los cuales mostraron ser normales por lo que posteriormente se realizó la prueba de ANOVA y comparación de medias en base a la prueba de LSD-Fisher ($\alpha \leq 0.05$) mediante el programa de cómputo InfoStat ®.

RESULTADOS

Los datos obtenidos de *A. durangensis* presentaron diferencia significativa entre sus tratamientos. Se presentó una diferencia significativa en la contaminación y germinación de la semilla en ambos medios. Se observó que el tratamiento orgánico presentó un 53.33 % de semillas germinadas a los 5 días de incubación (Cuadro 2); por su parte, el tratamiento químico presentó el 48.33 % de semillas germinadas; estos datos, permiten aseverar que el lixiviado promueve en menor tiempo, la germinación de más de la mitad de las semillas. Con respecto a la contaminación de las semillas (Cuadro 3). El análisis demostró que el medio químico presentó un 61.66% de contaminación, mientras que el medio orgánico obtuvo un porcentaje significativamente bajo de 8.33% de semillas contaminadas.

Cuadro 2. Comparación de Medias de germinación de *A. durangensis*.

No.	Tratamiento	3DDS	5DDS	10DDS	18DDS	24DDS
T1	MS	0.00 A	1.17 A	2.17 A	2.33 A	2.67 A
T2	LC	0.00 A	0.17 B	1.50 A	2.33 A	2.42 A

Medias con diferente letra en la misma columna indican diferencia significativa, según la prueba de LSD-Fisher ($\alpha \leq 0.05$).

Cuadro 3. Comparación de Medias de contaminación de *A. durangensis*.

No.	Tratamiento	3DDS	5DDS	10DDS	18DDS	24DDS
T1	MS	0.92 A	1.42 A	2.58 A	3.08 A	3.08 A
T2	LC	0.08 B	0.08 B	0.25 B	0.33 B	0.42 B

Medias con diferente letra en la misma columna indican diferencia significativa, según la prueba de LSD-Fisher ($\alpha \leq 0.05$).

El análisis de varianza de los datos obtenidos del efecto de los medios de cultivos químico y orgánico en la germinación y % contaminación del cultivo de *A. victoriae-reginae in vitro*, mostró diferencia significativa ($p < 0.05$). En el Cuadro 3 se muestra la comparación de medias de los tratamientos. La respuesta en germinación de *A. victoriae-reginae* en medio de cultivo de LC, tuvo un comportamiento alentador en comparación con el medio de cultivo químico comercial. Los resultados mostraron que la semilla en el medio MS germinó en mayor cantidad en los 3 y 5 días después de la siembra (DDS) en comparación con el medio LC. Sin embargo, a partir de los 10 y hasta los 24 DDS, el medio a base de LC lo igualó en el número de semillas germinadas, por lo que a partir de los 10 DDS no se detectó diferencia significativa entre los dos tratamientos (Cuadro 4). Lo anterior se asume que es por el gran contenido de nutrientes que tiene el Lixiviado de Compost y es aprovechado por las plantas. En cuanto a la contaminación, de igual manera no se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos, no obstante, se observó fue que el medio de cultivo a base de Lixiviado de Compost (LC) presentó la contaminación más baja (1.66 %) en comparación con el medio MS (13.33 %).

Cuadro 4. Comparación de Medias de germinación de *A. victoriae-reginae* T. Moone.

No.	Tratamiento	3DDS	5DDS	10DDS	18DDS	24DDS
T1	MS	2.58 A	3.25 A	3.42 A	3.42 A	3.42 A
T2	LC	1.0 B	1.67 B	2.83 A	2.83 A	2.83 A

Medias con diferente letra en la misma columna indican diferencia significativa, según la prueba de LSD-Fisher ($\alpha \leq 0.05$).

CONCLUSIONES

El cultivo de tejidos vegetales es una alternativa viable para la generación y conservación de plantas que se encuentran en peligro de extinción, o plantas que su desarrollo es muy lento en ambientes

naturales. Así mismo brinda la oportunidad de realizar diversos estudios que permite mejorar las características de las plantas. La utilización de lixiviado de compost es una alternativa sustentable con gran eficacia en la técnica de cultivo de tejidos vegetales ya que contiene los elementos necesarios que requieren las plantas para su cultivo. De esta forma se logra reducir los costos que implica el uso de medios de cultivo tales como el MS.

BIBLIOGRAFÍA

1. Almaraz A. N., Delgado A. E. A., Hernández V. V., Ortega C. M., Orea L. G., Cifuentes, D de L. A., Ávila R. J. A., Muñiz M. R. (2009) Profiling of phenolic compounds of somatic and reproductive tissues of *Agave durangensis* Gentry (Agavaceae). *American Journal of Applied Sciences* 6 (6): 1076-1085.
2. Ávila F. A., Galicia L. N., Rodríguez A. M. E., Olvera C., Lopez M. A. (2011) Production of functional oligosaccharides through limited acid hydrolysis of agave fructans. *Food Chemistry* 129: 380-386.
3. Ávila R., J. A. (2010). Evaluación de los parámetros fisicoquímicos del mezcal de Durango para el desarrollo de un índice de calidad. Tesis de doctorado. Unidad profesional interdisciplinaria de biotecnología. Instituto Politécnico Nacional. México. 99 p
4. Badillo, C. J. A., Oliver, S.M. C., Moreno, G.K. G., Pacheco, G.V. y Cortés A.H. (2009). Manual de Laboratorio de Cultivo de Tejidos. Instituto Politécnico Nacional. Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología. Mexico, Df.: s.n.
5. Bravo, H., y H., Sánchez, M.H.R. (1991). Las Cactáceas de México, vol. II. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 404 pp.
6. Calva C. G., Rios L. E. (1999). Cultivo de callos y acumulación de metabolitos secundarios. En: Rodríguez V. R., Calva C. G., Ramos R. E. G., Salazar M. A. (Eds.) Aspectos aplicados de la biotecnología. pp 267- 301.
7. Capulín, G., J., R. Núñez, E., J. D. Etchevers, B. y G. A. Baca, C. (2001). Evaluación del extracto líquido de estiércol bovino como insumo de nutrición vegetal en hidroponía. *Agrociencia* 35: 287-299.
8. Cruz, R. O., (2008). Efecto de la Radiación (Rayos Laser) en la germinación y desarrollo de *Agave victoriae-reginae* T. Moore, Noa. Tesis. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna. Torreón Coahuila, México. Pp. 1.
9. Del Castillo, R. F. (1996). Ensayo sobre el fenómeno calcícolcalcífuga en cactáceas mexicanas. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*. Tomo XLI (1): 3-11.
10. Ferl, R., Paul A. L. (2000). Genome organization and expression. En: Buchanan B., Gruissem W., Jones R. (eds.) *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. USA: American Society of Plant Physiologists, pp. 312-357.
11. García, Mendoza. A.J. (2007). Los agaves de México. *Ciencias UNAM*. 1(1). Recuperado de: http://www.alumno.unam.mx/algo_leer/AgaveMexico.pdf.
12. Gentry, H.S. (1982). *Agaves of Continental North America*. The University of Arizona Press, Tucson, Arizona. 670 pp.
13. González E. M., Galván V. R., López E. I. L., Reséndiz R. L., González E. M. S., (2009). Agaves, magueyes, lechuguillas y noas del estado de Durango y sus alrededores. CONABIO, México.
14. González, E.M.S., González, E. M., López, I.L., Reséndiz, R. L., Tena, F.J.A., Retana, R., F.I. (2011). El complejo *Agave victoriae-reginae* (Agavaceae). *Acta Botánica Mexicana* 95: 65-94.
15. Höxtermann, E. (1997). Cellular "Elementary Organisms" in vitro. The Early Vision of Gottlieb Haberlandt and its Realization. 100: 716-728.
16. Lappe O. P., Moreno T. R., Arrizon-Gaviño J., Herrera-Suarez T., Garcia M. A., Gschaedler M. A. (2008) Yeasts associated with the production of Mexican alcoholic nondistilled and distilled Agave beverages. *FEMS Yeast Research* 8: 1037-1052
17. Levitus, G., Echenique, V., Rubinstein, C., Hopp, E., & Mroginski, L. (2010). Biotecnología y mejoramiento vegetal II. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Argentina. 258 p.

18. Litterick, A. M., L. Harrier, P. Wallace, C. A. Watson, and M. Wood. (2004). The role of uncomposted materials, compost, manures, and compost extracts in reducing pest and disease incidence and severity in sustainable temperate agricultural and horticultural crop production: A review. *Crit. Rev. Plant Sci.* 23: 453-479.
19. López, M. (1996). Estudio de la expresión genética durante la embriogénesis somática en *Saccharum officinarum* y su relación con el ácido abscísico y la sequía. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Ciencias Biológicas. Departamento de Genética. España. 138 pp.
20. López A. A., Díaz P. A. L., Sosa A. C., Macías R. L., Campos G. J. (2012) Ethanol yield and volatile compound content in fermentation of agave must by *Kluyveromyces marxianus* UMPe-1 comparing with *Saccharomyces cerevisiae* baker's yeast used in tequila production. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 113 (5): 614-618.
21. Makarewicz, O., Dubrac S. et al. (2006). Dual Role of the PhoP-P Response Regulator: *Bacillus amyloliquefaciens* FZB45 Phytase Gene Transcription Is Directed by Positive and Negative Interactions with the phyC Promoter, [En línea] Recuperado de: <http://jb.asm.org/content/188/19/6953.abstract>
22. Malabadi, R. V., G. S. Mulgund y K. Nataraja. (2004). Efficient regeneration of *Vanda coerulea*, an endangered orchid using thidiazuron. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 76: 289-293.
23. Murashige, T. and F. Skoog. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum.* 15: 473-497.
24. Nobel, P. S. (1998) .Los incomparables Agaves y Cactus. p. 211. Trillas. México.
25. Pérez, M. B.E., Ramírez, M.R., Núñez, P. H. G. & Ocha, A. N., (1999). Control hormonal del crecimiento y desarrollo in vitro. En: Introducción al Cultivo In vitro de Tejidos Vegetales. Aguascalientes, Ags. Universidad Autonoma de Aguascalientes, pp. 27-36.
26. Portillo, L., F.; Santacruz, R.A. Gutiérrez, M. y B. Rodríguez, G. (2007). Somatic embryogeneses in *Agave tequilana* Weber. *In Vitro Cell. Dev. Biol.—Plant* 43:569–575.
27. Ramírez, M.R., Aguilar, R. I.; Borodanenko, A.; Pérez, M. L.; Barrera, G. J. L.; Núñez, P. H. G. y Ochoa, A. N. (2007). *In vitro* propagation of ten threatened species of *Mammillaria* (Cactaceae). *In Vitro Cell. Dev. Biol.—Plant* 43:660–665.
28. Sergentín, M. E., (2006). Los cultivos celulares y sus aplicaciones II (cultivos de células vegetales). *ArgenBio*.
29. Simpson, K. (1986). Abonos y estiércoles. Editorial Acribia. Zaragoza, España
30. Street H. E. (1977). Cell (suspension) cultures techniques. En: Street H. E. (Ed). *Plant tissue and cell culture*. Blackwell Scientific Publishing., Oxford.,England. pp. 61-102.
31. Vargas A., A. M. (2009). Estudio de la variabilidad genética intra e interpoblacional de *Agave durangensis* Gentry (Agavaceae) por medio de marcadores moleculares ISTR. Tesis de maestría. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango. Instituto Politécnico Nacional. Durango, México. 86 p.
32. Villalobos A., V. M. & Thorpe, T. A., (1991). Micropropagación: conceptos, metodología y resultados. En: *Cultivo de tejidos en la agricultura*. s.l.:s.n., pp. 127-141.

INMUNODETECCIÓN DE HONGOS FITOPATÓGENOS CON NANOPARTÍCULAS DE ORO

José Francisco López Pérez¹, Lérica Liss Flores Villavicencio¹, Juan Luis Pichardo Molina², Julio César Villagómez Castro¹, Francisco Martín Huerta Martínez³, Cecilia Neri Luna³ y José Pedro Castruita Domínguez³

¹Universidad de Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas, ²Centro de Investigaciones en Óptica, A. C., ³Universidad de Guadalajara.
jf.lopez.perez@ugto.mx, jose.castruita@academicos.udg.mx

RESUMEN

Diversos hongos fitopatógenos pertenecientes al género *Pestalotiopsis* provocan una variedad de enfermedades tales como cáncer, mancha foliar, clorosis severa y varias enfermedades postcosecha en un amplio rango de frutos de importancia agronómica como el arándano azul (*Vaccinium corymbosum*), avellana (*Corylus avellana*), guayaba (*Psidium guajava*) entre otros. México ocupa el cuarto lugar como productor de arándano azul (*Vaccinium corymbosum*) a nivel mundial, con una producción total de 14,563.19 toneladas y un valor de producción de 524, 088, 747 millones de pesos. Jalisco, Colima, Baja California y Michoacán aportan el 96 % de la producción total nacional de arándano azul en el país (SAGARPA, 2014). En este sentido, se tiene como objetivo la detección de *Pestalotiopsis* spp., implementando un ensayo inmunodiagnóstico específico para la detección del fitopatógeno en muestras ambientales, empleando nanopartículas de oro y anticuerpos policlonales anti-*Pestalotiopsis* spp. (NPsAu-Ab α *Pestalotiopsis* spp.). Los anticuerpos policlonales anti-*Pestalotiopsis* spp. se obtuvieron mediante un protocolo de inmunización en conejos macho raza Nueva Zelanda, los cuales se purificaron mediante cromatografía de afinidad en una columna de proteína G-Agarosa. Obteniendo un patrón electroforético en las fracciones enriquecidas de los anticuerpos con una Mr de 25 y 50 kDa correspondientes a la gamma globulina (IgG), cadena ligera y pesada respectivamente. Mediante inmunocitoquímica, se determinó la localización de las proteínas antigénicas de *Pestalotiopsis* spp. delimitando la señal de la sonda fluorescente en la pared celular y los apéndices basales y apicales con una distribución heterogénea. Por otra parte, se inmunodetectaron por Western blot las proteínas de mayor antigenicidad obteniendo una Mr \geq 137 - 29 kDa. Dichas proteínas, al ser teñidas con la tinción de PAS reveló su naturaleza glicoproteica. Por otra parte, se sintetizaron NPsAu por el método de Turkevich, cuyo análisis de espectroscopia de absorción óptica, mostró que la banda de absorción está centrada alrededor de los 520 nm. Mientras que la funcionalización se llevó a cabo usando polielectrolitos. La microscopia electrónica de transmisión muestra que la forma geométrica de las NPsAu corresponde a nanopartículas esféricas, con un tamaño promedio de 24.0 nm, con un valor de potencial Z de -40 mV. Por otra parte, el radio hidrodinámico de las NPs-Au obtenido por DLS para el caso de las NPs-Au funcionalizadas fue de 124.0 \pm 2nm, mientras que los resultados de las mediciones de potencial Zeta, se obtuvo un valor promedio de 64mV respectivamente. Se biofuncionalizaron las nanopartículas de oro con los anticuerpos policlonales anti-*Pestalotiopsis* spp. detectando conidias por el complejo NPsAu-Ab α *Pestalotiopsis* spp. tras un cambio de coloración visible en la solución, a concentraciones de: 10, 100, 1000 y 10000 conidias/mL. determinando la sensibilidad a través de espectrofotometría UV-Visible. Estos resultados preliminares, demuestran el potencial uso de anticuerpos policlonales biofuncionalizados con NPs-Au como un método de diagnóstico para determinar la presencia de *Pestalotiopsis* spp.

Palabras clave: inmunodetección, antígeno, anticuerpo, nanopartículas, fitopatógenos.

INTRODUCCIÓN

El género *Pestalotiopsis* spp. es considerado como hongos fitopatógenos. Morfológicamente se caracterizan por ser conidias con 5 células, las cuales contienen apéndices basales y apicales [1]. El micelio es de coloración gris blanquecina con estructura fructífera negra en la parte superior y negro grisáceo en la parte inferior [2].

Pestalotiopsis spp. provoca una variedad de enfermedades tales como cáncer, mancha foliar, clorosis severa y varias enfermedades postcosecha en un amplio rango de frutos de importancia agronómica como el arándano azul (*Vaccinium corymbosum*), avellana (*Corylus avellana*), guayaba (*Psidium guajava*), lichi (*Litchi chinensis*), aguacate (*Persea americana*) entre otros [3]. México ocupa el cuarto lugar como productor de arándano azul (*Vaccinium corymbosum*) a nivel mundial, con una producción total de 14, 563.19 toneladas y un valor de producción de 524, 088, 747 millones de pesos. Jalisco, Colima, Baja California y Michoacán aportan el 96 % de la producción total nacional de arándano azul en el país (SAGARPA, 2014).

La nanotecnología es un campo relativamente nuevo y recientemente explotado, se ha aplicado en diferentes áreas en ciencia, medicina, biología, química, alimentos, etcétera. Los nanomateriales tienen propiedades características, que son atribuidas a su tamaño y efectos cuánticos [4]. Las propiedades físicas y químicas especiales incluyen una alta relación superficie/volumen, diferentes propiedades ópticas de sus contrapartes a granel, resonancia de plasmones superficiales, efectos fototérmicos, emisión de fluorescencia, etcétera [4].

En este sentido, se tiene como objetivo la detección de *Pestalotiopsis* spp., en muestras ambientales, empleando nanopartículas de oro y anticuerpos policlonales anti-*Pestalotiopsis* spp. (NPsAu-Ab*Pestalotiopsis* spp.).

PARTE EXPERIMENTAL

Cultivo de *Pestalotiopsis* spp e identificación macroscópica y microscópica

Se cultivó *Pestalotiopsis* spp. en medio agar papa-dextrosa (PDA) a 25 ± 2 °C durante 7 días para la obtención de conidias. Las características macroscópicas se analizaron en un microscopio estereoscópico (Nikon) y las características microscópicas mediante microscopía de campo claro y con la tinción de Blanco de Calcofluor, utilizando un microscopio de epifluorescencia (Leica DMLS) acoplado a una cámara AxioCam ICc 1 (ZEISS).

Obtención del homogenado total y cuantificación de la proteína total

El homogenado total se obtuvo del cultivo fúngico adicionado con un coctel de inhibidores de proteasas (Roche), después se sonicó a una amplitud de 20 kHz y 130 watts (Sonics Vibra cell™). Posteriormente, la proteína se cuantificó por el método de Lowry (1951).

Protocolo de inmunización

Previo al protocolo de inmunización se obtuvo el suero preinmune de un conejo macho raza Nueva Zelanda. Posteriormente, se aplicó un protocolo de inmunización utilizando como antígeno el homogenado total de *Pestalotiopsis* spp., empleando adyuvante completo e incompleto de Freud (Sigma, U.S.) para las respectivas inmunizaciones. Al finalizar el protocolo de inmunización se obtuvo el suero inmune mediante un sangrado total.

Purificación y cuantificación de los anticuerpos policlonales anti-*Pestalotiopsis* spp.

EL suero inmune fue dializado y purificado mediante cromatografía de afinidad con una matriz de proteína G-Agarosa (Sigma, U.S.), y se cuantificó por el método de Lowry (1951). Posteriormente, se realizó una electroforesis en condiciones desnaturizantes (SDS-PAGE 10%) para la visualización de la fracción enriquecida con gamma globulinas (IgG, cadena ligera y pesada) contra *Pestalotiopsis* spp..

Determinación del patrón total de proteínas y glicoproteínas

Se realizó una electroforesis en condiciones desnaturizantes (SDS-PAGE al 10%) para la obtención del patrón total de proteínas de *Pestalotiopsis* spp., posteriormente, el gel se tiñó con azul de Coomassie para la determinación del patrón total proteico. Por otra parte, mediante la técnica de Schiff empleando Periodic acid-Schiff (PAS) se determinaron las glicoproteínas. La imagen fue adquirida con el equipo ChemiDoc™ MP Imaging System BIO-RAD y el software ImageLab™ BioRad.

Inmunolocalización de las proteínas antigénicas

Las conidias y micelio de *Pestalotiopsis* spp. fueron incubados con los anticuerpos policlonales anti-*Pestalotiopsis* spp. en una dilución 1:20 durante 1 h, después se incubó con un segundo anticuerpo chivo anti-conejo acoplado a FITC (isotiocianato de fluoresceína) con una dilución 1:40. Las muestras fueron montadas en medio de montaje (Vectashield) y analizadas en un microscopio de epifluorescencia (Leica DMLS) acoplado a una cámara AxioCam ICc 1 ZEISS.

Determinación de las proteínas antigénicas

Se realizó una electroforesis en condiciones desnaturalizantes (SDS-PAGE 10%) del homogenado total, el patrón de proteínas obtenido se transfirió a una membrana de nitrocelulosa y se verificó la transferencia de las proteínas mediante la tinción con rojo de Ponceau. Para la determinación de las proteínas antigénicas, se realizó un Western Blot utilizando una dilución 1:2000 del anticuerpo policlonal anti-*Pestalotiopsis* spp. y un segundo anticuerpo chivo anti-conejo acoplado a peroxidasa (Sigma, U.S.) en dilución 1:2000 para llevar a cabo una reacción quimioluminiscente con el kit BioRad Clarity™ Western ECL Substrate. La imagen se adquirió con el equipo ChemiDoc™ MP Imaging System BIO-RAD y el software ImageLab™ BioRad.

Obtención de nanopartículas de oro y el complejo NPsAu-Aba*Pestalotiopsis* spp.

Las nanopartículas de oro (NPsAu) fueron sintetizadas por el método de Turkevich y funcionalizadas con polielectrolitos. Se caracterizaron por microscopía electrónica de transmisión (TEM), esparcimiento dinámico de luz (DLS) y potencial Z (DLS Malvern nanosizer SZ). El complejo NPsAu-anticuerpos policlonales obtenido se caracterizó por espectrofotometría UV-Vis esparcimiento dinámico de luz (DLS) y potencial Z (DLS Malvern nanosizer SZ).

RESULTADOS

Pestalotiopsis spp.

El cultivo axénico de *Pestalotiopsis* spp. en medio sólido de PDA muestra un micelio algodonoso, blanquecino, con crecimiento radial (figura 1A y B) y con acérvulos pigmentados de melanina (figura 1C). Los conidios presentan de tres a cinco septos versicolor, con tres ó cuatro apéndices apicales y uno basal (figura 1D). La tinción con blanco de Calcofluor delinea la estructura de la pared micelial (quitina) y la visualización de los conidios septados de *Pestalotiopsis* spp. (figura 1E).

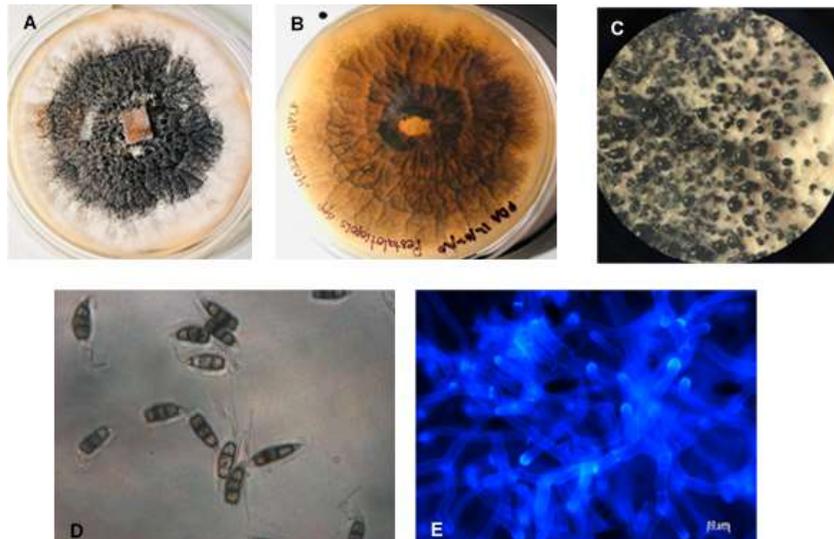


Figura 1. Identificación macroscópica y microscópica de *Pestalotiopsis* spp. A) Cultivo axénico vista anverso B) Cultivo axénico vista reverso C) Micelio con acérvulos pigmentados de melanina D) Conidios microscopía campo claro E) Conidios y micelio teñidos con blanco de Calcofluor microscopía de epifluorescencia

Purificación de los anticuerpos policlonales anti-*Pestalotiopsis* spp.

El patrón electroforético obtenido de la purificación de los anticuerpos policlonales anti *Pestalotiopsis* spp. muestra una movilidad relativa de las proteínas de 25 y 50 kDa correspondientes a la gamma globulina (IgG), cadena ligera y pesada respectivamente (figura 2). La cuantificación proteica en las fracciones muestra una mayor concentración en la fracción 1 y 2.

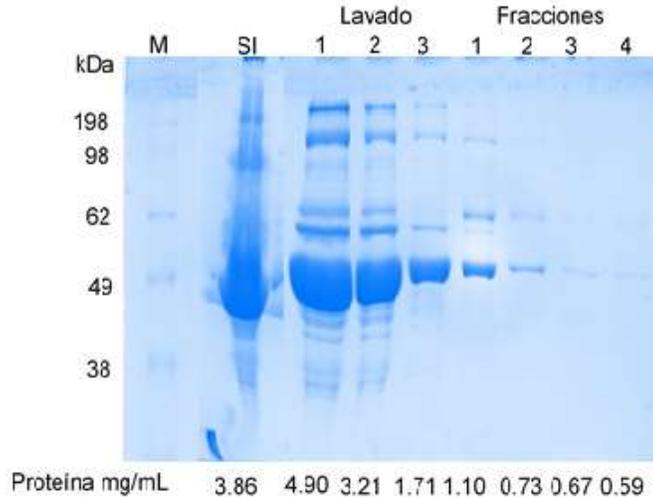


Figura 2. Patrón electroforético de los anticuerpos policlonales purificados anti *Pestalotiopsis* spp. y la concentración de las proteínas en las fracciones y suero inmune (SI). M= marcador de peso molecular SI= suero inmune Lavado= fracciones con proteínas inespecíficas Fracciones= fracciones purificadas de IgG (anticuerpos policlonales).

Proteínas antigénicas y glicoproteínas de *Pestalotiopsis* spp.

En *Pestalotiopsis* spp., se inmunodetectaron siete proteínas antigénicas mayoritarias con una movilidad relativa de 137, 90, 74, 61, 48, 29 kDa (Fig. 3), por otra parte, se determinó su naturaleza glicoproteica mediante la tinción de PAS. El suero preinmune se utilizó como control, en el cual no se detectó ninguna proteína.

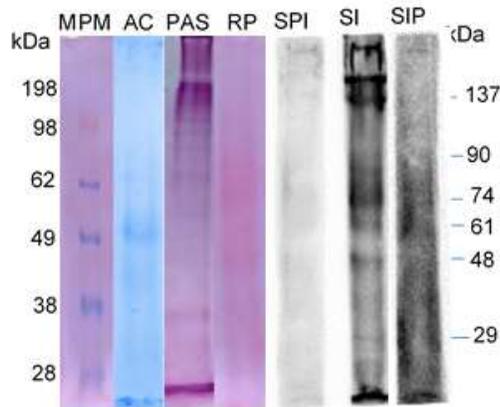


Figura 3. Inmunodetección de proteínas antigénicas de *Pestalotiopsis* spp. en suero inmune (SI) y suero inmune purificado (SIP) fracción 1. Se utilizó suero preinmune (SPI) como control. Se muestra el perfil proteico del homogenado total teñido con azul de Coomassie (AC) y rojo de Ponceau (RP), así como la detección de las glicoproteínas con la tinción de PAS (PAS).

Se determinó la localización de las proteínas antigénicas de *Pestalotiopsis* spp. delimitando la señal de la sonda fluorescente en la pared celular y los apéndices basales y apicales de los conidios (figura 4B), así como en el micelio (figura 4A), ambos con una distribución heterogénea. Se utilizó suero preinmune como control (figura 4C).

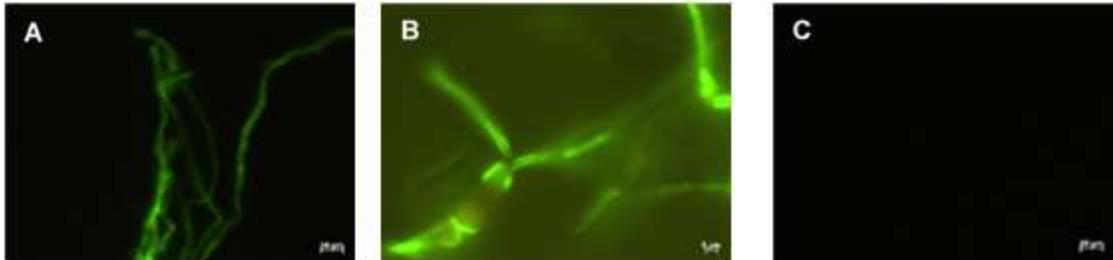


Figura 4. Inmunolocalización de las proteínas antigénicas de *Pestalotiopsis* spp. en: A) Micelio, B) Conidios y C) Micelio y conidios control (suero preinmune)

Caracterización del complejo NPsAu-Ab α *Pestalotiopsis* spp.

El análisis de espectroscopia de absorción óptica de las NPs-Au, muestra que la banda de absorción está centrada alrededor de los 520 nm. Mientras que la caracterización de las NPs-Au biofuncionalizadas con anticuerpos policlonales anti *Pestalotiopsis* spp. para obtener el complejo NPsAu-Ab α *Pestalotiopsis* spp., muestra que la forma geométrica de las NPsAu corresponde a nanopartículas esféricas, con un tamaño promedio de 24.0 nm, con un valor de potencial Z de -40 mV. Por otra parte, el radio hidrodinámico de las NPs-Au obtenido por DLS para el caso de las NPs-Au funcionalizadas fue de 124.0 ± 2 nm, mientras que los resultados de las mediciones de potencial Zeta, se obtuvo un valor promedio de 64mV respectivamente.

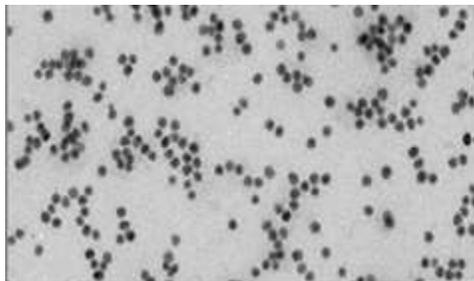


Figura 5. Microscopía electrónica de transmisión (TEM) de las NPs Au.

Análisis de la detección de *Pestalotiopsis* spp. por el complejo NPsAu-Ab α *Pestalotiopsis* spp.

La detección de los conidios de *Pestalotiopsis* spp. por el complejo NPsAu-Ab α *Pestalotiopsis* spp. mostró un cambio de coloración visible (Fig. 6), independientemente del número de conidios, 10, 100, 1000 y 10 000 conidios/mL. Además, el espectro UV-Visible (Fig. 7), nos muestra un cambio en la banda de absorción (520 nm) debido a la detección de los conidios por el complejo NPsAu-Ab α *Pestalotiopsis* spp..

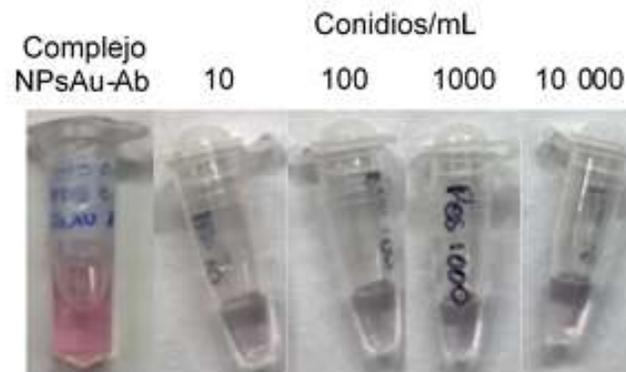


Figura 6. Complejo NPsAu-Ab α *Pestalotiopsis* spp. y el análisis visual de la detección de los conidios por el complejo NPsAu-Ab α *Pestalotiopsis* spp.

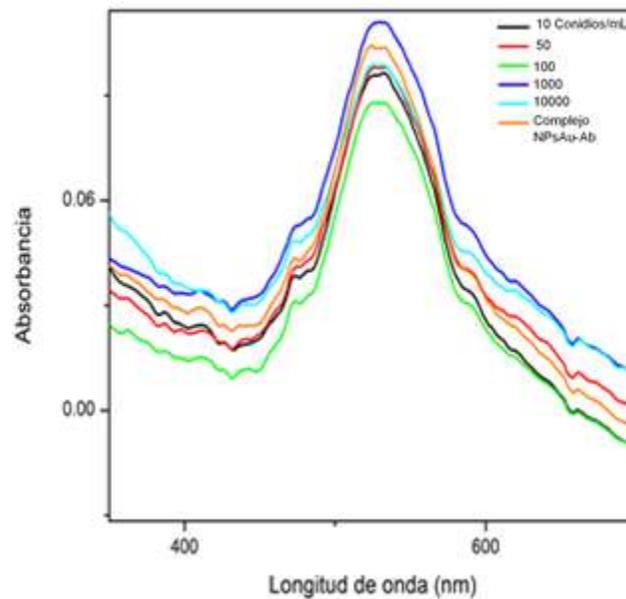


Figura 7. Espectro UV-Visible de la detección de conidios por el complejo NPsAu-Ab α *Pestalotiopsis* spp.

CONCLUSIONES

Estudios preliminares, demuestran que la biofuncionalización de nanopartículas de oro con anticuerpos policlonales contra *Pestalotiopsis* spp., brinda un método de detección, con un alto potencial para determinar la presencia de *Pestalotiopsis* spp. en muestras ambientales. Sin embargo, es necesario continuar con los experimentos para la implementación de la detección mediante el complejo NPsAu-Ab α *Pestalotiopsis* spp.

BIBLIOGRAFÍA

1. Solarte, F., Muñoz, C. G., Maharachchikumbura, S. S., Álvarez, E, "Diversity of *Neopestalotiopsis* and *Pestalotiopsis* spp., causal agents of guava scab in Colombia", *Plant disease*, vol. 102, no 1, 2018, pp. 49-59.
2. Kimaru, S. K., Monda, E., Cheruiyot, R. C., Mbaka, J., Alakonya, A, "Morphological and molecular identification of the causal agent of anthracnose disease of avocado in Kenya", *International journal of microbiology*, vol. 2018, 2018.
3. Chen, Y., Zeng, L., Shu, N., Jiang, M., Wang, H., Huang, Y., Tong, H, "*Pestalotiopsis*-like species causing gray blight disease on *Camellia sinensis* in China", *Plant disease*, vol. 102, no 1, 2018, pp. 98-106.
4. Borse, V. B., Konwar, A. N., Jayant, R. D., Patil, P. O, "Perspectives of characterization and bioconjugation of gold nanoparticles and their application in lateral flow immunosensing", *Drug Delivery and Translational Research*, 2020, pp. 1-25.

EL ALMACÉN MODIFICA EL CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS Y LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE PRODUCTOS DERIVADOS DE LA FRUTA DEL GARAMBULLO (*MYRTILLOCACTUS GEOMETRIZANS*)

Ana Yazmín Arriaga Villegaz¹, Salvador Horacio Guzmán Maldonado², Gabriela Medina Ramos¹,
María Guadalupe Herrera Hernández²

¹Universidad Politécnica de Guanajuato. 15030180@upgtoedu.mx

²Laboratorio de Alimentos Funcionales. Campo Experimental Bajío del Centro de Investigación Regional del Centro (INIFAP) herrera.guadalupes@inifap.gob.mx

RESUMEN

El garambullo es una especie subutilizada que crece en zonas marginadas y semidesérticas del centro de México. Su fruto es altamente perecedero y para conservarlo y darle valor agregado, se han desarrollado tecnologías para la producción de dulces artesanales, que están siendo comercializados a nivel regional. Sin embargo, se desconoce el efecto del almacén sobre las características nutrimentales y funcionales de esos productos. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del almacén sobre el contenido de compuestos fenólicos, betalainas y la capacidad antioxidante de pasa, mermelada y ate preparados con garambullo.

INTRODUCCIÓN

El género *Myrtillocactus* pertenece a la familia de las cactáceas y comprende cuatro especies *M. geometrizans*, *M. schenckii*, *M. cochal* y *M. eichlamii*, comúnmente conocidas como garambullo. Las primeras tres especies son endémicas de México, mientras que la última es originaria de Guatemala¹. En 1897 Console¹ nombró a la especie por su semejanza con el arándano, planta que pertenece a la *myrtillus*.

El fruto es conocido comúnmente como garambullo. El fruto es pequeño, de 1 a 2 cm de diámetro, globoso o elipsoide de color moreno púrpuro y no presenta espinas (Figura 1). La principal limitante del fruto es su corta vida de anaquel.³ Si se refrigera a temperatura doméstica (5 °C), puede durar de cinco a siete días. Si no se refrigera, después de 4 o 5 h, el fruto se fermenta.

No existe información sobre la superficie donde se encuentra el garambullo ni de la producción de fruto. Sin embargo, la comunidad El Garabatlillo en Dolores Hidalgo, Guanajuato, posee 370 ha de esta especie. Por lo que el potencial de producción es casi ilimitado.



Figura 1. Aspecto del fruto del garambullo

El rápido deterioro del fruto y la falta de tecnologías para alargar su vida de anaquel, ha provocado el desinterés comercial e industrial. Algunos usos tradicionales del fruto son la elaboración de sopas a partir de las flores, la preparación de aguas frescas, paletas, vinos y mermeladas (Topete 2006; Pérez, 1995);^{4,5} algunos restaurantes locales usan el fruto para preparar platillos gourmet.

TEORÍA

Las plantas del garambullo crecen en regiones semiáridas de los estados de Guanajuato, San Luis Potosí, Querétaro e Hidalgo, principalmente y en zonas cálidas de Puebla y el Estado de México. Tiene bajos requerimientos de agua y está establecido de forma silvestre en terrenos por lo general,

pedregosos. Tradicionalmente, la cosecha del fruto se hace de forma manual durante el periodo de cosecha (junio-agosto) y se vende en los mercados locales más cercanos a las comunidades donde se produce. Uno de los destinos más comunes del garambullo es la industria de la nieve artesanal. En apoyo a las comunidades, nuestro grupo ha desarrollado las tecnologías para la producción de pasa, mermelada y ate. A pesar de que ya existe la tecnología para la producción de este tipo de dulces, el fruto de garambullo presenta ciertas peculiaridades por lo que fue necesario modificar los procesos, particularmente de la mermelada y el ate, con el fin de generar productos de la mejor calidad sensorial y funcional posible.

Hemos demostrado que el garambullo es una buena fuente de vitamina C, betalainas, compuestos fenólicos y fibra y que presenta un buen nivel en su capacidad antioxidante.^{6,7} Las tecnologías desarrolladas nos permitieron mantener un nivel aceptable de estos compuestos así como la calidad sensorial de color, que es una de las propiedades que más fácilmente se pierden por las reacciones de Maillard, oxidativas y enzimáticas que se presentan durante el proceso para la producción de este tipo de dulces.

La comercialización de la pasa, mermelada y el ate ha tenido un éxito relativamente bueno, además de la aceptación en el público en general. Relacionado con lo anterior, los productos permanecen hasta un mes antes de que se agoten. Lo cual llevó a cuestionarse la calidad funcional que los productos mantenían después de ese periodo de tiempo.

Con base en lo anterior, en este trabajo se reportan los cambios en el contenido de compuestos fenólicos, betalainas y capacidad antioxidante que sufren la pasa, mermelada y ate después de someterlos a un proceso de almacenamiento acelerado por tres semanas a 35°C que equivale a 6 meses a temperatura ambiente.

PARTE EXPERIMENTAL

Productos procesados. Tres lotes de pasa se cosecharon directamente de plantas ubicadas en la comunidad del Garabatillo, Dolores Hidalgo, Guanajuato. Cada lote se dividió en tres grupos; uno fue utilizado para su análisis directamente como pasa y las cuales fueron lavadas, desinfectadas, secadas y colocadas en bolsas herméticas de 150g. La mitad de éstas pasas se analizaron inmediatamente después del embolsado y la otra mitad fue sometido al proceso de almacenamiento acelerado 3 semanas a 35°C simulando un periodo de 6 meses a temperatura ambiente.. Los grupos dos y tres se utilizaron para la preparación de mermelada y ate respectivamente. Al igual que con las pasas la mitad de los lotes fueron analizados inmediatamente después de su elaboración y la otra mitad sometida al proceso de almacenamiento acelerado. A las muestras se les realizaron los análisis que se mencionan a continuación.

Fenoles Solubles. El método empleado fue el de Folin-Ciocalteu,⁸ que está basado en la reducción de ácido gálico por compuestos fenólicos en presencia de un álcali (carbonato de sodio). Los fenoles se calcularon comparando las lecturas espectrofotométricas con una curva de calibración de ácido gálico y se reportaron como mg equivalentes de ácido gálico por 100 g.

Taninos Condensados. Se cuantificaron los taninos condensados de acuerdo con el ensayo de la vainillina¹⁰ y fueron expresados como mg EC/100 g.

Flavonoides totales. La cuantificación de los flavonoides totales en las diferentes muestras de garambullo se realizó mediante una técnica espectrofotométrica.⁹ Los resultados se expresaron en mg equivalentes de catequina/100g (mg EC/100 g).

Betalcianinas y betaxantinas. Las betalainas fueron determinadas espectrofotométricamente en extractos acuosos acidificadas¹¹ de los tres productos y fueron determinadas usando las ecuaciones de Nilsson: % betacianinas = $((a/1129) \times DF \times 100)$; % betaxantinas = $((y/750) \times DF \times 100)$; donde $a = 1.095(A_{358} - A_{600})$, $y = A_{476} - a - (a/3.1)$, donde A es la absorbancia y DF es el factor de dilución.¹²

Capacidad antioxidante (CA). Se determinó la CA por el método de TEAC con el radical ácido 2,2'-azino bis (3etilbenzotiazolín)-6-sulfónico (ABTS) comparando con una curva estándar de Trolox.¹³ Mientras que la CA por el método de DPPH se realizó por el método del dimetil sulfoxido (DMSO) y el radical 1.1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) (Clarke y col., 2013). Los resultados de las dos CA se reportaron en micromoles equivalentes de Trolox/100 g ($\mu\text{mol TE}/100 \text{ g}$).

Análisis estadístico. Los datos fueron analizados con un modelo completamente al azar utilizando el software JMP.5.0.1 (A Business Unit of SAS, 1989-2003, SAS Institute, Cary, NC. USA). Las medias de los tratamientos fueron separados con una análisis ANOVA y la prueba de Tukey a $p < 0.05$.

RESULTADOS

Compuestos fenólicos. Se encontró que la pasa del garambullo presenta entre 6.5 y 5.1% de fenoles solubles (Cuadro 1). Una alta concentración si se compara con la pulpa de tuna (630 mg EAG/100 g)¹⁴, la cascara de tuna (1071.7 mg EAG/100 g)¹⁵ y el fruto del garambullo fresco (1046 mg/100 g)⁷. Además, es hasta 19 veces mayor que el contenido de frutas de uso común como la fresa (330 mg EAG/100 g), uva (150 mg EAG/100 g) o naranja (126 mg EAG/100 g)¹⁶. Por otro lado, como resultado del proceso,

Como resultado del almacén, los fenoles solubles se disminuyeron un 21% tanto en la mermelada recién producida como almacenada y en un 69% como resultado del proceso del ate. Sin embargo, el ate almacenado presentó mayor contenido de fenoles que el ate recién producido (Cuadro 1).

El almacén provocó un incremento de los taninos condensado en la pasa y en el ate, pero no en la mermelada (Cuadro 1). Los resultados aquí obtenidos no permiten explicar estos incrementos. Por otro lado, como resultado de los procesos, la mermelada y el ate perdieron hasta 3.4 veces en comparación al contenido de taninos en la pasa recién cosechada. Lo mismo se observó en el contenido de FT, donde se presentó una disminución del 49% como resultado del almacenamiento de la pasa y fue en promedio, 23 y 5.3 veces menor en la mermelada y el ate, respectivamente (Cuadro 1).

No hay reportes en la literatura sobre análisis de mermeladas o ate de cactáceas y por lo tanto no se puede hacer alguna comparación. Sin embargo, se puede ver las altas pérdidas de estos compuestos como resultado de los procesos aquí utilizados.

Cuadro 1 Efecto del almacenamiento sobre el contenido de compuestos fenólicos en productos derivados del fruto del garambullo.

Muestra	Fenoles solubles (mg EAG/100 g)	Taninos condensados (mg EC/100 g)	FT (mg EC/100 g)
Pasa			
Recién cosechada	6,519.2 ± 332.9a	229.65 ± 3.84b	138.00 ± 0.60a
Almacenada	5,149.3 ± 233.1b	285.82 ± 3.01a	68.53 ± 0.41b
Mermelada			
Recién producida	2,040.7 ± 139.5c	67.55 ± 4.6c	3.31 ± 0.20e
Almacenada	2,039.1 ± 203.1c	64.6 ± 8.9c	9.5 ± 0.67d
Ate			
Recién producido	1,969.8 ± 134.6d	37.2 ± 3.2d	27.5 ± 2.7c
Almacenado	2,230.2 ± 97.8c	67.2 ± 8.4c	25.5 ± 2.2c

EAG = Equivalentes de Ácido Gálico; EC = Equivalentes de Catequina; FT = Flavonoides totales; Promedio con letras similares en cada columna no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05)

Contenido de betalainas

Como es de esperarse en un fruto purpura, el contenido de betancinias es casi 30% mayor que el de betaxantinas en la pasa (Cuadro 2). El alto contenido de betalainas ya había sido reportado anteriormente en la fruta del garambullo en base seca (46.5 mg/100 g)^{6,7}. La diferencia de casi el doble de betalainas aquí reportado, con lo reportado en la literatura, puede deberse al origen

geográfico del fruto, condiciones ambientales o la genética en caso de tratarse de dos especies diferentes.

Como resultado del almacén, las pasas perdieron casi el 90% y el 76% de las betacianinas y betacantinas, respectivamente. Además, el proceso para producir mermelada y ate provoca niveles parecidos de pérdida de las betacianinas y en menor grado de las betaxantinas. Por ejemplo, la mermelada, recién cosechada y almacenada contiene únicamente 4.4 mg/100 g de betacianinas; es decir que perdió el 95.5% si se compara con la pasa recién cosechada. Es importante recordar que la mermelada se obtuvo a partir de la pasa recién cosechada.

La pérdida de betaxantinas fue menor ya que tanto en mermelada como en ate, recién producido o almacenado, las pérdidas fueron del orden del 77% en comparación con la pasa recién cosechada. Siendo el contenido de betaxantinas en mermelada y ate mayor que el de betacianinas (Cuadro 2).

Cuadro 2 Efecto del almacenamiento sobre el contenido de betalainas (mg/100 g) en productos derivados del fruto del garambullo.

Muestra	Betacianinas	Betaxantinas	Betalainas totales
Pasa			
Recién cosechada	97.9 ± 0.70a	62.6 ± 0.35a	160.50 ± 1.5a
Almacenada	8.32 ± 1.24c	14.4 ± 0.59b	22.82 ± 0.91b
Mermelada			
Recién producida	4.45 ± 0.40d	13.64 ± 1.21b	18.09 ± 0.74c
Almacenada	4.44 ± 0.31d	13.44 ± 1.21b	17.88 ± 0.65c
Ate			
Recién producido	10.6 ± 0.67b	13.54 ± 1.52	24.14 ± 2.7b
Almacenado	9.0 ± 0.40b	15.85 ± 1.42b	24.85 ± 0.91b

Promedio con letras similares en cada columna no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05).

Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante TEAC y DPPH fueron afectadas por el método de producción y el almacén, con excepción de TEAC de la mermelada almacenada y de DPPH del ate almacenado, donde se observó un ligero incremento (Cuadro 3).

El método de TEAC, mide la capacidad que tienen los compuestos antioxidantes de cualquier fruta, para apagar al radical catión ABTS^{•+} a través de la reducción por la donación de un electrón.¹³ En este sentido, la capacidad de donar electrones que tienen los compuestos antioxidantes de los productos del garambullo son mucho menores que el de la manzana (343.0 µmol ET /100 g) y durazno (244 µmol ET /100 g)¹⁶. La pasa presenta un nivel mayor al reportado para garambullo fresco en base seca (16 mg/100 g)^{7,17}

Por otro lado, la capacidad antioxidante DPPH mide el potencial que tiene los compuestos antioxidantes de donar un radical hidrógeno para apagar radicales fisiológicos y evitar que provoquen daños en las células.¹⁸ Al respecto, se puede ver que tanto la pasa como la mermelada en sus dos modalidades, presenta un buen nivel de DPPH en comparación con lima (247.6 µmol ET /100 g)¹⁹ y mandarina (161.4 µmol ET /100 g)²⁰.

Cuadro 3 Efecto del almacenamiento sobre la capacidad antioxidante el contenido de betalainas en productos derivados del fruto del garambullo.

Muestra	TEAC	DPPH
Pasa		
Recién cosechada	52.78 ± 1.24a	268.1 ± 20.1a
Almacenada	35.43 ± 0.70b	175.5 ± 10.4b
Mermelada		
Recién producida	14.7 ± 3.7c	248.10 ± 6.13c
Almacenada	18.8 ± 0.36c	236.21 ± 2.14c
Ate		
Recién producido	10.6 ± 0.7d	13.54 ± 1.52d
Almacenado	9.0 ± 0.4e	15.84 ± 1.2d

Promedio con letras similares en cada columna no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05)

CONCLUSIONES

- La pasa de garambullo presenta un alto nivel de compuestos fenólicos tanto recién cosechada como almacenada.
- Los procesos para producir la mermelada y el ate reducen significativamente el contenido taninos y flavonoides, pero mantienen un nivel aceptable de fenoles solubles.
- Las pasas recién cosechadas presentan un alto contenido de betalainas, las cuales se reducen en diferentes proporciones según el tratamiento al que se les someta ya sea el almacén o para producir mermelada y ate.
- Tanto la pasa como la mermelada, recién producida o almacenada, presentan un buen nivel en su capacidad antioxidante DPPH.
- La pasa del garambullo, recién cosechada y almacenada es un alimento que puede ser considerado como nutraceutico o funcional. Contribuyendo en la solución del mercado de botanas de baja calidad.

BIBLIOGRAFÍA

1. M. Console, "Bollettino delle Reale Orto Botanico e giardino Conloniale di Palermo", 1, 1897, pp. 10.
2. N. L. Britton, and J. K. Rose, "*Myrtillocactus schenckii* (Purpus)." United States National Herbarium 12, 1909, pp. 429.
3. J. A. Ugalde-Medellín, S. Y. Silva-Belmares, y L. I. López-López, "El garambullo, un recurso natural poco explotado para la obtención de fitomoléculas biológicamente activas", Acta Química Mexicana, Junio-Diciembre, 2016 pp. 12-15.
4. V. R. Topete, "Caracterización química y evaluación del efecto hipoglucemiante y antioxidante el fruto de garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*)", Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, Qro. Diciembre, 2006.
5. G. S. Pérez, "Estudio etnobotánico, ecológico y de usos potenciales del garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*) como base para su domesticación y cultivo". Reporte annual Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Querétaro, 1995, pp. 15-19.
6. D. Hernández-López, F. Vaillant, R. Reynoso-Camacho and S. H. Guzmán-Maldonado, "*Myrtillocactus*: A Review of the botanical, agronomic, and biochemical composition of their fruit", Fruits, 63, 2008, pp. 201-208.

7. S. H. Guzmán-Maldonado, M. G. Herrera-Hernández, D. Hernández-López, R. Reynoso-Camacho, A. Guzmán-Tovar, F. Vaillant, F. and P. Brat, "Physicochemical, nutritional and functional characteristics of two underutilized fruit cactus species (*Myrtillocactus*) produce in central Mexico", *Food Chem.*, 121, 2010, pp. :381-386.
8. V. L. Singleton and A. Rossi, "Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents", *Am. J. Enol. Vitic.*, 16, 1965, pp. 144-158.
9. X. Dewanto, K. Wu, K. Adom, and R. H. Liu, "Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity", *J. Agric. Food Chem.*, 50, 2002, pp.3010–3015.
10. S. S. Deshpande and M. Cheryan, "Evaluation of vanillin assay for tannin analysis of dry beans", *J. Food Sci.*, 50, 1985, pp. 905-916.
11. F. C. Stintzing, A. Schieber y R. Carle, "Identification of betalains from yellow beet (*beta vulgaris* L.) and cactus pear (*Opuntia ficus-indica* (L) Mill.) by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry", *J. Agric. Food Chem.* 50, 2002, pp. 2302-2307.
12. T. Nisson, "Studies into the pigments in beetroot", *Lanstbruksogskolans Ann.*, 36, 1970, pp. 179-219.
13. R. Van den Berg, G. R. M. Haenen, H. Van den Berg and A. Bast, "Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures", *Food Chem.*, 66, 1999, pp. 511-517.
14. N. Yeddes, K. C. Chérif, S. Cuyot, H. Sotin, and M. T. Ayadi, "Comparative study of antioxidante power, polyphenols, flavonoids and betacyanins of the peel and pulp of three tunisisn *Opuntia* forms", *Antioxidants*, 2, 2013, pp. 37-51.
15. V. A. Villanueva-Espinoza, "Potencial de la Cáscara de Tuna Roja Lisa (*Opuntia spp*) como fibra antioxidante y el Efecto del Riego y del Almacén Sobre el Perfil de Compuestos Bioactivos y la Capacidad Antioxidante", Tesis de Licenciatura, Tecnológico de Celaya, 2020, 78 pp.
16. A.N. Proteggente, Pannala, A. P., paganga, G., wagner, E., S. wiseman, rice-evans, C.A. van de put, F., dacombe C. and van buren, L., "The antioxidant activity of regularly consumed fruit and vegetables reflects their phenolic and vitamin C Composition", *Free Rad. Res.*, 36 (2), 2002 pp. 217–233.
17. M. G. Herrera-Hernández, F. Guervera-Lara, R. Reynoso-Camacho, S. H. Guzman-Maldonado, "Effects of maturity stage and storage on cactus berry (*Myrtillocactus geometrizans*) phenolics, vitamin C, betalains and their antioxidant properties", *Food Chem.*, 129, 2011, pp. 1744-1750.
18. E. Guija-Poma, M. A. Inocente-Camones, J. M. Ponce-Pardo, y E. Zaragoza-Norabuena, "Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrihidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante" *Horiz. Med.*, 15(1), 2015, pp. 57-60.
19. F. J. Esparza-Martínez, Guzmán-Maldonado, S. H., Miranda-López, R. and Mata-Sánchez, S. M. "Extractable and Non-Extractable Phenolics and Antioxidant Capacity of Mandarin Waste Dried at Different Temperatures", *Plant Foods Hum Nutr.*, 71, 2016, pp. 294–300
20. F. J. Esparza-Martínez, Miranda-López, R. and Guzman-Maldonado, S. H. "Effect Of air-drying temperatura on extractable and non-extractable phenolics and antioxidant capacity of lime wastes" *Ind. Crops Prod.*, 84, (2016), pp. 1–6.

DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA DE DIATOMEAS TERMÓFILAS AISLADAS DE TAPETES MICROBIANOS FORMADOS EN AGUAS TERMALES Y SU APLICACIÓN BIOTECNOLÓGICA

Berenice Noriega Luna, María Jesús Puy Y Alquiza, Alma Hortensia Serafín Muñoz y Luis Enrique Mendoza Puga

Universidad de Guanajuato, División de Ingenierías, Campus Guanajuato.
berenice.noriega@ugto.mx

RESUMEN

En los últimos años, las diatomeas se han estudiado no sólo desde el punto de vista académico sino también en el marco de las aplicaciones industriales y biotecnológicas. En el estado de Guanajuato se han reportado varias fuentes termales potencialmente explotables desde el punto de vista energético, medicinal y recreativo. Los manantiales termales son numerosos y se distribuyen con frecuencia en varios lugares del estado. Las fuentes termales representan un escenario interesante para el estudio de diatomeas, puesto que, estos sitios presentan las condiciones de pH, temperatura y salinidad necesarias para su desarrollo. Por lo tanto, el objetivo del estudio es conocer el perfil de la comunidad de diatomeas que habitan en las fuentes termales de la zona geotérmica de Comanjilla, Guanajuato e investigar en literatura su potencial biotecnológico en procesos industriales. Los resultados obtenidos con las técnicas de microscopía electrónica y microscopía óptica indican la presencia de diatomeas termófilas de la clase *Bacillariophyceae*, representadas por los órdenes: 1) Navicles y sus especies *Navicula detenta*, y *Sellaphora disjuncta*; 2) Cymbellales y su especie *Gomphoneis erienze* var. *apiculate* Stoermer; 3) Rhopalodiales y su especie *Rhopalodia gibberula*; 4) Achnanthes, y su especie *Achnanthes brevipex* var. *intermedia*; 5) Bacillariales, y su especie *Denticula tenuis* Kützing, que muestran válvulas rectas o curvas, con una variedad de formas, que van desde las elípticas a las lineales. Estas diatomeas coexisten con el género *Bacillus* representado por *Brevibacillus agri* y *Paenibacillus* sp., y con cianobacterias del orden *Nostoc* a temperaturas de 70° y 92°C. Esta diversidad de diatomeas termófilas (cuatro órdenes y cinco especies) presentes en los tapetes microbianos de la zona geotérmica de Comanjilla representa: a) el primer informe de dichos microorganismos en la zona de estudio; b) un taxón importante en cuanto a diversidad y tecnología, por sus aplicaciones como monitores del medio ambiente, en la producción de biocombustibles, en la industria agrícola y alimentaria y en la nanotecnología; c) las diatomeas termófilas *Bacillariophyceae*, han sido poco estudiadas, lo que representa un nuevo potencial biotecnológico, especialmente en los procesos industriales. Al mismo tiempo, el estudio de las diatomeas termófilas como unidad funcional ayudará a comprender cómo estas comunidades tan complejas se adaptan y desarrollan en las aguas termales.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, las diatomeas se han estudiado no sólo desde el punto de vista académico sino también en el marco de las aplicaciones industriales y biotecnológicas (Kale y Karthick, 2015; Bozarth et al., 2009). Las diatomeas son organismos unicelulares, eucariotas y fotosintéticos; son algas microscópicas que contienen sílice y poseen diferentes formas geométricas. Forman biopelículas y se producen en lugares húmedos donde es posible se lleve a cabo el proceso de fotosíntesis. Estos microorganismos viven generalmente en ecosistemas marinos de agua dulce y terrestres, pero pocos estudios los han descrito en ecosistemas de aguas termales (Ghozzi et al., 2013). Existen pocas especies de diatomeas heterótrofas que sobreviven en condiciones de oscuridad, algunas viven como endosimbiontes en algunos organismos o de forma no invasiva en la superficie corporal de los organismos, por ejemplo, los foraminíferos albergan algas endosimbióticas como las diatomeas y las clorofitas. Cada especie de diatomeas exhibe una tolerancia ambiental específica, formando conjuntos de especies que corresponden a la condición del hábitat (Kale y Karthick, 2015).

Las diatomeas de la zona geotérmica de Guanajuato han sido estudiadas para obtener información sobre la diversidad de géneros y especies que habitan en estas aguas y desarrollar una comprensión de la ecología y el ciclo de vida de las diatomeas para utilizarlas con diversos fines comerciales e industriales. Las diatomeas estudiadas habitan en las aguas termales junto con bacterias y cianobacterias. Los manantiales termales contienen microorganismos con vías bioquímicas y

productos metabólicos inusuales para aplicaciones biotecnológicas (Lukavsky et al., 2011). Suelen estar situados a lo largo de las fallas donde el agua subterránea puede ser almacenada y calentada hasta alcanzar una cierta profundidad y luego emerger en forma de agua caliente. El agua calentada contiene una amplia gama de minerales disueltos (Fe, Mn, Mg, Ca, Na) y trazas de gases (CO₂, H₂, H₂S, CO) (Reysenbach y Cady, 2001; Lengeler et al., 1999; Cowan, 1992). La química de las aguas termales varía mucho y depende principalmente de las propiedades de la roca madre. Debido a los gradientes de temperatura presentes en el canal de flujo de las aguas termales pueden establecerse diferentes comunidades microbianas (halófilos, termófilos, barófilos, pscripófilos y acidófilos) (Singh, 2006; Austain, 1988).

La presencia de las aguas termales en el estado de Guanajuato ha sido reconocida por los habitantes locales desde antes de la llegada de los españoles. En el estado de Guanajuato se han reportado varias fuentes termales potencialmente explotables desde el punto de vista energético, medicinal y recreativo. Los manantiales termales son numerosos (173) y se distribuyen con frecuencia en varios lugares del estado de Guanajuato, como resultado de la actividad tectónica y de los fenómenos posteriores al intenso volcanismo de que ha sido objeto el territorio, ya que pertenece a las provincias fisiográficas de la Mesa del Centro, la Sierra Madre Oriental y el Eje Neovolcánico. Particularmente, Comanjilla se encuentra a 32 kilómetros de la ciudad de Guanajuato, México dentro de los municipios de Silao, Guanajuato y León. Debido a las propiedades curativas de sus aguas termales, el Parque Acuático de Comanjilla es muy conocido y apreciado. Esta fuente termal corresponde a la zona geotérmica de Comanjilla en donde se encuentran 25 manantiales hidrotermales, algunos como calderas con deposición de azufre y sales, con temperaturas entre 70° y 92°C, distribuidos en un área de 1.2 km². La presente investigación se basa en la caracterización de la diversidad de diatomeas termófilas en tapetes microbianos formados sobre las aguas termales, ya que representan un importante recurso para los procesos biotecnológicos, para las industrias alimentaria y farmacéutica, para nanobiotecnología, para la producción de biocombustibles y como indicadores de la calidad del agua y el medio ambiente (Kale y Karthick, 2015).

TEORÍA

Es importante investigar la composición y características de la microbiota de las aguas termales tanto por sus implicaciones ambientales y ecológicas, así como por las repercusiones del uso de estas aguas en la salud de las personas. Asimismo, resulta interesante identificar en la microbiota la presencia de microorganismos patógenos que originen enfermedades infecciosas en los usuarios de estas aguas, y la potencialidad de estos microorganismos en aplicaciones biotecnológicas, medicinales o industriales.

PARTE EXPERIMENTAL

A. Muestreo y caracterización de tapetes microbianos

Se tomaron tres réplicas de las pozas en donde se observó la formación del tapete microbiano. Para el muestreo, la conservación y la manipulación de las muestras se siguió la norma oficial mexicana NOM-230-SSA1-2002. Las muestras tomadas se colocaron en neveras con bolsas de refrigeración o bolsas de hielo para su transporte al laboratorio, a una temperatura entre 4 y 10°C, teniendo cuidado de no congelar las muestras.

B. Caracterización física del agua

Las propiedades físicas como: a) temperatura, b) pH c) conductividad eléctrica (CE), d) sólidos disueltos totales (TDS) y e) dureza del agua en donde se forma el tapete microbiano se midieron *in situ*. La temperatura se midió con un termómetro de mercurio con una precisión de 1°C. El pH se determinó con un potenciómetro Corning modelo 610 A. La conductividad eléctrica (CE) se midió con un medidor de conductividad 850037 SPER SCIENTIFIC. El total de sólidos disueltos (TDS) se midió con un TDS PURIKOR PK-TDS3 y la dureza se calculó en base al contenido de sales de calcio y magnesio.

C. Identificados de microorganismos

Los aspectos morfológicos de la diatomea se investigaron mediante su observación en microscopio óptico. Se fijaron con una solución de glutaraldehído al 2,5% en tampón fosfato 0.1M. Después de la fijación las muestras fueron lavadas con buffer de fosfatos. Posteriormente, las muestras se deshidrataron con etanol. Para la asignación genérica de las diatomeas se utilizó la guía de Round y otros (1990).

RESULTADOS

Un sitio de aguas termales ubicado en Comanjilla, Gto., México, fue estudiado entre febrero de 2017 y marzo de 2018. Las fuentes termales representan un ambiente termofílico de moderado a alto (45-100°C) y de neutrófilo a alcalófilo (pH 7.6-9.1) con conductividad eléctrica variable (658 - 704 $\mu\text{s}/\text{cm}$), y sólidos totales disueltos (314-340 ppm), (Tabla 1).

Tabla1. Características organolépticas y físicas de los manantiales de aguas termales de la zona geotérmica de Comanjilla.

Agua Termal	Color	Olor	Sabor	Turbidez (UNT)	T (°C)	pH	SDT	CE ($\mu\text{s}/\text{cm}$)
M1	Transparente	Huevo podrido	Sulfurosa	0.1	100	9.1	340	704
M2	Transparente	Huevo podrido	Sulfurosa	0.15	90	7.6	314	658

UNT= unidad nefelométrica de turbidez; T=temperatura; SDT=sólidos disueltos totales; CE=conductividad eléctrica.

Respecto a los microorganismos, se identificaron un total de seis especies de diatomeas en los tapetes microbianos formados sobre las aguas termales de la zona geotérmica de Comanjilla. Las diatomeas de la clase *Bacillariophyceae*, representadas por los órdenes *Naviculales*, *Cymbellales*, *Achnanthes*, *Bacillariales* y *Rhopalodiales*, mostraron válvulas rectas o curvas, con una gran variedad de formas, que iban desde las elípticas hasta las lineales. Las válvulas comenzaron su formación a partir de una costilla axial (esternón), que, a su vez, podía ser atravesada o no por un par de fisuras, las cuales se describen a continuación:

Class: *Bacillariophyceae*; Order: *Naviculales*; Family: *Sellaphoraceae*; Specie: *Sellaphora disjuncta* (Hust.) (Mann, 1989). Por microscopía óptica se observa que el área axial es recta y el rafe es filiforme (Figura 1a).

Class: *Bacillariophyceae*; Order: *Naviculales*; Family: *Naviculaceae*; Specie: *Navicula detenta* (Hustedt, 1943). Por microscopía óptica se observan válvulas elípticas, ápices rostrados - subcapitados. El área central, el eje apical es lineal y las estrías suelen estar completas alrededor del área central (Figura 1b).

Class: *Bacillariophyceae*; Order: *Achnanthes*; Family: *Cocconeidaceae*; Specie: *Cocconeis pediculus* (Ehrenberg, 1838). Por microscopía óptica se observa que las válvulas son subcirculares y los extremos del rafe proximal son rectos. El rafe se extiende hacia el área central (Figura 1c).

Class: *Bacillariophyceae*; Order: *Rhopalodiaceae*; Family: *Rhopalodiaceae*; Specie: *Rhopalodia gibberula* (Ehrenb.) (Müller, 1895). Por microscopía óptica se observan que los estriados están irradiados, las líneas longitudinales están presentes en el área axial (Figura 1d).

Class: *Bacillariophyceae*; Order: *Cymbellales*; Family: *Gomphonemataceae*; Specie: *Gomphoneis eriense* var. *apiculate* (Stoermer in Reimer, 1982). Por microscopía óptica se observan válvulas fuertemente dorsiventrals, margen dorsal fuertemente convexo, margen ventral ligeramente cóncavo y ápices rectos agudamente redondeados (Figura 1e).

Class: *Bacillariophyceae*; Order: *Achnanthes*; Family: *Achnantheaceae*; Specie: *Achnanthes brevipes* var. *intermedia*. Por microscopía óptica se observa que la célula se adhiere al sustrato: ya sea a través del rafe directamente con la capa cóncava, o por medio de un tallo de gelatina. La segunda capa no tiene rafe. Las células tienen uno o dos plastidios en forma de H. Algunas especies presentan plastidios lenticulares (Figura 1f).

Class: *Bacillariophyceae*; Order: *Bacillariales*; Family: *Bacillariaceae*; Specie: *Denticula tenuis* Kützing. Por microscopía electronica se observan diatomeas con rafe incluidas en un canal rafidal. Células solitarias con válvulas elípticas, elípticas-lanceoladas y lineales y con extremos no diferenciados del cuerpo. El rafe está incluido en un canal rafídico marginal, submarginal o central (Figura 1g).

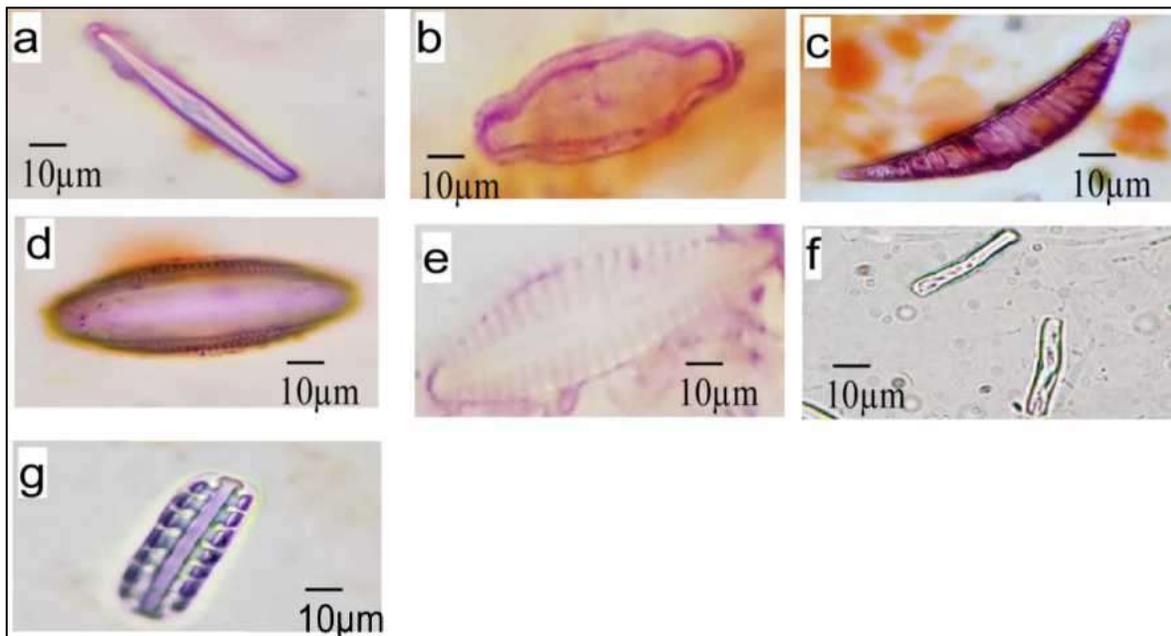


Figura 1. Microorganismos identificados en las fuentes hidrotermales de la zona geotérmica de Comanjilla: a) *Sellaphora disjuncta*; b) *Navicula detenta*; c) *Cocconeis pediculus*; d) *Rhopalodia gibberula*; e) *Gomphoneis erienze* var. *apiculate*; f) *Achnanthes brevipes* var. *intermedia*; g) *Denticula tenuis* Kützing.

Este es el primer informe de diatomeas termofílicas en tapetes microbianos que se forman sobre las aguas termales en México, en donde bacterias termofílicas como *Brevibacillus agri* y *Paenibacillus* sp, viven en asociación con las diatomeas de la clase *Bacillariophyceae* representadas por los órdenes: *Naviculales*, *Cymbellales*, *Achnanthes*, *Bacillariales* y *Rhopalodiales* y cianobacterias filamentosas del orden *Nostocales*. Las diatomeas (*Bacillariophyceae*) comprenden un grupo ubicuo, muy exitoso y distintivo de algas unicelulares, que se caracterizan por sus paredes celulares silíceas llamadas frústulas. Las diatomeas contribuyen de manera significativa a la productividad de muchos ecosistemas, y a menudo constituyen la base de las cadenas alimenticias acuáticas y además son indicadores ecológicos (Srivastava et al., 2016; Ponader y Charles, 2003, Cox, 1996, De la Rey et al, 2004). En los últimos años se han estudiado las diatomeas por su gran potencial en dispositivos químicos, en baterías de celdas solares y en dispositivos de electroluminiscencia (Kroger y Poulsen, 2008). Asimismo, en los últimos años se han estudiado para bioaplicaciones, inmovilización de biomoléculas, detección de gases y biomasas (Tabla 2), (Medarevic et al., 2015).

Hoy en día, el principal interés se centra en su aplicación en la nanotecnología y la biotecnología,

incluidas las técnicas de nanofabricación, la química y la biosensibilidad, en la micro y nanotecnología de fluidos, en el análisis de problemas ecológicos, como el cambio climático, la acidificación y la eutrofización de los ecosistemas acuáticos, en la biomineralización, en la síntesis de biomateriales y la degradación de los desechos (Tabla 2) (Dolatbadi y de la Guardia 2011; Atazadeh y Sharifi 2010; Atazadeh et al., 2007). Todas estas aplicaciones se refieren a las diatomeas que habitan en los ecosistemas marinos, ríos, estuarios, suelos, principalmente. En base a esto, en este trabajo de investigación reportamos especies de diatomeas termófilas que conviven con bacterias y cianobacterias termófilas en un ecosistema cuya temperatura supera los 90°C. Abriendo una gran oportunidad en las aplicaciones y usos de estas diatomeas en este nuevo ecosistema poco explorado.

CONCLUSIONES

La diversidad de microorganismos termófilos que se encuentran en los tapetes microbianos de las fuentes termales de la zona geotérmica de Comanjilla puede ser explotada para el beneficio a gran escala de la humanidad. Las diatomeas son taxones importantes no sólo por su diversidad y ecología, sino también por sus aplicaciones en la vigilancia del medio ambiente, en la nanotecnología, los biocombustibles, la medicina, la agricultura y la industria alimentaria. En la literatura, las diatomeas se consideran elementos importantes para la síntesis de biomateriales, para los problemas de contaminación, para rehabilitar lugares y para determinar la toxicidad de un lugar por los metales pesados. Sobre esta base, las fuentes térmicas representan un nuevo escenario para el estudio y el uso de las diatomeas térmicas como fuentes alternativas de energía.

BIBLIOGRAFÍA

1. Kale, A., Karthick, B. (2015). The Diatoms Big Significance of Tiny Glass Houses. *Resonance*, 20(10): 919-930.
2. Bozarth, A., Maier, U.G., Zauner, S. (2009). Diatoms in biotechnology: modern tools and applications. *Appl Microbiol Biotechnol*, 82:195-201.
3. Ghozzi, 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 of Arid Environments*, 97: 14-17.
4. Lukavsky, J., Furnadzhieva, S., Pilarski, P., 2011. Cyanobacteria of the thermal spring at Pancharevo. *Acta Bot. Croat.* 70 (2), 191-208.
5. Reysenbach, A.L., Cady, S.L., 2001. Microbiology of ancient and modern hydrothermal systems. *Trends in Microbiology*, 9(2): 79-86. doi:10.1016/s0966-842x(00)01921-1
6. Lengeler, J.W., Drews, G., Schlegel, H. G., 1999. The biology of the prokaryotes. Thieme, Stuttgart, Germany, p.205-206.
7. Cowan, D.A., 1992. Enzymes from thermophilic archaeobacteria: Current and future applications in biotechnology. *Biochemistry Society Symposium* 58: 149-169.
8. Singh, S.P., 2006. Extreme Environments and Extremophiles, in National Science Digital Library (CSIR): E- Book, Environmental Microbiology. CSIR; India. 1-35.
9. Austain, B., 1988. *Methods in Aquatic Bacteriology*. A Wiley -Interscience Publication. 222-231.
10. Mann, D.G., 1989. The diatom genus *Sellaphora*: Separation from *Navicula* British Phycological Journal 24: 1-20.
11. Hustedt, F., 1943. Die Diatomeenflora einiger Hochgebirgsseen der Landschaft Davos in den schweizer Alpen. *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie* 43: 124-197, 225-280.
12. Ehrenberg, C.G. (1838). Atlas von Vier und Sechzig Kupfertafeln zu Christian Gottfried.
13. Müller, [G.F.] O., 1895. *Rhopalodia* ein neues Genus der Bacillariaceen. *Botanische Jahrbucher für Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie* 22: 54-71, 2 pl.
14. Reimer, C.W., 1982. Four unreported diatom (Bacillariophyceae) taxa from Northwest Iowa. In: *Diatomaceae III, Festschrift Niels Foged* (H. Håkansson & J. Gerloff, eds.). Beihefte zur *Nova Hedwigia*, 73: 267-273.

15. Srivastava, P., Verma, J., Grover, S., Sardar, A., 2016. On the importance of diatoms as ecological indicators in river ecosystems: a review. *Indian Journal of Plant Sciences*, 5 (1): 70-86.
16. Ponader K and Charles D. 2003. Understanding the relationship between natural conditions and loadings on eutrophication: Algal indicators of eutrophication for New Jersey streams. Final Report Year 2. Report No. 03-04. Philadelphia, Pa.: The Academy of Natural Sciences, Patrick Center for Environmental Research.
17. Cox, E.J., 1996. Identification of Freshwater Diatoms from Live Material. (Chapman and Hall, London, U.K.).
18. De La Rey, P.A., Taylor, J.C., Las, A., Van Rensburg, L., Vosloo, A., 2004. Determining the possible application value of diatoms as indicators of general waterquality - A comparison with SASS 5. *Water SA* 30(3) 325-332.
19. Kroger, N., Poulsen, N., 2008. Diatoms-from cell wall biogenesis to nanotechnology, *Annu. Rev. Genet.* 42: 83-107.
20. Medarevic, D., Losic, D., Ibric, S., 2015. Diatoms - Nature materials with great potential for bioapplications. *Hemijska industrija.* 70 (00) :69-69.
21. Dolatabadi, J.E.N., De la Guardia, M., 2011. Applications of diatoms and silica nanotechnology in biosensing, drug and gene delivery, and formation of complex metal nanostructures. *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, 30(9): 1538-1548.
22. Atazadeh, I., Kelly, M.G., Sharifi, M., Beardall, J., 2010. The effects of copper and zinc on biomass and taxonomic composition of algal periphyton communities from the River Gharasou, western Iran. *Oceanol Hydrobiol St*, 38(3): 3-14.
23. Atazadeh, I., Sharifi, M., Kelly, M.G., 2007. Evaluation of the Trophic Diatom Index for assessing water quality in River Gharasou, western Iran. *Hydrobiologia*, 589, 165349

Tabla 2. Aplicaciones de las diatomeas en biosíntesis, biodegradación, biomineralización, biosensores, biodiesel, biomedicina y bionutrición

Especies de diatomeas	Bio-síntesis	Bio-degradación	Bio-Mineralización	Bio-Sensores	Bio-diesel	Bio-medicina	Bio-nutrición	Referencias
<i>Achnanthes longipes</i>	x					x		Wang et al., 2000; Kuppusamy et al., 2017
<i>Achnanthes oblongella</i> <i>Oestrup</i>		x						Maznah and Mansor 2002
<i>Amphora coffeaeformis</i>						x		Kuppusamy et al., 2017
<i>Cylindrotheca fusiformis</i>						x		Bozarth et al., 2009
<i>Cyclotella</i> sp.				x				Gale et al., 2009
<i>Cyclotella cryptica</i>					x	x		Bozarth et al., 2009; Dunahay et al., 1996

<i>Cyclotella meneghiniana</i>	x		x					de Jonge et al., 2010
<i>Cymbella cistula</i>	x							Wang et al., 2000
<i>Cocconeis placentula Ehr.</i>		x						Maznah and Mansor 2002
<i>Coscinodiscus concinnus</i>				x				De Stefano et al., 2009
<i>Coscinodiscus wailesii</i>				x				Lin et al., 2010
<i>Coscinodiscus argus</i>				x				Li et al., 2014
<i>Chaetoceros sp.</i>							x	Kuppusamy et al., 2017
<i>Chaetoceros cryptica</i>	x							Maznah and Mansor 2002
<i>Chaetoceros muelleri var. subsalsum</i>					x			Chelf, 1990
<i>Diademis gallica</i>	x							Kuppusamy et al., 2017
<i>Fragilaria capucina Desm</i>		x						Maznah and Mansor 2002
<i>Haslea ostrearia</i>	x							Maznah and Mansor 2002
<i>Isochrysis galbana</i>							x	Hemaiswarya et al., 2011
<i>Melosira nummuloideus</i>			x					Yamazaki et al., 2010; Maznah and Mansor 2002
<i>Navicula sp.</i>						x	x	Kuppusamy et al., 2017

<i>Navicula atomus</i>	x							Kuppusam y et al., 2017
<i>Navicula saprophilia</i>						x		Bozarth et al., 2009
<i>Navicula minima</i>	x		x					Chakraborty et al., 2006
<i>Nitzschia sp.</i>	x					x	x	Kuppusam y et al., 2017; Borase et al., 2017
<i>Nitzschia soratensis</i>				x				Li et al., 2014
<i>Nitzschia laevis</i>						x		Lebeau et al., 2002
<i>Nitzschia obtusa</i>	x		x					Chakraborty et al., 2006
<i>Odontella aurita</i>							x	Kuppusam y et al., 2017
<i>Pavlova lutheri</i>							x	Hemaiswaraya et al., 2011
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	x				x	x		Peng et al., 2011; Bozarth et al., 2009; Lebeau and Robert, 2003; Lebeau et al., 2002; Falciatore et al., 2000; Torres et al., 2000; Alonso et al., 1996.
<i>Pinnularia sp.</i>			x					Gutu et al 2009; Maznah and Mansor 2002
<i>Skeletonema sp.</i>							x	Kuppusam y et al., 2017

<i>Skeletonema costatum</i>							x	Hemaiswar ya et al., 2011
<i>Stephanopyxis turris</i>	x							Pytlík et al., 2017
<i>Stephanodiscus hantzschii</i>	x		x					Jaccard et al., 2009
<i>Thalassiosira weissflogii</i>			x			x		Bozarth et al., 2009; Kröger & Poulsen, 2008
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	x		x			x	x	Hildebrand et al., 2012; Burchardt et al., 2012; Hemaiswar ya et al., 2011; Bozarth et al., 2009; Bowler et al., 2008; Kröger, & Poulsen, 2008; Poulsen et al., 2007; Armburst et al., 2004
<i>Thalassiosira rotula</i>				x				Bismuto et al., 2008

INCIDENCIA DE MICROORGANISMOS BENÉFICOS DEL SUELO EN EL RENDIMIENTO DE FRIJOL PINTO SALTILLO

Ixchel Abby Ortiz-Sánchez, Erika Cecilia Gamero-Posada*, Sonia Valdez-Ortega, Cynthia Adriana Nava Berumen, Erika Guzmán Chávez y Miriam Judith Quiñones Gurrola

Tecnológico Nacional de México campus Valle del Guadiana

*erika.gp@vguadiana.tecnm.mx

RESUMEN

Los microorganismos son los componentes más importantes del suelo. Constituyen su parte biológica y son los responsables de la dinámica de transformación y desarrollo para los cultivos. Algunos microorganismos como bacterias (*Azospirillum spp.*) y hongos (*Metarhizium spp.* y *Trichoderma spp.*), son capaces de fijar nitrógeno molecular del ambiente, producir fitohormonas, estimular el crecimiento de las raíces e incrementar la productividad agrícola. Cuando su presencia en el suelo es baja, llega a ocasionar suelos de calidad pobre lo que provoca bajos rendimientos en los cultivos. Como alternativa para elevar la producción agrícola se ha propuesto el uso de los llamados “biofertilizantes”, los cuales hoy en día son de gran utilidad en México. Estos se caracterizan por la presencia de microorganismos vivos, bacterias u hongos, que se asocian en forma natural con las raíces de las plantas, beneficiando su crecimiento y el rendimiento mediante diversos mecanismos biológicos; tal es el caso de la reducción del nitrógeno atmosférico, con la generación de amoníaco, la síntesis de sustancias reguladoras del crecimiento vegetal, la síntesis de antibióticos y la solubilización de fosfatos. El objetivo de la presente investigación fue evaluar el rendimiento del cultivo de frijol pinto saltillo producido en suelos tratados con diferentes inoculantes bacterianos y fúngicos. En el proceso se evaluaron cuatro tratamientos los cuales fueron aplicados al suelo más un testigo: Inoculante Bacteriano-Tipo A (*Azospirillum spp.* obtenido en caldo nutritivo), Inoculante Bacteriano-Tipo B (*Azospirillum spp.* producido con Melaza), Inoculantes fúngicos (*Metarhizium spp.* + *Trichoderma spp.*), e Inoculantes fúngicos + Inoculante Tipo A; posteriormente se estableció el cultivo en el ciclo agrícola otoño-invierno de 2019 con una densidad de siembra de 125,000 plantas por hectárea. El cultivo se desarrolló bajo un manejo de temporal, dado que no se aplicó riego de forma inducida. La variable dependiente fue el rendimiento de frijol (ton ha^{-1}). Los resultados obtenidos fueron analizados mediante análisis de varianza bajo un diseño de bloques al azar con tres repeticiones por tratamiento; posteriormente se empleó una prueba de comparación de medias de Tukey ($\alpha=0.05$), la cual indicó la existencia de diferencia estadística entre los tratamientos. El rendimiento más alto se obtuvo donde se aplicó el Inoculante Fúngico + Inoculante Tipo A, obteniendo 4.07 ton ha^{-1} de frijol; en contraparte, donde se aplicó los Inoculantes fúngicos se obtuvo un rendimiento de 2.75 ton ha^{-1} el cual fue el más bajo. El uso de microorganismos como biofertilizante ayuda a la fertilización tradicional, reduciendo el uso de energía de la planta al momento de absorber los nutrientes; asimismo, disminuye la degradación del agroecosistema y reduce la pérdida de nutrientes del suelo por lixiviados, sobre todo de nitrógeno. Así mismo es posible reducir los costos de producción y los productores obtienen mayores ganancias en sus cultivos.

INTRODUCCIÓN

El suelo es uno de los recursos naturales más importantes para la nación, ya que de sus condiciones depende el buen estado de los hábitats naturales, las actividades agrícolas, ganaderas y forestales y hasta urbanas. Algunas prácticas de manejo y usos del suelo para la agricultura pueden tener impactos negativos en la calidad del suelo, tales como problemas de acidificación y/o alcalinización derivados de la aplicación excesiva de fertilizantes y de la contaminación provocada por el uso de plaguicidas. Lo anterior conlleva a una disminución de fertilidad de suelo lo que ocasiona baja producción en los cultivos y/o calidad de los productos, esto debido al empobrecimiento de las características físicas, químicas y microbiológicas del suelo. En el estado de Durango uno de los cultivos principales es el frijol, los suelos donde se cultiva son de baja capacidad de retención de humedad, fertilidad y contenido de materia orgánica (Rosales y Flores, 2018). Por lo anterior es necesario que la agricultura busque la sustentabilidad de los cultivos a través de su origen biológico,

indagando las características que les permitan ser más económicos, rentables e inoctrinos al ambiente, evitando el uso excesivo de fertilizantes químicos. Una alternativa es la introducción de inoculantes microbianos, también conocidos como inoculantes del suelo. Los inoculantes microbianos se aplican para mejorar la nutrición de las plantas (Rodríguez, 2009), así como su vigor y resistencia sistémica a diversas plagas y enfermedades (Aguirre, s/f). Tal es el caso del uso de inoculantes a base de bacterias como del género *Azospirillum* y hongos benéficos del género *Metarhizium* y *Trichoderma*. Las bacterias *Azospirillum spp.* son consideradas como fijadoras de nitrógeno en el suelo y dentro de los mecanismos de acción directos de estas rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) sobre las plantas, se encuentran el mejoramiento de la germinación, el desarrollo del sistema radical, la nutrición mineral y la fitoestimulación (utilización del agua) (Okon y Vanderleyden, 1997). Así mismo los inoculantes fúngicos a base de *Metarhizium spp.* lleva a cabo una simbiosis con las plantas, lo que estimula el crecimiento de las raíces, que transfiere nutrientes del suelo a las mismas, como es el caso del nitrógeno el cual obtiene de los insectos que parasita, que activa el sistema inmune de las plantas y también que activa la resistencia a factores abióticos como la salinidad (Herrera Gutiérrez & Padilla Guerrero, 2018). Y por último los inoculantes a base de *Trichoderma spp.* promueven el crecimiento y desarrollo de las plantas, mediante la producción de auxinas y giberelinas; también pueden producir ácidos orgánicos (glucónico, fumárico, y cítrico) que pueden disminuir el pH del suelo y propiciar la solubilización de fosfatos, magnesio, hierro y manganeso, los cuales son vitales para el metabolismo vegetal (Torres et al., 2015; Sharma et al., 2017). Por tal motivo, el objetivo de la presente investigación fue evaluar la efectividad de inoculantes bacterianos y fúngicos en el cultivo de frijol variedad pinto saltillo bajo condiciones de temporal.

TEORIA

Cultivo de Frijol en Durango.

El estado de Durango es una de las principales entidades productoras de frijol en México. Las áreas más importantes para la producción de frijol en el estado se encuentran por orden de importancia y superficie de siembra en los municipios de Nombre de Dios, Poanas, Vicente Guerrero y Durango (Rosales et al., 2009). Esta leguminosa es considerada por los productores como el cultivo que les proporciona alimento y beneficios económicos, lo que a su vez contribuye al mejoramiento del nivel de vida de la población duranguense. La rentabilidad promedio registrada se situó entre 1.2 y 1.7 lo cual significa que se obtiene una ganancia de 20 a 70 centavos, por cada peso invertido en la producción (Pajarito, 2015). Sin embargo, la baja fertilidad de los suelos y la insuficiente atención a los procesos que lo ocasionan comprometen seriamente la agricultura, por lo que resulta imprescindible detener los procesos que lo ocasionan y establecer sistemas de manejo del suelo que permitan obtener resultados productivos sostenibles y a la vez elevar la fertilidad de los suelos.

Microorganismos del suelo.

Los microorganismos del suelo contribuyen a la sustentabilidad de todos los ecosistemas por ser los principales agentes del ciclo de los nutrientes al regular la dinámica de la Materia Orgánica del suelo, la emisión de gases de efecto invernadero, la estructuración del suelo y la retención de agua, del aumento en la eficiencia de adquisición de nutrientes por las plantas y del mantenimiento de la salud vegetal. La rizósfera es el principal sitio donde se presentan microorganismos, específicamente funcionales, como fijadores de nitrógeno, solubilizadores de fosfatos, promotores del crecimiento vegetal, biocontroladores y especies patogénicas, normalmente, compiten por espacio y por nutrientes (Cano, 2011). Estas interrelaciones entre microorganismos inciden en la interacción suelo-planta-microorganismos-ambiente y repercuten, de forma directa, en el crecimiento y en el desarrollo de las especies vegetales. Estos microorganismos beneficiosos que se encuentran en el suelo, son bacterias, actinomicetos, hongos, algas y protozoarios. Un suelo fértil es aquel que contiene una reserva adecuada de elementos nutritivos disponibles para la planta, o una población microbiana que libere nutrientes que permitan un buen desarrollo vegetal.

Bacterias del género *Azospirillum*.

El uso de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) para la formulación de biofertilizantes se ha convertido en una de las tecnologías limpias más prometedoras para el desarrollo de la

agricultura sostenible (Bashan et al., 2013). Entre las BPCV que más se destacan se encuentran las del género *Azospirillum*, que tiene la capacidad de fijar nitrógeno, solubilizar fósforo, producir citoquininas, giberelinas e indoles, reducir nitratos lo cual admite ser utilizado como biofertilizante del cual se podrá obtener un producto agrícola de calidad y sin generar consecuencias al ambiente (Fibach-Paldi et al., 2012, Citado por Sangoquiza 2018). *Azospirillum spp.* tiene efectos que provoca en las plantas como es el incremento en peso seco total, concentración de nitrógeno en follaje y grano, número total de espigas, floración y aparición de espigas más temprana, tasas de germinación más altas, entre otras (García et. al 2016).

Hongos entomopatógenos del género *Metarhizium*.

Los hongos del género *Metarhizium* son patógenos de más de 200 especies de insectos, pero inocuos para el hombre, animales y plantas, tiene una distribución mundial desde el Ártico hasta los Trópicos y coloniza una impresionante gama de ambientes incluyendo bosques, sabanas, pantanos, zonas costeras y desiertos (Q. Gao et al., 2011). *Metarhizium spp.* es clasificado como entomopatógeno micorrízico y esto se debe a que existe una simbiosis mutualista del hongo con las plantas, la cual estimula el crecimiento de las raíces y translocación de nutrientes para ambos organismos. Así como la planta recibe nutrientes limitantes del suelo por parte del hongo y este a su vez recibe de la planta algunas moléculas con carbono (Behie, et al., 2012). Otra característica del hongo es que es entomopatógeno, el cual es capaz de transferir el nitrógeno obtenido directamente de los insectos que infectan hacia las plantas (Roberts, et al., 2004).

Hongos benéficos del género *Trichoderma*.

Las especies de *Trichoderma* predominan en ecosistemas terrestres (bosques o suelos agrícolas), tienen bajo requerimiento nutrimental pero relativamente amplio rango de temperatura (25-30°C) para su crecimiento (Sandle, 2014). Además, poseen alta adaptabilidad a condiciones ecológicas y pueden crecer de manera saprofitica, interactúan con animales y plantas (Zeilinger et al., 2016), y se desarrollan en diversos sustratos, lo cual facilita su producción masiva para uso en la agricultura. Este hongo benéfico es importante para las plantas, al contribuir en el control de hongos fitopatógenos, ya que poseen propiedades micoparasitarias y antibióticas, por lo que algunas especies han sido catalogadas como excelentes agentes de control biológico de hongos causantes de enfermedades en diferentes plantas (Argumedo et al., 2009). Así mismo este hongo toma nutrientes de los hongos que parasita y de materiales orgánicos, ayudando a su descomposición, por lo cual las incorporaciones de materia orgánica y compostas favorecen su proliferación (Ramos et al., 2008).

PARTE EXPERIMENTAL

Área de estudio.

El presente trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de Biotecnología Vegetal y campos de cultivo del Tecnológico Nacional de México campus Valle del Guadiana, que se encuentra ubicado en el km 22.5 carretera Federal 45 Durango-México.

Obtención de inóculos.

Se utilizaron las cepas de *Azospirillum spp.*, *Metarhizium spp.* y *Trichoderma spp.* del cepario del Laboratorio Biotecnología Vegetal del TecNM campus Valle del Guadiana. La cepa A8 de *Azospirillum spp.* se aisló a partir de raíz de *Amaranthus hypocondriacus* en la etapa de "grano lechoso". Los inoculantes fueron crecidos en caldo nutritivo por 60 h a 28 °C y posteriormente separados y lavados por centrifugación. Se diluyeron en 20 L de agua corriente, alcanzando una concentración de 4.3x10¹¹ UFC/mL, medida por espectrofotometría de luz UV a 660 nm (Gamero, et al., 2018). El aislamiento de *Trichoderma spp.* y *Metarhizium spp.* se realizó a partir de las muestras de suelo procedentes de las zonas de cultivos y de bosque del TecNM campus Valle del Guadiana, utilizando el método de dilución en placa (Sylvia et al., 1998); y se identificaron según las claves de Barnett (1995). Para la propagación de las esporas se utilizó el método de extensión en superficie sobre medio M-100. La incubación se llevó a cabo a 28°C por 4 a 7 días, o hasta la aparición de esporas color verde olivo sobre el micelio que es de color blanco y de textura

algodonosa. Las esporas se cosecharon y lavaron por centrifugación a 3000 rpm con Tritón X-100 al 1% estéril; se contabilizaron en cámara Neubauer y se diluyeron hasta alcanzar una concentración de 1×10^8 esporas/mL.

Tratamientos y diseño experimental.

Los tratamientos de aplicación de microorganismos benéficos al suelo se muestran en el Cuadro 1. Se utilizó un diseño de bloques al azar con 3 repeticiones por tratamiento. La variable dependiente fue rendimiento de frijol (ton ha^{-1}).

Cuadro 1. Tratamientos.

No.	Tratamiento	Descripción	Dosis
T1	Inoculante Bacteriano-Tipo A	<i>Azospirillum spp.</i> obtenido en caldo nutritivo	4.3×10^{11} UFC/mL
T2	Inoculante Bacteriano-Tipo B	<i>Azospirillum spp.</i> producido con Melaza	4.3×10^{11} UFC/mL
T3	Inoculantes fúngicos	<i>Metarhizium spp.</i> + <i>Trichoderma spp.</i>	1×10^8 Espora/mL de cada hongo
T4	Inoculantes fúngicos + Inoculante Tipo A	<i>Metarhizium spp.</i> + <i>Trichoderma spp.</i> + <i>Azospirillum spp.</i>	1×10^8 Espora/mL de cada hongo+ 4.3×10^{11} UFC/mL
T5	Testigo absoluto	-----	0

*UFC= Unidades formadoras de crecimiento.

Manejo Agronómico del cultivo.

Se realizaron tres aplicaciones de tratamientos de microorganismos al suelo, la primera se realizó dos días antes de la siembra, la segunda y tercera a los 15 y 35 días después de la siembra. La siembra del cultivo de frijol se realizó en julio, lo cual correspondió al ciclo primavera-verano de 2019. Se fertilizó de manera foliar a los 56 días después de la siembra (DDS) con la dosis 08-24-41.5 para nitrógeno (N), fósforo (P_2O_5) y potasio (K_2O). El control de la maleza se logró mediante dos escardas y una aplicación de herbicida (Flex Biw®). Se efectuó una aplicación de insecticida (IMILAND®) para el control del picudo de la vaina (*Apion spp.*). No se aplicaron riegos de manera manual, por lo que se manejó como cultivo de temporal. Se llevó a cabo un monitoreo durante cada una de las etapas fisiológicas del cultivo para verificar que el cultivo tuviera un desarrollo positivo. Las plantas estudiadas fueron cosechadas en madurez, se secaron al sol y se colocaron en bolsas de papel para su trilla manual. Posteriormente se determinó el rendimiento (ton ha^{-1}) con el peso de 100 semillas en cada repetición de tratamiento evaluado.

Análisis estadísticos.

Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA, $p \leq 0.05$). Se realizó la comparación de medias, con base en la prueba de Tukey ($\alpha \leq 0.05$). El análisis de varianza y la comparación de medias se obtuvieron con el programa de cómputo InfoStat®.

RESULTADOS

El análisis de varianza de los datos obtenidos de la evaluación del efecto de los tratamientos de microorganismo en suelo sobre el rendimiento del cultivo de frijol, mostró diferencia significativa ($p < 0.05$). En la Figura 1 se muestra la comparación de medias de los rendimientos del cultivo de frijol; donde el tratamiento de a base de Inoculantes fúngicos + Inoculante Tipo A (T4) con un rendimiento de 4.07 ton ha^{-1} de frijol fue el de mayor rendimiento. Lo anterior se debió a la sinergia positiva de la relación de hongo- bacteria y resultó favorable para el cultivo al obtener el mayor rendimiento que al ser evaluado por separado. Abarza, et al., (2017) al inocular cepas de *Azospirillum spp.* y *Trichoderma spp.* en cultivo de Maíz encontraron un aumento significativo de un 28 y 12% respectivamente; mencionaron que el efecto de *Azospirillum spp.* básicamente es como promotor

del crecimiento y *Trichoderma spp.* es esencialmente un agente de control biológico y así mismo produce metabolitos secundarios que favorecen el crecimiento de las plantas. Los tratamientos 2, 5 y 3 son estadísticamente iguales con rendimientos de 3.07, 3.06 y 2.75 ton ha⁻¹ respectivamente.

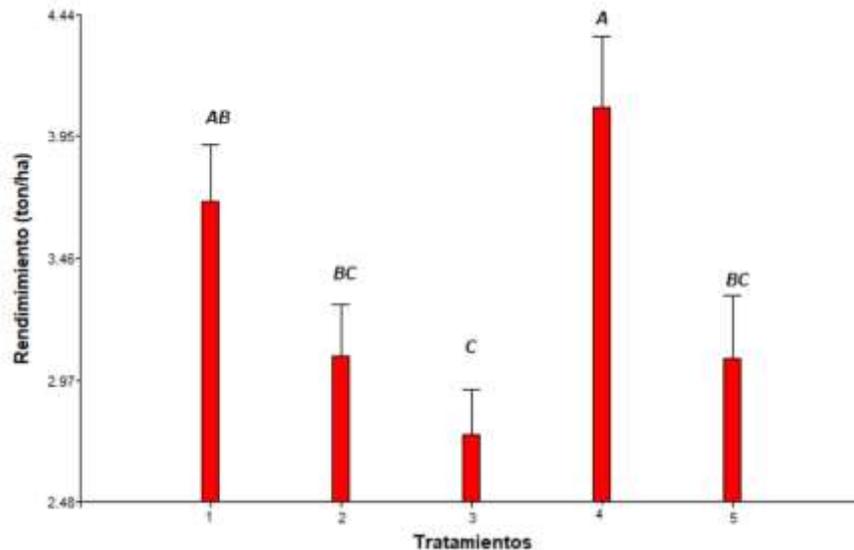


Figura 1. Comparación de medias de tratamientos.

†Medias con diferente letra indican diferencia significativa, con base en la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

CONCLUSIONES

El uso de microorganismos como *Azospirillum spp.*, *Metarhizium spp.* y *Trichoderma spp.* aportan beneficios importantes para las plantas, como la estimulación del crecimiento. La aplicación como biofertilizante ayuda a la nutrición tradicional reduciendo el uso de agroquímicos y degradación del agroecosistema. La implementación de estos microorganismos en el suelo permite reducir costos de producción en frijol y por lo tanto obtener mayores ganancias.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aguirre, M. J.F., Irizar, G. M.B., Durán, P. A., Grajeda, C. O. A, Peña, R. M.A, Loredo, O. C., Gutiérrez, B.A. s/f. Los biofertilizantes microbianos: alternativa para la agricultura en México. Manual de microbiología, 2.^a ed., pp. 86-91
2. Argumedo, D. R., Alarcón, R. A., Ferrera, C., y Peña, C. J. J. 2009. El género fúngico *Trichoderma* y su relación con contaminantes orgánico e inorgánico. Revista Internacional de Contaminación Ambiental 25(4):257-269.
3. Bashan, Y., Bashan, L. E., Prabhu, S. R., Hernández, J. P. 2013. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998-2013). Plant and Soil, 378 (1-2): 1-33.
4. Barnett. H. L. 1995. Illustrate genera of imperfect fungi the Saccardo system of classification. 3ed. Minnesota. p. 78-86 143-145.
5. Behie, S. W., Zelisko, P. M., Bidochka, M. J. 2012. Endophytic insect-parasitic fungi translocate nitrogen directly from insects to plants. Science, 336(6088), 1576-1577.
6. Cano, A. M. 2011. Interacción de microorganismos benéficos en plantas: micorrizas, *trichoderma spp.* y *pseudomonas spp.* Una revisión. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 14(2): 15 – 3.

7. Fibach-Paldi, S.; Burdman, S. & Okon Y. 2012. Key physiological properties contributing to rhizosphere adaptation and plant growth promotion abilities of *Azospirillum brasilense*. FEMS Microbiol Lett., 326: 99-108.
8. Gamero, P. E.C., Ibarra, R. A., Perales, P. A., Valdez, O. S., Ortiz, S. I. A. 2018. Producción de inoculantes a base de *Azospirillum* spp. nativas del Valle del Guadiana, Durango, México. Memoria de la XXX Semana Internacional de Agronomía FAZ-UJED. Gómez Palacio, Dgo. pp.926-931.
9. Herrera, G. L. J., Padilla G. I. E. 2018. Localización del hongo *Metarhizium* spp. en su asociación con la planta *Sorghum vulgare*. Guanajuato. Obtenido de <http://www.jovenesenlaciencia.ugto.mx/index.php/jovenesenlaciencia/article/view/67/pdf1>
10. Okon Y., Vanderleyden J. 1997. Root associated *Azospirillum* species can stimulate plants. ASM News, 63 (7): 364-370.
11. Pajarito, R. A. 2015. Frijol. In: Agenda Técnica Agrícola. Durango. 2ed. SAGARPA-SENASICA-INIFAP. México, D. F. pp. 63-69.
12. Q. Gao, Jin, K., Ying, S., Zhang, Y., Xiao, G., Shang, Y., Wang, C. 2011. Secuenciación del genoma y transcriptómica comparativa del modelo de hongos entomopatógenos *Metarhizium anisopliae* y *M. acridum*. (I. d. Mark Achtman, Ed.) PLoS Genet, 7:1001264. Obtenido de <https://journals.plos.org/plosgenetics/article?id=10.1371/journal.pgen.1001264>
13. Ramos, E.Y.A., R.I.Z. Navarro, L.E.O. Zumaqué, y J.L.B. Violeth. 2008. Evaluación de sustratos y procesos de fermentación sólida para la producción de esporas de *Trichoderma* sp. Revista Colombiana de Biotecnología X (2):23-34.
14. Roberts D.W., St Leger R.J. 2004. *Metarhizium* spp., Cosmopolitan insect-pathogenic fungi: mycological aspects. Adv Appl Microbiol 54:1-m70
15. Rodríguez, S. J., Suárez, R., Caballero, M. J. e Iturriaga, G. 2009. Trehalose accumulation in *Azospirillum brasilense* improves drought tolerance and biomass in maize plants. Federation of European Microbiological Societies FEMS Microbiol Lett 296: 52-59.
16. Rosales, S., R.; Acosta, G. J. A.; Ibarra, P. F. J.; Cuéllar, R E. I.; Nava, B. C. A. 2009. Validación de variedades y líneas mejoradas de frijol en Durango. Publicación Especial Núm 27. INIFAP-Campo Experimental Valle del Guadiana. Durango, Méx. 93 p.
17. Rosales S., R., e H. Flores G. 2018. Importancia del agua de riego para la producción sostenible de frijol en Durango. Folleto Técnico Núm. 91. INIFAP-CIRNOC- Campo Experimental Valle del Guadiana. Durango, Dgo. 28 p.
18. Sandle, T. 2014. *Trichoderma*. p. 644-646. En C.A. Batt y M.-L. Tortorello (eds.) Encyclopedia of Food Microbiology, London, UK.
19. Sangoquiza, C. C. A., Viera, T. Y., Yáñez, G. C. F. 2018. Respuesta biológica de aislados de *Azospirillum* spp. frente a diferentes tipos de estrés. Centro Agrícola, 45(1), 40-46. Recuperado en 06 de junio de 2020, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S025357852018000100005&lng=es&tlng=es.
20. Sharma, V., Salwan R., and Sharma P. N. 2017. The comparative mechanistic aspects of *Trichoderma* and probiotics: scope for future research. Physiological and Molecular Plant Pathology 100:84-96.
21. Sylvia, D. Fuhrmann, J.; Hartel, P.; Yzuberer, D. 1998. Principles and applications of soil microbiology, Edt Prentice Hall. New Jersey.
22. Torres, C. M., Ortiz, G. C.F., Bautista, M. C., Ramírez, P. J.A., Ávalos, C. N., Cappello, G. S. 2015. Diversidad de *Trichoderma* en el agroecosistema cacao del estado de Tabasco, México. Revista Mexicana de Biodiversidad 86:947-961.
23. Zeilinger, S., S. Gruber, R. Bansal, and P.K. Mukherjee. 2016. Secondary metabolism in – chemistry meets genomics. Fungal Biology Reviews 30(2):74-90.

GENERACIÓN DE MICROGREENS COMO PROPUESTA PARA DIVERSIFICAR EL CONSUMO DE CHÍA (*SALVIA HISPANICA* L.)

Xochitl Aparicio Fernández, Haiku Daniel de Jesus Gómez Velázquez, Karla Padilla Torres, Eglá Yareth Bivián Castro, Evelia Martínez Cano y Brenda Lesly Chávez Gutiérrez

Centro Universitario de los Lagos, Universidad de Guadalajara
aflatoxinas@hotmail.com

RESUMEN

La chía (*Salvia hispanica* L.) es un cultivo que data de tiempos prehispánicos en México y Guatemala. Es considerada un superalimento por su contenido de proteína, grasa saludable, vitaminas, minerales y antioxidantes de tipo fenólico; pero su consumo no se ha diversificado, es solo como semilla. La germinación desencadena reacciones bioquímicas en las semillas, para la síntesis de compuestos bioactivos a la par que disminuyen los compuestos antinutricios. Recientemente se ha propuesto la germinación de semillas de diferentes especies de vegetales (plantas herbáceas, hierbas aromáticas y plantas silvestres comestibles) para la producción de microgreens o micro-hortalizas, las cuales son plántulas comestibles, jóvenes y tiernas que se recolectan entre 7 y 21 días después de la germinación, cuando han surgido las primeras hojas verdaderas. Una diversidad de semillas se está estudiando para la generación de microgreens, por su facilidad de consumo y su riqueza nutritiva, ya que presentan cantidades mayores de nutrientes y minerales comparados con sus contrapartes cosechadas en su etapa madura. En nuestro país la chía se consume exclusivamente como semilla limitando su potencial nutricional, por lo que el objetivo de la presente investigación fue establecer las condiciones adecuadas para la generación de microgreens de chía, debido a su fácil desarrollo, que puede ser desde casa, en invernaderos o en granjas urbanas, lo que lo convierte en un producto disponible y accesible. Se trabajó con semillas de chía (*Salvia hispanica* L.) var. Beige, cosechada en 2018, en Capilla de Milpillas, Tepatitlán de Morelos, Jalisco, México. Para establecer las condiciones de producción de los microgreens de chía se probaron diferentes métodos de desinfección de la semilla, con o sin tratamiento de imbibición, tipos de sustrato y tiempo. Se midieron como variables de respuesta el rendimiento en peso fresco, la altura del tallo y las dimensiones de las hojas cotiledonares. La aplicación de desinfección con soluciones acuosas de hipoclorito de sodio, así como el proceso de imbibición, produjo la hidratación del mucílago, que posteriormente impidió una adecuada dispersión de las semillas en las charolas de siembra, conduciendo a aglomeraciones en ésta y al desarrollo de hongos durante la etapa de germinación. Por otro lado, la desinfección con etanol al 70% causó daño a las semillas reduciendo notablemente su porcentaje de germinación, probablemente causada por deshidratación excesiva de la misma. La mezcla de turba, fibra de coco, perlita y vermiculita, pasteurizada con agua hirviendo, dio los mejores rendimientos de microgreens. Mientras que las condiciones para la producción de éstos fueron, 2 días en obscuridad, para lograr la germinación de las semillas y 12-14 días a partir de la germinación para lograr microgreens con un tallo alrededor de 5 cm y hojas cotiledonares con extensión aproximada de 1 cm. Se concluye que la chía es una semilla fácil de propagar, por lo que, con condiciones básicas, se pueden obtener sus micro-hortalizas. Estudios futuros estarán enfocados a conocer la composición química de los microgreens generados.

INTRODUCCIÓN

La demanda de los alimentos mínimamente procesados, nutraceuticos y funcionales ha ido en aumento en los últimos años, en virtud de los beneficios que aportan a la salud (Xiao, Z. y Col., 2014). Los microgreens, alimentos emergentes de gran popularidad, son hojas cotiledonarias jóvenes que se producen a partir de semillas vegetales; éstos son cosechados entre los días 7 y 21 después de la germinación, cuando las hojas verdaderas ya han emergido. A pesar de su apariencia pequeña, los microgreens tienen una gran variedad de colores, texturas y sabores, lo que aunado a su gran cantidad de antioxidantes y compuestos bioactivos, hacen que sean considerados un alimento funcional (Xiao, Z. y Col., 2012).

La semilla de chía (*Salvia hispanica* L.) forma parte de la alimentación tradicional mexicana y, recientemente ha despertado un gran interés en su consumo a nivel mundial debido a su gran valor nutritivo y su aporte calórico, el cual supera a semillas como el trigo (*Triticum spp.*) y el maíz (*Zea mays*), entre otros (Mohd-Ali, N. y Col. 2012). Por su gran contenido en fibra, proteína, compuestos fenólicos, antioxidantes y ácidos grasos poliinsaturados, la chía, ha ganado fama y se ha clasificado dentro de los alimentos funcionales. La chía comúnmente se consume como semilla, sin embargo se han desarrollado productos con valor agregado a partir de ella (aceite, harina, aceite microencapsulado) que desafortunadamente no mantienen su riqueza nutrimental y fitoquímica (Jaramillo-Garcés, Y., 2013). Por otro lado, los estudios relacionados a germinación de la semilla de chía son limitados, y nulos los referentes a la generación de microgreens de chía. Por lo tanto, el objetivo de la presente investigación fue establecer las condiciones (sustrato, temperatura y tiempo de germinación) adecuadas para la generación de microgreens de chía.

TEORÍA

Salvia hispanica L. Comúnmente conocida como chía, es un pseudocereal anual perteneciente a la familia Lamiaceae, originaria del Sur de México y Norte de Guatemala, distribuyéndose de forma natural en climas semicálidos y templados del Eje Neovolcánico Transversal de las Sierras Madre Occidental y del sur de Chiapas (López, A. X. y Col., 2017).

Es una especie que mide 1 a 1.5 m de altura, sus tallos son ramificados de sección cuadrangular y huecos, con pubescencias cortas y blancas; hojas opuestas con bordes aserrados de 80 a 100 mm de longitud y de 40 a 60 mm de ancho, con diferentes grados de pubescencia. Las flores son hermafroditas, azules o blancas. El fruto es un esquizocarpo, que consiste en lóculos indehiscentes separados para formar 4 semillas, las cuales son monospermas ovales de 1.5 a 2 mm de longitud y 1 a 1.2 mm de diámetro; son suaves y brillantes, con un color que va desde café oscuro hasta el negro, con manchas irregulares en su mayoría, hasta llegar en menor proporción a las semillas blanquecinas, el peso de 1 000 semillas varía entre 0.94 y 1.29 g. Todas las semillas de chía tienen la capacidad de producir mucílago cuando están en contacto con el agua (López, A. X. y Col., 2017; Farel-Lara, L. E., 2017).

Formó parte de la dieta de las culturas Azteca y Maya junto con el maíz (*Zea mays*), el amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*) y el frijol (*Phaseolus vulgaris*). Tuvo una variedad de usos, por ejemplo: en ofrendas de ceremonias religiosas, en la elaboración de medicinas, en la alimentación y en la preparación de pinturas; sin embargo, su uso fue reducido con la llegada de los españoles a América, quienes sustituyeron especies mexicanas por especies españolas, haciéndola llegar casi a la desaparición, pero un pequeño grupo de agricultores de Acatic, Jalisco y Olinálá, Guerrero, conservaron la tradición de su uso como alimento y medicina y cuyo consumo se ha incrementado en los últimos años (López, A. X. y Col., 2017; Sosa, B. A. y Col., 2017).

Características nutrimentales y fitoquímicas de la chía. El aumento en el interés por el consumo de chía se debe a sus propiedades nutricionales, ya que proporciona relativamente elevados niveles de fibra dietética total (34-35%); lípidos totales (34%), de los cuales en su mayoría son ácidos grasos poliinsaturados; proteínas (16-18 %); carbohidratos (42-45 %); asimismo como compuestos fenólicos, minerales y vitaminas liposolubles como A, D, E y K (Guiotto, E. N., 2014). Es un alimento que no contiene gluten ni micotoxinas, además de que tiene un nivel seguro de metales pesados y un elevado contenido de antioxidantes, tales como ácido clorogénico, ácido cafeico, miricetina, quercetina, kaempferol, ácido rosmarínico y ácido gálico, entre otros (López, A. X. y Col., 2017). La chía funge como alimento funcional, dotando de grandes beneficios a quien lo consume, entre ellos previene enfermedades cardiovasculares, trastornos inflamatorios y nerviosos, así como la diabetes. Gracias a su contenido de fibra dietética soluble, disminuye problemas de estreñimiento, divertículos y cáncer de colon (López, A. X. y Col., 2017).

El proceso de germinación. La germinación es el estado metabólico activo de la semilla que inicia con la imbibición, cuyo primer indicio es la elongación de la radícula como consecuencia de la división celular y la diferenciación. Se considera que el proceso de germinación ha finalizado cuando emerge una plántula normal (Rodríguez Quilón, I. y Col., 2012). Se requieren tres condiciones para que el

proceso de germinación ocurra: la viabilidad del embrión, que los agentes externos sean propicios y una buena calidad y cantidad de material de reserva (Suárez, D., & Melgarejo, L. M., 2010).

El proceso de germinación ocurre en tres fases: Inicia con la imbibición, el cual es un proceso físico que consiste en la entrada de agua desde el medio externo al interior de la semilla, favorecido por el tipo de sustancias de reserva. Una vez hidratada, se activan procesos metabólicos que permiten continuar las fases de la germinación (Villamil, J. M. P., & García, F. P., 1998). La imbibición, a su vez, comprende tres etapas: la absorción rápida de agua, la fase de estabilización y movilización de nutrientes y, la absorción de agua que corresponde con el periodo de elongación del embrión o de la radícula (Suárez, D., & Melgarejo, L. M., 2010). La segunda fase de la germinación consiste en la síntesis y activación de los sistemas enzimáticos. Se caracteriza por una reducción en la absorción de agua, mientras que se activan las enzimas ya existentes en la semilla, y otras más se sintetizan. Ocurre la degradación de las reservas de las semillas, convirtiéndolas a formas metabolizables disponibles para el embrión, lo cual es necesario para continuar con la última etapa del proceso, el crecimiento. En esta última fase, conforme incrementa la actividad metabólica, la semilla va teniendo los nutrientes necesarios disponibles para el crecimiento de la radícula y el rompimiento de la testa. Esta etapa culmina con la aparición de la plántula (Villamil, J. M. P., & García, F. P., 1998).

La generación de una nueva planta trae consigo cambios importantes en la composición química del producto, de tal forma que los germinados o brotes generados son altamente nutritivos, ricos en vitaminas, minerales, oligoelementos, enzimas y fitoquímicos con actividad biológica. Martínez-Campos (2017) encontró que los germinados, de ocho días de crecimiento, presentan mayor valor nutricional que las semillas de chía a partir de las que se obtienen; con un mayor contenido de proteína y azúcares reductores y menor proporción de lípidos. Este tiempo de germinación también produjo un incremento en la concentración de compuestos fenólicos (ácido cafeico, ácido clorogénico, ácido ferúlico, ácido sinápico, y ácido siríngico) y de flavonoides (kaempferol, quercetina y rutina); así como una mayor capacidad antioxidante medida por dos métodos diferentes; por lo que el autor propone agregar a la dieta los germinados de chía como una fuente de nutrimentos y antioxidantes. Características nutrimentales y fitoquímicas de los microgreens. Aun cuando los estudios sobre los microgreens de chía son limitados, en otras semillas se ha encontrado que los microgreens contienen una cantidad más alta de compuestos bioactivos que sus contrapartes maduras, como el ácido ascórbico, la filoquinona, los tocoferoles y los carotenoides. Más allá de su valor nutricional, los microgreens son considerados alimentos funcionales por sus efectos positivos en el organismo (Xiao, Z. y Col., 2014). Son muy abundantes en vitaminas, oligoelementos, aminoácidos, antioxidantes, etc. (Mir, S. A. y Col., 2017; Tamilselvi y Arumugam, 2018).

PARTE EXPERIMENTAL

La semilla de chía (*Salvia hispanica* L.), var. Beige, cosechada en 2018, se obtuvo de Capilla de Milpillas (20° 39' N, 102° 50' O, altitud 1,823 msnm) del municipio Tepatitlán de Morelos, Jalisco, México. Fueron tamizadas para eliminar cualquier material ajeno y se almacenaron a temperatura ambiente en obscuridad hasta su uso.

Para establecer las condiciones de producción de los microgreens de chía se probaron diferentes métodos de desinfección de la semilla, con o sin tratamiento de imbibición, tipos de sustrato y tiempo, como a continuación se detalla:

Desinfección de semillas. Se probaron dos métodos de desinfección, a continuación se describen. El primero de ellos consistió en el uso de una solución de hipoclorito de sodio (NaClO) al 1%, en la cual se sumergieron de las semillas y se sometieron a agitación durante un minuto. Posteriormente, las semillas fueron drenadas y se esparcieron sobre el sustrato en las charolas. El segundo método de desinfección, consistió en el lavado de las semillas con una solución acuosa de etanol al 70%, en la cual las semillas se sumergieron y agitaron por espacio de un minuto, para posteriormente drenarse y colocarse sobre el sustrato. En ambos casos, una vez sembradas, las semillas se rehidrataron rociándolas con agua purificada.

Imbibición. Se probaron tiempos de remojo o imbibición de 0, 6 y 12 h, utilizando agua purificada.

Preparación del sustrato. Se utilizaron dos fórmulas diferentes basadas en cuatro ingredientes principales: turba, perlita, vermiculita y fibra de coco. En la formulación 1 las proporciones en masa

fueron 45:15:15:25; mientras que en la formulación 2 los ingredientes se colocaron en proporción de 57:21.5:21.5:0. La pasteurización del sustrato se realizó agregando agua hirviendo a la mezcla de sustrato y almacenando en recipiente hermético durante 24 h, para permitir su enfriamiento gradual. Antes de usarse, se drenó el exceso de agua.

Preparación de las charolas. Se utilizaron charolas de PET (tereftalato de polietileno) con dimensiones de (26 cm de largo, 18 cm de ancho y 7.5 cm de alto) las cuales se perforaron varias en la base con agujeros de aproximadamente 2 mm de diámetro para permitir el drenaje. Para su desinfección, previo a su uso, las charolas se rociaron con una solución de hipoclorito de sodio (5 ml de cloro comercial en 95 ml de agua destilada) dejando actuar durante 15 minutos. En cada charola se agregó sustrato suficiente para cubrir la base y se dejó gotear el agua excedente para a continuación colocar las semillas.

Tipo de siembra. Se evaluaron dos tipos de siembra, al voleo y en filas. En cada caso se aplicaron 4 gramos de semillas de chíá por charola, esparcidas de manera homogénea. También se practicaron diferentes profundidades, en la superficie y con profundidad tres veces su tamaño, en combinación con los tipos de siembra. Una vez sembradas las semillas, se hidrataron con 30 ml de agua purificada. Condiciones de crecimiento. Las charolas se mantuvieron a temperatura ambiente la obscuridad durante 2 días, al tercer día se pasaron a un invernadero y se expusieron a la luz.

Condiciones de riego. En todos los casos se utilizó agua purificada para regar las charolas sembradas. El agua fue espreada sobre la superficie del sustrato utilizando una botella con atomizador. Se probaron diferentes volúmenes (10-100 ml) y periodicidad (diariamente, cada tercer día, cada semana) del riego a lo largo del crecimiento de los microgreens.

Tiempo de cosecha. Se establecieron tres tiempos de cosecha para los microgreens de chíá los cuales fueron a los días 17, 19 y 21. Para poder determinar las mejores condiciones para la producción de microgreens de chíá se midieron como variables de respuesta el rendimiento en peso fresco, la altura del tallo y las dimensiones de las hojas cotiledonares.

RESULTADOS

La aplicación de desinfección con solución acuosa de hipoclorito de sodio, así como el proceso de imbibición en los tiempos probados, causaron la hidratación del mucílago, es decir se forma una capa viscosa alrededor de cada semilla, lo que ocasiona que las éstas se aglomeren. Una vez hidratadas las semillas, es complicado su manejo para la siembra, por lo que en lugar de poder colocarlas de forma individual sobre el sustrato, quedan conglomerados de ellas, reduciendo de forma importante su tasa de germinación y promoviendo el crecimiento de hongos microscópicos. Por lo que se tomó la determinación de hacer uso de solución etanólica al 70% para la desinfección; sin embargo la aplicación de estas condiciones para la desinfección causó una deshidratación excesiva de las semillas, lo que redujo el porcentaje de germinación.

A partir de aquí, se optó por realizar la siembra de las semillas de forma directa, sin un tratamiento previo de desinfección ni de imbibición.

Con respecto al sustrato, se considera la formulación 1 como un sustrato adecuado para la producción de microgreens de chíá, puesto que mantiene un contenido de humedad que permite la germinación de las semillas; asimismo, permite un buen drenaje a diferencia de la formulación 2, en la cual la excesiva acumulación de humedad promovió la contaminación de los cultivos por el crecimiento de hongos microscópicos.

Para los dos métodos evaluados en relación al tipo de siembra, el voleo con profundidad tres veces su tamaño generó un mayor índice de germinación en comparación con las combinaciones utilizadas, deduciendo así que la proximidad (no excesiva) entre las semillas mantiene la humedad adecuada que permite el crecimiento y una buena aireación.

En todos los casos las charolas sembradas con las semillas de chíá se mantuvieron en obscuridad durante los dos primeros días, para dar tiempo y condiciones al proceso de germinación; posteriormente se llevaron a un invernadero con iluminación natural (aproximadamente 12h de luz y 12h de obscuridad) y con temperaturas máximas de 24 a 33 °C.

Las condiciones de riego que resultaron en mejores condiciones de crecimiento de los microgreens de chíá se describen a continuación: 30 ml el día 0 (día de siembra); 40 ml los días 2 y 4; 50 ml diarios a partir del día 6 y hasta el día 9; 60 ml diarios a partir del día 10 y hasta la cosecha. En todos

los casos el volumen de agua indicado fue esparcido sobre la superficie del sustrato utilizando una botella con atomizador.

El tiempo óptimo de colecta se estableció por observación y medición del tamaño de las plántulas en la charola, así como el rendimiento en peso seco, siendo de 19 días a partir de la siembra, en donde los microgreens alcanzaron una altura promedio de 5.28 ± 0.27 cm en su parte aérea; las hojas cotiledonares lograron una extensión máxima promedio de 0.90 cm por 0.51 cm, y las hojas verdaderas recién aparecían. El peso fresco promedio de los microgreens recolectados a partir de una charola sembrada con 4 gramos de semilla fue de 25.12 ± 0.75 g, lo que representa un rendimiento en húmedo de 627.99 ± 18 %, y un rendimiento en seco de 37.03%. El porcentaje de rendimiento en seco en los microgreens cosechados el día 17 fue de 32.74%, mientras que para los recolectados el día 21 fueron menores, de 25.31%. La figura 1 muestra algunos pasos en el proceso de obtención de los microgreens de chia.



Figura 1. Pasos en el proceso de obtención de microgreens de chia. A) Semillas recién sembradas (día cero). B) Semillas iniciando la germinación (día 2). C) Plántulas con hojas cotiledonares extendidas (día 8). D) Microgreens de 19 días de crecimiento cosechados.

CONCLUSIONES

Se concluye que la chia es una semilla fácil de germinar, ya que solo requiere de la adición de una cantidad suficiente de humedad y condiciones de obscuridad para que inicie su proceso de germinación. En relación a la producción de microgreens, se requiere de un sustrato que de sustento y anclaje a las plántulas. Asimismo, es importante el aporte constante de humedad para el proceso de crecimiento. Futuros trabajos se realizarán sobre la composición química de estas microhortalizas de chia, para valorar su aporte nutricional y nutracéutico a la dieta humana.

BIBLIOGRAFÍAS

1. L. E. Farela-Lara, "Extracción y caracterización del mucílago de la semilla de Chan (*Salvia hispanica* L.) para la determinación de los parámetros de aplicación como aditivo espesante en función a la concentración en mermelada de fresa". Tesis de grado. Campus Central Guatemala de la Asunción, Guatemala, 2017.
2. N. Guiotto, "Aplicación de subproductos de chía (*Salvia hispanica* L.) y girasol (*Helianthus annuus* L.) en alimentos", Doctoral dissertation, Universidad Nacional de la Plata, Argentina, 2014.
3. Y. Jaramillo-Garcés, "La chía (*Salvia hispanica* L.), una fuente de nutrientes para el desarrollo de alimentos saludables", Doctoral dissertation, Corporación Universitaria Lasallista, Colombia, 2013.
4. X. López, A. G. Huerta, E. de la Cruz-Torrez, D. M. Sangerman-Jarquín, G. O. de Rosas, & M. R. Arriaga, "Chía (*Salvia hispanica* L.) situación actual y tendencias futuras* Chía (*Salvia hispanica* L.) current situation and future trends", Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, 8(7), 2017, pp.1619-1631.
5. J. A. Martínez-Campos. "Efectos de la germinación en las propiedades nutricionales, perfil de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de la Chía (*Salvia hispanica* L.)", Tesis de nivel Licenciatura. Universidad de Guadalajara. México, 2017.
6. S. A. Mir, M. A. Shah, & M. M. Mir, "Microgreens: Production, shelf life, and bioactive components", Critical reviews in food science and nutrition, 57(12), 2017, pp. 2730-2736.
7. N. Mohd-Ali, S. K. Yeap, W. Y. Ho, B. K. Beh, S. W. Tan, & S. G. Tan, "The promising future of chia, *Salvia hispanica* L.", BioMed Research International, 2012.
8. Rodríguez Quilón, G. Adam, & J. M. Durán, "Ensayos de germinación y análisis de viabilidad y vigor en semillas", Agricultura: Revista Agropecuaria, 78(912), 2008, pp. 836-842.
9. B. A. Sosa, G. Ruiz-Ibarra, R. R. Robles-de la Torre, G. Gordillo-Sobrino, M. Sharma, & X. Liu, "La chía mexicana (*Salvia hispanica* L.): su historia e importancia como cultivo mundial", IX Congreso Nacional de Agricultura Sostenible. R. Jarquin-Galvez y A. Huerta-de la Peña (Eds.). La agricultura sostenible como base para los agronegocios. Primera edición. SOMAS, 2017, pp. 1504-1555.
10. Suárez, & L. M. Melgarejo, "Biología y germinación de semillas", Experimentos en fisiología vegetal, 2010, pp. 13-249.
11. N. A. Tamilselvi y T. Arumugam, "Microgreens, un alimento multimineral y rico en nutrientes", Artículo técnico. A publication of the ISHS. Chronica Horticulturae. 58 (1), 2018, pp. 14-19.
12. J. M. P. Villamil, & F. P. García, "Germinación de semillas", Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 1998.
13. Z. Xiao, G. E. Lester, Y. Luo, & Q. Wang, "Assessment of vitamin and carotenoid concentrations of emerging food products: edible microgreens". Journal of agricultural and Food Chemistry, 60(31), 2012, pp. 7644-7651.
14. Z. Xiao, G. E. Lester, Y. Luo, Z. K. Xie, L. L. Yu, & Q. Wang, "Effect of light exposure on sensorial quality, concentrations of bioactive compounds and antioxidant capacity of radish microgreens during low temperature storage". Food chemistry, 151, 2014, pp. 472-479.

CALIDAD NUTRICIONAL DEL FRIJOL PINTO SALTILLO EN CONDICIONES DE FERTILIZACIÓN QUÍMICA Y ORGÁNICA

Cynthia Adriana Nava Berumen, Erika Cecilia Gamero Posada, Sonia Valdez Ortega, Ixchel Abby Ortiz Sánchez, Alondra Ibarra Ramírez

Tecnológico Nacional de México, campus Valle del Guadiana.
cadrianan@hotmail.com

RESUMEN

La calidad del grano de frijol está determinada por características químicas y físicas, relacionadas con el valor nutritivo, industrial y comercial del producto agrícola que puede ser utilizado para alimentación humana o animal. El objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad nutricional de frijol Pinto Saltillo utilizando fertilizantes orgánicos a base de *Azospirillum spp.* El cultivo se estableció en la región del Valle del Guadiana en Durango, México. Se evaluaron cuatro tratamientos, fertilización química (FQ) (40-60-00), *Azospirillum spp.* cepa 8 (AZ8) (1×10^6 UFC/mL), *Azospirillum spp.* cepa 8 combinado con fertilización química (AZ8Q) (1×10^6 UFC/mL + 20-30-00) y un testigo sin fertilización (SF). El análisis de la calidad nutricional incluyó el contenido de materia seca, humedad, cenizas, extracto etéreo y proteína cruda. Se utilizó un diseño completamente aleatorio con tres repeticiones y los datos se analizaron en el programa InfoStat mediante un análisis de varianza y la prueba de comparación de medias mediante la prueba de LSD Fisher con un nivel de significancia del 0.05. Se presentaron diferencias estadísticas significativas en dos de las variables evaluadas las cuales son cenizas y proteína cruda, en el resto de las variables evaluadas no se encontraron diferencias estadísticas. El contenido de materia seca fue mayor en el FQ (92.95 %) seguido del AZ8 (92.19 %), el porcentaje de materia seca más bajo lo obtuvo el AZ8Q (91.14 %). Por consiguiente el contenido de humedad más alto se presentó en el AZ8Q (8.86 %) y el más bajo en el FQ (7.05 %). En el contenido de cenizas el FQ presentó el mayor porcentaje (5.69 %) siendo estadísticamente igual al AZ8 (5.32 %) y el AZ8Q el de menor contenido de cenizas (4.19 %). El contenido de grasa se presentó en un rango de 0.82 % (SF) a 1.25 % (FQ). El contenido de proteína cruda fue mayor en el FQ (24.03 %) y en el AZ8Q (21.33 %) lo cuales son estadísticamente iguales y el porcentaje más bajo de proteína cruda fue en el AZ8 (15.27 %). El FQ fue el tratamiento que presentó los mejores resultados con respecto a los tres restantes, el contenido de Humedad fue menor y por lo tanto el resto de los nutrientes como cenizas, extracto etéreo y proteína resultaron más altos. Sin embargo en el caso de la proteína cruda que es de las variables más importantes para medir la calidad nutricional el AZ8Q fue estadísticamente igual a FQ. Los resultados permiten concluir que la tecnología de la inoculación de semillas con bacterias fijadoras de nitrógeno representa una alternativa económica y sustentable para disminuir el impacto negativo al medio ambiente por el uso excesivo de agroquímicos, sin comprometer la calidad nutricional del grano.

INTRODUCCIÓN

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es una de las especies más importantes, debido a su alto valor nutricional el cual está determinado por su alto contenido de proteína por lo que representa la principal fuente de proteínas de bajo costo en la dieta del hombre.

La aplicación de fertilizantes puede proveer nutrientes a las plantas con el fin de obtener altos rendimientos y mejorar la calidad nutricional de los cultivos, sin embargo la fertilización convencional o química incrementa los costos y puede ocasionar efectos ambientales negativos en los sistemas productivos. Por esta razón es necesario el uso de otras alternativas como la aplicación de fertilizantes orgánicos.

Los fertilizantes orgánicos son el material resultante de la descomposición natural de la materia orgánica por acción de los microorganismos presentes en el medio. Dentro de las bacterias asociativas más estudiadas se encuentran las pertenecientes al género *Azospirillum* el cual se ha convertido en el grupo más promisorio de diazótrofos.

Por tal motivo, el objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad nutricional de frijol Pinto Saltillo utilizando fertilizantes orgánicos a base de *Azospirillum spp.*

TEORÍA

El género *Phaseolus* se encuentra ampliamente distribuido en los diferentes climas presentes en México, estudios previos indican que este género se adapta mejor a climas subtropicales (López et al. 2005).

La calidad del grano de frijol es el conjunto de características químicas y físicas relacionadas con el valor nutritivo-sanitario, industrial y comercial del producto agrícola que puede ser dedicado para alimentación humana o animal (Mederos, 2006). Desde el punto de vista nutricional, el frijol es una fuente importante de factores nutricionales como son las proteínas, vitaminas, fibra y carbohidratos (Pérez-Herrera et al. 2002)

La calidad nutricia del grano de frijol está determinada principalmente por su alto contenido de proteína, esta leguminosa es una de las principales fuentes de este nutrimento para la población de escasos recursos; de ahí que constituye un alimento básico en la dieta de los latinoamericanos (Pérez, 2002). En estudios previos realizados en el estado de Durango, diferentes líneas y variedades mejoradas de frijol presentan contenidos de proteína de 20.5 a 25.1 % (Rosales et al. 2019). El contenido de proteína está influenciado por diversos factores, tales como la especie, la variedad, uso de fertilizantes y las condiciones ambientales registradas durante el cultivo (Singh et al. 2012)

En cuanto al uso de fertilizantes, la fertilización química demanda una inversión económica y genera un impacto ambiental negativo en los sistemas productivos, por esta razón es necesario el uso de fertilizantes orgánicos (Zuluaga et al. 2010), este tipo de fertilizantes mejora la disponibilidad de nutrientes en el suelo (Bolaños y Rodríguez, 2009) y el medio en que se establecen los microorganismos solubilizadores (Sattelmacher et al. 1991).

El frijol requiere fertilización nitrogenada y fosfatada, la cual causa pérdida de productividad del suelo, una solución para este problema es reducir y optimizar la dosis de este de fertilización con un inoculante mixto de bacterias promotoras de crecimiento vegetal (Aguirre, 2000).

Se han abierto nuevas posibilidades en cuanto a la aplicación de microorganismos benéficos del suelo, en la promoción del crecimiento de las plantas y control biológico de patógenos, dentro de las bacterias asociativas más estudiadas se encuentran las pertenecientes al género *Azospirillum*, la cual se ha convertido en el grupo más promisorio de diazotrofos (Baldani et al. 1997).

Las bacterias de este género son organismos fijadores de nitrógeno (N_2) que poseen una amplia distribución ecológica, ya que se han encontrado en zonas templadas, tropicales y subtropicales (Pazos, 2000; Velazco, 2001).

Dentro de los efectos que provocan las cepas de *Azospirillum*, se encuentra el aumento de peso seco total, contenido de nitrógeno de hojas, granos y brotes, floración y aparición temprana de la espiga, número de espigas y granos en estas, peso y tamaño del grano, altura de planta y tamaño de la hoja (Velazco, 2001; Pandey et al. 1998; Woodard y Bly, 2000).

PARTE EXPERIMENTAL

Se sembró la variedad de frijol Pinto Saltillo, en la región del Valle del Guadiana en Durango, México, específicamente en el Instituto Tecnológico del Valle del Guadiana ubicado en el Ejido Villa Montemorelos, km 22.5 carretera Durango-México. Se evaluaron cuatro tratamientos empleando un diseño en bloques al azar, con cuatro repeticiones cada uno, fertilización química (FQ) (40-60-00), *Azospirillum spp.* cepa 8 (AZ8) (1×10^6 UFC/mL), *Azospirillum spp.* cepa 8 combinado con una dosis intermedia de fertilización química (AZ8Q) (1×10^6 UFC/mL + 20-30-00) y un testigo sin fertilización (SF). La cepa A8 de *Azospirillum spp.* se aisló y se reprodujo en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal del Instituto Tecnológico, a partir de raíz de *Amaranthus hypocondriacus* en la etapa de "grano lechoso". Los inoculantes crecidos en caldo nutritivo por 5 días a 28 °C y luego separados y lavados por centrifugación, se diluyeron en 32 L de agua corriente, alcanzando una concentración de 4.3×10^{11} UFC/mL, medida por espectrofotometría de luz UV a 660 nm. Se realizaron 3 aplicaciones de los tratamientos de inoculación (AZ8 y AZ8Q), una al momento de la siembra y dos más a los 15 y 35 DDS (días después de la siembra). Las aplicaciones se realizaron con mochila directamente en el suelo justo sobre la siembra o tallo de las plantas, procurando dejar perfectamente empapado.

El tratamiento agronómico integral del cultivo, así como la aplicación del tratamiento FQ, se realizó conforme a la agenda agrícola Durango y La Laguna (INIFAP, SAGARPA y COFUPRO, 2017). El periodo de siembra fue del 16 de julio al 3 de diciembre de 2018, con una precipitación media anual de 520.5 mm (CONAGUA, 2020).

El análisis químico proximal para determinar la calidad nutricional del grano obtenido bajo los tratamientos experimentales, fueron realizados en el Laboratorio de Agroquímica del Tecnológico Nacional de México campus Valle del Guadiana, así como en el Laboratorio de Posgrado de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Juárez del Estado de Durango, en enero-julio 2019. Las muestras del grano de frijol fueron molidas en un molino Wiley® para obtener un tamaño de partícula de 1mm, la harina obtenida se utilizó para realizar el análisis de la calidad nutricia el cual incluyó el contenido de materia seca (MS) que se obtuvo a partir de una muestra sometida a una temperatura de 100 °C. La proporción (%) de proteína cruda (PC) se evaluó por el método Kjeldahl, el cual incluye la cuantificación del nitrógeno total y luego el valor obtenido se multiplicó por el factor 6.25. también se evaluó el contenido de cenizas y el extracto etéreo, todas las determinaciones de acuerdo a la AOAC (1990).

Se realizó un diseño completamente aleatorio con tres repeticiones y los datos se analizaron en el programa InfoStat mediante un análisis de varianza y la prueba de comparación de medias mediante la prueba de LSD Fisher con un nivel de significancia del 0.05.

RESULTADOS

Se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos (Cuadro 1) únicamente para la proteína cruda (PC). La materia seca fue mayor en el tratamiento FQ (92.95 %) y menor en AZ8Q (91.14 %) aunque estadísticamente fueron iguales. Para la humedad el mayor porcentaje se obtuvo en el tratamiento sin fertilización (SF) con 8.86 % y el menor fue en el tratamiento con fertilización química (FQ). El contenido de cenizas presento valores entre 4.19 % (AZ8Q) y 5.69 % (FQ), el extracto etéreo fluctuó de 0.82 % (SF) a 1.25 % (FQ). En cuanto al contenido de proteína cruda los tratamientos FQ y AZ8Q fueron estadísticamente iguales con valores de 24.03 y 21.33 %, respectivamente, mientras que AZ8 fue el tratamiento con el menor contenido de proteína cruda (15.27%).

El resultado del contenido de cenizas para el tratamiento FQ es mayor al reportado por Rosales et al. (2019) para la variedad Pinto Saltillo (4.1 %) sembrado en el estado de Durango pero con una dosis de fertilización química 35-50-00, en este trabajo el contenido de grasa fue mayor (1.6) y la proteína cruda fue menor (22.4 %). A pesar de que ambos trabajos se realizaron en el estado de Durango, las variaciones se pudieron deber a diversos factores tales como el tipo de suelo, la dosis de fertilización, y la época de aplicación (Singh et al. 2012).

El tratamiento AZ8Q no presento diferencias estadísticas significativas en el contenido de proteína lo que demuestra que la combinación de fertilizantes químicos y orgánicos representa una alternativa para garantizar los requerimientos nutricionales (Torres-Moya et al. 2016). Un inoculante mixto es un insumo biológico adecuado para agricultores que pretenden la optimización de la dosis de la fertilización nitrogenada y fosfatada sin riesgo de afectar el ciclo vegetativo del frijol, la calidad del grano y el rendimiento (Sánchez-Yañez et al. 2014)

Cuadro 1. Calidad nutricia de cuatro tratamientos de la variedad de frijol Pinto Saltillo cultivada en el Ejido Villa Montemorelos, Durango.

Tratamiento	Materia Seca	Humedad	Cenizas	Extracto etéreo	Proteína cruda
FQ	92.95	7.05	5.69 a	1.25	24.03 a
AZ8	92.19	7.81	5.32 a	1.21	15.27 b
AZ8Q	91.14	8.35	4.19 b	1.09	21.33 a
SF	91.65	8.86	5.09 ab	0.82	21.03 ab

FQ= fertilización química; AZ8= *Azospirillum spp* cepa 8; AZ8Q= *Azospirillum spp* cepa 8 combinado con fertilización química; SF= sin fertilización. ^{a-b}Literales diferentes en la misma columna representan diferencias significativas entre tratamientos.

CONCLUSIONES

Los resultados permiten concluir que la tecnología de la inoculación de semillas con bacterias fijadoras de nitrógeno representa una alternativa económica y sustentable para disminuir el impacto negativo al medio ambiente por el uso excesivo de agroquímicos, sin comprometer la calidad nutricional del grano.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aguirre, J. Biofertilizantes microbianos: antecedentes del programa y resultados de validación en México. In: Memorias de Simposio de Biofertilización. 1ª Ed; 2000.71-86. Disponible en: <http://www.ruratam.org.mx/Organizaciones/Cultivos/fertilizantes/Memorias.pdf>
2. AOAC, Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. 15th edition. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA, USA. 1990. 1285 p.
3. Baldani, J. I. et al. Recent advances in BNF with non-legume plants. *Soil-biol-biochem.*, 1997, vol. 29, no. (5/6), p. 911-922.
4. Bolaños, M. & Rodríguez, E. A. Fertilización integrada: química, orgánica y biofertilización en el desarrollo de plántulas de ají (cayenne y jalapeño). *Suelos Ecuatoriales*. 2009. 39 (1):66-71.
5. Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). Consultado en mayo 2020. Históricos 2018. (<https://smn.conagua.gob.mx/tools/DATA/Climatolog%C3%ADa/Pron%C3%B3stico%20clim%C3%A1tico/Temperatura%20y%20Lluvia/PREC/2018.pdf>)
6. Instituto Nacional De Investigaciones Forestales, Agrícolas Y Pecuarias (INIFAP), Secretaría De Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca Y Alimentación (SAGARPA), Coordinación De Fundaciones Produce (COFUPRO). (2017). Agenda Técnica Agrícola De Durango. Primera Edición. México.
7. López, S. J. L.; Ruiz, J. A. C.; Sánchez, J. J. y Lépiz, R. I. Adaptación climática de 25 especies de frijol silvestre (*Phaseolus* spp.) en la República Mexicana. *Rev. Fitotec. Mex.* 2005. 32(03):221-230.
8. Mederos, Y. Revisión bibliográfica. Indicadores de calidad en el grano de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Cultivos tropicales*. 2006. Vol. 27(3) 55-62.
9. Pandey, A.; Sharma, E.; y Palni, L. M. S. Influence of bacterial inoculation on maize in upland systems of the Sikkim Himalaya. *Soil Biol Biochem.* 1998. vol. 30, no. 3, p. 379-384.
10. Pazos, M. Aislamiento e identificación de cepas nativas, pertenecientes al género *Azospirillum* mediante técnicas moleculares. [Tesis de maestría]. Facultad de Biología. Universidad de La Habana. 2000, 50 h.
11. Pérez, P. et. al. Caracterización física, culinaria y nutricional de frijol del altiplano subhúmedo de México. *Arch Latinoamer Nutr.* 2002, vol. 52, no. 2.
12. Pérez-Herrera, P.; Esquivel, E. G.; Rosales, S. R. y Acosta-Gallegos, A. J. Caracterización física, culinaria y nutricional de frijol del altiplano subhúmedo de México. *Arch. Latinoam. Nutr.* 2002. 52(2):172-180.
13. Rosales-Serna R., Flores-Gallardo H., Nava-Berumen C.A., Sánchez-Ortiz I.A. Rendimiento y calidad de grano en líneas mejoradas de frijol cultivadas bajo riego en Durango, México. *Rev. Fitotec. Mex.* 2019. Vol 42(1) 39-46.
14. Sattelmacher, B.; Reinhard, S. & Pomikalko, A. Differences in mycorrhizal colonization of rye (*Secale cereale* L.) grown in conventional or organic (biological-dynamic) farming systems. *J. Agron. Crop Sci.* 1991. 167 (5):350-355.
15. Sanchez-Yañez JM, Barrientos RMG, Balderas LI, Dasgupta-Shuber N, Marquez-Benavides L. Respuesta de frijol al Endospor 33® a dosis 50 % de fertilizante nitrogenado/fosfatado en agricultura protegida. *Scientia Agropecuaria*. 2014. 5, 77-83.
16. Singh S, Kushwaha BP, Nag SK, Mishra AK, Singh A, Anele UY. In vitro ruminal fermentation, protein and carbohydrate fractionation, methane production and prediction of twelve commonly used Indian green forages. *Anim Feed Sci Technol.* 2012. 178(1-2):2-11.

17. Torres-Moya E, Ariza-Suárez D, Baena-Aristizabal D, Cortés-Gómez S, Becerra-Mutis L, Riaño-Hernández A. Efecto de la fertilización en el crecimiento y desarrollo del cultivo de la avena (*Avena Sativo*). *Pastos y Forrajes*. 2016. Vol 39(2). 102-110.
18. Velazco, A. Utilización de *Azospirillum brasilense* en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.) sobre un suelo Hidromórfico Gley de la provincia de Pinar del Río. [Tesis de doctorado]. Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente. Instituto de Ecología y Sistemática. Ciudad de La Habana. 2001, 101 h.
19. Woodard, H. J. y Bly, A. Maize growth and yield responses to seedinoculated N₂ - fixing bacteria under dryland production conditions. *Journal of Plant Nutrition*, 2000. Vol. 23, no. 1, p. 55-65.

CONCENTRACIÓN FOLIAR DE CA, MG Y S EN PLANTAS DE CHILE JALAPEÑO TRATADAS CON TALIO

María de la Luz María Buendía-Valverde¹, Libia I. Trejo-Téllez¹, Fernando C. Gómez-Merino¹, Tarsicio Corona-Torres¹, Serafín Cruz-Izquierdo¹, Rodrigo A. Mateos-Nava²

¹Colegio de Posgraduados Campus Montecillo. ²Facultad de Estudios Zaragoza, UNAM.
luzmaria_buendia@hotmail.com

RESUMEN

El talio (Tl) es un metal de transición considerado un contaminante ambiental. Se ha reportado que, en plantas superiores, este elemento afecta en forma negativa algunos procesos fisiológicos. En el presente trabajo se evaluaron los efectos del Tl (0, 0.006 y 0.012 μM adicionado en la solución nutritiva), en las concentraciones foliares de calcio (Ca), magnesio (Mg) y azufre (S) de plantas de chile Jalapeño. Para lo anterior, se obtuvieron plántulas sanas que fueron establecidas en bolsas con tezontle rojo como sustrato bajo condiciones de invernadero. Cada dosis de Tl evaluada tuvo seis repeticiones. Después de 80 días de tratamiento, cuando las plantas alcanzaron la madurez fisiológica, se cortaron, secaron y molieron, se realizó un análisis químico con el tejido foliar para determinar las concentraciones de Ca, Mg y S. Con los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza y a una prueba de comparación de medias (LSD, 0.05). Los resultados muestran que dosis de Tl de 6 y 12 nM reducen la concentración foliar de Ca en 8 y 10%, respectivamente, en comparación con el testigo. Así también, la concentración foliar de Mg disminuyó significativamente al aplicar 12 nM Tl respecto al testigo, dicho decremento fue del 12%. En la concentración foliar de S no se observaron efectos del Tl. Estos resultados permiten reconocer la necesidad de realizar más estudios que nos permitan entender el mecanismo específico por el cual el Tl interfiere en la absorción y transporte de nutrimentos en plantas superiores.

INTRODUCCIÓN

Los metales pesados son elementos que poseen una densidad superior a 5 g cm^{-3} , algunos de ellos como el Fe, Cu, Zn, Mo y Mn, son micronutrimentos para plantas superiores; es decir, tienen funciones esenciales en éstas. En contra parte, elementos metálicos pesados como el mercurio (Hg), cadmio (Cd), plomo (Pb), uranio (U) y talio (Tl) y metaloides como el arsénico (As) y antimonio (Sb), no tienen funciones en plantas superiores y son reportados como elementos de alta peligrosidad; es decir, que con concentraciones muy bajas pueden ser tóxicos e incluso letales, para animales, plantas y microorganismos (Hameed *et al.*, 2016).

De particular interés entre los metales de alta peligrosidad no esenciales es el Tl; es un metal de transición considerado un contaminante ambiental, aunque su uso es restringido a pequeñas cantidades en la industria, la quema de combustibles fósiles favorece su dispersión en el ambiente (Karbowska, 2016), es un elemento no esencial descubierto en 1861 por William Crookes, junto con el boro (B), aluminio (Al), galio (Ga) e indio (In) forman el grupo 13 de la tabla periódica, una característica de estos elementos es que todos poseen el estado de oxidación de +3, excepto del Tl e In quienes también presentan el estado +1 (WHO, 1996).

Entre las sus principales propiedades fisicoquímicas del Tl se reporta que este elemento es suave, maleable, de color gris metálico, con número atómico 81, masa atómica relativa de 204.38, densidad relativa de 11.85 g cm^{-3} , punto de fusión de $303 \text{ }^\circ\text{C}$, punto de ebullición de $1457 \text{ }^\circ\text{C}$, radio iónico de 1.50 \AA y puede encontrarse en dos estados de oxidación Tl^{1+} y Tl^{3+} como se mencionó anteriormente (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2013).

Después de medio siglo de su descubrimiento, el Tl era utilizado para combatir plagas de roedores, nematodos e insectos; sin embargo, conforme han transcurrido las décadas su uso se ha limitado a muy pequeñas cantidades, debido a que se reconoció que era altamente tóxico (EPA, 2009).

Cuando las plantas absorben metales no esenciales, se alteran actividades bioquímicas y fisiológicas, que repercuten en la inhibición de la fotosíntesis, el alargamiento celular, la respiración y el equilibrio nutricional de la planta (Tchounwou *et al.*, 2012).

Metales como el Tl poseen un electrón no apareado en su último orbital, lo que le permite aceptar o donar este electrón, el cual, si se une al O_2 , puede generar especies reactivas de oxígeno (ROS, por

sus siglas en inglés), este mecanismo ha sido caracterizado como uno de los principales efectos que provocan los metales (Hourri *et al.*, 2020).

Por otra parte, uno de los mecanismos que explica la acumulación de metales en las plantas fue propuesto por Clemens *et al.* (2002), el cual parte de la idea de que los iones metálicos disueltos y movilizados en la solución del suelo, son atraídos a través de diversos sistemas de absorción de la raíz, desde donde son transportados a los brotes por el xilema donde alcanzan el apoplasto de la hoja y donde son capturados por diferentes células foliares y movilizados a través de plasmodesmos, donde la absorción de las células de la hoja nuevamente es catalizada por varios transportadores y metalochaperonas quienes los distribuyen intracelularmente.

En plantas, el TI afecta procesos fisiológicos caracterizados por clorosis, reducción del crecimiento y desequilibrio nutrimental, sin embargo, los mecanismos de cómo afecta estos procesos aún se encuentran en estudio (Viraraghavan y Srinivasan, 2011).

El análisis foliar es una herramienta de diagnóstico que nos aporta información sobre la concentración mineral de las plantas como un indicador de su situación nutrimental, además, nos permite conocer que nutrimentos se han absorbido dentro de la planta y en qué cantidad, así como identificar deficiencias de nutrimentos para conocer los cambios que ocurren a nivel nutrimental (Alcántar *et al.*, 2016).

Se ha establecido que muchos metales no esenciales provocan desequilibrio nutrimental en plantas, sin embargo, el TI es un metal que se han estudiado muy poco en plantas superiores, y en consecuencia, la información disponible de sus efectos es limitada. Por lo anterior, la presente investigación tuvo la finalidad de analizar e identificar la respuesta que produce el TI, metal no esencial, en la concentración de los macronutrimentos Ca, Mg y S en plantas de chile Jalapeño establecidas en hidroponía.

PARTE EXPERIMENTAL

Se produjeron plántulas a partir de semillas híbridas de *Capsicum annuum* L. de la variedad Jalapeño “Emperador”, las cuales se establecieron dentro de un invernadero de estructura metálica y cubierta de polietileno.

El trasplante de plántulas de 60 d se realizó en bolsas negras de plástico de 7 L de capacidad con tezontle rojo como sustrato en un tamaño de partícula de 0.5 mm

Los tratamientos evaluados fueron 0, 6 y 12 nM TI suministrados en la solución nutritiva empleada durante el ciclo productivo. Cada tratamiento tuvo seis repeticiones, que consistieron en una bolsa con una planta de chile. Las réplicas se distribuyeron en el invernadero en un diseño completamente al azar.

Se estableció un sistema de riego por goteo el cual irrigó las plantas a partir del trasplante con solución nutritiva (Steiner, 1984), cuya composición de macronutrimentos es en mol₍₊₎ m⁻³: 12 NO₃⁻, 1 H₂PO₄⁻², 7 SO₄⁻², 7 K⁺, 9 Ca²⁺ y 4 Mg²⁺. Las fuentes de macronutrimentos utilizadas fueron Ca(NO₃)₂ 4H₂O, MgSO₄ 7H₂O, KH₂PO₄, K₂SO₄ y KNO₃, completada con micronutrimentos a partir de Tradecorp® AZ, aportando a la solución nutritiva en mg L⁻¹: 5 Fe, 2.33 Mn, 0.47 Zn, 0.19 Cu, 0.43 B y 0.17 Mo y ajustando el valor del pH a 5.5. A esta solución nutritiva se adicionaron los tratamientos de TI antes descritos.

Después de 80 días de tratamientos, cuando las plantas alcanzaron su madurez fisiológica, se realizó el corte de las plantas, se separaron hojas y tallos, las muestras se introdujeron en una estufa de aire forzado (Riossa modelo HCF-125D; Monterrey, N. L., México) durante 48 h a 72°C, después del secado, las muestras se molieron y se llevaron al laboratorio para realizar el análisis químico.

Se determinaron las concentraciones de Ca, Mg y S mediante la digestión ácida con HNO₃:HClO₄ (2:1, v:v), con el uso de un espectrofotómetro de inducción atómica por plasma acoplado (ICP-OES 725-ES; Agilent; Santa Clara, CA, USA).

Con los resultados obtenidos se realizó un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias con la prueba LSD ($P \leq 0.05$), usando el software SAS (SAS, 2011).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Alcantar *et al.* (2016), establecen que la deficiencia de Ca provoca inhibición de tejidos meristemáticos y hojas jóvenes provocando hojas deformes o cloróticas, y si la deficiencia es

prolongada se produce necrosis. En este estudio, las concentraciones foliares de Ca registradas en todos los tratamientos se encuentran dentro de los rangos de suficiencia reportados para *Capsicum annuum* (Cuadro 1), los cuales van de 10 a 25 g kg⁻¹ (Uchida, 2000). Por otra parte, se observó que el tratamiento con 6 y 12 nM TI reducen la concentración de Ca en 8 y 10%, respectivamente, en comparación con el testigo. Contrario a lo encontrado en nuestro estudio, se reportan incrementos en la concentración de Ca ante la exposición de metales como el Cd y Pb, probablemente como una respuesta de defensa para neutralizar la toxicidad (Khan y Khan 1983; Thévenod, 2009).

Cuadro 1. Concentraciones foliares de Ca, Mg y S en plantas de chile Jalapeño tratadas durante su ciclo de producción con TI adicionado a la solución nutritiva bajo condiciones de invernadero.

TI (nM)	Ca	Mg	S
	g kg ⁻¹ de materia seca		
0	23.70±0.38 a	13.25±0.37 a	1.44±0.01 a
6	21.81±0.63 b	13.18±0.34 a	1.54±0.05 a
12	21.32±0.39 b	11.69±0.13 b	1.52±0.04 a

Medias ± DE con letras distintas en cada columna, indican diferencias estadísticas entre tratamientos (LSD, $P \leq 0.05$).

Por otro lado, se ha reportado que la deficiencia en el contenido de Mg en plantas expuestas a Al y Cd provoca amarillamiento de hojas y necrosis posiblemente como resultado del daño en las membranas celulares y a la alteración de la fotosíntesis (Hameed *et al.*, 2016). Las concentraciones foliares de Mg obtenidas se encuentran también dentro de los rangos de suficiencia reportados por Marschner (2012) para plantas superiores (Cuadro 1); sin embargo, la concentración de Mg disminuye significativamente al aplicar 12 nM TI, reduciendo la concentración en 12% con respecto a su testigo, aunque esta aún es una concentración suficiente, es importante indicar que las deficiencias de Mg pueden desencadenar enfermedades en las plantas debido a su participación en diversas funciones fisiológicas, muchas involucradas en la defensa contra virus o patógenos (Huber y Jones, 2013). Además, la deficiencia de Mg provoca que las hojas presenten alteraciones como cambios de color (de amarillo a rojo), hojas duras y quebradizas que finalmente puede presentar senescencia (Rengel *et al.*, 2015; Alcántar *et al.*, 2016).

El S es macronutriente constituyente de biomoléculas como aminoácidos, cofactores y proteínas, su equilibrio es de vital importancia para todos los organismos (Calderwood y Kopriva, 2014). Las deficiencias de este nutriente se presentan primeramente en hojas jóvenes debido a que el S es poco móvil dentro de la planta, los síntomas que aparecen ante su insuficiencia son hojas verdes amarillentas (Alcántar *et al.*, 2016). En esta investigación, la concentración foliar de S no presenta diferencias significativas al aplicar 6 y 12 nM TI, respecto al testigo. Las concentraciones obtenidas se encuentran por encima del valor de referencia reportado por Azofeifa y Moreira (2008) que es de 0.39 g kg⁻¹ (Cuadro 1).

De acuerdo con Barcheló y Poschenrieder (1992), los metales no esenciales provocan inestabilidad de los elementos esenciales, provocando alteraciones en el balance y distribución de los nutrientes dentro de la planta, esto concuerda con los resultados encontrados en nuestro estudio. Cabe destacar que estos desequilibrios pueden presentar respuestas o modelos sinérgicos, antagónicos u homeostáticos de acuerdo al mecanismo de respuesta a nivel celular e intercelular en la planta.

CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos se establece que el TI provoca efectos diferenciales en las concentraciones foliares de los macronutrientes Ca, Mg y S en chile Jalapeño. Destaca que la concentración suministrada de TI se relaciona de manera negativa con las concentraciones foliares de Ca y Mg. Estos resultados permiten reconocer la necesidad de realizar más estudios que nos permitan entender el mecanismo específico por el cual el TI interfiere en la absorción y transporte de nutrientes en plantas superiores.

BIBLIOGRAFÍA

1. Steiner, "The universal nutrient solution", 6th international congress on soilless culture. Wageningen, The Netherlands. 1984, pp. 633-650.
2. Azofeifa, M. A. Moreira, "Absorción y distribución de nutrimentos en plantas de chile jalapeño (*Capsicum annuum* L. cv. hot) en Alajuela, Costa Rica", *Agronomía Costarricense* Vol. 32, 1, 2008, pp. 19-29.
3. Calderwood, S. Kopriva, "Hydrogen sulfide in plants: from dissipation of excess sulfur to signaling molecule", *Nitric Oxide*, Vol. 41, 2014, pp. 72-78.
4. Hameed, S. Rasool, M. M. Azooz, M. A. Hossain, M. A. Ahanger, P. Ahmad, "Heavy metal stress: plant responses and signaling", *In: Plant Metal Interaction*, 2016, pp. 557-583.
5. Karbowska, "Presence of thallium in the environment: sources of contaminations, distribution and monitoring methods". *Environ. Monit. Assess.* Vol. 188,11, 2016. pp. 1-19.
6. M. Huber, J. B. Jones, "The role of magnesium in plant disease", *Plant and Soil*, Vol. 368, 1-2, 2013, pp. 73-85.
7. EPA, "Toxicological review of thallium and compounds", Environmental Protection Agency. Washington, D. C. 2009.
8. F. Thévenod, "Cadmium and cellular signaling cascades: to be or not to be?", *Toxicology and Applied Pharmacology*, Vol. 238, 3, 2009, pp. 221-239.
9. G. Alcántar-González, L. I. Trejo-Téllez, F. C. Gómez-Merino, "Nutrición de cultivos", Segunda Edición. ISBN 978-607-715-324-5 Colegio de Postgraduados, Biblioteca Básica de Agricultura, 2016. 445 p.
10. J. Barceló, C. Poschenrieder, "Respuestas de las plantas a la contaminación por metales pesados", *Suelo y Planta* Vol. 2, 2, 1992, pp. 345-361.
11. J. J. Rodríguez-Mercado, M. A. Altamirano-Lozano, "Genetic toxicology of thallium: a review", *Drug Chem. Toxicol.* Vol. 36, 2013, pp. 369-383.
12. P. B. Tchounwou, C. G. Yedjou, A. K. Patlolla, D. J. Sutton, "Heavy metal toxicity and the environment" *In: Molecular, clinical and environmental toxicology*, Springer, Basel. 2012, pp. 133-164.
13. P. Marschner, "Marschner's mineral nutrition of higher plants", Third edition. Academic Press. USA. 2012, 649 p.
14. R. Uchida, "Recommended plant tissue nutrient levels for some vegetable, fruit, and ornamental foliage and flowering plants in Hawaii", *Plant Nutrient Management in Hawaii's Soils*. College of Tropical Agriculture and Human Resources, University of Hawaii at Manoa, 2000, pp. 57-64.
15. S. Clemens, M. G. Palmgren, U. Krämer, "A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation", *Trends Plant Sci.* Vol. 7, 7, 2002, pp. 309-315.
16. S. Khan, N. N. Khan, "Influence of lead and cadmium on the growth and nutrient concentration of tomato (*Lycopersicon esculentum*) and egg-plant (*Solanum melongena*)". *Plant and Soil*, Vol. 74, 3, 1983, pp. 387-394.
17. SAS Institute, "SAS/STAT Users Guide. Version 9.3", SAS Institute Inc., Cary, N. C., USA.
18. T. Houry, Y. Khairallah, A. Al Zahab, B. Osta, D. Romanos, G. Haddad, "Heavy metals accumulation effects on the photosynthetic performance of geophytes in Mediterranean reserve", *J. King Saud Univ. Sci.* Vol. 32, 1, 2020, pp. 874-880.
19. T. Viraraghavan, A. Srinivasan, "Thallium: environmental pollution and health effects", in *Encyclopedia of Environmental Health*, 2nd edition, Vol. 6, 2011, pp. 39-47
20. WHO, "Thallium", World Health Organization. International Programme on Chemical Safety (IPCS), Environmental Health Criteria 192, Ginebra. 1996.
21. Z. Rengel, J. Bose, Q. Chen, B. N. Tripathi, "Magnesium alleviates plant toxicity of aluminium and heavy metals". *Crop Pasture Sci.* Vol. 66,12, 2015, pp. 1298-1307.

EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE ALMIDONES DE TRES VARIEDADES DE CAMOTE (*IPOMOEA SPP.*) PARA SU UTILIZACIÓN EN LA ELABORACIÓN DE BIOPLÁSTICOS

Rafael Contreras Chavez¹, Ma. Guadalupe Garnica Romo ¹, Héctor Eduardo Martínez Flores¹, Juan de Dios Figueroa Cardenas² y Alfonso Topete Betancourt²

¹Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, ²CINVESTAV-QUERÉTARO.
rafa_rccqfb@outlook.com

RESUMEN

Los plásticos tradicionales se elaboran de polímeros derivados del petróleo, convirtiéndolos en residuos difíciles de eliminar, y un grave problema ambiental. Por lo anterior, es indispensable desarrollar materiales ecológicos y biopolímeros provenientes de recursos renovables como el almidón, el cual es un material abundante, económicamente competitivo y sus productos de degradación no son tóxicos. El almidón en su forma nativa presenta baja resistencia a esfuerzos al corte, descomposición térmica, alta retrogradación y sinéresis, los cuales limitan su aplicación industrial; tales limitaciones pueden superarse por modificación química y con la incorporación de fibras de refuerzo que mejoren sus propiedades plásticas. En la presente investigación se realizó la extracción y caracterización de tres almidones obtenidos a partir de tres variedades de camotes denominados como: blanco, morado y zanahorio. El almidón se extrajo por molienda húmeda y se determinó lo siguiente: composición química, fisicoquímica, propiedades físicas (colorimetría), propiedades funcionales (viscosidad, temperatura de gelatinización y retrogradación), morfología de los gránulos de almidón por microscopía electrónica de barrido (SEM), cristalinidad del almidón por difracción de rayos X (XRD), calorimetría diferencial de barrido (DSC) y espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR). El SEM mostró que los almidones de las tres variedades de camote presentaron gránulos con formas esféricas, ovaladas y algunos poligonales, con superficies lisas, planas y sin grietas evidentes con un tamaño similar. Se analizó la relación de absorbancias a $1047/1022\text{ cm}^{-1}$ para estimar la estructura ordenada a corto plazo del almidón, encontrando que gránulos del almidón de camote morado presentaron mayor orden estructural en comparación al blanco y zanahorio, lo cual tiene relación en lo descrito para DSC en donde presentaron las menores temperaturas de gelatinización ($63.99\text{ }^{\circ}\text{C}$) y el menor diferencial de entalpía de gelatinización (ΔH) (13.64 Jg^{-1}), lo que resulta en un menor requerimiento de energía para su desorganización o procesamiento. Con respecto al análisis rápido de viscosidad este almidón presentó las viscosidades pico más bajas (3364 Cp), lo cual, está relacionado con el mayor orden estructural observado en FTIR, en donde se requerirá un menor esfuerzo de corte y por lo tanto una menor viscosidad de las pastas para este almidón. Lo que ocasiona también un menor decaimiento en la etapa isotérmica (2011Cp) debido a que la estructura del almidón y de la amilopectina se encuentran más enredadas que en las otras dos variedades. Se recomienda el uso del almidón de camote morado como el indicado para el procesamiento ya que debido a sus propiedades funcionales requiere menor cantidad de energía para realizar la modificación química y a que su arreglo estructural permite mejor incorporación de los materiales plastificantes para la elaboración de biopelículas.

INTRODUCCIÓN

El uso del plástico se ha incrementado desde los inicios de su producción industrial en el siglo pasado, convirtiéndose en un material con alta popularidad y con aplicaciones diversas. Los plásticos tradicionales están elaborados a partir de polímeros provenientes del petróleo (Ruiloba *et al.*, 2019) que al no ser un recurso sostenible presenta desventajas como: alta resistencia a la corrosión, agua y descomposición bacteriana; lo que convierte a dichos plásticos en residuos difíciles de eliminar, y un grave problema ambiental (Valero *et al.*, 2013). Debido al incremento de tantos mercados y competencia en diversas áreas y productos como en las industrias de alimentos, se hace indispensable que las compañías investiguen materiales ecológicos y desarrollen biopolímeros de recursos renovables que puedan procesarse por las mismas tecnologías que los materiales termoplásticos convencionales (Elizondo *et al.*, 2011). Lo que convierte a estos recursos naturales en una interesante alternativa para la industria de los plásticos y el sector agrícola, considerándolos

como los materiales de la próxima generación (Camacho *et al.*, 2011; Valero *et al.*, 2013; Elizondo *et al.*, 2011) y con la contribución en la reducción de la acumulación desmedida de los polímeros tradicionales como polipropileno, polietileno, poliestireno, entre otros (Pech-Cohuo, 2018).

El desarrollo de materiales biodegradables a base de polímeros orgánicos se ha enfocado principalmente en el almidón el cual es un material abundante, económicamente competitivo con el petróleo y sus productos de degradación no son tóxicos (Zamudio-Flores *et al.*, 2015). El almidón representa un foco importante de oportunidad, uno de los mas grandes son los tubérculos y raíces como son la papa (*Solanum tuberosum*), yuca (*Maniho esculenta*), camote (*Ipomea batatas*), y ñame (*Dioscorea spp.*).

Las propiedades más importantes para utilizar el almidón en la elaboración de alimentos y otras aplicaciones industriales incluyen: la distribución de tamaño y morfología del gránulo (Velásquez-Barreto *et al.*, 2018), las fisicoquímicas: gelatinización y retrogradación; y las funcionales: solubilidad, hinchamiento, absorción de agua, sinéresis y comportamiento reológico de sus pastas y geles (Hernández-medina *et al.*, 2008; Sweedman *et al.*, 2013); cuando los almidones cumplen con las características deseadas se pueden utilizar directamente en el procesamiento de productos, y de no cumplir estas características se realiza algún tipo de modificación física o química para producir almidones con mejores propiedades funcionales y fisicoquímicas que los almidones en su forma nativa (Beninca *et al.*, 2013).

Por estas razones en la presente investigación se plantea el análisis de almidones de tres variedades de camote cultivadas en Michoacán para determinar que variedad presenta las mejores propiedades fisicoquímicas y funcionales para ser utilizada en la fabricación de biopelículas.

TEORÍA

Biopolímeros

Los biopolímeros son macromoléculas formadas por la unión covalente de pequeñas unidades moleculares llamadas meros, que son obtenidos por la polimerización de moléculas más pequeñas denominadas monómeros (ECOEMBES, 2009). Los biopolímeros se clasifican según su fuente en tres subgrupos (Valero *et al.*, 2013): I) Polímeros basados en recursos renovables (almidón y celulosa), II) Polímeros biodegradables basados en monómeros bioderivados (aceites vegetales y ácido láctico) (Tejada *et al.*, 2008), III) Biopolímeros sintetizados por microorganismos (polihidroxialcanoatos (PHA)) (Ortega & Bell, 2014). De manera general, los biopolímeros se utilizan en forma de películas. Sólo los biopolímeros de alto peso molecular suelen utilizarse debido a que proporcionan una gran fuerza de cohesión y capacidad de fusión. El grado de cohesión de la matriz del biopolímero afecta las propiedades como la densidad, compacidad, porosidad, permeabilidad, flexibilidad y fragilidad. Casi todos los biopolímeros naturales pueden ser utilizados para la preparación de películas (Elizondo *et al.*, 2011). Uno de los polisacáridos más importantes para este fin es el almidón, el cual a través de modificaciones con aditivos, es capaz de convertirse en un material termoplástico (Moreno-Bustillos *et al.*, 2017).

Bioplásticos

Los bioplásticos suelen ser manufacturados a partir de distintos componentes presentes en la mezcla polimérica de acuerdo a Enríquez *et al.* (2012), como: i) Materiales de relleno y refuerzo (celulosas, gomas, polímeros derivados de plantas y de animales): su función es dar consistencia o volumen a la mezcla, biodegradabilidad, elasticidad, rigidez, resistencia y otros. ii) Plastificantes (glicerol), que mejoran la flexibilidad del material mediante la reducción de las fuerzas intermoleculares. iii) Agentes acoplantes (grupos epóxicos y grupos de ácidos anhídridos), cuya función es servir como mediador de fases entre el almidón y algún copolímero. iv) Aditivos: estabilizantes contra rayos ultravioleta (UV), sustancias ininflamables, fungicidas, herbicidas, antioxidantes, fertilizantes, y estabilizantes. v) Agentes desestructurantes (urea): se agregan exclusivamente al almidón con el fin de “desbaratar” su estructura, mejorar su procesabilidad y su unión con otros polímeros.

Ipomea batatas

El camote (*Ipomea batatas*) es uno de los más significativos, versátiles e inexplorados cultivos para alimentos en el mundo, debido a que se adapta perfectamente a las condiciones marginales de suelo

y clima, es capaz de producir altos rendimientos sin fertilización y, pueden utilizarse tanto las raíces tuberosas como el follaje para alimentación humana y animal. Es una planta que comprende aproximadamente 500 especies. Producen raíces reservantes, de formas y colores diferentes de acuerdo con la variedad. Actualmente son desconocidas las potencialidades que tiene el camote para ser utilizado a nivel industrial y se posiciona favorablemente como alimento saludable o “funcional”, por su alto contenido de fibra dietética (3.1%), proteínas (2.3%), vitamina C (20-30mg/100g), potasio (200-300mg/100g), hierro (0.8mg/100g), calcio (11mg/100g) y compuestos antioxidantes, como ácidos fenólicos, antocianinas, tocoferoles y B-carotenos. Principalmente, es comercializado como producto en fresco y como fuente de harina y de almidón, de alto valor energético, lo que lo convierte como la principal opción para sustituir las harinas como la de papa y yuca. Se ha considerado una fuente amilácea con un gran potencial, dado que el contenido de amilosa puede variar entre 15-25%, convirtiéndolo en un material apto para la elaboración de bioplásticos en nuevas investigaciones (Arrieta, 2017).

Almidón

El almidón es una de las materias primas que ha recibido mucha atención para el desarrollo de empaques biodegradables estos materiales, gracias a que su capacidad de gelificar permite moldearlo y formar películas, además de ser un recurso económico, de alta disponibilidad en diversas partes del mundo (Enríquez *et al.* 2013). El almidón está constituido por dos polisacáridos: la amilosa y la amilopectina. La amilosa se encuentra en el área del núcleo amorfo de los gránulos de almidón. Es una molécula no soluble en agua, que puede formar micelas hidratadas por su capacidad para enlazar moléculas de agua por medio de puentes de hidrógeno y generar una estructura helicoidal, esta molécula es un polímero lineal de unidades de glucosa unidas por enlaces α (1-4), en el cual se pueden presentar algunos enlaces α (1-6). La amilopectina es una molécula más grande y contribuye a la organización cristalina de los gránulos de almidón nativo (Wang *et al.*, 2016). La amilopectina es un polímero ramificado de unidades de glucosa unidas por enlaces α (1-4) en un 94-96% y en un 4-6% por enlaces α (1-6). Dichas ramificaciones se encuentran localizadas aproximadamente a cada 15-25 unidades de glucosa. Es parcialmente soluble en agua caliente. La estructura de los gránulos de almidón se examina a múltiples escalas, desde el nivel nanométrico para la disposición de unidades de glucósilo en cadenas de glucano, pasando por la organización de cadenas externas de amilopectina en hélices dobles, laminillas cristalinas y amorfas, bloques y anillos de crecimiento, hasta intactos. Los gránulos en dimensiones micrométricas y la estructura a gran escala de los gránulos y los cambios que sufren durante el procesamiento que son determinantes de la funcionalidad del almidón (Wang *et al.*, 2016).

Biodegradación

El uso de los bioplásticos tiene como fin imitar el ciclo de vida de la biomasa conservando los recursos fósiles y produciendo agua y dióxido de carbono. Uno de los pasos más importantes en este ciclo es la biodegradación, el cual es un proceso donde el carbono se descompone en presencia de enzimas segregadas por organismos vivos y depende de la temperatura, humedad, presencia de oxígeno y tipo de microorganismos. El tipo de enlace químico es el que define en qué momento los microorganismos pueden degradar el material (Elizondo *et al.*, 2011). El término biodegradación en el campo de los polímeros hace referencia al ataque de microorganismos a estos materiales, proceso a través del cual se obtiene la desintegración del polímero en pequeños fragmentos debido a la ruptura de enlaces en su cadena principal. Los productos finales de este proceso metabólico son agua, dióxido de carbono, metano (biodegradación anaerobia) y materia orgánica (Camacho *et al.*, 2011; Valero *et al.*, 2013).

PARTE EXPERIMENTAL

Extracción y purificación del almidón

Los tubérculos de las variedades llamadas camote blanco, morado y zanahorio fueron obtenidos con productores del municipio de Charo en Michoacán. La extracción y purificación del almidón se realizó de por la técnica descrita por Jayakody *et al.* (2005) con algunas modificaciones de Ojeda (2008). Los tubérculos fueron lavados, limpiados, pelados, cortados y remojados en metabisulfito de potasio

(50 mg / L) por 1 h, se trituraron en dos ocasiones en licuadora en relación 1:1 con el solvente y el almidón en la suspensión; se separaron mediante filtración al vacío a través de una tela de manta y realizando lavados con agua destilada. El filtrado se dejó reposar por 24 h para eliminar el sobrenadante y suspender el precipitado en NaOH al 0.02% p/v para solubilizar proteínas hasta que la capa de sobrenadante no presentó color y turbidez. El sedimento final fue suspendido en agua desionizada y neutralizado con HCl 2N, se filtró al vacío con papel Whatman 4 y se lavó con agua desionizada. El almidón fue secado a 50 °C y tamizado hasta 100 µm (Guízar *et al.*, 2008), obteniéndose el polvo de almidón.

Análisis de propiedades funcionales: temperatura de gelatinización y análisis rápido de viscosidad
La temperatura de gelatinización se determinó por Calorimetría Diferencial de Barrido (CDB), usando un equipo DSC, a velocidad de calentamiento de 10 °C/min, y rampa de temperatura de 30 a 100 °C. Se pesaron en un crisol de aluminio de 40µL de capacidad 4 mg de almidón (b.s.) y se agregó agua destilada hasta obtener una suspensión con 60% de agua. Los crisoles fueron sellados herméticamente y mantenidos a temperatura ambiente durante una hora. La temperatura inicial (Ti), temperatura pico (Tp), temperatura final (Tf), la entalpía de gelatinización (ΔH) se obtuvieron del termograma resultante.

Para medir la viscosidad, se usó un instrumento Visco-Analyzer RVA 4500 para preparar las muestras y obtener su perfil de viscosidad aparente en función de la temperatura y el tiempo. Los almidones se acondicionaron a 24% de humedad y se introdujeron al equipo. El calentamiento se inició a 25 °C y se llevó a 93 °C, manteniéndose así por 7 min a esta temperatura; se enfrió a 50 °C por 1 min. La velocidad de calentamiento-enfriamiento fue de 2.5 °C min⁻¹ y la velocidad de rotación fue de 160 rpm.

Colorimetría

Se usó un medidor de color BYK-Gardner GmbH para evaluar las coordenadas de color L*, a* y b* a través de la prueba CIELAB 10°/D65. El índice de blancura (IB) se calculó con la siguiente ecuación (1):

$$IB = 100 - \sqrt{(100 - L)^2 + a^2 + b^2} \quad (\text{ecuación 1})$$

Microscopía electrónica de barrido (SEM)

La morfología de los almidones fueron examinadas por microscopía electrónica de barrido (SEM) por medio del microscopio JEOL® JXA - 8530F.

Difractómetro de rayos X

El sólido obtenido después del proceso de secado se analizó por medio del Difractómetro de rayos X RIGAKU modelo: Dmax2100, siguiendo el método de Bragg para polvos.

Espectrometría Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR)

Se utilizó un equipo FTIR (Vertex 70) utilizando una longitud de onda 400 – 4000 cm⁻¹ en el cual se colocaron pequeñas muestras de los extractos obtenidos.

Análisis estadístico

Los resultados se informan como los valores medios y las desviaciones estándar de al menos mediciones duplicadas. El análisis de varianza (ANOVA) (p <0.05) y comparación de medias de Tukey se realizaron utilizando el Programa de software estadístico JMP-6.

RESULTADOS

Almidones

En la Figura 1 se muestra que existió diferencia significativa (p<0.005) entre los porcentajes de almidón, siendo el camote blanco quien presentó el contenido más alto de almidón con el 18.7%. Los almidones tuvieron índices de blancura diferentes, siendo el almidón de camote blanco quien presentó el índice mayor con 67.96±0.19; los almidones morado y zanahorio presentaron 63.24±0.13

y 58.31 ± 0.33 , respectivamente. Estos valores son inferiores a los de López (2017) quien reporto 81.73; esta variación en los índices es debido posiblemente a trazas de pigmentos presentados en el almidón como son antocianinas y β -carotenos, que modifican la escala de colores y subcolores de los parámetros a^* y b^* .

En la Figura 2 se muestran las microfotografías de los gránulos de almidón y la Tabla 1 muestra sus respectivos tamaños promedio. Los tres diferentes almidones presentaron tamaño similar, sin embargo, los gránulos del morado y zanahorio presentaron tamaños de $13.6 \mu\text{m}$ y $12.9 \mu\text{m}$, respectivamente, no presentando diferencias significativas ($p < 0.005$) entre ellos, y si con respecto a los gránulos del blanco con $11.1 \mu\text{m}$. Los tres tipos de almidón presentaron gránulos esféricos, ovalados y algunos poligonales (tipo almeja) con superficies lisas, planas y sin grietas evidentes, estos resultados concuerdan con Hernández et al. (2008) quienes reportaron valores de diámetro de $12.41 \mu\text{m}$ para gránulos de camote con forma esférica, similares a los encontrados en nuestro estudio y dentro del intervalo de $2\text{-}72 \mu\text{m}$ para gránulos de camote presentado por Moorthy (2002). Los gránulos de almidón zanahorio (Figura 2, imagen E y F) presentaron la mayoría de las formas ovaladas y alargada, lo cual puede estar relacionado con la forma y estructura de la amilopectina presente en el gránulo tal como lo plantearon Jane et al. (1999) quienes mencionaron que los gránulos alargados tienen amilopectina con pocas ramificaciones, pero largas, y los gránulos pequeños y esféricos con mayor número de ramificaciones y cadenas cortas. El origen botánico determina el tamaño y forma de los gránulos, y estas diferencias repercuten en algunas propiedades fisicoquímicas, funcionales y nutricionales: los gránulos grandes pueden generar alta viscosidad de pasta y los pequeños mayor digestibilidad (Biliaderis, 1991; Casarrubias-Castillo et al., 2012).

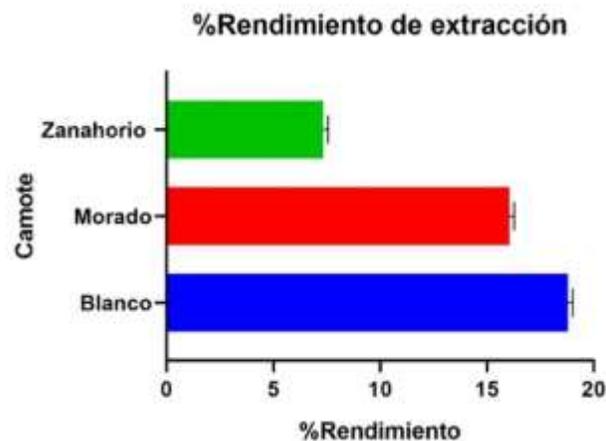


Figura 2. Rendimiento de extracción del almidón en porcentaje.

Tabla 1. Tamaño promedio de los gránulos de almidón de tres variedades de camote.

Camote	Tamaño medio en μm
Blanco	$11.12^B \pm 2.93$
Morado	$13.64^A \pm 2.83$
Zanahorio	$12.94^A \pm 2.41$

Los medias no conectadas por la misma letra son significativamente diferentes (Tukey $p < 0.05$). Resultados obtenidos de 30 repeticiones

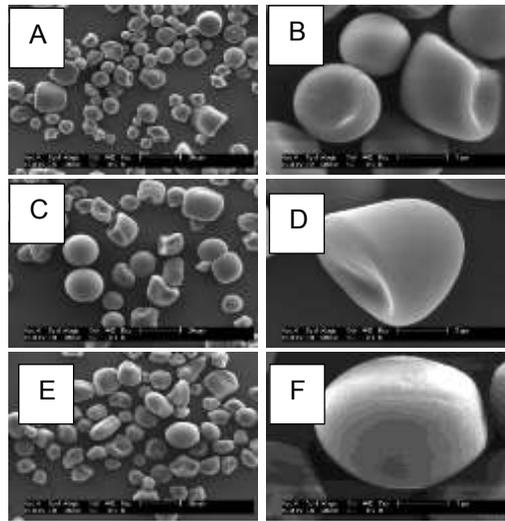


Figura 3. Microfotografías de los gránulos de los almidones de tres variedades de camote: camote blanco imagen A y B, camote morado imagen C y D, y camote zanahorio imagen E y F.

La Figura 3 (A) muestra el viscoamilograma de los almidones y en la Tabla 2 los valores de los principales picos. El almidón de camote morado presentó las viscosidades de pico más bajas con 3364 cp (Fig.3 B) comparado con el amidón de camote blanco y zanahorio quienes presentaron viscosidades similares; dicho comportamiento puede estar influenciado por el contenido de amilosa, a mayor contenido de amilosa existe un mayor esfuerzo de corte y una mayor viscosidad de la pasta; es posible también que factores como el contenido de fósforo, el tamaño y ramificación de las cadenas de amilosa y amilopectina pudieran haber influenciado este comportamiento (Nadia, 2014).

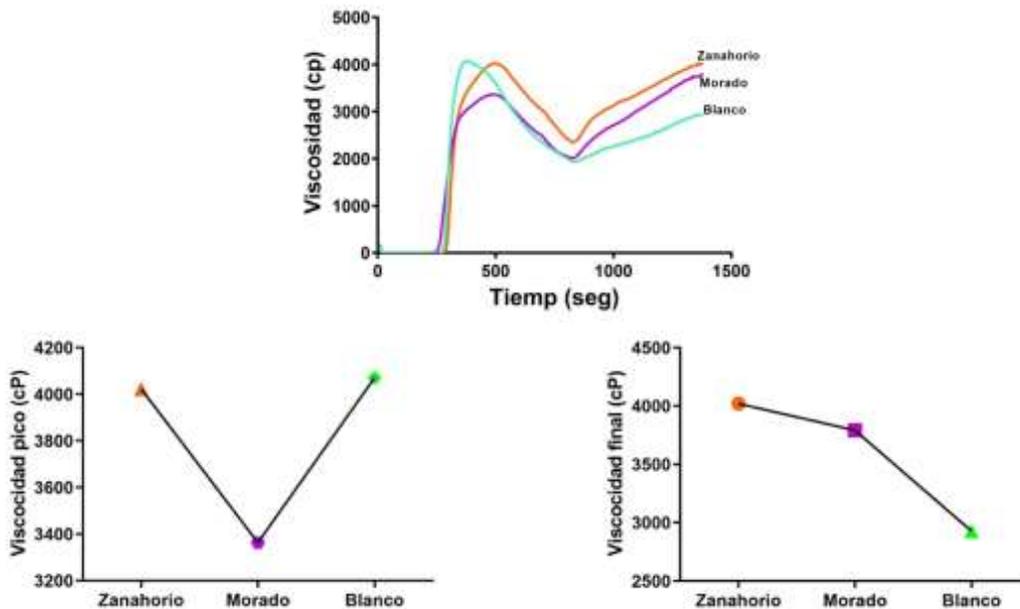


Figura 3. A) Viscoamilograma del almidón obtenido de tres variedades de camote B) Comparación de la viscosidad pico en Cp de almidón de tres variedades de camote C) Comparación de la viscosidad final en Cp de almidón de tres variedades de camote.

Tabla 2. Valores de los principales picos de viscosidad de almidón de tres variedades de camote.

Camote	Viscosidad pico (Cp)	Viscosidad en ruptura (Cp)	Viscosidad final (Cp)
Blanco	4071	1933	2929
Morado	3364	2011	3793
Zanahorio	4023	2359	4021

En la etapa isotérmica a la temperatura máxima (93 °C), la viscosidad de los almidones tuvo una gran disminución, un comportamiento característico del rompimiento de la estructura granular del almidón (Hernández-medina *et al.*, 2008), observándose que para los almidones de camotes zanahorio y blanco hay un decaimiento mayor debido a que la estructura del almidón y principalmente de la amilopectina se encuentra más enredada. Durante el enfriamiento existió reasociación de las moléculas disueltas durante el calentamiento. En el almidón de camote blanco se observó una reasociación menor comparada con los otros almidones debido a la producción de cadenas cortas durante este reordenamiento (Han & Hamaker, 2001), que ocasiona viscosidad inferior (Fig. 3 C). Todos los sistemas de almidón-agua mostraron la transición endotérmica DSC típica entre 59 y 75 °C (Tabla 3), con temperaturas de gelatinización bien definidas; T_o : temperatura de inicio, T_p : temperatura máxima, T_f : temperatura de conclusión, y ΔH : entalpía de gelatinización, obtenidas a partir del termograma DSC descrito en la Fig. 4. La temperatura de gelatinización (T_p) no mostró diferencia significativa entre el almidón nativo de los camotes zanahorio y blanco, pero sí ($p < 0.05$) entre estos últimos y el almidón de camote morado (Tabla 3). La transición endotérmica de los gránulos de almidón se propuso previamente para representar tanto la absorción de agua como el comportamiento de hinchamiento de los gránulos de almidón. El almidón de camote morado presentó el menor diferencial de entalpía de gelatinización (ΔH) significativamente diferente ($p < 0.05$) a los presentados por los almidones de camote zanahorio y blanco quienes presentaron valores mayores y similares, probablemente por la estructura más enredada y contenido de amilosa y amilopectina variados, lo que resulta en un requerimiento mayor energía para su desorganización.

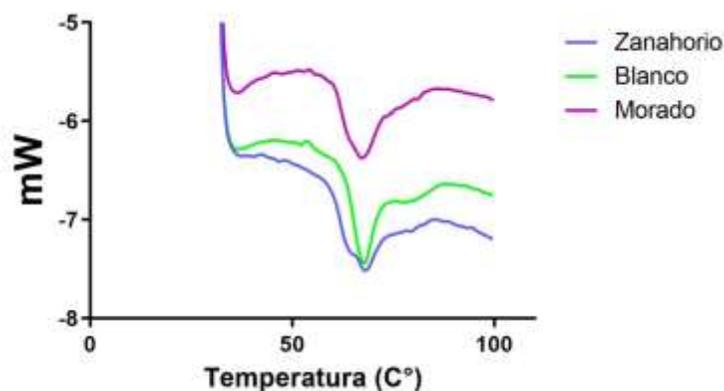


Figura 4. Termograma DSC de almidones de tres variedades de camote.

Tabla 3. Propiedades térmicas de almidones nativos de diferentes genotipos de camote.

Almidón	To °C	Tp °C	Tf °C	ΔH (Jg-1)
Zanahorio	63.82 ^A ±0.14	68.23 ^A ±0.09	74.66 ^A ±0.02	15.38 ^A ±0.43
Morado	59.69 ^B ±0.01	63.99 ^B ±0.25	70.00 ^B ±0.67	13.64 ^B ±0.02
Blanco	62.86 ^A ±0.79	67.72 ^A ±0.58	73.36 ^A ±0.14	15.15 ^A ±0.31

Los medias no conectadas por la misma letra, en la misma columna, son significativamente diferentes (Tukey $p < 0.05$). Resultados obtenidos de 2 repeticiones.

En todos los espectros de los almidones de camote (Fig. 5) se observaron picos característicos en la región de la huella dactilar. El comportamiento registrado fue similar en los tres almidones en las señales de absorbancia desde 400 hasta 4000 cm^{-1} (Tabla 4), donde se presentó un intervalo de absorción de una banda ancha y fuerte entre 3385 y 3423 cm^{-1} ; estas bandas corresponden a alargamientos de los grupos OH de los grupos hidroxilo libres enlazados intra e intermolecularmente presentes en las unidades de anhidroglucosa de la amilosa y la amilopectina (Guo *et al.*, 2014). Longitudes de onda entre 2850 - 3000 cm^{-1} , se asocian a la tensión CH de la unidad de anhidroglucosa de las moléculas de almidón (Xu *et al.*, 2004), indicando la presencia de grupos metilenos (CH_2) (Enríquez *et al.*, 2013), los cambios de intensidad en este rango pueden atribuirse a las variaciones en la cantidad de amilosa y amilopectina presentes en los almidones (Andrade *et al.*, 2012). Se observaron otros enlaces de absorción característicos entre 1639 cm^{-1} y 1645 cm^{-1} , correspondientes al agua estrechamente ligada (H_2O) en las moléculas del almidón, y entre 1158 cm^{-1} y 990 cm^{-1} , que se atribuyeron a la extensión del enlace CO (Khalili *et al.*, 2011). Los picos cercanos a 990 cm^{-1} se asocian al enlace CO de COC, y los picos alrededor de 1081 y 1158 cm^{-1} se atribuyen principalmente al anillo anhidroglucosa CO tramo de COH en almidón (Guo *et al.*, 2014). Las bandas 1158 y 1081 cm^{-1} se encuentran asociadas a las estructuras ordenadas del almidón, mientras que la banda a 990 cm^{-1} está asociada estructuras amorfas del almidón (Khatoon *et al.*, 2009; Sevenou *et al.*, 2002). El comportamiento observado para los espectros FT-IR evaluados coinciden con la identificación molecular de almidones nativos expuesta por Salcedo *et al.* (2017), en el cual, se analiza cualitativamente almidones de diferentes cultivares de batata, presentándose los picos más relevantes, en una franja comprendida entre 3, 900 y 1, 087 cm^{-1} , indicando la presencia de grupos OH, CH y CO. El orden molecular de corto alcance de las dobles hélices en el almidón o bien dicho de otra manera como una medida de la cantidad de estructura ordenada en el almidón (Wang *et al.*, 2016) puede caracterizarse por la relación de absorbancias a 1047/1022 cm^{-1} obtenidas de la espectroscopía FTIR de almidón. Para identificar las diferencias en el orden molecular de estas muestras de almidón, se obtuvieron los espectros FTIR deconvolucionados de almidón de tres variedades de camote en el rango de 1200–800 cm^{-1} . Las proporciones correspondientes de absorbancias a 1047/1022 cm^{-1} se muestran en la Fig. 6 y tabla 5, estas relaciones de intensidades indican que la estructura ordenada en gránulos de almidón fue mas alta en el almidón de camote morado y zanahorio mientras que mas baja en el blanco, lo cual al parecer y en relacion a la viscosidad demuestra que el almidón morado con un posible contenido mayor de amilosa tendría una viscosidad pico y de descomposición (en ruptura) máximas más bajas.

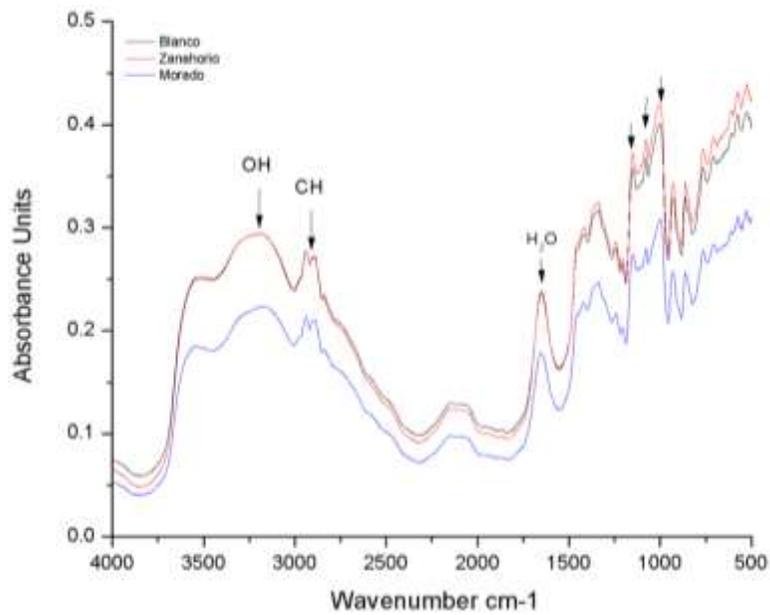


Figura 5. Espectroscopia de infrarrojo de tres variedades de almidón.

Tabla 4. Tipo de enlaces obtenidas de la espectroscopía FTIR de almidón de tres variedades de camote y sus numeros de onda

Wavenumbers (cm ⁻¹)	Type of bond
3385 - 3423 cm ⁻¹	Alargamiento O-H
2850 - 3000 cm ⁻¹	Alargamiento C-H
1639 - 1645 cm ⁻¹	Flexión O-H (agua)
1158 cm ⁻¹ y 990 cm ⁻¹	Alargamiento C-O

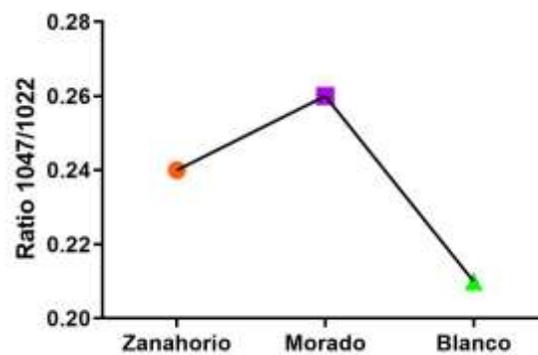


Figura 6. Relación de absorbancias a 1047/1022 cm⁻¹ obtenidas de la espectroscopía FTIR de almidón de tres variedades de camote

Tabla 5. Relación de absorbancias a 1047/1022 cm⁻¹ obtenidas de la espectroscopía FTIR de almidón de tres variedades de camote.

Muestra	Área de las Bandas			Ratio	
	995	1022	1045	1047/1022	1047/995
Zanahorio	1.81	3.63	0.86	0.24	0.48
Morado	1.28	2.35	0.62	0.26	0.48
Blanco	1.7	3.42	0.71	0.21	0.42

Difracción de rayos X

En la figura 7 se muestra el patrón de DRX correspondiente a los almidones nativos, los XRD presentaron picos alrededor de 15°, 17°, 20° y 30°, el cual es patrón correspondiente del tipo B, lo cual coincide con lo descrito por López (2017) quien también reporta el patrón tipo B para almidón de camote, característico de los almidones de tubérculos.

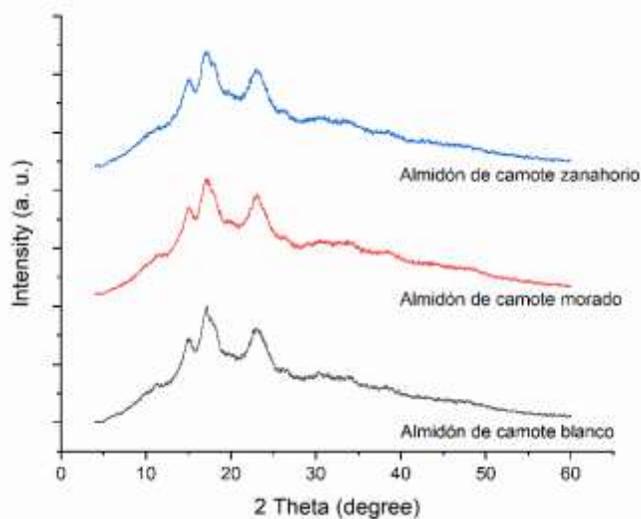


Figura 7. Difracción de rayos X de almidones de tres variedades de camote

CONCLUSIONES

La caracterización fisicoquímica y funcional de los almidones es una herramienta indispensable para determinar el uso industrial al que puede ser sometido este material. Debido a que estas características están relacionadas mayormente con la organización estructural del gránulo y con la fuente botánica, se logró determinar que el tamaño y morfología de los gránulos de almidón tienen efecto en la relación amilosa/amilopectina, propiedades reológicas y funcionales de las moléculas de almidón, lo cual, quedó evidenciado en las pruebas relacionadas con el estudio de la viscosidad y temperaturas de gelatinización. El almidón de camote morado presentó un tamaño con tendencia a la circularidad, presentó unas viscosidades pico, de rompimiento y finales más bajas (relacionadas con la retrogradación), observando una mayor estabilidad en el proceso de gelatinización para este almidón con una menor tendencia a la retrogradación; lo cual, también es indicativo de un menor contenido de amilosa en la estructura. Respecto al análisis por calorimetría diferencial de barrido este almidón mostró temperaturas del proceso de gelatinización (T_o , T_p , y T_f) y entalpía de gelatinización (ΔH) significativamente inferiores a los otros almidones, lo que resulta en un menor requerimiento de energía para su desorganización o procesamiento. Aspecto que también está relacionado con un menor contenido de amilosa. El análisis FTIR mostró picos y bandas correspondientes a los movimientos vibracionales de los principales enlaces del almidón, se analizó la relación de

absorbancias a $1047/1022\text{ cm}^{-1}$ para estimar la estructura ordenada a corto plazo del almidón, encontrando que los gránulos de camote morado presentan un mayor orden estructural en comparación de las otras variedades (blanco y zanahorio). La difracción de rayos X mostró un patrón característico del tipo B para almidones de tubérculos. Dicho lo anterior, los resultados obtenidos permiten concluir de manera preliminar, que la variedad de camote morado es la más recomendable para la elaboración de empaques biodegradables, debido al menor contenido de amilosa, a la menor viscosidad y temperaturas de gelatinización, pues esto indica que en su procesamiento térmico es necesario menor uso de energía para fundir y plastificar esta variedad de almidón y a que altas viscosidad impenden la concentración de soluciones de almidón.

BIBLIOGRAFÍA

1. Andrade-Mahecha, M. M., Tapia-Blácido, D. R., & Menegalli, F. C. (2012). Physical-chemical, thermal, and functional properties of achira (*Canna indica* L.) flour and starch from different geographical origin. *Starch/Staerke*, *64*(5), 348–358. <https://doi.org/10.1002/star.201100149>
2. Arrieta, L. (2017). *Caracterización de cuatro variedades de batata (ipomoea batatas lam), cultivadas en la costa caribe colombiana para su aplicación agroindustrial*.
3. Beninca, C., Colman, T. A. D., Lacerda, L. G., Filho, M. A. S. C., Bannach, G., & Schnitzler, E. (2013). The thermal, rheological and structural properties of cassava starch granules modified with hydrochloric acid at different temperatures. *Thermochimica Acta*, *552*, 65–69. <https://doi.org/10.1016/j.tca.2012.10.020>
4. Billaderis, C. G. (1991). The structure and interactions of starch with food constituents. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, *69*(1), 60–78. <https://doi.org/10.1139/y91-011>
5. Camacho, M., Vega, J., & Campos, A. (2011). Uso de nanomateriales en polímeros para la obtención de bioempaques en aplicaciones alimentarias. *Sociedad Química Perú*, *77* (4), 292–306.
6. Casarrubias-Castillo, M. G., Méndez-Montealvo, G., Rodríguez-Ambríz, S. L., Sánchez-Rivera, M. M., & Bello-Pérez, L. A. (2012). Diferencias estructurales y reológicas entre almidones de frutas y cereales. *Agrociencia*, *46*(5), 455–466.
7. Cruz, G., Ribotta, P., Ferrero, C., & Iturriaga, L. (2016). Physicochemical and rheological characterization of Andean tuber starches: Potato (*Solanum tuberosum* ssp. *Andigenum*), Oca (*Oxalis tuberosa* Molina) and Papalisa (*Ullucus tuberosus* Caldas). *Starch/Staerke*, *68*(11–12), 1084–1094. <https://doi.org/10.1002/star.201600103>
8. ECOEMBES. (2009). *Proyecto de Análisis de Bioplásticos*.
9. Elizondo, M. C., Baudrit, J. V., & Gallo, A. C. (2011). Uso de nanomateriales en polímeros para la obtención de bioempaques en aplicaciones alimentarias (artículo de divulgación). *use of nanomaterials in biopolymers for food packaging applications. (English)*, *77*(4), 292–306. Retrieved from <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=fua&AN=73442425&lang=es&site=ehost-live>
10. Enríquez, M., Velasco, R., & Ortiz, V. (2012). Composición y procesamiento de películas biodegradables basadas en almidón. *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial*, *10*(1), 182–192. Retrieved from <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v10n1/v10n1a21.pdf>
11. Enríquez C., M., Velasco M., R., & Fernandez Q., A. (2013). Caracterización de almidones de yuca nativos y modificados para la elaboración de empaques biodegradables. *Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, *11*, 21–30.
12. Guízar, A., Luís, J., Soto, M., & García, I. (2008). Parcial caracterización de nuevos almidones obtenidos del tubérculo de camote del cerro (*Dioscorea* spp). *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, *9*(1), 81–88.
13. Guo, J., Liu, L., Lian, X., Li, L., & Wu, H. (2014). The properties of different cultivars of Jinhai sweet potato starches in China. *International Journal of Biological Macromolecules*, *67*, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.03.002>

14. Han, X. Z., & Hamaker, B. R. (2001). Amylopectin fine structure and rice starch paste breakdown. *Journal of Cereal Science*, 34(3), 279–284. <https://doi.org/10.1006/jcrs.2001.0374>
15. Hernández-medina, M., Gabriel TORRUCO-UCO, J., Chel-guerrero, L., & Betancur-ancona, D. (2008). Caracterización fisicoquímica de almidones de tubérculos cultivados en Yucatán, México. *Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas*, 28(3), 718. Retrieved from <http://www.scielo.br/pdf/cta/v28n3/a31v28n3.pdf>
16. Jane, J., Chen, Y., Lee, L., McPherson, A., Wong, K., Radosavljevic, M., & Kasemsuwan, T. (1999). Effects of Amylopectin Branch Chain Length and Amylose Content on the Gelatinization and Pasting Properties of Starch. *Cereal Chemistry*, 76(5), 629–637.
17. Jayakody, L., Hoover, R., Liu, Q., & Weber, E. (2005). Studies on tuber and root starches. I. Structure and physicochemical properties of innala (*Solenostemon rotundifolius*) starches grown in Sri Lanka. *Food Research International*, 38(6), 615–629. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2004.11.015>
18. Jiménez-Villalba, K., Arrieta-Banquet, L., Salcedo-Mendoza, J., & Contreras-Lozano, K. (2019). Caracterización de harinas y almidones de batatas (*Ipomoea batatas* Lam.), de la costa caribe colombiana. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 22(1), 1–11. <https://doi.org/10.31910/rudca.v22.n1.2019.1185>
19. Khalili, C. I., Long, H., Jun, B., & Shi, J. (2011). Effects of acetic acid/acetic anhydride ratios on the properties of corn starch acetates. *Food Chemistry*, 126(4), 1662–1669. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.050>
20. Khatoun, S., Sreerama, Y. N., Raghavendra, D., Bhattacharya, S., & Bhat, K. K. (2009). Properties of enzyme modified corn, rice and tapioca starches. *Food Research International*, 42(10), 1426–1433. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.07.025>
21. López, R. (2017). *Caracterización fisicoquímica de almidón procedente de camote (ipomoea batatas), arracacha (arracacia xanthorrhiza Bancroft) y oca (Oxalis tuberosa)*. Universidad Nacional de Trujillo.
22. Moorthy, S. N. (2002). Physicochemical and functional properties of tropical tuber starches: A review. *Starch/Stärke*, Vol. 54, pp. 559–592. [https://doi.org/10.1002/1521-379X\(200212\)54:12<559::AID-STAR2222559>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/1521-379X(200212)54:12<559::AID-STAR2222559>3.0.CO;2-F)
23. Moreno Bustillos, A. I., Humarán Sarmiento, V., Báez Valdez, E. P., Báez Hernández, G. E., & León Villanueva, A. (2017). Transformación del almidón de papa, mucílago de nopal y sábila en bioplásticos como productos de valor agregado amigables con el ambiente. *Ra Ximhai*, 365–382. <https://doi.org/10.35197/rx.13.03.2017.21.am>
24. Nadia, L. (2014). Characterization of Physicochemical and Functional Properties of Starch from Five Yam (*Dioscorea Alata*) Cultivars in Indonesia. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 5(6), 489–496. <https://doi.org/10.7763/ijcea.2014.v5.434>
25. Ojeda Maechel, M. (2008). *Comparación de Algunas Propiedades Físicas y Composición Química del Almidón de Piñón (Araucaria araucana (Mol) K. Koch), Papa (Solanum tuberosum L. ssp. tuberosum Hawkes) y Maíz (Zea mays L.)*. Retrieved from <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2008/fao.39c/doc/fao.39c.pdf>
26. Ortega, G., & Bell, A. (2014). Separación, purificación y caracterización de poli-hidroxibutirato. *ICIDCA*, 48, 7–15.
27. Pech-Cohuo, S. (2018). *Obtención y Modificación de Nanocristales de Celulosa de Residuos de Agave Tequilana Weber para la Producción de Nanorefuerzos para Poli (ácido láctico)*.
28. Ruiloba, I., Li, M., Quintero, R., & Correa, J. (2018). Elaboración de bioplástico a partir de almidón de semillas de mango. *Revista de Iniciación Científica*, 4, 28–32. <https://doi.org/10.33412/rev-ric.v4.0.1815>
29. Salcedo Mendoza, J. G., Cervera Ricardo, M. A., & Restrepo Medina, C. A. (2017). Lintnerización de almidones nativos de yuca (*Manihot Esculenta* Crantz) y Ñame (*Dioscorea rotundata*). *Revista Vitae*, 2(2), 55–67. [https://doi.org/10.17533/udea.vitae.v24n2\(2\)a07](https://doi.org/10.17533/udea.vitae.v24n2(2)a07)
30. Sevenou, O., Hill, S. E., Farhat, I. A., & Mitchell, J. R. (2002). Organisation of the external region of the starch granule as determined by infrared spectroscopy. *International Journal of Biological Macromolecules*, 31(1–3), 79–85. [https://doi.org/10.1016/S0141-8130\(02\)00067-](https://doi.org/10.1016/S0141-8130(02)00067-)

3

31. Shevkani, K., Singh, N., Bajaj, R., & Kaur, A. (2017). Wheat starch production, structure, functionality and applications—a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 52(1), 38–58. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13266>
32. Sweedman, M. C., Tizzotti, M. J., Schäfer, C., & Gilbert, R. G. (2013). Structure and physicochemical properties of octenyl succinic anhydride modified starches: A review. *Carbohydrate Polymers*, 92(1), 905–920. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.09.040>
33. Tejada, L., Tejada, C., Villabona, A., Tarón, A., Barrios, R., & Tejada, L. (2008). Aprovechamiento del ñame espino (*dioscorea rotundata*) en la producción de bioplásticos. *Prospectiva*, 6, 68–74.
34. Valero, M. F., Ortigón, Y., & Uscategui, Y. (2013). Biopolímeros: avances y perspectivas. *Dyna*, 80(181), 171–180. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=49628728019>
35. Velásquez-Barreto, F., & Velezmoro, C. (2018). Rheological and viscoelastic properties of Andean tubers starches. *Scientia Agropecuaria*, 9(2), 189–197. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2018.02.03>
36. Wang, L., & White, P. (1994). Structure and physicochemical properties of starches from oats with different lipid contents. *Cereal Chemistry*, 71(5), 443–450.
37. Wang, S., Li, C., Zhang, X., Copeland, L., & Wang, S. (2016). Retrogradation enthalpy does not always reflect the retrogradation behavior of gelatinized starch. *Scientific Reports*, 6, 1–10. <https://doi.org/10.1038/srep20965>
38. Wang, S., Zhang, X., Wang, S., & Copeland, L. (2016). Changes of multi-scale structure during mimicked DSC heating reveal the nature of starch gelatinization. *Scientific Reports*, 6(June), 1–9. <https://doi.org/10.1038/srep28271>
39. Zamudio-Flores, P., Bello-Pérez, L., Vargas-Torres, A., Hernández-Uribe, J., & Romero-Bastida, C. (2007). Caracterización parcial de películas preparadas con almidón oxidado de plátano. *Agrociencia*, 41, 837–844.
40. Zamudio-Flores, P., Ochoa-Reyes, E., Ornelas-Paz, J., Tirado-Gallegos, J., Bello-Pérez, L., Rubio-Ríos, A., & Cárdenas-Félix, R. (2015). Physicochemical, mechanical, and structural features of oxidized oat and banana starch films enriched with betalains. *Agrociencia*, 49, 483–498.

MORFOMETRÍA DE FRUTOS Y SEMILLAS DE *PACHIRA AQUATICA* EN LA COMUNIDAD DE EL CAMARÓN, (VERACRUZ)

Erick Uriel Quezada Cabrera¹, María Teresa Núñez Cardona¹, Beatriz González Hidalgo¹, Raúl Venancio Díaz Godoy² y Juan Francisco Palacios Espinosa¹

Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco¹, Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares²
mtnunez@correo.xoc.uam.mx

RESUMEN

Pachira aquatica conocida comúnmente Zapote de agua, es una planta que se distribuye del sur de México hasta el Noreste de Brasil, crece especialmente en las zonas sometidas a inundaciones como humedales, márgenes de ríos, lagunas y manglares, su rápido crecimiento, alta tasa de germinación y tolerancia a diversos niveles de salinidad la hacen una especie apta para reforestar, además de que se le conocen distintas propiedades alimenticias y medicinales^{1,2}. El objetivo del presente estudio es caracterizar la morfometría de frutos y semillas, para el apoyo de estudios posteriores en el aprovechamiento de este recurso. La colecta del material vegetal se realizó en la comunidad del Camarón en Veracruz, durante la temporada de lluvias en el mes de noviembre del 2019. Los estudios de las variables morfométricas, de frutos como de semillas, se realizaron en cuatro árboles en el borde del río de los que se colectaron nueve frutos en buen estado considerando alto (cm), ancho (cm) y peso (g). Se encontró que los frutos, en promedio, poseen 26 cm de alto y 44 de ancho, contienen un mínimo de 21 y 52 semillas con un tamaño promedio de 4.47-5.11 cm de alto y ancho, respectivamente y un peso promedio de 30.37 g; cabe destacar que se localizó un ejemplar en la parte no inundada del humedal en el cual no se observó la presencia de fruto, se encontraron diferencias entre el número y peso de las semillas de los frutos, De acuerdo con la literatura, la presencia de fruto tiene que ver con la polinización, condiciones ambientales, nivel de madurez, lo cual también afecta las características morfométricas del fruto y semillas³, También se señala en la literatura que los frutos de *P. aquatica* con mayor peso fresco mejoran el rendimiento y la calidad fisiológica de la semilla⁴. Con base en los resultados, se puede decir que las características morfométricas de los frutos y semillas de *P. aquatica* se ven afectados por el lugar en donde crecer los árboles, y la presencia de agua es un factor condicionante para el buen desarrollo de estos y sus órganos.

INTRODUCCIÓN

La planta *Pachira aquatica* pertenece a la Familia Bombacaceae conocida comúnmente como apompo, zapote de agua, monguba, maní francés o castaño de Guayana, es una planta que se distribuye del sur de México hasta el Noreste de Brasil, crece especialmente en las zonas sometidas a inundaciones como humedales, márgenes de ríos, lagunas y manglares¹, Su rápido crecimiento, alta tasa de germinación y tolerancia a diversos niveles de salinidad la hacen una especie apta para reforestar², además que se le conocen distintas propiedades alimenticias ya que esta puede utilizarse como una alternativa para las dietas de humanos y animales, las semillas se consumen crudas o cocidas con un sabor similar al cacahuete o a frijol tostado, se pueden moler y prepararse como una bebida nutritiva muy parecida al chocolate, de aquí deriva el nombre de chocolate de monte como se le conoce en algunas poblaciones, también se le han reportado propiedades medicinales para el control de Diabetes mellitus y control renal, sin embargo de estos últimos falta estudios para su validación^{5,6}.

Existen estudios que plantean considerarla como una especie de manglar de marea alta y utilizar su distribución como límite de manglares, además de sugerir que debe de ser considerada y protegida por las leyes mexicanas como una especie más de los manglares² Como uso ornamental estas plantas son vendidas para decoración de ambientes internos y externos esto debido a su aspecto exótico y su flor que es llamativa, suele venderse con sus ramas trenzadas⁷. El objetivo del presente estudio es caracterizar la morfometría de frutos y semillas, para el apoyo de estudios posteriores en el aprovechamiento de este recurso.

TEORIA

Los árboles de *P. aquatica* presentan raíces adventicias que se van alargando y engrosando hasta que forman contrafuertes que llegan a tener una altura de 2 m, las hojas están compuestas de cinco a nueve foliolos (figura 1a), sus flores suelen estar solas o se encuentran de dos a tres (figura 1b), el fruto es subglobuloso y llega a medir hasta 30 cm de largo y 12 de diámetro llegando a tener un peso de 290 a 1226 g (figura 1c), el peso de las semillas puede alcanzar de 198 a 700 g (figura 1d), el resto lo comprenden las valvas del fruto. Cuando alcanza los 25 años de edad (en México) se ha reportado que su altura promedio es de 11 m y 9.2 de diámetro, sin embargo, pueden llegar a medir hasta 18 m (figura 1e). El árbol crece bien en suelos fértiles y a un nivel del mar de hasta 1300 m, con temperatura de 24 °C o superior a esta y con una precipitación anual de 1000 a 2000 mm/h^{1,2}.

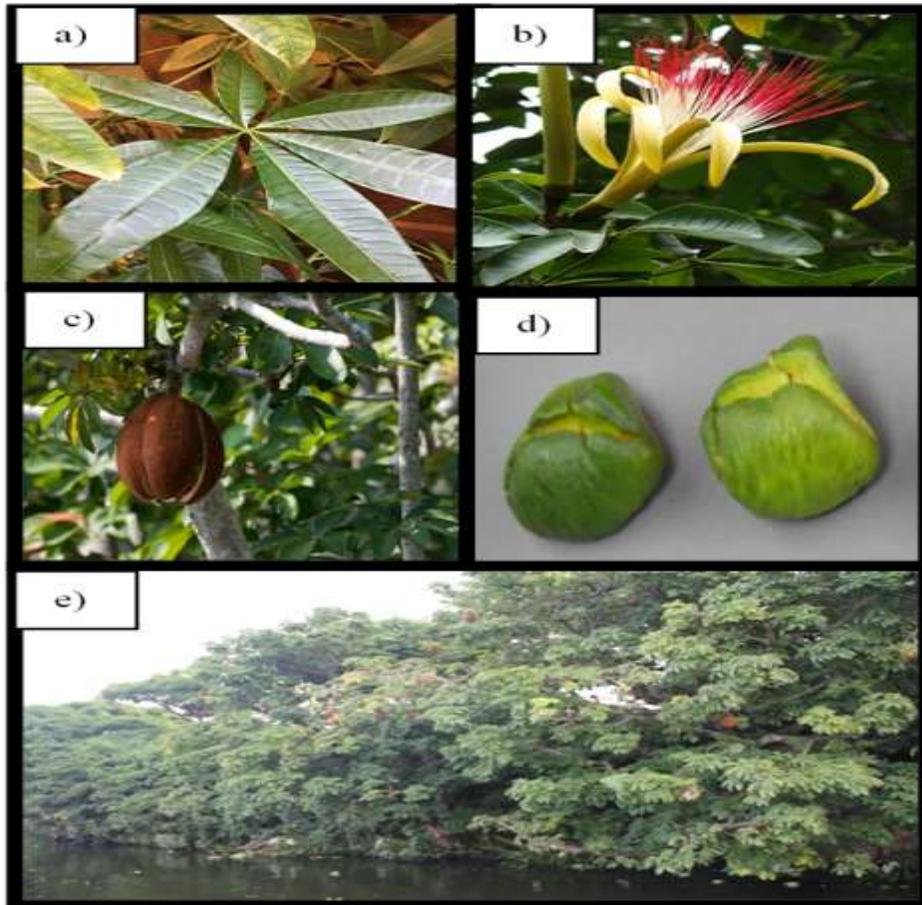


Figura 1. Órganos de *P. aquatica* a) Hojas, b) Flor, c) Fruto, d) Semilla y e) Árboles adultos. Fotos tomadas de naturalista, 2019.

PARTE EXPERIMENTAL

El Camarón (La Mixtequilla, Veracruz), es una población rural en el país, localizado en la planicie costera del Golfo de México, constituida por potreros ribereños y la transición del Río Blanco, llamado localmente como “Río Camarón”, con un clima cálido de 22.3°C a 26°C y un suelo donde predominan arcillas y limos con suelo de color gris oscuro y negro, esta población se dedica a la ganadería, agricultura y a la captura de jaibas, langostinos y acociles que en las últimas décadas ha disminuido su producción, debido a la presencia de industrias y la contaminación, ya que el agua del río Camarón

recibe aguas de desecho, tanto municipales como industriales y de poblados aledaños⁸. Las muestras fueron colectadas y procesadas como indica la figura 2.

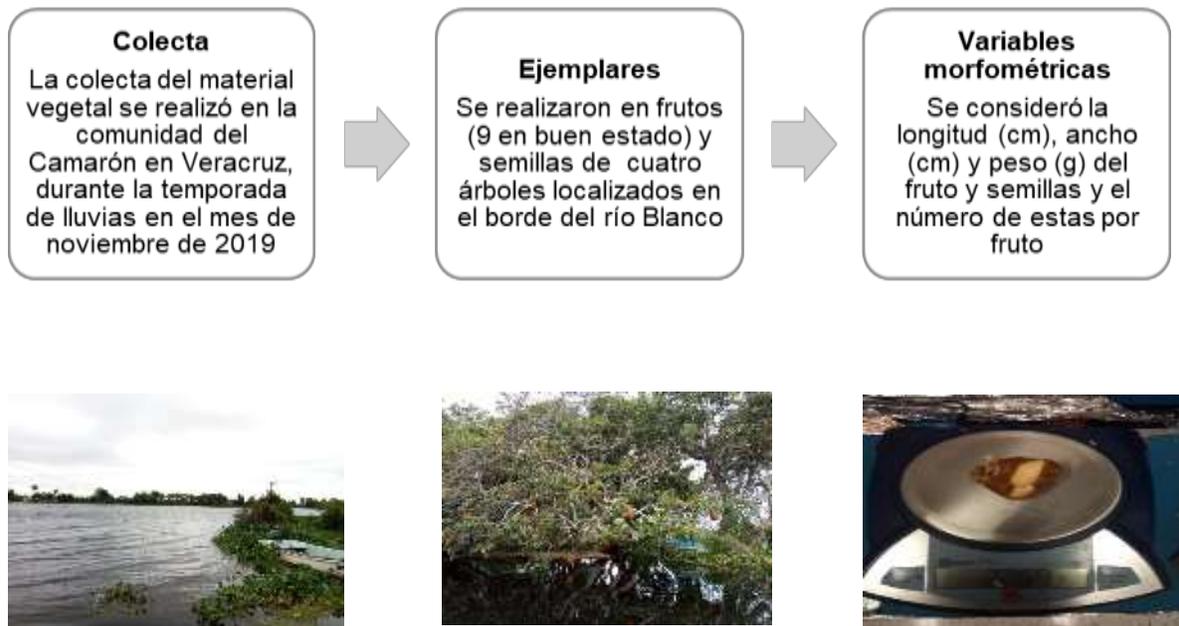


Figura 2. Colecta y procesamiento de las muestras (fruto y semillas) de *P. aquatica*.

RESULTADOS

Los datos de los promedios de cada uno de frutos y semillas se describen en la tabla 1 y 2 respectivamente. Se observó que los frutos, en promedio, miden 26 cm de alto y 44 de ancho, contienen de 21 a 52 semillas (por fruto) su tamaño promedio es de 4.47cm X 5.11 cm (alto y ancho, respectivamente) y el peso promedio de 30.37 g.

Cabe destacar que se localizó un ejemplar en la parte no inundada del humedal en el cual no se observó la presencia de fruto en la temporada de colecta; se encontraron diferencias entre el número y peso de las semillas de los frutos.

De acuerdo con la literatura, la presencia de fruto tiene que ver con la polinización, condiciones ambientales, nivel de madurez, lo cual también afecta las características morfométricas del fruto y semillas³, También se señala en la literatura que los frutos de *P. aquatica* con mayor peso fresco mejoran el rendimiento y la calidad fisiológica de la semilla.

Tabla 1. Promedio de las dimensiones del fruto de *P. aquatica*

Frutos			
Sitios	Nº de frutos	Alto (cm)	Ancho (cm)
Sitio 1	3	30	32
Sitio 2	1	21	42
Sitio 3	3	26	52
Sitio 4	2	26	43

Tabla 2. Dimensiones promedio de las semillas de *P. aquatica*

Semillas					
Sitios	N° de frutos	Promedio Semillas	Alto (cm)	Ancho (cm)	Peso (g)
Sitio 1	3	29	4	5	28
Sitio 2	1	18	4	5	28
Sitio 3	3	39	5	5	29
Sitio 4	2	32	4	5	28

CONCLUSIONES

Con base en los resultados, se puede decir que las características morfométricas de los frutos y semillas de *P. aquatica* se ven afectados por el lugar en donde crecer los árboles, y la presencia de agua es un factor condicionante para el buen desarrollo de esta especie y sus órganos, por lo que estudios previos también mencionan que se pueden mejorar las características de la semilla tomándolas de frutos con mayor peso fresco.

BIBLIOGRAFIA

1. D.P. Infante-Mata, C. Moreno-Casasola y C. Madero-Vega, "Litterfall of tropical forested wetlands of Veracruz in the coastal floodplains of the Gulf of Mexico" *Aqua Bot.*, Vol. 98, 1, 2012, pp. 1-11.
2. D.P. Infante-Mata, C. Moreno-Casasola y C. Madero-Vega, "¿*Pachira aquatica*, un indicador del límite del manglar?" *Rev Me de Bio*, Vol. 85, 1, 2014, pp. 143–160.
2. M. M. C. Espitia, H. A. Tatis, C. C. Ayala, "Parámetros genéticos de las características biométricas del fruto y semillas en *Pachira aquatica* Aubl." *Rev UDCA Actua & Divul Cien*, Vol. 21,1, 2018, pp. 33-42.
3. M. M. C. Espitia, H. A. Tatis, C. C. Ayala, "Correlations and path analysis between fruit characteristics and seeds of *Pachira aquatica* aubl" *Rev Fac Nac De Agro*, Vol. 71, 1, 2018, pp. 8387-8394.
4. J.C. J. Castro, N.R. Villa, S.A.R. Ramírez, G.C. Mosso. "Uso medicinal de plantas antidiabéticas en el legado etnobotánico oaxaqueño". *Rev Cub de Plan Med*. Vol. 19, 1, 2014, pp. 101-120.
5. M. Balick, J. Arvigo R. *Message from the Gods. A Guide to the Useful Plants of Belize*. Oxford University Press, Oxford. 2015, 519 p.
6. T.K. Lim, "*Pachira insignis*". In: *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants*. Springer, Dordrecht, 2012, 1088 p.
7. F. Rivera-Becerril, M. Signoret-Poillon, M.A. Ayala-Zermeno., P. Castilla-Hernández., J. García-Mena, T. Mier., M.T. Núñez-Cardona., N. Romero-Martínez, N. Sánchez-Santillán., N.C. Torres-Corona y J.A. Viccon-Pale. Algunos aspectos ambientales y biológicos de dos potreros inundables de La Mixtequilla, *ContactoS*, Vol. 70, 2008. pp. 31-39.

EFFECTO DEL SUMINISTRO DE MAGNESIO Y DE LA APLICACIÓN DE LANTANO EN ÁREA FOLIAR Y LECTURAS SPAD DE PLÁNTULAS DE TOMATE

Regina Martínez-Ortega¹, Beatriz Adriana Jiménez-González¹, Libia Fernanda Gómez-Trejo², Fernando C. Gómez-Merino³, Olga Tejeda-Sartorius³, Tsujmejy Gómez-Navor³, Libia I. Trejo-Téllez³

¹Universidad Autónoma Chapingo, Depto. de Suelos.

¹Universidad Autónoma Chapingo, Depto. de Parasitología Agrícola.

²Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo

tsuj_mar@hotmail.com

RESUMEN

Dentro de los elementos esenciales para plantas superiores se encuentra el magnesio (Mg), el cual es constituyente de la molécula de clorofila. Por otra parte, dentro de los elementos considerados benéficos se encuentra el lantano (La), capaz de inducir hormesis. La hormesis es un fenómeno de relación dosis-respuesta que se caracteriza por la estimulación de dosis bajas y la inhibición de dosis altas. En esta investigación se condujo un experimento factorial con dos factores de estudio: 1) Estatus de Mg (suficiente y deficiente) y 2) Concentración de La en la solución nutritiva (0, 15 y 30 mM) tomando como modelo al tomate (*Solanum lycopersicum*) var. El Cid en hidroponía. El estatus deficiente de Mg consistió en el suministro de solo el 50% de la concentración de este elemento propuesta en la solución nutritiva de Steiner, mientras que el suficiente fue al 100%. Cada uno de los seis tratamientos resultantes tuvo seis repeticiones. Después de 20 días de tratamiento se determinaron el área foliar con un integrador de área foliar (LI-COR, LI-3000A, EEUU) y las lecturas SPAD usando un medidor portátil (Minolta SPAD-502, Japón). Las lecturas SPAD son un indicador indirecto de la concentración de clorofila. Con los datos obtenidos se realizó análisis de varianza y prueba de comparación de medias (Tukey, 0.05). Los efectos principales del estatus de Mg y de la concentración de La fueron significativos en el área foliar. Plantas Mg suficientes tuvieron 24.4% más área foliar que plántulas Mg deficientes. Por otra parte, la dosis 30 mM La redujo el área foliar en 20.9%, respecto al valor medio registrado en plántulas sin tratamiento con La. Los efectos principales de los factores de estudio y su interacción no fueron significativos en las lecturas SPAD. Se concluye que el La y el Mg en las concentraciones y condiciones evaluadas no muestran efecto interactivo significativo en el área foliar y las lecturas SPAD de plántulas de tomate.

INTRODUCCIÓN

En plantas superiores se han definido 17 elementos químicos como indispensables, por tanto, son denominados elementos esenciales o nutrimentos. Entre éstos se encuentra el Mg, elemento que en plantas tiene entre sus funciones la de participar como elemento constitutivo en la molécula de clorofila, la de ser componente de los ribosomas y la de formar puentes entre los ácidos ribonucleicos que permiten la agregación de las subunidades ribosomales (Alcántar *et al.*, 2016). La deficiencia de Mg en plantas se observa en suelos ácidos con baja capacidad de intercambio catiónico, en regiones tropicales con alta precipitación que conduce a su lixiviación, toxicidad por aluminio, estrés por calor, y altos niveles de competencia con otros elementos iones como potasio, calcio, amonio y sodio. Por tanto, la deficiencia de magnesio produce raíces más cortas, vástagos cortos y hojas con manchas necróticas, debido principalmente a procesos fisiológicos anormales reflejados en el metabolismo deteriorado del carbono, la disminución de la clorofila y la fijación de carbono (Guo *et al.*, 2016).

Por otro lado, existe otro grupo de elementos denominados benéficos, que están emergiendo como noveles bioestimulantes que pueden incrementar la productividad y la calidad nutrimental al mismo tiempo que mejoran las respuestas a estímulos ambientales y estresores en algunas especies de plantas. Entre las respuestas atribuidas a elementos benéficos cuando se suministran a bajas concentraciones (efecto hormético) están la mejora en la absorción de nutrimentos, en la síntesis de antioxidantes y osmoprotectantes, la estimulación del metabolismo secundario y las cascadas de señalización, así como la reducción de la senescencia. Entre este grupo de elementos se encuentra el lantano (La) (Gómez-Merino y Trejo-Téllez, 2018).

En este contexto, este estudio tuvo como objetivo evaluar los efectos principales tanto de dos estatus de nutrición magnésica en plántulas de tomate y del suministro de tres dosis de La en la solución nutritiva, así como su efecto interactivo, en el área foliar y lecturas SPAD de plántulas de tomate var. Cid bajo condiciones de invernadero en cultivo hidropónico.

MATERIALES Y MÉTODOS

En esta investigación se condujo un experimento factorial con dos factores de estudio: 1) Estatus de Mg (suficiente y deficiente) y 2) Concentración de La en la solución nutritiva (0, 15 y 30 mM) tomando como modelo al tomate (*Solanum lycopersicum*) var. El Cid en un sistema hidropónico de raíz flotante. El estatus deficiente de Mg consistió en el suministro de solo el 50% (2 mol_c m⁻³) de la concentración de este elemento propuesta en la solución nutritiva de Steiner, mientras que el suficiente fue al 100% (4 mol_c m⁻³). El resto de los nutrimentos mantuvo igual concentración, teniéndose la composición química siguiente, exceptuando Mg, en mol_c m⁻³: 12 NO₃⁻, 1 H₂PO₄⁻, 7 SO₄²⁻, 7 K⁺ y 9 Ca²⁺ (Steiner, 1984). Los micronutrimentos se suplementaron de acuerdo con lo descrito por Baca-Castillo (1983) en las concentraciones siguientes en mg L⁻¹: 1.6 Mn, 0.11 Cu, 0.865 B y 0.023 Zn. El Fe se aplicó como quelato (Fe-EDTA) a una concentración de 5 mg L⁻¹, a partir de una solución concentrada (Steiner y Van Winden, 1970). El lantano fue suministrado a partir de LaCl₃ 7H₂O (Sigma Aldrich) El pH de las soluciones nutritivas fue mantenido durante el experimento a un valor de 5.5.

Cada uno de los seis tratamientos resultantes tuvo seis repeticiones. Después de 20 días de tratamiento se determinaron el área foliar con un integrador de área foliar (LI-COR, LI-3000A, EEUU) y las lecturas SPAD usando un medidor portátil (Minolta SPAD-502, Japón). Las lecturas SPAD son un indicador indirecto de la concentración de clorofila. Con los datos obtenidos se realizó análisis de varianza y prueba de comparación de medias (Tukey, 0.05) usando el software SAS (SAS, 2011).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 1 se presenta la significancia estadística de los efectos principales de los factores de estudio y de su interacción en las variables área foliar y lecturas SPAD. Posteriormente se analizan y discuten los efectos principales y de interacción de manera separada.

Cuadro 1. Significancia estadística de los factores de estudio y su interacción en el área foliar y lecturas SPAD de plántulas de tomate var. Cid.

Fuente de variación	Área foliar	Lecturas SPAD
Estatus de Mg (EMg)	0.0069 *	0.5985 ns
Concentración de La (CLa)	0.0488 *	0.9804 ns
EMg x CLa	0.6358 ns	0.8354 ns
Coefficiente de variación	22.51	15.91

*=Significativo al 5%; ns=no significativo al 5%.

Efecto principal del estatus de Mg

El estatus de Mg afectó significativamente el área foliar en tomate (Cuadro 1). Plántulas con suficiencia de Mg superaron en área foliar a las Mg-deficientes en 24.4% (Figura 1). Respuestas similares se observaron en trigo, donde la deficiencia de Mg no solo redujo la tasa de expansión de las láminas foliares sino también el carbono fotosintético ganado por unidad de área foliar (Tränkner *et al.*, 2016).

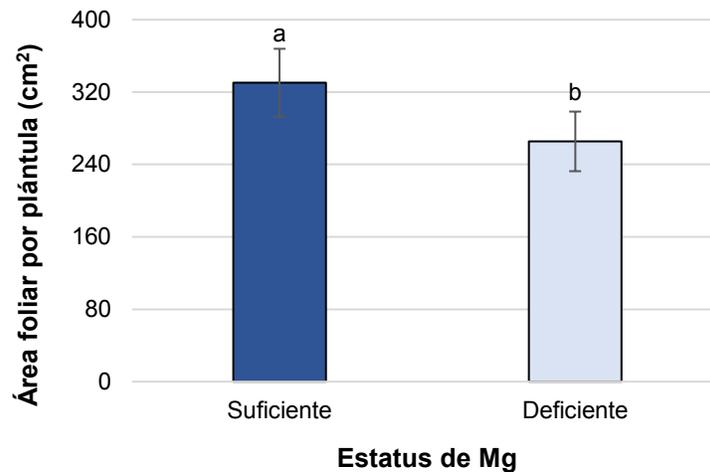


Figura 1. Área foliar de plántulas de tomate var. Cid con dos estatus de nutrición con magnesio. Medias \pm DE con letras distintas indican diferencias estadísticas (Tukey, 0.05).

Por otro lado, los valores adimensionales de las lecturas SPAD se relacionan de manera directa con la clorofila presente en la hoja (Alcántar *et al.*, 2016); sin embargo, el estatus de Mg no tuvo efectos en las lecturas SPAD, con valores de 49.5 y 48.1 para plantas suficientes y deficientes en Mg, respectivamente. Lo anterior puede ser explicado si se considera que, bajo condiciones de deficiencia, el 50% del Mg intracelular en una planta se encuentra unido a la clorofila; mientras que, este porcentaje se reduce hasta 6 y 25% cuando existe suficiencia de este elemento (Marschner, 2012). Por tanto, en este caso, la deficiencia de Mg del 50% no se refleja en las lecturas SPAD, indicador del estatus de clorofila.

Efecto de la concentración de La

Los efectos de La en el área foliar fueron significativos (Cuadro 1). Se observa que esta variable se relaciona de manera inversa con la dosis de La, donde el suministro de La en dosis de 15 y 30 mM redujo esta variable en 5.5 y 20.9%, en comparación con el testigo sin La (Figura 2). Contrario a lo aquí observado, en cuatro variedades de pimiento morrón (Sven, Sympathy, Yolo Wonder y Zidenka) en fase de plántula, el tratamiento durante 15 días con La a dosis 10 mM, no tuvo influencia en el área foliar. Asimismo, después de 30 días de tratamiento, solo en Sympathy se registró reducción significativa del área foliar de 18.6%; mientras que en Yolo Wonder se tuvo incremento de 17.3% en esta variable; en ambos casos, en comparación con el testigo sin La (García-Jiménez *et al.*, 2017). Del mismo modo, en dos variedades de tomate (4641 y Yufen109), se reportan diferentes respuestas de crecimiento a La (Xie *et al.*, 2014); por tanto, se asume que el La aún a bajas concentraciones tiene efectos diferenciales entre genotipos.

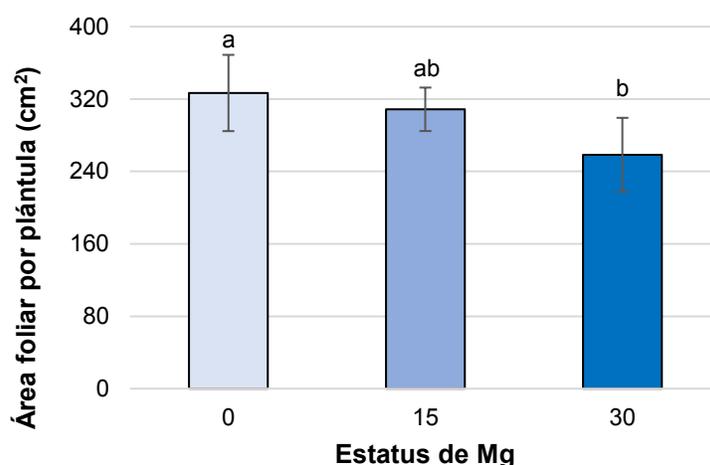


Figura 2. Área foliar de plántulas de tomate var. Cid tratadas con distintas dosis de lantano en la solución nutritiva. Medias ± DE con letras distintas indican diferencias estadísticas (Tukey, 0.05).

Las concentraciones de La estudiadas no afectaron el valor de las lecturas SPAD (indicador de clorofila) en tomate, presentando un valor medio de 48.8, en el testigo se tuvo un valor de 48.9. Por el contrario, en cuatro variedades de pimiento morrón se observaron incrementos en la concentración de clorofila, cuando se trataron con 10 mM La, respecto al testigo (García-Jiménez *et al.*, 2017). Asimismo, en tallos florales de 15 variedades de tulipán, se observó que el tratamiento con 40 mM La, resultó en concentraciones más altas de clorofilas en hojas al final de la vida de florero (Gómez-Merino *et al.*, 2020).

Efecto de la interacción de los factores de estudio

La interacción de los factores de estudio no tuvo efecto significativo en el área foliar y en las lecturas SPAD (Cuadro 1). A pesar de lo anterior, se observa de manera general que, tanto en suficiencia como en deficiencia de Mg, el La tiene un efecto negativo en el área foliar (Cuadro 2); sin embargo, las reducciones son dependientes del estatus de Mg. En plantas deficientes en Mg, la adición de La en las dos dosis evaluadas, redujeron en promedio el área foliar en 7.4%, en comparación con el tratamiento Mg-deficiente sin La. Mientras que, en plantas suficientes en Mg la reducción fue del orden de 17.6%, respecto al tratamiento con suficiencia de Mg y sin La.

Cuadro 2. Área foliar y lecturas SPAD de plántulas de tomate var. Cid en función del estatus de magnesio (EMg) y de la concentración de La en la solución nutritiva, así como por la interacción de estos factores de estudio.

Variable	Suficiencia de Mg			Deficiencia de Mg		
	0 mM La	15 mM La	30 mM La	0 mM La	15 mM La	30 mM La
Área foliar (cm²)	374.2±35a	332.3±23a	284.6±41a	279.2±35a	285.1±19a	232.2±39a
Lecturas SPAD	48.5±5a	50.1±1a	49.9±2a	49.3±5a	48.0±2a	47.1±5a

Medias ± DE con la misma letra por fila indican que no hay diferencias estadísticas significativas (Tukey, 0.05).

CONCLUSIONES

Se concluye que el tratamiento con La y la deficiencia de Mg reducen de manera significativa el área foliar. Asimismo, no se presentan efectos principales de los factores de estudio en las lecturas SPAD, ni de interacción en ambas variables. Sin embargo, las reducciones en área foliar causadas por el La son dependientes del estatus de Mg.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. Steiner. "The universal nutrient solution", *in*: ISOSC Proceedings 6th International Congress on Soilless Culture, The Netherlands. 1984. pp. 633-649.
2. García-Jiménez, F. C. Gómez-Merino, O. Tejeda-Sartorius, and L. I. Trejo-Téllez. "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.* 2017. 8: 308.
3. Steiner, and H. van Winden. "Recipe for ferric salts of ethylenediaminetetraacetic acid". *Plant Physiol.* 1970. 46: 862-863.
4. F. C. Gómez-Merino, and L. I. Trejo-Téllez. "The Role of Beneficial Elements in Triggering Adaptive Responses to Environmental Stressors and Improving Plant Performance". In: S. Vats (ed.). *Biotic and Abiotic Stress Tolerance in Plants*. Springer Nature. Singapore Pte. Ltd. 2018. pp. 167-172.
5. F. C. Gómez-Merino, M. Ramírez-Martínez, A. M. Castillo-González, and L. I. Trejo-Téllez. "Lanthanum Prolongs Vase Life of Cut Tulip Flowers by Increasing Water Consumption and Concentrations of Sugars, Proteins and Chlorophylls". *Sci. Rep.* 2020. 10: 4209.
6. G. A. Baca-Castillo. "Efecto de la solución nutritiva, la frecuencia de los riegos, el substrato y la densidad de siembra en cultivos hidropónicos al aire libre de pepino, melón y jitomate". Tesis de Doctorado. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. 1983.
7. G. Alcántar-González, L. I. Trejo-Téllez, F. C. Gómez-Merino. "Nutrición de Cultivos". Segunda Edición. Editorial Colegio de Postgraduados. 2016.
8. H. Marschner. "Marschner's mineral nutrition of higher plants". 3rd edition. Elsevier. 2012.
9. M. Tränkner, B. Jákli, E. Tavacol, C. M. Geilfus, I. Cakmak, K. Dittert, and M. Senbayram. "Magnesium deficiency decreases biomass water-use efficiency and increases leaf water-use efficiency and oxidative stress in barley plants". *Plant Soil.* 2016. 406: 409-423.
10. SAS. "SAS Institute Inc., SAS/STAT Users Guide". Version 9.3. SAS Institute Inc., Cary, N. C., USA. 2011.
11. W. Guo, H. Nazim, Z. Liang, and D. Yang. "Magnesium deficiency in plants: An urgent problem". *Crop J.* 2016. 4: 83-91.
12. W. Xie, S. Xiong, W. Xu, R. Chen, J. Zhang, and Z. Xiong. "Effect of exogenous lanthanum on accumulation of cadmium and its chemical form in tomatoes" *Wuhan Univ. J. Nat. Sci.* 2014. 19: 221-228.

PRODUCCIÓN DE *METARHIZIUM ANISOPLIAE* EN RESIDUOS DE POLIETILENO DE ALTA DENSIDAD

Andrea Lizeth Geronimo-Marquez¹, Lizbeth Guadalupe Rojas-Gutierrez¹, Nohemi Garcia-Ortiz², Alejandro Angel-Cuapio¹

¹ División de Ingeniería Química y Bioquímica, Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec,

² Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, Tecomán, Colima.

rafaelangel@tese.edu.mx

RESUMEN

El empleo de plaguicidas químicos no es la mejor estrategia para combatir una plaga agrícola debido a que está asociado a efectos negativos en el medio ambiente. En cambio, los conidios de hongos entomopatógenos son utilizados para los mismos fines sin ocasionar un impacto ambiental negativo, en ese sentido, el hongo *Metarhizium anisopliae* tiene un amplio rango de hospederos que puede controlar. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de las proporciones de arroz precocido (AP) y polietileno de alta densidad (PEAD) como texturizante sobre la producción de la cepa *Metarhizium anisopliae* CP-OAX en cultivo sobre soporte sólido. El estudio se realizó con la cepa *Metarhizium anisopliae* CP-OAX, se utilizaron reactores de columna de vidrio como unidades experimentales, se evaluaron las siguientes mezclas de arroz precocido (AP) y polietileno de alta densidad (PEAD) expresadas en porcentaje con un total de 10 g de materia sólida inicial (en peso seco) en cada reactor de columna, las proporciones fueron AP-PEAD (%): 100-0, 90-10, 80-20, 70-30, 50-50 y 0-100, se esterilizó a 121 °C durante 15 minutos. Se inoculó con 1 mL de una suspensión de conidios a una concentración de 1×10^7 conidios/mL y se ajustó la humedad inicial al 40%, se contaron los conidios por medio de una cámara de Neubauer y la producción de conidios se reportó como conidios por gramo de arroz seco inicial; C_r (conidios/gasi). Se encontró la mayor producción de conidios (4×10^8 conidios/gasi) en la mezcla AP-PEAD (%): 70-30, los niveles de producción fueron significativamente diferentes ($p < 0.05$), con un incremento de 2.7 veces en comparación con la mezcla AP-PEAD (%): 100-0 (1.45×10^8 conidios/gasi), para las mezclas AP-PEAD (%): 90-10, 80-20 y 50-50 no se encontró diferencia significativa ($p > 0.05$) entre las producciones obtenidas con un índice promedio de 2.8×10^8 conidios/gasi. La porosidad es un factor importante de considerar para mejorar las tasas de respiración y en consecuencia la optimización de la producción de conidios de hongos entomopatógenos en cultivo sobre soporte sólido.

INTRODUCCIÓN

El uso de insecticidas químicos para controlar poblaciones de insectos plaga en el sector agrícola ha traído efectos perjudiciales en la salud humana y en el medio ambiente, para disminuir esos inconvenientes se han reportado diversos trabajos de investigación relacionados con la aplicación y efectividad de hongos entomopatógenos como agentes de control biológico de insectos objetivo (Glare, 2004; Vega y col., 2012), los cuales no presentan ninguna consecuencia nociva en el ser humano y en el entorno ambiental (Zimmermann, 2007), tal es el caso de *Metarhizium anisopliae* uno de los hongos más utilizados a nivel industrial y del cual hay productos comercialmente disponibles (de Faria y Wraight, 2007), en su mayoría estos formulados llevan como ingrediente activo principal los conidios aéreos que son producidos en cultivo sobre soporte sólido con altos rendimientos (Miranda-Hernández y col., 2017; Méndez-González y col., 2018) y que suelen ser más resistentes a la desecación y radiación UV en comparación con las blastosporas obtenidas en cultivo líquido (Kim y col., 2011), cabe señalar que el empaquetamiento del sustrato en cultivo sobre soporte sólido es una desventaja por limitar la transferencia de oxígeno en los espacios interpartícula, situación que puede ser mejorada por la incorporación de un texturizante que evita la compactación del sustrato, favorece el intercambio gaseoso e incrementa la producción de conidios (Angel-Cuapio y col., 2015) teniendo en cuenta que se pueden utilizar residuos agroindustriales como agentes texturizantes tales como paja, desperdicios de algodón, aserrín, residuos de poda (ramas, troncos secos y pasto seco), bagazo de caña de azúcar, poliestireno y lirio acuático, entre otros (Kang y col., 2005; Nuñez-Gaona y col., 2010; Angel-Cuapio y col., 2015), particularidad que ha sido poco analizada en cultivo sobre soporte sólido. Además de evaluar la producción de conidios es importante

determinar variables de calidad e infectividad para garantizar la eficiencia de las células infectivas obtenidas, a fin de seleccionar cepas altamente infectivas para desarrollar procesos de producción masiva y diseño de formulados con aplicación en campo (Jackson y col., 2010; Tupe y col., 2017). Dicho lo anterior el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de las proporciones de arroz y polietileno de alta densidad como texturizante sobre la producción de la cepa *Metarhizium anisopliae* CP-OAX en cultivo sobre soporte sólido.

PARTE EXPERIMENTAL

Microorganismo, cultivo monoclonia y propagación. El estudio se realizó con el hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* CP-OAX perteneciente a la colección de hongos del Colegio de Posgraduados (COLPOS) (Texcoco, Estado de México). Esta cepa fue identificada por Tlecuil-Beristain *et al.*, (2010) como *Metarhizium anisopliae* var. *lepidiotum* mediante la amplificación de la región ribosomal usando los primers ITS5 y ITS4b, con número de acceso en el GenBank FJ876298. Se obtuvieron cultivos monoclonia inoculando por estría en cajas Petri de 90 x 15 mm con medio Avena (Tlecuil-Beristain *et al.*, 2010) cuya composición es la siguiente (g L⁻¹): harina de avena 33.3 (3 Minutos de Quaker, México), peptona de carne 10 (Bioxon, México) y agar bacteriológico 15 (Bioxon, México), los cultivos se incubaron durante 10 días a 28 °C. Subsecuentemente se realizó la reactivación de la cepa mediante la infección de larvas de *Tenebrio molitor*. Del insecto micosado se tomó una asada de conidios y se sembró nuevamente por estría en cajas de Petri con medio Avena, de este cultivo, colonias independientes se propagaron por estría en cajas Petri y matraces Erlenmeyer con 20 mL y 50 mL de medio, respectivamente. Los cultivos se incubaron durante 10 días a 28 °C, se realizó la conservación de la cepa mediante el método de agua desionizada estéril (López-Lastra *et al.*, 2002).

Condiciones de cultivo. Como unidades experimentales se utilizaron reactores de columna de vidrio de 2 cm de diámetro interno (\varnothing_i) y 20 cm de altura (L), se empacaron 10 g de materia sólida. Se utilizó arroz precocido (AP) como sustrato y polietileno de alta densidad (PEAD) como texturizante. El arroz y el polietileno se seleccionaron en tamices con un diámetro de poro de 3.36, 2.88, 2.37, 2, 1.19 y 0.80 mm (tamices del No. 6, 7, 8, 10, 16 y 20, respectivamente); para experimentos posteriores, se seleccionaron partículas con 2 mm de ancho (tamiz No 10). Se analizaron las siguientes mezclas de AP-PEAD expresadas en porcentaje AP-PEAD (% peso/peso): 100-0, 90-10, 80-20, 70-30 y 50-50 (Angel-Cuapio y col., 2015). Se esterilizó a 121 °C durante 15 minutos a 15 PSI y el medio se inoculó con una suspensión de conidios a una concentración de 1×10^7 conidios/mL, equivalente a 1×10^6 conidios por gramo de arroz seco inicial (conidios/gasi). Se ajustó la humedad inicial al 40% y todas las unidades experimentales se incubaron en un baño de agua a 28 °C durante 8 días.

Espacio interpartícula. Para evaluar la porosidad se utilizaron frascos de vidrio con las siguientes características: un volumen (v) de 80 mL, un diámetro interno (\varnothing_i) de 5 cm y una altura (L) de 4.7 cm, en donde se pesaron 10 gramos de materia sólida y se adicionó la cantidad de agua para obtener el 40% de humedad inicial en cada mezcla de AP-PEAD (por triplicado); cada frasco se aforó con aceite mineral (REASOL®) para determinar la fracción de porosidad (ε) que se calculó con la expresión descrita por Mitchell y col., (2006):

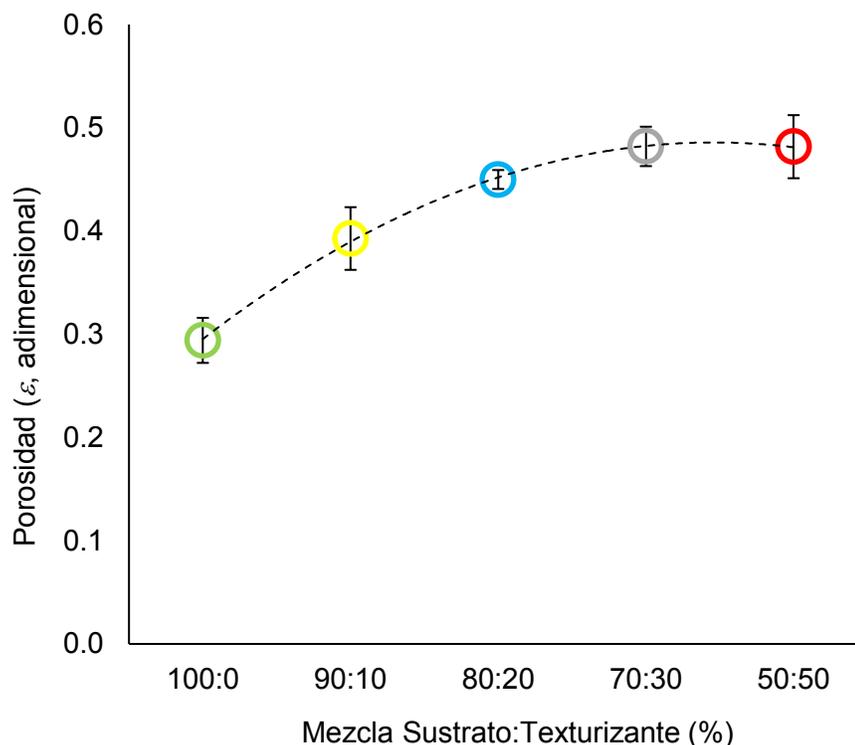
$$\varepsilon = \frac{(V_t - V_m)}{V_t}$$

Donde, ε es la fracción de la porosidad (adimensional), V_t es el volumen total (mL), es decir, es el volumen que ocupa la muestra e incluye el volumen de espacio vacío; V_m es el volumen ocupado solo por la muestra (mL); la diferencia entre V_t y V_m es el volumen vacío (mL). El volumen de espacio vacío se estimó por el volumen de aceite mineral necesario para cubrir la altura del lecho de empaque.

Producción de conidios. Se determinó la producción de conidios a 8 días de cultivo, se realizó el conteo de conidios por triplicado y cada columna se consideró una unidad experimental independiente, se realizó la extracción de los conidios utilizando la materia sólida contenida en cada columna y para cada mezcla de AP-PEAD, la cual se transfirió a un vaso de precipitados con ayuda de una espátula, los conidios se cosecharon adicionando un volumen de una solución de Tween 80 (0.05 %) (Amresco, Ohio, USA), se agitó durante 10 min con un agitador magnético a 350 rpm. Después de agitar, se filtró con una gasa estéril de 10 x 10 cm para eliminar los sólidos y así obtener una suspensión de conidios (Angel-Cuapio y col., 2015), se contaron los conidios por medio de una cámara de Neubauer (Marienfeld, Germany), con un microscopio (BOECO) y un objetivo 40X. La producción de conidios (C_r) se reportó como conidios por gramo de arroz seco inicial (conidios/gasi).

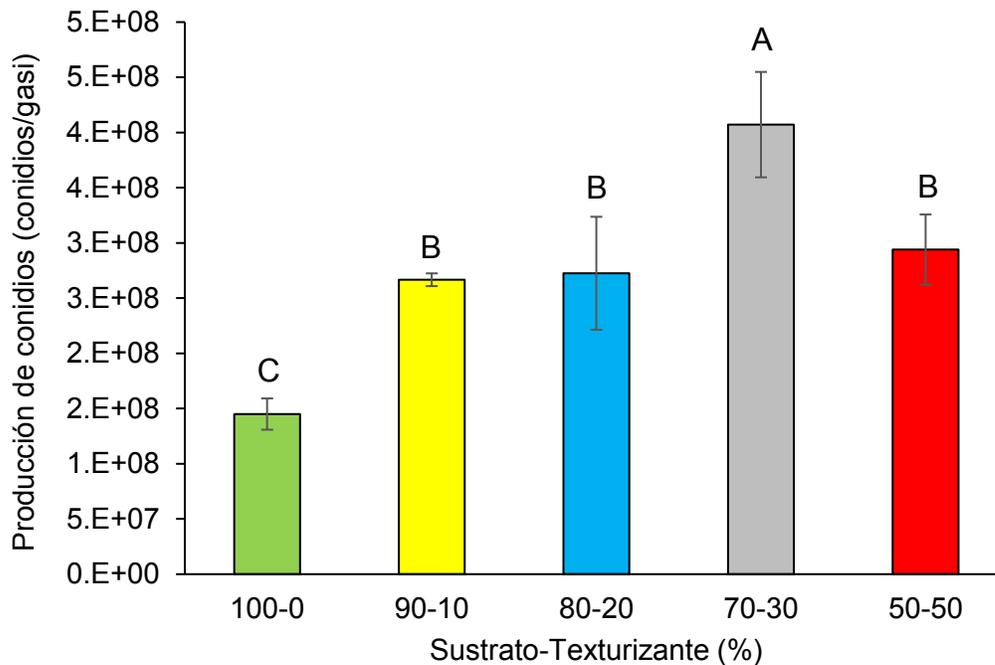
RESULTADOS

La incorporación del polietileno de alta densidad (PEAD) en mezclas con arroz precocido incrementó significativamente ($p < 0.05$) la porosidad (ϵ) en el lecho de empaque, el perfil que se muestra en la Gráfica 1 tiene una correlación polinómica de segundo orden cuya ecuación y coeficiente de correlación fueron, $Y = -0.0159 \cdot X^2 + 0.142 \cdot X + 0.1692$; $R^2 = 0.9993$, respectivamente.



Gráfica 1. Porosidad (círculos) en mezclas de arroz precocido-polietileno de alta densidad (PEAD). La correlación polinómica de segundo orden se indica como línea punteada.

La producción de conidios a 8 días de cultivo de muestra en la Gráfica 2, se encontró la mayor producción de conidios (4×10^8 conidios/gasi) en la mezcla AP-PEAD (%): 70-30, los niveles de producción fueron significativamente diferentes ($p < 0.05$), con un incremento de 2.7 veces en comparación con la mezcla AP-PEAD (%): 100-0 (1.45×10^8 conidios/gasi), además, para las mezclas AP-PEAD (%): 90-10, 80-20 y 50-50 no se encontró diferencia significativa ($p > 0.05$) en las producciones obtenidas con un índice promedio de 2.8×10^8 conidios/gasi.



Gráfica 2. Producción de conidios de la cepa *Metarhizium anisopliae* CP-OAX en mezclas de arroz precocido (AP) y polietileno de alta densidad (PEAD) a 8 días de cultivo.

El polietileno de alta densidad fue incorporado como un texturizante para evitar la compactación del sustrato basado en arroz, con ello se incrementó la porosidad (ϵ) del lecho y en consecuencia se promovió el intercambio gaseoso en los espacios interpartícula. El impacto de este texturizante sobre la producción de conidios fue analizado. Cuando se utilizó una mezcla con 30% de texturizante, la producción de conidios por gramo de arroz seco inicial fue mayor comparado con los otros tratamientos, este comportamiento ya fue observado con *Metarhizium anisopliae* CP-OAX (Angel-Cuapio y Loera, 2016), en mezclas de arroz precocido (AP) con viruta de madera (VM) como texturizante se encontró que al utilizar la proporción 70:30 el mayor rendimiento fue alcanzado $Ca \approx 5.5 \times 10^8$ conidios/gasi, lo cual indicó un incremento de 1.75 veces siendo estadísticamente diferente ($p < 0.05$), comparado con lo obtenido en la mezcla AP:VM: 100:0 (2×10^8 conidios/gasi). Por otro lado, una tendencia similar fue observada en las mezclas de arroz precocido (AP) con rastrojo de maíz (RO), en los tratamientos AP:RO: 80:20 y 70:30 se encontró el mayor rendimiento de $Ca \approx 4.7 \times 10^8$ conidios/gasi que representó un incremento de 0.88 veces siendo estadísticamente diferente ($p < 0.05$), a lo encontrado en el tratamiento sin texturizante AP:RO: 100:0 (2.5×10^8 conidios/gasi). En este estudio, el crecimiento de *Metarhizium anisopliae* CP-OAX fue solamente sobre los granos de arroz (el arroz fue el único sustrato) y no hubo crecimiento sobre las partículas de polietileno de alta densidad (PEAD). Como una consecuencia práctica, los presentes resultados indican la necesidad de medir la porosidad como un parámetro de cultivo que cambia el rendimiento de conidios por gramo de sustrato inicial. También existe la posibilidad de modificar este parámetro estructural por la mezcla adecuada de granos fáciles de metabolizar, con fibras o partículas de materiales que no se consumen.

CONCLUSIONES

El polietileno de alta densidad (PEAD) es un texturizante adecuado en cultivo sobre soporte sólido ya que modifica la porosidad del lecho empacado, se mejora la aireación y en consecuencia la producción de conidios de *Metarhizium anisopliae* CP-OAX se incrementa. La porosidad es un factor

importante de considerar para mejorar las tasas de respiración y en consecuencia la optimización de la producción de conidios de hongos entomopatógenos en cultivo sobre soporte sólido.

BIBLIOGRAFÍA

1. Angel-Cuapio, A. y Loera, O. (2016). Use of agroindustrials waste as texturizers to entomopathogenic fungi production on solid-state culture. *Mexican Journal of Biotechnology*. 1: 21-33.
2. Angel-Cuapio, A., Figueroa-Montero, A., Favela-Torres, E., Viniegra-González, G., Perraud-Gaime, I. y Loera, O. (2015). Critical values of porosity in rice cultures of *Isaria fumosorosea* by adding water hyacinth: effect on conidial yields and quality. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 177: 446-457.
3. de Faria, M. R., & Wraight, S. P. (2007). Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biological Control*, 43, 237–256.
4. Glare, T. R. (2004). In D. K. Arora (Ed.), *Fungal biotechnology in agricultural, food, and environmental applications: Biotechnological potencial of entomopathogenic fungi* (pp. 79–90). New York: CRC Press, Marcel Dekker Inc.
5. Jackson, M. A., Dunlap, C. A., & Jaronski, S. T. (2010). Ecological considerations in producing and formulating fungal entomopathogens for use in insect biocontrol. *Biocontrol*, 55, 129–145.
6. Kang, S., Lee, S., Yoon, C., & Kim, S. (2005). Conidia production by *Beauveria bassiana* (for the biocontrol of a diamondback moth) during solid-state fermentation in a packed-bed bioreactor. *Biotechnology Letters*, 27, 135–139.
7. Kim J.S., Kassa A., Skinner M., Hata T., Parker B.L. (2011). Production of thermotolerant entomopathogenic fungal conidia on millet grain. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 38(6): 697-704.
8. López-Lastra C.C., Hajek A.E. y Humber R.A. (2002). Comparing methods of preservation for cultures of entomopathogenic fungi. *Canadian Journal of Botany*. 80: 1126-1130.
9. Méndez-González F., Loera O., Favela-Torres E. (2018). Conidia production of *Metarhizium anisopliae* in bags and packed column bioreactors. *Current Biotechnology*. 7: 65-69.
10. Miranda-Hernández F; Angel-Cuapio A. y Loera O. (2017). Production of fungal spores for biological control. In: *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering*. Elsevier; 2017. p. 757–79. ISBN: 978-0-444-63662-1
11. Mitchell D.A., Meien O.F., Luz Jr L.F.L. y Berovič M. (2006). En *Solid-State Fermentation Bioreactors: Fundamental of Design and Operation: Substrate, air, and thermodynamic parameters for SSF bioreactor models* (Mitchell, D. A., Berovič, M., & Krieger, N., eds.), Springer, Springer-Verlag, Berlin, pp. 265-278.
12. Nuñez-Gaona, O., Saucedo-Castañeda, G., Alatorre-Rosas, R., & Loera, O. (2010). Effect of moisture content and inoculum on the growth and conidia production by *Beauveria bassiana* on wheat bran. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 53, 771–777.
13. Tlecuitl-Beristain S., Viniegra-Gonzalez G., Díaz-Godínez G. y Loera O. (2010). Medium selection and effect of higher oxygen concentration pulses on *Metarhizium anisopliae* var. *lepidiotum* conidial production and quality. *Mycopathologia*. 169: 387-394.
14. Tupe S.G., Pathan E.K y Deshpande M.V. (2017). Development of *Metarhizium anisopliae* as a mycoinsecticide: from isolation to field performance. *Journal of Visualized Experiments*. 125:1-8.
15. Vega, F. E., Meyling, N. V., Luansay-hard, J. J., & Blackwell, M. (2012). In F. E. Vega & H. K. Kaya (Eds.), *Insect pathology: Fungal entomopathogenic* (pp. 171–206). San Diego: Academic Press.
16. Zimmermann G. (2007). Review on safety of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol Science and Technology*. 17 (9): 879-920.

USO DE CALOSTRO INOCUO COMO MEDIDA DE BIOSEGURIDAD APLICADA PARA LA CRIANZA EFICIENTE DE BECERRAS DE RAZAS LECHERAS

Francisco Javier Padilla Ramírez, Hugo Castañeda Vazquez, Martha Alicia Castañeda Vazquez, Oscar Carbajal Mariscal, Erika Patricia Salas Castañeda

Laboratorio de Mastitis y Diagnóstico Molecular, CUCBA, Universidad de Guadalajara
javier.longino@gmail.com

RESUMEN

Para asegurar la condición de resistencia inmunológica de la becerrea lechera es necesario establecer prácticas para garantizar la calidad inmunológica y nutricional del calostro. Lograr pronta y adecuada ingesta de calostro de alta calidad es el factor de manejo más importante en la salud y la supervivencia del neonato. El calostro puede también representar una fuente infecciosa, encontrando contaminación por *Mycoplasma spp.*, *Mycobacterium paratuberculosis*, coliformes y *Salmonella spp.*, que reducen la transferencia pasiva de inmunidad en las terneras y ocasionan mortalidad entre 8-11%. Por lo que se requiere considerar técnicas adecuadas de manejo de la vaca durante el parto, colección, pasteurización y manejo del calostro, hasta llegar al tracto digestivo de la becerrea recién nacida. En el presente trabajo se desarrollaron prácticas para mejorar la calidad e inocuidad del calostro. La recolección del calostro se realizó de la primera toma y antes de dos horas después del parto ya que la cantidad de anticuerpos y el valor nutrimental es mayor, obtenido en forma manual o por máquina con medidas de higiene adecuadas, protocolo habitual para la ordeña y de una vaca sin mastitis, observando consistencia y color del calostro. Se realizó el traslado del calostro en refrigeración a la planta de evaluación y pasteurización donde se registró la temperatura y se revisó la calidad mediante un calostrómetro (mide la gravedad específica del calostro la cual guarda relación con la concentración de inmunoglobulinas) registrando y seleccionando únicamente el que presentó lecturas de 50 g/L (sección verde). La pasteurización se realizó con un equipo semiautomático utilizando un protocolo de tratamiento que protege la integridad molecular de las inmunoglobulinas y elimina o reduce significativamente patógenos como *E. coli*, *Salmonella enteritidis*, *Mycoplasma bovis* y *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis*, de acuerdo a revisión y estándares del Consejo para el Fomento de la Calidad de la Leche y sus derivados, A.C. (COFOCALEC, A.C.). El calostro pasteurizado se colocó en bolsas de plástico estériles señalando día de pasteurización, dosis contenida, contenido inmunológico en mg/ml, y hora de envasado, conservado en refrigeración a 3°C o congelado a -20°C hasta su utilización (un año en congelación o máximo 5 días en refrigeración) y con las recomendaciones pertinentes previas a utilizarlo. Ya que los terneros recién nacidos carecen de inmunoglobulinas en el suero sanguíneo y la absorción de las inmunoglobulinas del calostro sin degradación se da del nacimiento hasta 24 horas después de nacido, se incrementa la susceptibilidad de padecer infecciones provocadas por bacterias, por lo cual asegurar la administración e ingesta de calostro de alta calidad y libre de patógenos contaminantes eleva las oportunidades de sobrevivencia y el desarrollo adecuado de vaquillas lecheras de reemplazo.

INTRODUCCIÓN

Lograr la pronta y adecuada ingesta de calostro de alta calidad es el factor de manejo más importante en la salud y la supervivencia del neonato. Para asegurar la condición de resistencia inmunológica de la becerrea lechera especialmente bajo condiciones de manejos diversos en los establos es necesario establecer las prácticas necesarias para garantizar la calidad inmunológica y nutricional del calostro. Con base a lo anterior se requiere considerar desde el manejo de la vaca durante el parto, colección, pasteurización y manejo del calostro hasta que llegue al tracto digestivo de la becerrea recién nacida. (Weaver, 2000; McGuirk, 2004).

Estudios apuntan a la necesidad de los productores a adoptar prácticas para mejorar el manejo del calostro, ya que muchos de ellos tienen pérdidas significativas asociadas con dicho fracaso y mortalidad de los becerros que oscilan entre el 8 al 11%.

MARCO TEORICO

Un desarrollo adecuado de los terneros se inicia con la ingesta temprana de calostro ya que los terneros nacen sin anticuerpos debido a que el tipo de placenta de los bovinos impide el paso de inmunoglobulinas maternas al feto condicionado mayor riesgo de enfermedades así como un menor incremento en su peso y talla. Una vez que el ternero consume el calostro rico en inmunoglobulinas de la vaca, éstas son absorbidas intactas a través de la mucosa intestinal hasta el torrente sanguíneo generando con ello una inmunidad pasiva. El calostro de calidad contiene gran cantidad de anticuerpos o inmunoglobulinas (Ig) para la preparación del sistema inmune, además de poseer un alto contenido de grasa para proporcionarle energía al recién nacido (Weaver et al, 2000).

El calostro también puede representar una de las primeras fuentes infecciosas a las que se exponen los terneros, incluyendo *Mycoplasma spp.*, *Mycobacterium paratuberculosis*, coliformes fecales y *Salmonella spp.* (Streeter et al, 1995; Steele et al, 1997; Waltz et al, 1997; Garro, 2011). Este problema se agudiza por la diversidad de genotipos y cepas de *Mycobacterium bovis* (Milian et al., 2012). La contaminación bacteriana es preocupante ya que estos patógenos pueden actuar directamente y causar enfermedades como diarrea o septicemia. Las bacterias en el calostro también pueden interferir con la absorción pasiva de anticuerpos del calostro a la circulación, reduciendo la transferencia pasiva de inmunidad en las terneras (James et al, 1981; Poulsen et al, 2002; Glauber, 2010).

Torres en el 2013, citó que el calostro tratado con pasteurización mantiene la carga bacteriana baja y mantiene la calidad nutricional adecuada, y puede ser una alternativa viable para proveer a las becerras la nutrición y las defensas necesarias para llegar a desarrollarse con altas probabilidades de no presentar problemas patológicos durante la crianza. Los valores de crecimiento de las becerras en su trabajo mostraron valores superiores en las que recibieron calostro pasteurizado comparado con las que recibieron calostro sin pasteurizar.

En el manejo del calostro es importante el tiempo de la toma del mismo, se recomienda un tiempo no mayor a dos horas después del parto y no esperar al siguiente ordeño, ya que conforme pasan las horas después del parto, la composición del calostro cambia, a las 6 horas post parto hay una reducción del 17 % en los anticuerpos (Ig) del calostro; a las 10 hr un 27 % y a las 14 hr un 33% de los existentes a las dos horas después del parto.

En caso de ser almacenado, se debe mantener en refrigeración inmediatamente después del ordeño extremando la higiene tanto del equipo de extracción como de los utensilios, ya que el calostro es un medio nutritivo excelente para los microorganismos, permitiendo así el crecimiento de estos al estar en una temperatura ambiente mayor a 21°C (Bey, R et al, 2007).

El calostro no debe ser delgado y aguado, no debe contener sangre, ni provenir de un cuarto infectado con mastitis, no debe ser obtenido de una vaca que ha sido comprada recientemente o novilla a primer parto ya que el calostro de vaquilla es de calidad inferior a comparación del calostro que se obtiene de una vaca adulta, no debe provenir de una vaca que fue ordeñada antes del parto o tuvo un goteo severo antes del parto.

La calidad del calostro es determinada mediante un calostrómetro. El calostrómetro es un instrumento de vidrio parecido a un termómetro, mide la gravedad específica del calostro la cual guarda relación con la concentración de inmunoglobulinas. Si el calostrómetro marca por lo menos 50 g/L (sección verde) el calostro es considerado bueno. Si la lectura se hace en la columna amarilla, entre 22 a 50 g/L., el calostro es regular, y si dicha lectura se hace en la columna roja, menos de 22 g/L., la calidad del calostro es pobre.

Otra forma de valorar el calostro es utilizando un refractómetro de grados Brix (The Valley Vintner) para azúcares; este mide el porcentaje de sólidos en el calostro correlacionado con el contenido de inmunoglobulinas en el mismo, dando un valor mínimo de 22% Brix para calostro de alta calidad.

La evaluación nutricional y bacteriológica del calostro consta de 5 parámetros fisicoquímicos: 1) Densidad a 15°C g/mL (NMX-F-424-S-1982 y NOM-155-SCFI- 2003); 2) Grasa butírica g/L (NOM-155-SCFI-2003); 3) Proteínas totales g/L (NOM-155-SCFI-2003); 4) Sólidos no grasos g/L (NOM-155-SCFI-2003); 5) Cuenta total de Bacterias Mesofílicas Aerobias (NOM-092-SSA1-1994).

La pasteurización del calostro es un determinante en la calidad inmunológica y microbiológica. Teniendo un especial cuidado en el tiempo y temperatura a la que se somete el calostro, ya que las

temperaturas por arriba de 60°C, causan la caramelización del calostro y la desnaturalización de aproximadamente 1/3 del total de IgG colostrado (Godden, 2003; Godden, 2006).

Los becerros deben consumir calostro al equivalente del 10 al 12% de su peso al nacimiento dentro de las primeras 8 horas de vida, esto asegura el consumo de entre 100 y 150 g de inmunoglobulina G en el calostro de la primera toma.

El calostro se entregara congelado (-20°C) o refrigerado (3°C) según lo requiera el productor, puede entregarse el mismo día del parto o se puede tener congelado en el establo. Es generalmente aceptado que el calostro puede ser congelado hasta 1 año, siempre que no se repitan varios ciclos de congelación-deshielo. Al descongelar el calostro, los productores deben evitar el sobrecalentamiento del calostro (evitar temperaturas por encima de 60° C). Si se almacena en un contenedor cubierto limpio, la vida útil del calostro refrigerado pasteurizado (60° C x 60 min) es por lo menos 8 a 10 días (Bey, R., 2007). El calostro se entrega en una hielera con refrigerantes con la finalidad de mantener la temperatura durante el trayecto al establo. El calostro pasteurizado que esté en el establo será almacenado en refrigeración si su uso es dentro de los primeros 5 días posteriores a la pasteurización, si el calostro no va a utilizarse en este periodo debe congelarse. El lugar en el que se almacene debe estar limpio y debe ser un lugar destinado solo para calostro. Al nacer una becerro, el calostro pasteurizado refrigerado o congelado deberá calentarse a baño maría, en este proceso la temperatura del agua debe ser de 40°-50° C, ya que al sobrepasar esta temperatura habrá una desnaturalización de las proteínas del calostro. La temperatura a la que debe ofrecerse el calostro a la becerro es de 37°C y se deben dar hasta 4 litros antes de las primeras dos horas de vida. La toma debe hacerse con utensilios previamente lavados y desinfectados (McGuirk et al, 2004).

PARTE EXPERIMENTAL

Con base a la información anteriormente descrita a continuación se describen algunas prácticas de manejo.

Manejo del calostro: Colección del calostro; se realizó el descalostre antes de las dos horas posteriores del parto en forma manual o mecánica, siguiendo los mismos cuidados de higiene que en el ordeño de la leche: despunte, limpieza de pezones, pre-sello, secado, ordeña y sellado.

El recipiente en el cual se recibe el calostro debe estar previamente lavado y desinfectado.

Se llevó a cabo el traslado del calostro a la planta de evaluación y pasteurización de calostro en refrigeración por medio de hieleras y refrigerantes.

En la planta pasteurizadora se llevaron registros de la temperatura (es obligado que la temperatura del calostro sea de 20 a 22 grados Centígrados) y de revisión de las características físicas del calostro.

La calidad del calostro se determinó por la Lectura con Calostrómetro; Se vertió el calostro hasta ¾ partes del cilindro para medir y se introdujo el calostrómetro dejando que éste flotara en el calostro. Si el calostro marca por lo menos 50 g/L (sección verde) se le consideró bueno y se seleccionó para los siguientes procedimientos.

ALTA CALIDAD	MEDIANA CALIDAD	BAJA CALIDAD
Más de 50 g/L	Entre 20 y 50 g/L	Menos de 20 g/L

Una vez aceptado el calostro, se llenó un formato, el cual contiene los datos del productor de donde proviene el calostro y datos sobre la vaca (día de parto, hora, numero de parto, etc.).

Pasteurización del calostro: se utilizó un equipo semiautomático que monitorea la temperatura del calostro, manteniéndolo a 60° C por 60 minutos, para después disminuir a 38°C en un periodo de 10 minutos. Con este protocolo de tratamiento se protege la integridad molecular de las inmunoglobulinas y se elimina o reduce significativamente los patógenos importantes, como *E. coli*, *Salmonella enteritidis*, *Mycoplasma bovis* y *Mycobacterium avium* subsp., *paratuberculosis* en el

calostro. Terminado el proceso se lava y desinfecta la pasteurizadora con el fin de evitar acumulación de bacterias y evitar la contaminación del calostro.

Para la evaluación nutricional y bacteriológica del calostro: se enviaron muestras (100 ml) de calostro pasteurizado y no pasteurizado al Consejo para el Fomento de la Calidad de la Leche y sus derivados, A.C (COFOCALEC, A.C.), donde se realizó la evaluación en base a los 5 parámetros fisicoquímicos que establecen las NOM: 1) Densidad a 15°C g/mL, 2) Grasa butírica g/L 3) Proteínas totales g/L, 4) Sólidos no grasos g/L y 5) Cuenta total de Bacterias Mesofílicas Aerobias.

Se analizaron la calidad nutricional e inmunológica del calostro a través de muestreos en los puntos críticos del manejo del mismo, desde su colección en el establo hasta la administración al neonato.

Conservación: El calostro pasteurizado se envasó en bolsas de plástico estériles conteniendo los siguientes datos: día de pasteurización, dosis contenida, (se embolsan dosis de 2 y 4 litros), contenido inmunológico en mg/ml, y hora del envasado. Una vez colocado el calostro dentro de la bolsa se selló con una selladora manual de plástico y se conservó en refrigeración a 3°C o en congelación a -20°C hasta la entrega al productor con sus respectivas recomendaciones de uso.

Se llevaron a cabo mediciones de parámetros anatómicos como altura y perímetro torácico en las becerras como indicadores de salud.

RESULTADOS

La calidad nutricional e inmunológica del calostro después de su proceso de pasteurización lenta se mantuvo estable.

Se presentó ausencia y/o disminución considerable de patógenos contaminantes en el calostro después de la pasteurización.

Los parámetros anatómicos considerados en este trabajo como indicadores de salud, demostraron que las becerras alimentadas con calostro pasteurizado incrementaron significativamente su altura y perímetro torácico al segundo mes de edad, mientras que las alimentadas con calostro sin pasteurizar el perímetro torácico y la altura al segundo mes fueron menores.

CONCLUSIONES

Uno de los pilares más importantes en la crianza de becerras lecheras es el manejo de la vaca durante el parto y el periodo de cría, donde el manejo y suministro de calostro inocuo es determinante, ya que los terneros recién nacidos carecen de inmunoglobulinas en el suero sanguíneo y la absorción de las inmunoglobulinas del calostro sin degradación se da del nacimiento hasta 24 horas después de nacido se incrementa la susceptibilidad de padecer infecciones provocadas por bacterias, por lo cual asegurar la administración e ingesta de calostro de alta calidad y libre de patógenos contaminantes eleva las oportunidades de sobrevivencia y el desarrollo adecuado de vaquillas lecheras de reemplazo.

La pasteurización ha demostrado mejorar la calidad bacteriológica del calostro, disminuyendo significativamente la cantidad de bacterias coliformes que son potencialmente patógenas para el neonato. Con la pasteurización del calostro las células somáticas se mantuvieron sin cambio en el calostro, los valores encontrados están en el rango normal de 1×10^6 a 2.7×10^6 , al igual que la concentración de inmunoglobulinas.

Los resultados obtenidos hasta el momento sugieren que la pasteurización lenta del calostro es un proceso que podría ser implementado en los establos lecheros de Jalisco sin detrimento de su calidad y con beneficio-costo superior al obtenido con calostro comercial importado cuyo costo es mayor. Evidentemente lo anterior apoyado con el manejo de la vaca durante el parto para asegurar la salud de la ubre y el nacimiento "sano" de la becerria.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bey, R., Godden, S., Lillegaard, H.. 2007. Improving cleanliness and shelf-life of refrigerated colostrum using heat-treatment and chemical preservatives. Proc. Annu. Meet. Minnesota Dairy Health Management Conference. St. Paul, MN. May 15-17.
2. Garro. C. 2011. Tuberculosis en terneros. Resultados de un estudio prospectivo. Revista electrónica Veterinaria. 12 (12).

3. Glauber C.E. 2010. Plan sanitario en el tambo para más producción y mejor negocio. Sitio argentino de Producción Animal.
4. Godden, S.M., Smith, S., Feirtag, J.M. 2003. Effect of on-farm commercial batch pasteurization of colostrum on colostrum and serum immunoglobulin concentrations in commercial dairy calves. *J. Dairy Sci.* 86:1503-1512.
5. Godden, S., McMartin, S., Feirtag, J. 2006. Heat-treatment of bovine colostrum II: Effects of heating duration on pathogen viability and immunoglobulin G. *J. Dairy Sci.* 89:3476-3483.
6. James, R. E., Polan, C.E., Cummins, K.A. 1981. Influence of administered indigenous microorganisms on uptake of [iodine-125] gamma-globulin in vivo by intestinal segments of neonatal calves. *J Dairy Sci.* 64(1):52-61.
7. McGuirk, S. M., Collins, M. 2004. Managing the production, storage and delivery of colostrum. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 20(3):593-603.
8. NOM 022 SSA 1994: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/022ssa24.html>
9. NOM-010-SSA2-1993: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/m010ssa23.html>
10. Milian S.F., C. Garcia C., C. Romero T., G.J. Cantó A., J.A. Gutierrez R., S. Gallegos S., M. Mercado P., F. Mejia E., A. Cisneros., C. estrada CH., O Pizano M. 2012. Diversidad genética y distribución regional de cepas de mycobacterium bovis en ganado en México. *Rev. Mex. De Cienc. Pecu.* 3(4): 459-471
11. Poulsen, K.P., Hartmann, F.A., McGuirk, S.M. 2002. Bacteria in colostrum: impact on calf health. Abstr. 52 in Proc. 20th American College of Internal Veterinary Medicine. Dallas, TX. Pp. 773
12. Steele, M.L., McNab, W.B., Poppe, C., et al. 1997. Survey of Ontario bulk tank raw milk for food-borne pathogens. *J. Food Protection.* 60(11):1341-1346.
13. Streeter, R. N., Hoffsis, G.F., Bech-Nielsen, S. 1995. Isolation of Mycobacterium paratuberculosis from colostrum and milk of subclinically infected cows. *Am J Vet Res.* 56(10):1322-1324.
14. Torres G.J. 2013. Estudio del efecto del calostro de calidad en la salud de las becerras en un establo lechero en Zapotlanejo, Jalisco. Centro Universitario Altos de Jalisco. Tesis. Universidad de Guadalajara.
15. Walz, P.H., Mullaney, T.P., Render, J.A., et al. 1997. Otitis media in preweaned Holste. Univerin dairy calves in Michigan due to Mycoplasma bovis. *J. Vet. Diagn. Invest.* 9:250-254.
16. Weaver, D.M., Tyler, J.W., VanMetre, D.C. 2000. Passive transfer of colostrum immunoglobulins in calves. *J. Vet Intern Med.* 14:569-577.

CARACTERIZACIÓN DE LODOS RESULTANTES DEL PROCESO DE LODOS ACTIVADOS DE LA PTAR NUMERO UNO TLALNEPANTLA, EN EL ESTADO DE MÉXICO, PARA UN POSTERIOR USO EN LA AGRICULTURA

Contreras Mora Erick Eduardo¹, Toledo Trejo Erika², Pérez Valera Eloy³ Hernández Trejo Miriam⁴.

¹Universidad Tecnológica Fidel Velázquez, ²Universidad Tecnológica Fidel Velázquez, ³Universidad Tecnológica Fidel Velázquez, ⁴FES Acatlán, UNAM

RESUMEN

La planta tratadora de aguas residuales "Número Uno Tlalnepantla", mediante el proceso de lodos activados, que usa para el saneamiento del agua, genera 2190 toneladas de lodos en peso húmedo, al año. Su disposición es un problema, ya que, se requiere de la construcción de un monorrelleno o llevarlos a disponer a un sitio autorizado para esto.

Los lodos tienen la posibilidad de tener un reúso en la agricultura, siempre y cuando cumplan con los requerimientos que se encuentran en la Norma Oficial Mexicana "NOM-004-SEMARNAT-2002". En este trabajo, se llevó a cabo la caracterización de los lodos de dicha planta siguiendo los procedimientos establecidos en la norma antes mencionada, para establecer si pueden ser útiles en el cultivo de hortalizas (clase c, según la norma). Se realizaron las determinaciones de los parámetros fisicoquímicos en base seca (Cobre Cu, Zinc Zn, Cadmio Cd, Cromo Cr, Níquel Ni, Plomo Pb) y microbiológicos, también, en base seca (Coliformes Fecales, Salmonella S.p.p y Huevos de Helmintos). Se tomaron muestras durante un mes y se encontraron los resultados siguientes, expresados en promedios: Cu con 10.09 mg/kg, Zn con 9.34 mg/kg, Cd con 0.105 mg/kg, Cr con 1.35 mg/kg, Ni con 0.03 mg/kg y Pb con 0.03 mg/kg. Con respecto a los parámetros microbiológicos para Coliformes Fecales se encontraron 23 NMP/g, para Salmonella S.p.p 81 NMP/g y para huevos de helminto 6/g.

Todos los valores hallados, con base en los resultados, para parámetros fisicoquímicos y microbiológicos se encuentran por debajo de los límites máximos permisibles, establecidos por la NOM-004-SEMARNAT-2002, pudiendo ser útiles para uso agrícola. Los autores continuaremos esta investigación; implementando estos lodos caracterizados para un uso agrícola con hortalizas de importancia económica en México.

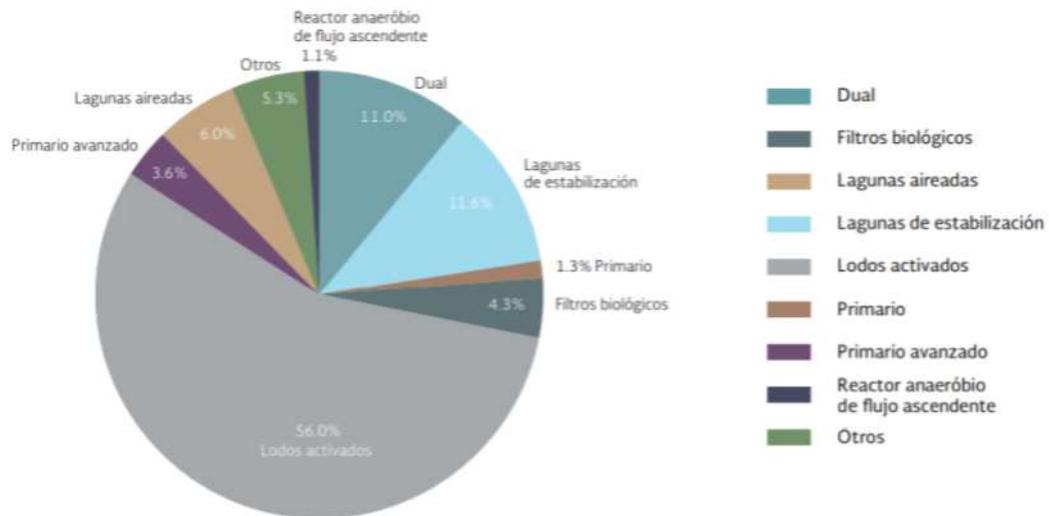
INTRODUCCIÓN

El principal objetivo del tratamiento del agua residual es producir un efluente que pueda ser descargado sin causar daños al medio ambiente o su reúso (G. Moeller 2004).

Las descargas de aguas residuales se clasifican en municipales y no municipales. Las municipales son generadas en los núcleos de población y colectadas en los sistemas de alcantarillado urbanos y rurales, las no municipales son aquellas generadas por otros usos, como puede ser la industria autoabastecida y que se descargan directamente a cuerpos de agua nacionales sin ser colectadas por sistemas de alcantarillado (M. Carmona, 2017).

En el año 2016, la industria trató 75.9 m³/s de aguas residuales, en 3 041 plantas en operación a escala nacional. En la gráfica 1 se puede observar los procesos principales de tratamiento de agua así como los porcentajes que tiene cada uno de estos

Gráfica 1 Principales procesos de tratamiento de aguas residuales municipales por caudal tratado, 2016



Fuente: Conagua (2016a).

Entre los contaminantes de aguas residuales municipales que son eliminados podemos encontrar (Ver tabla 1) los cuales están catalogados bajo la a NOM-003-ECOL-1997

Tabla 1. principales contaminantes de aguas residuales (Metcalf & Eddy, 1996)

Parámetros	Promedio mensual mg/L	Promedio diario
Grasas y aceites	50	75
Solidos sedimentables ml/L	5	75
Arsénico total	0.5	0.75
Cadmio total	0.5	0.95
Cianuro total	1	1.5
Cobre total	10	0.75
Cromo hexavalente	0.5	0.75
Mercurio total	0.01	0.013
Plomo total	1	1.5
Zinc total	6	4
Níquel total	4	6

Una dificultad de este tratamiento es la generación de lodos, “La Biol. Beatriz Acevedo Hernández, encargada del laboratorio de la PTAR Número 1 Tlalnepanitla, declaró que la Planta produce al año una cantidad aproximada de 2190 toneladas de lodos en peso húmedo, y que estos residuos son recogidos por camiones recolectores, los cuales los depositan en rellenos sanitarios” (B. Acevedo, comunicación personal, 04 de febrero de 2020).

El destino final de estas enormes masas de un residuo de difícil transporte y manejo en los vertederos (Davis, 1966: 65-69) ha constituido en un serio problema para muchos países, los cuales en la búsqueda de una solución a éste, han encontrado que aplicando estos lodos residuales al suelo se han obtenido beneficios tanto de tipo ambiental como económico debido a que estos lodos proporcionan material orgánico, mejoran la estructura del suelo, y ofrecen un gran potencial para el reciclaje de nutrientes.

La posibilidad de reutilizar materiales orgánicos ricos en nutrientes hace de la aplicación de lodos residuales en suelos agrícolas y forestales una alternativa importante (Salcedo et al. 2007). Esta alta concentración de nutrientes que presentan estos residuos (Nitrógeno, Fósforo, Materia orgánica) puede ser aprovechada para el desarrollo primordial de las plantas (Valdéz et al., 2008)

El ingeniero en agrobiología en su tesis nos menciona que: El lodo se puede aplicar en: terrenos agrícolas, terrenos forestales, terrenos marginales y terrenos especialmente preparados para la evacuación del lodo. En los cuatro casos, la aplicación al suelo se diseña con el objetivo de conseguir un tratamiento adicional del lodo. La luz solar, los microorganismos que habitan el terreno y la desecación, se combinan para destruir microorganismos patógenos y muchas de las sustancias tóxicas presentes. Los metales traza quedan atrapados en la matriz del suelo, y los nutrimentos los consumen las plantas convirtiéndolos en biomasa útil. En los tres primeros casos, el lodo se utiliza como un recurso valioso para mejorar las condiciones del terreno. El lodo actúa como acondicionador del suelo al facilitar el transporte de nutrimentos, aumentar la retención del agua y mejorar la aptitud del suelo para el cultivo, de este modo el lodo sirve como sustituto parcial de fertilizantes químicos caros.

El efecto beneficioso del uso de biosólidos en la agricultura no se limita sólo a las propiedades químicas de los suelos. Ha sido demostrado por numerosos autores que además de éstas, las propiedades físicas, físico-químicas y biológicas de los suelos también se ven mejoradas con la adición de estos residuos (Aggelides y Londra, 2000; Benitez et al., 2001; Selivanovskaya et al., 2001).

El contenido de metales pesados representa la principal limitante para el uso de los biosólidos en la agricultura (Delgado et al., 2000; Illera et al., 2001; Cuevas y Walter, 2004). Entre estos metales existen algunos como el Cu, Zn, Ni, Fe y Mn que son elementos esenciales para las plantas y su deficiencia puede provocar problemas en los cultivos, mientras que si se encuentran en exceso implican riesgos de fitotoxicidad (Nyamangara y Mzezewa, 1999; Martins et al., 2003; Passos et al., 2004). Existen otros como el Cd, Hg, As y Pb que no tienen funciones fisiológicas reconocidas y su presencia en el suelo siempre será un riesgo potencial, ya que pueden contaminar y acumularse en los suelos (Anjos y Mattiazzo, 2001), el agua y los alimentos (Keller et al., 2002).

Siempre y cuando se tomen las medidas sanitarias y ambientales necesarias en el manejo de los lodos, pueden ser aplicados a suelos agrícolas, siguiendo estándares establecidos en la "NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-004-SEMARNAT-2002, protección ambiental. - lodos y biosólidos. - especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final".

Su aplicación puede contribuir a la fertilización de los cultivos y mejorar la retención de humedad y estructura del suelo. Por lo tanto, es un producto útil para la recuperación de suelos degradados o erosionados. Actualmente en la República Mexicana, estimaciones hechas por la Dirección General de Restauración y Conservación de Suelos (Semarnat 2004) acerca de la erosión de suelos, indican que la erosión hídrica afecta al 37 por ciento de los suelos del país, del cual el 25 por ciento afecta solo la capa superficial del suelo y el 12 por ciento produce deformaciones de terrenos.

Es importante encontrar alternativas amigables con el medio ambiente para la producción de alimentos vegetales, pues son parte fundamental e indispensable en la alimentación de los seres vivos; así como es importante cuidar del suelo porque es uno de los recursos más valiosos del planeta, por lo tanto, es importante mantenerlo libre de productos químicos.

El objetivo de llevar a cabo esta investigación es para determinar si, al obtener resultados, los lodos, de la PTAR Número 1 Tlalnepantla, son aptos para un uso posible en la agricultura. Se realizará la caracterización de los lodos generados por la Planta para conocer sus características físico-químicas y microbiológicas; obteniendo una muestra cada 24 horas durante una semana y haciendo análisis de ellas para saber, en específico, la cantidad de metales pesados que podrían tener, la presencia de huevos de helminto, coliformes fecales y *salmonella spp*, siguiendo los procesos establecidos en la norma ya mencionada.

Y una vez hecha la caracterización de los lodos, específicamente, se le quiere dar un uso en el cultivo de hortalizas; las cuales necesitan para ser cultivadas nutrientes minerales, en concreto, tales como: nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, azufre, magnesio, hierro, zinc, manganeso, boro, cobre, cloro y molibdeno (M. Gago, 2018), que pueden ser aportados por los lodos.

TEORIA

La planta tratadora de aguas residuales "Número Uno Tlalnepantla" está Ubicada en Av. Somex, unidad Habit. Los Reyes Iztacala 2a. Sección, Tlalnepantla, Mex., y usa el proceso que se describe en la Figura 1.

Esta planta tiene capacidad para tratar aproximadamente 100 litros por segundo con la calidad de agua y lodos especificada en las normas nacionales e internacionales respectivas. realiza el saneamiento de las Aguas Residuales Domesticas de las "Unidades Habitacionales Los Rosarios"; y se libera agua potable consumida por la industria.

Tratamiento de aguas residuales

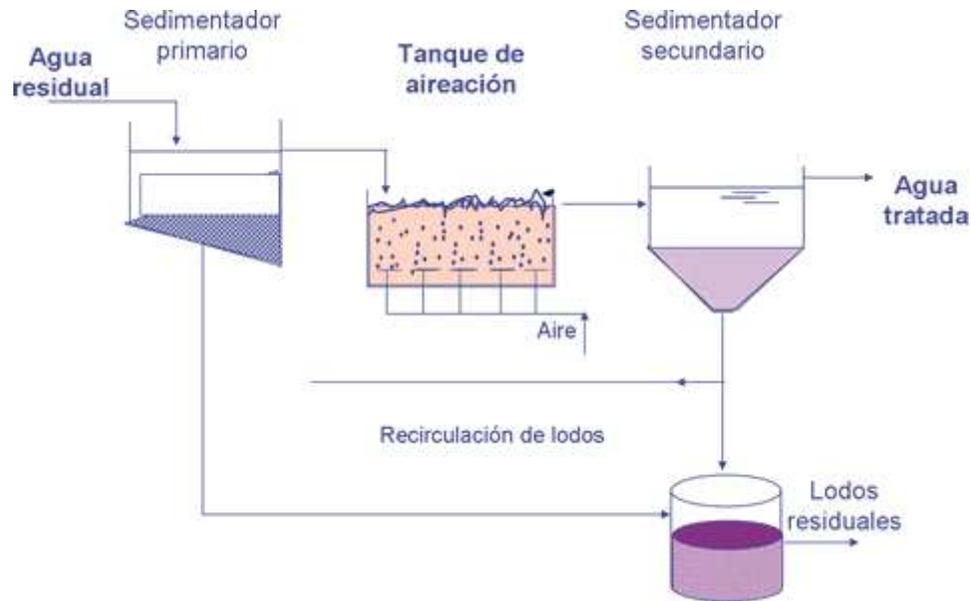


Figura 1, Proceso del tratamiento de aguas residuales

Generación de lodos:

Se generan 2190 toneladas de lodos en peso húmedo, al año. aunque existe un filtro prensa para darles un seguimiento a estos lodos este filtro no está en funcionamiento por situaciones administrativa lo que hace que los lodos sean llevados a confinamiento a un sitio autorizado para esto.

"NOM-004-SEMARNAT-2002".

Esta Norma Oficial Mexicana establece las especificaciones y los límites máximos permisibles de contaminantes en los lodos y biosólidos provenientes del desazolve de los sistemas de alcantarillado urbano o municipal, de las plantas potabilizadoras y de las plantas de tratamiento de aguas residuales, con el fin de posibilitar su aprovechamiento o disposición final y proteger al medio ambiente y la salud humana.

Metales Pesados

Dentro de la Norma se establecen límites máximos permisibles de metales, para que los lodos puedan ser utilizados dentro de la agricultura. (Ver tabla 2)

Tabla 2. Metales Pesados

Contaminante determinado en forma total	Excelentes Mg/kg en base seca	Buenos Mg/kg en base seca
Cobre	1500	4 300
Zinc	2800	7 500
Cadmio	39	85
Cromo	1200	3 000
Níquel	420	420
Plomo	300	840

Los organismos vivos necesitan de algunos metales en cantidades pequeñas, pues sirven como micronutrientes, pero, los metales, se tornan tóxicos y peligrosos para la salud humana cuando sobrepasan el límite de concentraciones. Por ello, es importante regular estos, ya que pueden afectar tanto a la salud pública como al medio ambiente.

Los metales pesados en determinadas concentraciones pueden causar riesgos en la salud la salud humana y al medio ambiente. Los principales metales encontrados en los lodos son: Cu, Zn, Cd, Cr, Ni, Pb; algunos pueden ser esenciales para los organismos en ciertas cantidades, pero otros pueden llegar a ser tóxicos debido a su potencial de acumulación en los tejidos humanos y su manifestación en la cadena alimenticia. (Ver Cuadro 1, Metales presentes en los lodos. Efectos en la salud humana)

Metales presentes en los lodos. Efectos en la salud humana

Metales	Efectos en la salud humana
Cobre	El exceso de cobre causa daño al hígado y al sistema nervioso
Zinc	Sensaciones como paladar dulce y resequedad en la garganta, tos, fragilidad, dolor generalizado, fiebre, náuseas y vómitos
Cadmio	Este metal es cancerígeno, provoca elevación de la presión sanguínea y del corazón. Daña a la próstata, al sistema óseo. Dolores en las articulaciones, anemia, enfisema pulmonar, osteoporosis, perdida del olfato disminución del desempeño sexual.
Cromo	Dermatitis, úlceras cutáneas, inflamación nasal, cáncer en los pulmones y perforaciones de las fosas nasales
Níquel	Cancerígeno, puede causar dermatitis de contacto, gingivitis, erupciones en la piel, estomatitis, dolores articulares, osteoporosis y fatiga crónica.
Plomo	Irritabilidad y agresividad, indisposición, dolores de cabeza, convulsiones, fatigas, dolores abdominales, náuseas, aberturas musculares; pérdida de memoria, insomnio, accidente vascular cerebral inespecífico, alteraciones de inteligencia, osteoporosis, anemias, enfermedades renales, problemas de coagulación. Afecta al sistema digestivo y reproductivo y es agente teratogénico (que puede producir mutaciones genéticas).

Cuadro 1, Metales presentes en los lodos. Efectos en la salud humana

Microbiológicos

Dentro de la Norma también se mencionan los límites máximos permisibles de patógenos y parásitos en los lodos. (Ver tabla 3)

Tabla 3. Límites máximos permisibles para patógenos y parásitos en lodos y biosólidos

CLASE	INDICADOR BACTERIOLÓGICO DE CONTAMINACIÓN	PATÓGENOS	PARÁSITOS
	Coliformes fecales NMP/g en base seca	<i>Salmonella spp.</i> NMP/g en base seca	Huevos de helmintos/g en base seca
A	Menor de 1 000	Menor de 3	Menor de 1(a)
B	Menor de 1 000	Menor de 3	Menor de 10
C	Menor de 2 000 000	Menor de 300	Menor de 35

Los organismos encontrados en los lodos pueden ser capaces de provocar enfermedades en los humanos y en los animales. (Ver Cuadro 2, Agentes patógenos presentes en los lodos. Efectos en la salud). Es por ello, que para que cualquier vertido de lodos sea seguro se debe precisar la eliminación, o al menos una inactivación suficiente de estos.

Cuadro 2. Agentes patógenos presentes en los lodos. Efectos en la salud

Agentes Patógenos	Efectos en la salud
Coliformes fecales	Puede provocar fiebre tifoidea (Diarrea, vómito severo, bazo crecido, intestino inflamado; a menudo es mortal si no se trata.); cólera (Diarrea, vómito severo, deshidratación; a menudo mortal si no se trata.) disentería bacteriana (Diarrea; raramente es mortal, excepto en niños sin tratamiento adecuado.); enteritis (Dolor estomacal severo, náuseas, vómito; rara vez es mortal.).
<i>Salmonella spp</i>	Provoca salmonelosis, de las cuales sus síntomas son: diarrea, vómito, fiebre y calambres abdominales dentro de las 8 a 72 horas, escalofríos, sangre en las heces, dolor de cabeza.
Huevos de helminto	Cuando los huevos son ingeridos, los parásitos se desarrollan hasta que llega a instalarse en el cerebro, o en los músculos de los ojos

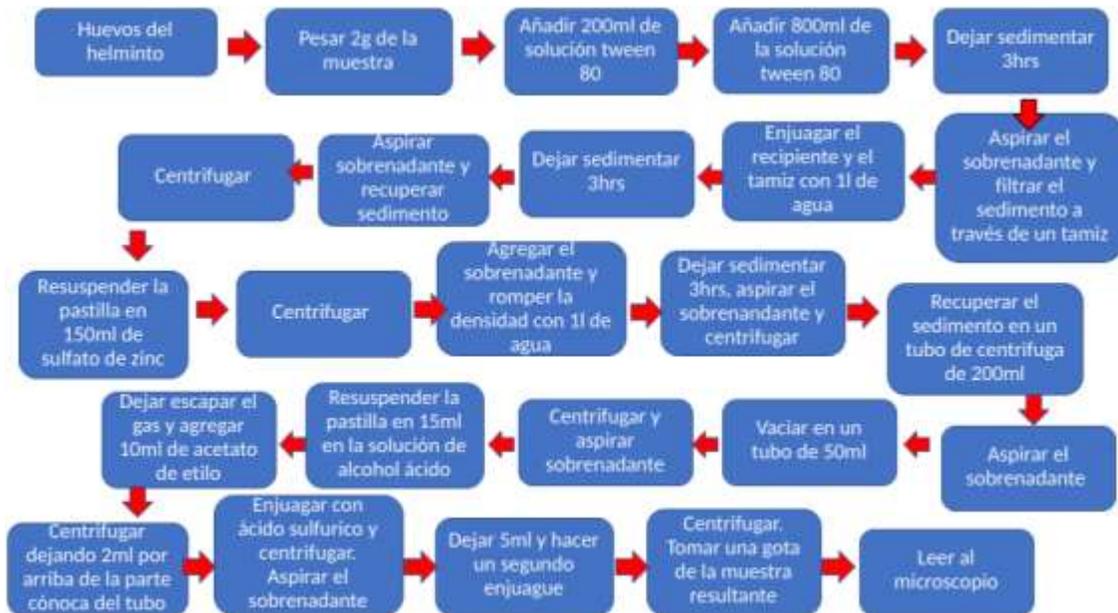
PARTE EXPERIMENTAL

Se realizó el análisis de los lodos para conocer las características de éste y saber si es óptimo para la implementación en la agricultura, verificando la parte física, química y microbiológica, así mismo, considerando lo establecido en la NOM004 SEMARNAT 2002, la cual menciona los límites máximos permisibles para la implementación de este tipo de residuos en la agricultura. Los elementos analizados son: Metales Pesados, Huevos de Helminto, Coliformes Fecales y Salmonela S.

Primeramente, se realizó el análisis de Metales Pesados, el cual consiste en:



Continuamente, se realizó el análisis de Huevos de Helminto, que consiste en:



De igual manera, se realizó el análisis para Coliformes Fecales el cual consistió en:



Posteriormente, se llevó a cabo el análisis de la muestra para detectar la presencia Salmonella S.:



RESULTADOS

Después de llevar a cabo los análisis, anteriormente mencionados, los resultados fueron los siguientes:

Metales Pesados

Fueron tomadas durante 1 mes. Tenemos la comparación de los metales en cuanto a lo que solicita la norma y los resultados obtenidos.

Tabla 4, comparación de resultados

Contaminante determinado en forma total	en	Excelentes Mg/kg en base seca	Buenos Mg/kg en base seca	Resultados obtenidos en el laboratorio OPDM Mg/kg en base seca
Cobre		1500	4 300	10.094
Zinc		2800	7 500	9.344
Cadmio		39	85	0.105
Cromo		1200	3 000	1.35
Níquel		420	420	0.036
Plomo		300	840	0.034

Huevos de Helminto

En el análisis de Huevos de Helminto, se menciona el resultado de las 5 muestras tomadas, así como, un promedio final que indica un resultado general en proporción a los datos encontrados. (Ver tabla tal)

De acuerdo a lo mencionado en la norma, se verifica que la cantidad de huevos se encuentra por debajo de los límites máximos permisibles estipulados, ya que la Norma menciona una cantidad de: 35 Huevos de helmintos/2g.

Tabla 5, resultados de Huevos del Helminto

Número de muestra	Huevos presentes en 2 mg de muestra
M1	5/2 g
M2	8/2 g
M3	2/2 g
M4	4/2 g
M5	9/2 g
Promedio	6/2 g

Coliformes Fecales

Utilizando la técnica de tubo sellado (5 tubos) se verificó la presencia de *coliformes fecales* mediante la inoculación directa de la muestra, obteniendo un resultado de 3 tubos positivos de los 5 que se inocularon.

Basándonos en la tabla de resultados, nos menciona que los resultados obtenidos dan un total de: 23 NMP/g, Y la norma menciona un rango menor a 2 000 000 NMP/g, por lo tanto, se tiene un lodo apto para su uso en la agricultura.

Salmonella S.

De acuerdo a lo mencionado en la Norma Se obtuvo un resultado promedio de: 82 u.f.c., lo cual indica un lodo apto para un uso potencial en la agricultura.

Tabla 6, resultados de *Salmonella S.*

Número de muestra	Ufc presentes en 2 mg de muestra
M1	81ufc/2 g
M2	74ufc/2 g
M3	93ufc/2 g
M4	78ufc/2 g
M5	85ufc/2 g
Promedio	82ufc/2 g

CONCLUSIONES

Se llevó a cabo la caracterización de los lodos resultantes del tratamiento de aguas residuales de la "PTAR Número Uno Tlalnepantla" y, de acuerdo a los resultados obtenidos, en los parámetros químicos y microbiológicos que la "NOM-004-SEMARNAT-2002". señala están por debajo de los límites máximos permisibles Por lo cual pueden ser considerados para ser usados como en la agricultura. Este trabajo continuara con la implementación de estos lodos como abono en el cultivo de hortalizas.

BIBLIOGRAFIA

1. AGGELIDES, S. M.; LONDRA, P. A. 2000. Effects of compost produced from town wastes and sewage sludge on the physical properties of a loamy and clay soil. *Bioresource Technolog.* 71(3): 253–259.
2. ANJOS, A. R. M.; MATTIAZZO, M. E. 2001. Extratores para Cd, Cu, Cr, Mn, Ni, Pb e Zn em latossolos tratados com biossólido e cultivado com milho. *Scientia Agrícola*, Piracicaba 58(2): 337–344.
3. Carmona M. (2017). Tratamiento y reúso de aguas. En estadísticas del agua en México (294). México: Comisión Nacional Del Agua.
4. Davis, R.D. (1996). The impact of EU and UK Environmental Pressures on the Future of Sludge Treatment and Disposal. *Water Environ. Manage* 10
5. CUEVAS, G.; WALTER, I. 2004. Metales pesados en Maíz (*Zea mays*, L.) cultivado en un suelo enmendado con diferentes dosis de composta de lodo residual. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 20(2): 59–68.
6. DELGADO, M.; PORCEL, M. A.; MIRALLES, R.; BELTRÁN, E.; GARCÍA, J.; BELLIDO, N.; BIGERIEGO, M. 2000. Empleo de compost de depuradora como fertilizante en cultivo de maíz. *Vida Rural* 109: 24–26.
7. G. Moeller. (2004). MICROBIOLOGÍA DE LODOS ACTIVADOS. memorias, 2, 208 p.p.
8. J. MEDINA . (2003). VII. Aplicación del lodo al suelo. En LODOS RESIDUALES COMO ALTERNATIVA PARA LA RECUPERACION DE SUELOS(92). Coahuila, México: UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO” .
9. KELLER, C.; MCGRATH, S. P.; DUNHAM, S. J. 2002. Trace metal leaching through a soil–Grassland System after sewage sludge application. *J. Environ. Qual.* 31(5): 1550–1560.
10. MARTINS, A. L. C.; BATAGLIA, O. C.; CAMARGO, O. A. 2003. Corn yield and uptake of Cu, Fe, Mn and Zn from sewage sludge–amended soil with and without liming. *Rev. Bras. Ciênc. Solo* 27(3): 563–574
11. Metcalfe & Eddy. (1996). INGENIERIA DE AGUAS RESIDUALES. México DF: McGRAW-HILL.
12. M. Gago (2018). El suelo perfecto para cultivar hortalizas. *Ecología verde*. Recuperado de: <https://www.ecologiaverde.com/el-suelo-perfecto-para-cultivar-hortalizas-814.html?fbclid=IwAR0GPW0NYyoyKZ89qW7s1ygiHEpOZL6ea9eg5o9R297zagajr2HfWql2SNs#:~:text=Es%20indispensable%20que%20tenga%20nutrientes,%2C%20cobre%2C%20cloro%20y%20molibdeno>
13. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-004-SEMARNAT-2002, PROTECCIÓN AMBIENTAL.- LODOS Y BIOSÓLIDOS.-ESPECIFICACIONES Y LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES DE CONTAMINANTES PARA SU APROVECHAMIENTO Y DISPOSICIÓN FINAL
14. . NYAMANGARA, J.; MZEZEWA, J. 1999. The effect of long–term sewage sludge application on Zn, Cu, Ni and Pb levels in a clay loam soil under pasture grass in Zimbabwe. *Agriculture Ecosystems and Environment* 73: 199–204.
15. Salcedo-Pérez Eduardo, Antonio Vázquez-Alarcón, Laksmi Krishnamurthy, Francisco Zamora-Natera, Efrén Hernández-Álvarez, Ramón Rodríguez Macías (2007). Evaluación de lodos residuales como abono orgánico en suelos volcánicos de uso agrícola y forestal en Jalisco, México. INCI v.32 n.2 Caracas feb. 2007
16. Valdéz Pérez M. A., Ramos Valdivia A. C., Franco Hernández M. O., Flores Cotera L. B., Dendooven L. (2008). Biosólidos estabilizados y vermicomposta de biosólidos como fuente de nitrógeno en cultivos de frijol.

VIABILIDAD DE POLEN, DENSIDAD Y TAMAÑO DE ESTOMAS EN AUTOTETRAPLOIDES Y DIPLOIDES DE *PHYSALIS IXOCARPA*

Rahim Foroughbakhch¹ Francisca Ramírez-Godina², Valentín Robledo-Torres², Jorge Alberto Villarreal Garza¹

¹Universidad Autónoma de Nuevo León, Depto. de Botánica, rahim.forough@gmail.com, Jorge.villarrealga@uanl.edu.mx.

²Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, depto. de horticultura godram@gmail.com

RESUMEN

Con el objetivo de estudiar el impacto de la autoploidía en la viabilidad de polen y el tamaño y frecuencia estomática del tomate de cáscara se analizó el polen, tamaño y número de estomas de cinco poblaciones diploides y cinco autotetraploides formadas con colchicina. Las diez poblaciones se establecieron en campo, bajo un diseño de bloques al azar con cuatro repeticiones. Para el estudio de viabilidad de polen, éste fue colectado y coloreado con acetocarmín al 1%. Los granos de polen redondeados y coloreados de rojo se consideraron viables y los constreñidos y sin teñir, no viables. Además, se estimó la densidad e índice estomático, largo y ancho de células oclusivas de estomas de la superficie adaxial y abaxial de la hoja. Los diploides tuvieron valores de viabilidad de polen y densidad estomática mayores que los autotetraploides; sin embargo, los diploides tuvieron granos de polen y estomas significativamente más pequeños que los autotetraploides. Por lo tanto, la poliploidía sí afectó la viabilidad del polen, ocasionando pérdida de fertilidad. Sin embargo, esta característica se puede evitar por selección de plantas con estabilidad meiótica, para incrementar la fertilidad de los autotetraploides. El aumento del tamaño celular muestra que los autoploides tienen el potencial de generar plantas más vigorosas, pero con una disminución en la fertilidad, por lo que este tipo de estudios abre la posibilidad de iniciar nuevas estrategias para el mejoramiento del tomate de cáscara.

Palabras clave: Abaxial, adaxial, granos de polen, poliploidía, tomate de cáscara.

INTRODUCCIÓN

El tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) también conocido como tomate verde o tomate de fresadilla, es una especie nativa de México y Centroamérica, actualmente es uno de los cultivos hortícolas más importantes de México (Cantwell *et al.*, 1992), ocupando el cuarto lugar entre las hortalizas en superficie sembrada 48 475.17 has (SIAP-SAGARPA, 2011). La importancia adquirida por este cultivo es debido al aumento significativo en el consumo per capita (4.5 kg) a nivel nacional, así como al aumento de la exportación a los Estados Unidos de Norteamérica y Canadá (Peña *et al.*, 2008). La autoploidía es un estado biológico inducible caracterizado por la duplicación del número de genomas de un mismo individuo, con lo cual se logra incrementar la variabilidad genética, que puede ser aprovechada por los fitomejoradores. La autoploidía incrementa el tamaño efectivo de la población e incrementa la flexibilidad genómica, facilitando así el manejo de la selección artificial. La redundancia genética puede permitir la divergencia adaptativa de genes duplicados (Parisod *et al.*, 2010). Los autotetraploides pasan de tres combinaciones posibles con dos alelos de un diploide a cinco combinaciones, además es posible desarrollar plantas más vigorosas (Cubero, 2003), con posibilidades de aumentar los rendimientos en especies, en las cuales la hibridación mediante la utilización de líneas endogámicas no es posible, debido a que presentan autoincompatibilidad (Pandey, 1957). El mejoramiento genético mediante la formación de tetraploides en especies como sandía, papa, plátano espárragos, café, cítricos, y la obtención de híbridos triploides ha originado importantes avances. La utilización de autotetraploides y diploides en tomate de cáscara *Physalis ixocarpa* previamente caracterizados y seleccionados como parentales, así como la obtención de híbridos triploides mediante la cruce de diploide x tetraploide, podría ser un camino muy promisorio para obtener nuevas variedades. Estos métodos de mejoramiento podrían incrementar el rendimiento y mejorar características agronómicas en esta especie y aumentar las posibilidades de comercialización.

MATERIAL Y METODO

Manejo del cultivo en campo

Las condiciones del cultivo fueron las siguientes: los riegos fueron diarios mediante el uso de cinta de riego, con un gasto de un litro por gotero por hora por tres horas, la nutrición se aplicó vía riego tres veces por semana, en las primeras 9 semanas se aplicó una solución compuesta por; N (2.4), P (1.44), K (1.47), Ca (0.39) y Mg (0.37 kg ha⁻¹). A partir de la semana 10 se modificó a 1.90, 1.85, 2.75, 0.37 y 0.47 kg ha⁻¹ (N, P, K, Ca y Mg) hasta la semana 15. A lo largo del ciclo del cultivo, se presentaron problemas con diabrotica (*Diabrotica spp.*), para su control fue necesaria la aplicación de hexacloro-hexahidro-6,9- metano2,4,3-benzodioxatiepín-3-óxido (Endosulfan, 1.5 ml L⁻¹ de agua) y S-MetilN ((metilcarbamoil)oxi) tioacetimidato (Metomilo, 0.7 gr L⁻¹ de agua), fueron necesarias dos aplicaciones alternadas de cada uno, con una A diferencia de una semana entre aplicaciones.

Análisis de viabilidad y tamaño de polen

Las viabilidad y tamaño de polen fue estimada en los tetraploides y diploides, de la siguiente forma; previo a la anthesis, 30 días después del trasplante, se colectaron tres flores por planta entre 8:00 y 9:30 de la mañana, posteriormente se colocaron en bolsas de papel estraza y se llevaron al laboratorio para su análisis. Se impregnó un pincel con polen de cada flor y se sacudió sobre un portaobjetos procurando que la distribución fuera uniforme, se depositó una gota de colorante acetocarmín al 1%, encima se colocó un cubreobjetos y después de 5 a 10 segundos se procedió a la observación al microscopio. Los granos de polen redondeados y coloreados de rojo se consideraron viables y los constreñidos y sin teñir, no viables (Stone *et al.*, 1995), los conteos de polen se efectuaron en dos campos del microscopio por preparación, se contabilizó el número de granos de polen viables e inviables y se estimó el porcentaje de viabilidad (Barcelos *et al.*, 2004; Soares *et al.*, 2008). Para estimar la variable de tamaño de polen se midió el diámetro (\square m) de nueve granos de polen por planta y tres plantas por población en cada una de las cuatro repeticiones, se midieron un total de 108 granos de polen por población. Todas las observaciones se hicieron con el objetivo 40X en un microscopio compuesto Carl Zeiss con cámara digital Pixera Winder Pro y un software de medición Axion Vision versión 4.8. Los resultados de viabilidad se expresaron en porcentaje de polen teñido, debido a que los no teñidos se consideraron inviables.

Densidad, índice y tamaño de estomas

Para el estudio de estomas, se evaluaron las siguientes variables; densidad estomática abaxial (DEE), índice estomático abaxial (IEE), longitud y ancho de estomas abaxiales (LEE y AEE), densidad estomática adaxial (DEH), índice estomático adaxial (IEH), longitud y ancho de estomas adaxiales (LEH y AEH). Estas determinaciones fueron con el objetivo de conocer el impacto que tiene la autoploidía sobre la densidad de estomas por área y tamaño de estomas, además de que puede ser un indicativo del nivel de ploidía que nos ayuda a diferenciar las plantas diploides de las tetraploides. Las muestras se tomaron a los 34 días después del trasplante, se utilizaron 3 plantas por población en cada una de las cuatro repeticiones, de las que se tomaron dos hojas maduras, totalmente expandidas de la primera rama y con la misma orientación, de éstas se tomó una impresión epidérmica del haz (adaxial) y otra del envés (abaxial) de la parte media de cada hoja, utilizando poliestireno-xilol en forma líquida, el cual se aplicó sobre la superficie foliar con un pincel. Después de que se secó la película, esta fue removida con un trozo de cinta adhesiva transparente, la cual se montó sobre un portaobjetos. En cada impresión se observaron al azar tres campos microscópicos a 40X, tomando 72 observaciones por población, de la parte adaxial y 72 de la abaxial, de cada observación se tomó una microfotografía, en las que se contaron el número de estomas y de células epidérmicas, además se midió el ancho y largo (μ m) de dos estomas en cada una de la observaciones, de manera que se midieron 144 estomas de la parte adaxial y 144 de la abaxial por cada población, de acuerdo con la técnica utilizada por Wilkinson, (1979). La densidad estomática o estomas por mm² se obtuvieron de la siguiente forma:

$$DE = \text{número de estomas} / 0.2479 \text{ mm}^2 (\text{área de fotografía})$$

Para estimar el índice estomático se utilizó un microscopio Carl Zeiss con cámara digital Pixera Winder Pro y un software de medición Axion Vision Rel. 4.8. El índice estomático es el número de estomas en relación al total de células epidérmicas, y para su estimación se utilizó la siguiente fórmula:

$$IE = (\text{Número de estomas/Células epidérmicas} + \text{el número de estomas}) \times 100$$

Caracterización morfológica

A los 60 días después del trasplante, se evaluaron las siguientes variables morfológicas en diploides y tetraploides: ancho de hoja (AH) y largo de hoja (LH), diámetro de tallo en cm (DT), diámetro de flores en cm (DF), altura de planta en cm (AP), estas variables se midieron de 3 plantas tomadas al azar de cada tratamiento en cada una de las cuatro repeticiones, dando un total 12 plantas de cada población. Las mediciones fueron con un vernier digital de precisión marca AutoTEC®, la altura de planta fue medida mediante una cita métrica en cm. Estas variables se evaluaron con la finalidad de caracterizar a las poblaciones tetraploides e identificar cambios morfológicos inducidos por la poliploidización en plantas de tomate de cáscara.

RESULTADOS

Análisis de viabilidad y tamaño de polen, de tetraploides y diploides

Los diploides presentaron en promedio 89.49% de viabilidad de polen mientras que los tetraploides fue de 61.48%, en lo que se refiere a diámetro de polen los diploides tuvieron en promedio 23.86 μm y los tetraploides 27.91 μm . El análisis de varianza, a exhibió diferencias altamente significativas ($F=4.27$, $P<0.01$) para viabilidad de polen y diámetro de polen ($F=2.38$, $P=0.006$) entre poblaciones (Tabla 1), indicando que el tamaño y la viabilidad de polen están influenciados por el nivel de ploidia.

Tabla 1. Cuadrados medios y valores de F, obtenidos del análisis de varianza de viabilidad y diámetro de polen de poblaciones diploides y tetraploides de *Physalis ixocarpa*.

Fuente de variación	G.L.	Cuadrados medios y valor de F			
		Viabilidad de polen	Valor F	Diámetro de polen	Valor F
Repeticiones	3	249.160	1.38ns	14.473	1.40ns
Tratamientos	19	774.012	4.27**	24.582	2.38*
Error	57	181.124		10.308	
Coef. de Variación		19.650		11.933	

Ns = no significativo ($P>0.05$), * significativo ($P<0.05$), ** altamente significativo ($P< 0.01$).

En los valores medios de las características estudiadas, se encontró que las poblaciones diploides presentaron de 82.52 a 95.81% de viabilidad de polen, mientras que en los tetraploides fue de 52.47 a 73.21%. Los diploides presentaron aproximadamente de 22.6 a 30.05% más viabilidad de polen que los tetraploides.

La comparación de medias muestra que en viabilidad de polen no existen diferencias estadísticas significativas dentro de los diploides ($P>0.05$), así mismo también se observa que los tetraploides fueron estadísticamente iguales ($P>0.05$), aunque si se encontraron diferencias estadísticas significativas ($P\leq 0.05$) entre diploides y tetraploides (Tabla 2). Por otra parte, los diploides presentaron un diámetro de polen de; 22.72 a 24.87 μm y los tetraploides de 25.19 a 31.89 μm (Figura 1), mostrando que los tetraploides 6 y 9 fueron estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$) de los diploides 1 y 18, los demás diploides y tetraploide fueron estadísticamente iguales (Tabla 2).

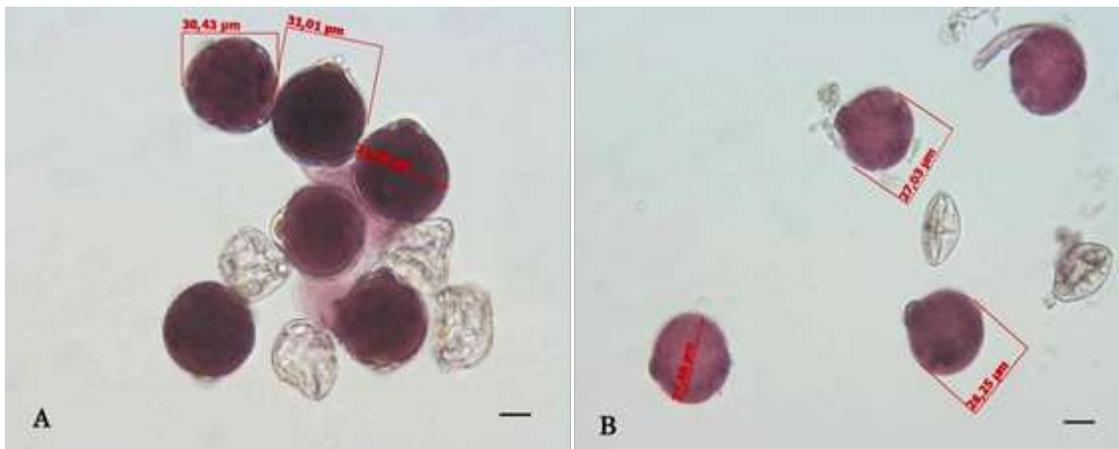


Figura 1. Granos de polen de *Physalis ixocarpa* 40X. Los teñidos se consideraron viables, los constreñidos y sin color no viables (A) autotetraploide; (B) diploide. BarrAa de 10 µm.

Tabla 2. Valores medios de viabilidad de polen y diámetro de polen en diploides y tetraploides de tomate de cascara.

Población	Nivel Ploidía	Variabilidad de Polen	Diámetro
1	Diploide	93.850 ^a	22.725 ^b
3	Diploide	95.818 ^a	24.590 ^{ab}
13	Diploide	87.478 ^{ab}	24.350 ^{ab}
18	Diploide	87.810 ^{ab}	22.785 ^b
19	Diploide	82.523 ^{ab}	24.873 ^{ab}
2	Tetraploide	54.925 ^d	28.955 ^{ab}
4	Tetraploide	63.055 ^{ab}	28.508 ^{ab}
5	Tetraploide	56.318 ^b	29.110 ^{ab}
6	Tetraploide	54.250 ^d	31.893 ^a
7	Tetraploide	66.873 ^{ab}	27.013 ^{ab}
8	Tetraploide	58.023 ^b	27.588 ^{ab}
9	Tetraploide	52.468 ^d	31.688 ^a
10	Tetraploide	61.338 ^{ab}	26.548 ^{ab}
11	Tetraploide	56.033 ^b	26.315 ^{ab}
12	Tetraploide	65.703 ^{ab}	26.645 ^{ab}
14	Tetraploide	61.47 ^{ab}	26.373 ^{ab}
15	Tetraploide	57.335 ^b	27.355 ^{ab}
16	Tetraploide	73.210 ^{ab}	28.465 ^{ab}
17	Tetraploide	69.355 ^{ab}	25.193 ^{ab}
20	Tetraploide	71.913 ^{ab}	27.130 ^a
DMS		35.35	b

*Letras diferentes indican diferencias significativas a nivel ($P \leq 0.05$). DMS= Diferencia mínima significativa.

Densidad, índice y tamaño de estomas

Los promedios de la densidad estomática en los diploides fueron de 354.94 estomas/mm² abaxial y 181.50 adaxial, mientras que en los tetraploide fue de 169.63 abaxial y 97.47 adaxial, el análisis de varianza mostró diferencias significativas entre poblaciones en DEAb con ($F=17.07$, $P<0.01$) y en

DEAd ($F=9.25$, $P<0.01$) ver Tabla 3. Sin embargo, el promedio del índice estomático para la poblaciones diploides fue de 37.33% abaxial y 23.43 adaxial y de las poblaciones tetraploides fue de 31.07% abaxial y 20.42 adaxial, para esta variable, solo hubo diferencias significativas ($F=2.97$, $P=0.0008$) entre poblaciones en IEAb, en lo que respecta al IEAd no se encontraron diferencias significativas ($F=1.33$, $P=0.2016$) entre poblaciones.

Tabla 3. Cuadrados medios y valores de F, obtenidos del análisis de varianza aplicado a densidad e índice estomáticas de poblaciones diploides y tetraploides de *Physalis ixocarpa*

FV	G L	Cuadrados medios y valores de F							
		DEAb	F	DEAd	F	IEAb	F	IEAd	F
Rep	3	1960.5	1.19ns	369.81	0.56n	28.5	1.74n	8.40	0.52ns
Trat	19	28047.	17.07**	6093.2	9.25**	48.8	2.97*	21.5	1.33ns
Erro	57	1643.4		658.42		16.4		16.1	
CV		18.77		21.65		12.4		18.9	

DEAb = Densidad estomática Abaxial; IEAb = Índice estomático Abaxial; DEAd = Densidad estomática Adaxial; IEAd = Índice estomático Adaxial. CV= Coeficiente de variación, ns = no significativo ($P>0.05$), *significativo ($P<0.05$), ** altamente significativo ($P<0.01$).

Al analizar los valores medios de las características estudiadas (DEAb, IEAb, DEAd, IEAd), se encontró que las poblaciones diploides presentaron de 332.76 a 369.4 estomas/mm² en la superficie abaxial de la hoja, mientras que los tetraploides presentaron de 141.17 a 198.31 estomas/mm². En la superficie adaxial de la hoja los diploides mostraron de 154.62 a 201.67 estomas/mm², pero en los tetraploides se encontraron de 80.67 a 114.28 estomas/mm². Los diploides presentaron aproximadamente 52% más estomas abaxiales que los tetraploides, y en la parte adaxial los diploides presentaron 45% más estomas que los tetraploides. Los diploides en la parte abaxial de la hoja presentaron un índice estomático de 35.09 a 39.09%, mientras que en los tetraploides fue de 27.81 a 33.99%. El índice estomático adaxial en los diploides fue de 21.20 a 26.81% mientras que en los tetraploides fue de 17.18 a 23.74%, en este caso los mayores valores de densidad estomática coincidieron con los mayores valores de índice estomático (Tabla 4).

La comparación de medias mostró que todas las poblaciones diploides fueron iguales entre ellas en DEAb ($P>0.05$), pero diferentes a los tetraploides ($P\leq 0.05$). De la misma forma los diploides en la DEAd adaxial, también son estadísticamente iguales ($P>0.05$), pero los genotipos diploides 3 y 18 fueron iguales al tetraploide 4 y 20. En el índice estomático abaxial, todas las poblaciones fueron estadísticamente iguales, excepto el diploide 1 que fue diferente de los tetraploides 5, 12 y 17, en el índice estomático adaxial no se encontraron diferencias estadísticas entre poblaciones ($P>0.05$).

Tabla 4. Valores medios de densidad e índice estomático en superficies foliares de diploide y tetraploides de *Physalis ixocarpa*.

Pobl. y nivel de ploidía	DEAb Estomas/mm ²	DEAd Estomas/mm ²	IEAb %	IEAd %
1 Diploide	332.76 ^a	188.23 ^a	39.09 ^a	25.01 ^a
3 Diploide	349.57 ^a	178.15 ^{ab}	35.09 ^{ab}	21.67 ^a
13 Diploide	369.74 ^a	201.67 ^a	37.63 ^{ab}	26.81 ^a
18 Diploide	366.38 ^a	154.62 ^{abc}	37.85 ^{ab}	21.20 ^a
19 Diploide	356.29 ^a	184.87 ^a	37.02 ^{ab}	22.47 ^a
2 Tetraploide	171.42 ^b	100.84 ^{cd}	31.75 ^{ab}	21.26 ^a
4 Tetraploide	171.42 ^b	110.92 ^{bcd}	33.92 ^{ab}	22.42 ^a
6 Tetraploide	144.53 ^b	84.03 ^d	27.81 ^b	18.10 ^a
7 Tetraploide	171.42 ^b	100.84 ^{cd}	31.75 ^{ab}	20.63 ^a
8 Tetraploide	164.70 ^b	100.84 ^{cd}	29.18 ^{ab}	20.86 ^a
9 Tetraploide	178.15 ^b	90.75 ^{cd}	35.03 ^{ab}	20.62 ^a
10 Tetraploide	178.15 ^b	94.12 ^{cd}	30.09 ^{ab}	17.77 ^a
11 Tetraploide	188.23 ^b	87.39 ^{cd}	33.99 ^{ab}	23.74 ^a
12 Tetraploide	171.42 ^b	90.75 ^{cd}	31.18 ^{ab}	20.39 ^a
14 Tetraploide	154.62 ^b	104.20 ^{cd}	28.35 ^b	22.58 ^a
15 Tetraploide	181.51 ^b	104.20 ^{cd}	33.69 ^{ab}	19.07 ^a
17 Tetraploide	178.15 ^b	80.67 ^d	28.89 ^{ab}	17.18 ^a
	151.26 ^b	97.48 ^{cd}	30.61 ^{ab}	20.65 ^a
	141.17 ^b	100.84 ^{cd}	28.17 ^b	20.61 ^a
	198.31 ^b	114.28 ^{bcd}	31.76 ^{ab}	20.54 ^a
DMS	106.49	67.40	10.65	10.56

DEAb= Densidad estomática Abaxial; IEAb= Índice estomático Abaxial; DEAd= Densidad estomática. Adaxial; IEAd= Índice estomático Adaxial. *Letras diferentes indican diferencias significativas.

El análisis de varianza mostró diferencias significativas ($P < 0.01$) entre poblaciones para estas variables, indicando diferencias entre población diploides y tetraploides (Tabla 5). Las poblaciones diploides presentaron estomas más pequeños que los tetraploides tanto en la superficie abaxial como adaxial (Figura 2), ya que el promedio de la longitud de estomas en los diploides fue de 30.12 μm abaxial y 29.21 adaxial, mientras que el ancho de estomas fue de 20.68 μm abaxial y 16.92 adaxial, de igual forma los tetraploides presentaron una longitud promedio de 45.05 μm abaxial y 45.52 adaxial, para el ancho de estomas fue de 27.89 μm abaxial y 22.18 adaxial. Considerando lo anterior, las estomas de la superficie abaxial de los tetraploides fueron en promedio 45% más largos y 35% más anchos que las estomas de los diploides y las estomas de los tetraploides en la superficie adaxiales fueron 46% más largos y 27% más anchos que los estomas de los diploides.

Tabla 5. Cuadrados medios y valores de F de longitud y ancho de estomas de la superficie adaxial y abaxial de la hoja de poblaciones de tomate de cáscara de diploides y tetraploides.

FV	GL	LEAb	F	AEAb	F	LEAd	F	AEAd	F
Rep	3	28.11	2.39ns	7.04	1.62ns	18.72	0.89ns	3.52	0.58ns
Trat	19	182.28	15.51**	46.97	10.81**	154.21	7.35**	29.73	4.88n**
Error	57	11.75		4.34		20.99		6.09	
CV%		8.29		7.99		11.68		11.80	

LEAb= Largo de estomas Abaxiales; AEAb= Ancho de estomas Abaxiales; LEAd= Largo de Estomas, Adaxiales; AEAd= Ancho de estomas Adaxiales. CV= Coeficiente de variación, ns = no significativo, (P>0.05), *significativo (p<0.05), ** altamente significativo (p< 0.01).

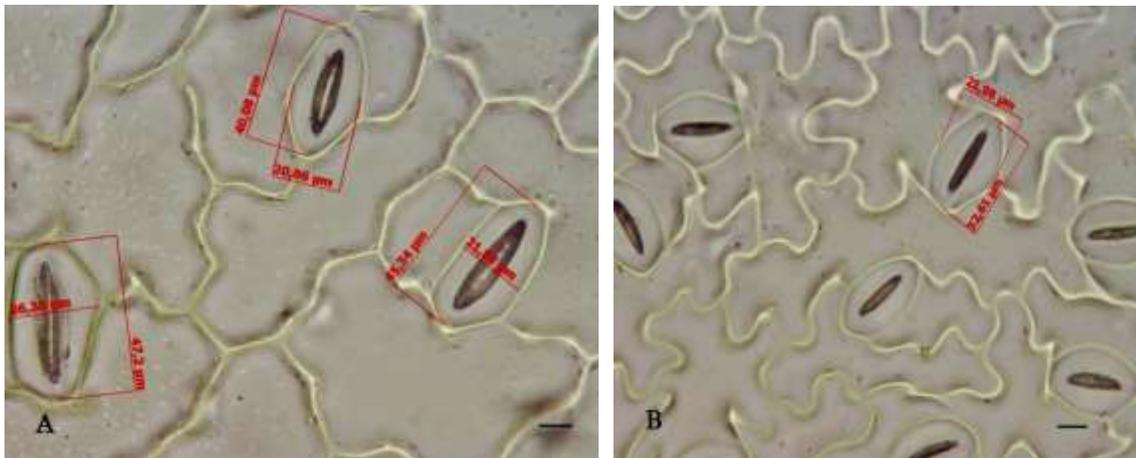


Figura 2. Impresiones de la epidermis de hojas de tomate de cáscara; distribución y tamaño de estoma, (A) autotetraploide (B) diploide, 40X. Escala 10µm.

La comparación de medias para el largo de estomas de la superficie abaxial muestra que los estomas de los diploides fueron más cortos y estadísticamente iguales entre sí (P>0.05), pero diferentes de los tetraploides (P<0.05). De igual forma fue el comportamiento para ancho de estomas abaxiales. Los estomas de la superficie foliar adaxial de los tetraploides fueron estadísticamente iguales (P≥0.05) en longitud. El ancho de estomas del adaxial no separa claramente los diploides de los tetraploides y el diploide 13 fue estadísticamente igual que los tetraploides (Tabla 6). Los tetraploides tienen mayores tamaños que los diploides, en este sentido se ha concluido que el tamaño estomático es proporcional a nivel de ploidía.

Tabla 6. Valores medios de largo y ancho de estomas de la superficie adaxial y abaxial de la hoja de tomate de cáscara diploides y tetraploides.

Poblaciones y nivel de polidía	LEAb	AEAb	LEAd	AEAd
1 Diploide	30.25 ^{b*}	20.86 ^{de}	32.03 ^{bcd}	18.08 ^{bcd}
3 Diploide	28.88 ^b	19.44 ^e	27.38 ^d	15.44 ^d
13 Diploide	29.18 ^b	21.80 ^{bcde}	31.60 ^{bcd}	18.89 ^{abcd}
19 Diploide	29.98 ^b	21.58 ^{cde}	26.32 ^d	16.02 ^{cd}
2 Tetraploide	32.31 ^b	19.74 ^e	28.74 ^{cd}	16.18 ^{cd}
4 Tetraploide	43.35 ^a	27.80 ^a	42.14 ^{ab}	21.43 ^{abcd}
6 Tetraploide	45.45 ^a	29.34 ^a	40.07 ^{abc}	20.10 ^{abcd}
7 Tetraploide	44.81 ^a	30.02 ^a	41.25 ^{ab}	22.13 ^{abc}
9 Tetraploide	43.85 ^a	27.25 ^{ab}	41.71 ^{ab}	20.60 ^{abcd}
10 Tetraploide	44.82 ^a	26.42 ^{abc}	43.51 ^{ab}	23.23 ^{ab}
11 Tetraploide	45.36 ^a	27.17 ^{ab}	43.09 ^{ab}	24.69 ^a
12 Tetraploide	44.91 ^a	25.59 ^{abcd}	41.41 ^{ab}	21.97 ^{abc}
14 Tetraploide	45.99 ^a	30.14 ^a	45.98 ^a	22.78 ^{ab}
15 Tetraploide	45.34 ^a	26.77 ^{abc}	45.04 ^a	23.15 ^{ab}
16 Tetraploide	9.00	5.47	12.03	6.48
DMS				

LEAb = Largo de estomas Abaxial; AEAb = Ancho de estomas Abaxial; LEAd = Largo de estomas Adaxial; AEAd = Ancho de estomas Adaxial. *Letras diferentes indican diferencias significativas a nivel (P ≤ 0.05) DMS = Diferencia mínima significativa.

DISCUSIONES

La duplicación del genoma en tomatillo produjo una reducción en la viabilidad del polen. Resultados similares encontraron Fernández (1987) y Arbo y Fernández (1983) en otras especies autopoliploides. Los porcentajes más bajos de viabilidad del polen observados en algunas poblaciones poliploides son el resultado de irregularidades meióticas que conducen a la producción de gametos no balanceados e inviables. He *et al.* (2010) mencionan que la duplicación del genoma juega un papel importante en el desarrollo de polen normal en arroz. De acuerdo con el criterio de Stebbins (1947) los autopoliploides están caracterizados por la presencia de multivalentes en meiosis, dando como consecuencia fertilidad reducida, por lo tanto, baja viabilidad de polen. González *et al.* (1992) menciona que la determinación de la viabilidad del polen permite hacer estimaciones confiables de la fertilidad, además de utilizarse para el estudio de incompatibilidades en los cruzamientos. En relación al diámetro de polen, se observó un aumento significativo en el tamaño de los autotetraploides en comparación con los diploides, además, el mayor tamaño del polen permitió corroborar el nivel de ploidia de los materiales diploides y tetraploides ya que de acuerdo con González *et al.* (2002), esta característica es un indicador de la ploidía en papa y constituye un método indirecto que permite la identificación de materiales diploides y tetraploides. Los estudios relacionados con la viabilidad del polen son de gran importancia en investigaciones relacionadas con la reproducción sexual, ya que permiten asegurar el éxito de las hibridaciones e incrementar la eficiencia del mejoramiento (González *et al.*, 2002). De acuerdo con los resultados de viabilidad de polen, los diploides fueron más viables que los tetraploides, por lo que, con la finalidad de asegurar la fecundación para obtener híbridos triploides, se utilizaron como

progenitores machos o donadores de polen a los diploides, ya que por su alta viabilidad de polen aumenta la posibilidad de fecundar el ovario y formar semilla que es el objetivo inicial de los cruzamientos. Rhodes y Zhang (2000) mencionan que la producción de semilla triploide en sandía se logra a través de cruzar una línea tetraploide como el componente femenino con una línea diploide como el donador de polen, la cruce inversa no produce semilla, además, encontraron que cuando los híbridos triploides de sandía llevan dos juegos de cromosomas del progenitor femenino tetraploide y uno del progenitor masculino diploide, pueden presentar más variedad y resistencia. Se encontró que los autotetraploides presentaron estomas más grandes, pero en menor cantidad por superficie foliar, en comparación con los diploides, coincidiendo con lo indicado por Borges (1971) quien señala que la densidad estomática en la superficie de las hojas es inversamente proporcional al nivel de ploidía y que el mayor tamaño de las células de los poliploides y de manera específica de las células oclusivas, es debido a que tienen núcleos con una dotación duplicada de cromosomas lo cual induce células más largas y más anchas, la densidad estomática en general se reduce así como la transpiración, por lo tanto los poliploides toleran mejor los ambientes más secos que los diploides. Valerio *et al.* (2002) observaron que los más bajos niveles de ploidía, presentaban densidades estomáticas más altas y además estomas reducidos. De acuerdo con Vandenhout *et al.* (1995), una alta densidad de estomas pequeños esta correlacionada con bajos niveles de ploidía. Por otro lado, Bethke y Drew, (1992); Cañizares *et al.*, (2003) mencionan que la densidad e índice estomáticos son afectados por condiciones estresantes, tanto ambientales como nutricionales, y además dependen de la superficie de la hoja y de la especie. Aunque Wilkinson (1979), indica que la densidad estomática es una característica de diagnóstico muy utilizada en sistemática de plantas, dado que generalmente se mantiene sin alteraciones. En este trabajo se observaron diferencias entre diploides y tetraploides a pesar de haberse desarrollado bajo las mismas condiciones ambientales, o bien las condiciones ambientales afectaron de forma diferente a los diploides y tetraploides. Por lo tanto, los resultados obtenidos permiten concluir que la duplicación del genoma en tomatillo promovió la reducción de la DE y el IE, pero aumentó el tamaño de estomas en las poblaciones autotetraploides estudiadas. En este caso los mayores valores de IE tanto de diploides como autotetraploides coincidieron con los mayores valores de DE, observados por Sanabria (2003). Aryavand *et al.*, (2003); Rêgo *et al.*, (2011) mencionan que la longitud de células guarda de los estomas, siempre es un método conveniente y confiable para la clasificación de plantas haploides, diploides y tetraploides, por lo tanto y de acuerdo con los resultados de tamaño y número de estomas por unidad de área, fue posible separar los diploides de los tetraploides en dos grupos diferentes.

CONCLUSIONES

Los autotetraploides estudiados presentaron estabilidad cromosómica, lo cual fue demostrado mediante estudio citogenético y por citometría de flujo. La poliploidía en *Physalis ixocarpa* afectó la viabilidad del polen, ocasionando pérdida de fertilidad, característica que podría ser mejorada por selección de plantas con apareamiento normal en meiosis, para incrementar la fertilidad de los autotetraploides. En los autotetraploides de tomate de cáscara se modificó la densidad y el tamaño de estomas, características importantes en procesos fisiológicos de las plantas, además se generaron plantas con caracteres morfológicos más vigorosos, variables de gran importancia en el mejoramiento de esta especie.

BIBLIOGRAFIA

1. Arbo MM, Fernández A. 1983. Posición taxonómica, citología y palinología de tres niveles de ploidía de *Turnera subulata* Sm. *Bonplandia* 5(23): 211-226.
2. Aryavand A, Ehdaie B, Tran B, Waines JG. 2003. Stomatal frequency and size differentiate ploidy levels in *Aegilops neglecta*. *Genetic Resources and Crop Evolution* 50: 175-182.
3. Barcelos CM, Kaltchuk SE, Mundstock EC, Bodanese ZMH. 2004. Initial segmentation patterns of microspores and pollen viability in soybean cultured anthers: indication of chromosome doubling. *Braz. Arch. Biol. Techn.* 47:703-712.

4. Bethke PC, Drew M. 1992. Stomatal and nonstomatal competens to inhibition of photosynthesis in leaves of *Capsicum annuum* during progressive exposure to NaCl salinity. *Plant Physiology* 99: 219-226.
5. Borges OL. 1971. Tamaño y densidad de estomas en clones cultivados y especies silvestres de Musa. *Agronomía Tropical* 21(2): 139 - 143.
6. Cantwell M, Flores J, Trejo A. 1992. Developmental changes and postharvest physiology of tomatillo fruits (*Physalis ixocarpa* Brot.). *Sci. Hortic-Amsterdam*. 50: 59-70.
7. Cañizares A, Sanabria ME, Rodríguez DA, Perozo Y. 2003. Características de los estomas, índice y densidad estomática de las hojas de lima Tahití (*Citruslatifolia Tanaka*) injertada sobre ocho patrones cítricos. *Revista Científica UDO Agrícola* 3 (1):59-64.
8. Cubero JI. 2003. Introducción a la mejora genética vegetal (2 ed.). Mundi-Prensa. España. 365 p.
9. Fernández A. 1987. Estudios cromosómicos en *Turnera* y *Piriqueta* (Turneraceae). *Bonplandia* 6: 1-21.
10. González MD, Ascencio MD, Hau PA, Mendez TV, Grimaldo JO, Santiaguillo HJF, Cervantes DL, Aviles MSM. 2011. Phenolic compounds and physiochemical analysis of *Physalis ixocarpa* genotypes. *Scientific Research and Essays* 6(17):3808-3814.
11. González ME, Estévez A, Rodríguez T. Álvarez M. 1992. Estudio de la fertilidad del polen en especies de papa. *Cultivos Tropicales* 13(1):70-73.
12. González ME, Estévez A, Castillo J, Salomón J, Moré O, Hernández MM. 2002. La calidad del polen: Requisito indispensable del mejoramiento tradicional de la papa en Cuba. *Revista Latinoamericana de la Papa* 13:75-94.
13. He YC, Wei Q, Ge J, Jiang AM, Gan L, Song ZJ, Cai DT. 2010. Genome duplication effects on pollen development and the interrelated physiological substances in tetraploid rice with polyploid meiosis stability. *Planta*. 232(5):1219-1228.
14. Pandey KK. 1957. Genetics of self-incompatibility in *Physalis ixocarpa* Brot. A new system. *American Journal of Botany* 44:879-887.
15. Parisod C, Holderegger R, Brochmann C. 2010. Evolutionary consequences of autopolyploidy. *New Phytol*. 186:5-17.
16. Peña LA, Molina GJD, Sahagún CJ, Ortiz CJ, Márquez SF, Cervantes ST, Santiaguillo HJF. 2008. Parámetros genéticos en la variedad ChF1 chapingo de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). *Revista Chapingo Serie Horticultura* 14(1):5-11.
17. Rêgo MM, Rêgo ER, Bruckner CH, Finger FL, Otoni W. C. 2011. In vitro induction of autotetraploids from diploid yellow passion fruit mediated by colchicine and oryzalin. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 107 (3):451-459.
18. Rhodes B, Zhang X. 2000. Hybrid seed production in watermelon. *Journal of new seeds* 1 (3-4):69-88.
19. Sanabria ME. 2003. Efecto de la irradiancia sobre la morfología, la anatomía, el crecimiento y el desarrollo de las estructuras vegetativas de *Heliconia latispatha* Benthamcv. Red Yellow-Gyro (Heliconiaceae). Trabajo de Ascenso presentado para optar a la categoría de Profesor Titular. Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado". Tarabana. Edo Lara. 72 p.
20. SAS, 2008. Statistical analysis system, versión 9.2. SAS Institute, Cary.
21. SIAP-SAGARPA, 2011. Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera, www.siap.sagarpa.gob.mx
22. Soares TL, Oliveira SS, Pereira CCMA, Almeida SSJ, Silva SA, Morais LLS, Hilo SE, Nunes JO. 2008. In vitro germination and viability of pollen grains of banana diploids. *Crop. Breed. Appl. Biot.* 8:111-118.
23. Stebbins GL. 1947. Types of polyploids: Their classification and significance. *Advances in Genetics* 1:403-429.
24. Stone JL, Thomson JD, Dent ASJ. 1995. Assessment of pollen viability in Hang- pollination experiments: A Review. *American Journal of Botany* 82(9): 1186-1197.

25. Valerio R, Lindorf H, García GE. 2002. Anatomía foliar comparada de ocho cultivares de banano con relación a la resistencia o susceptibilidad a la Sigatoka (Amarilla y Negra). *Agronomía Tropical* 52(4):507-521.
26. Vandenhout H, Ortiz R, Vuylsteke D, Swennem RR, Bai KV. 1995. Effect of ploidy on stomatal and other quantitative traits in plantain and banana hybrids. *Euphytica* 83:117-122.
27. Wilkinson H. 1979. The plant surface (mainly leaf). In: *Anatomy of Dicotyledons*. C.R. Metcfe y Chalk (eds.). Oxford Clarendon Press. London. p. 97-165.

DEGRADACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DE PLÁSTICOS PARA SU REUSO EN EL MEJORAMIENTO DE SUELOS

Erika Adriana Villeda Gutierrez, Lizzet Alcántara Trejo, Marcos Ignacio Jiménez Zúñiga Y Claudia Concepción Claverie Romero

Universidad Tecnológica de Tecámac
eavg.uttec@gmail.com

RESUMEN

Los plásticos son un residuo que se produce en grandes cantidades diariamente, si no se desechan de manera adecuada generan una gran problemática para el medio ambiente. Su degradación natural se da en un periodo de entre 100 y 1,000 años aproximadamente, haciéndolo un material de descomposición muy lenta y a largo plazo. Los productos de plástico que contaminan más, provienen del polietileno, que se deriva del gas natural y del petróleo; entre ellos, encontramos cables, hilos, tuberías, botellas de bebidas, bolsas, contenedores, entre otros. Debido a que los plásticos difícilmente pueden ser degradados por el entorno, se han generado algunos plásticos clasificados como biodegradables; sin embargo ninguno ha demostrado ser totalmente degradable de forma natural; por lo tanto, su eliminación es un problema ambiental de dimensiones considerables. La biorremediación es una técnica que emplea células o microorganismos capaces de acelerar la descomposición de residuos; tales como los plásticos. Algunos antecedentes muestran que bacterias del género *Pseudomonas* y hongos del género *Pleurotus*, son capaces de degradar estos residuos debido a que los emplean como única fuente de carbono. En la actualidad se usan otro tipo de tratamientos biológicos para acelerar el proceso de degradación de plásticos, la radiación UV y la degradación enzimática por peroxidasas son algunos de ellos. Resultados obtenidos de ensayos preliminares realizados en la Universidad Tecnológica de Tecámac muestran que los plásticos oxodegradables tratados con radiación UV, oxidación por peroxidasas y degradación con *Pseudomonas aeruginosa* incrementaron su degradación en un 30%. Por lo que el objetivo de este trabajo fue, evaluar el proceso de degradación de tres polímeros (PET, oxodegradable y unigel) empleando factores como la exposición a UV, degradación enzimática por peroxidasas (obtenida a partir de *Raphanus savitus*) y biológica por *Pseudomonas aeruginosa* y *Pleurotus ostreatus*. Para evaluar este proceso, se emplearon tres plásticos; PET, oxodegradable y unigel, que fueron sometidos a 3 esquemas de tratamientos: a) UV-peroxidasa-*Pseudomonas aeruginosa*, b) UV-peroxidasa-*Pleurotus ostreatus* y c) UV-peroxidasa- *Pseudomonas aeruginosa*-*Pleurotus ostreatus*. Los resultados del % de degradación obtenido considerando el tipo de plástico fue de más del 50% para PET y oxodegradable; el unigel mostró un % de degradación <10% en todos los esquemas empleados. Considerando los esquemas de experimentación, el tratamiento UV-peroxidasa-*Pseudomonas aeruginosa*-*Pleurotus ostreatus* alcanzó porcentajes de degradación mayores al 70 % para PET y oxodegradable. Esto nos muestra que el conjunto de tratamientos fisicoquímicos y biológicos favorecen el proceso de degradación de plásticos, lo que puede coadyuvar a reducir los efectos ambientales que este material puede generar.

INTRODUCCIÓN

Los procesos que se utilizan en la actualidad para implementar la biorremediación de suelos dependen de la acción de los microorganismos, de igual forma, depende su utilización de la forma en que se presenten los contaminantes y de la existencia de un organismo vivo que sea capaz de transformarlo.

Para llevar a cabo este proceso son usados los microorganismos, tales como: bacterias, algas, hongos, también pueden ser utilizadas plantas; (fitorremediación), o nemátodos; (vermiremediación). La utilización de la biorremediación es una solución y salvación para los seres vivos que se ven afectados por la contaminación de los ya dichos residuos, ya que consiste en la aplicación de procesos biológicos para eliminar químicos tóxicos presentes en el ambiente, o convertirlos en compuestos de menor toxicidad. Los principales agentes de remediación son las plantas (fitorremediación), los microorganismos y las asociaciones entre éstos. Adicionalmente, en muchas

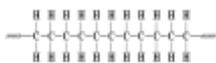
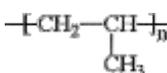
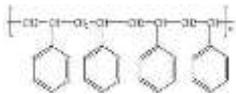
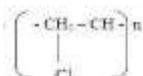
ocasiones la biorremediación se utiliza en conjunto con procesos físicos o químicos para mejorar la fiabilidad y eficacia de la desintoxicación; tales agentes de biorremediación son efectivos gracias a que sus componentes enzimáticos actúan como fuertes catalizadores que son capaces de modificar la estructura y las propiedades de los contaminantes; o incluso que pueden mineralizarlos completamente a productos inorgánicos inocuos. Debido a la gran problemática que existe con la cantidad de producción de polímeros contaminantes del medio ambiente y a su larga degradación de forma natural el uso de los microorganismos para mejorar la degradación de plásticos es entonces una herramienta que no puede ayudar a reducir este tipo de contaminación, de forma que obtengamos una degradación de tres plásticos con ayuda de un pre tratamiento de rayos ultravioleta, empleando también enzimas peroxidasas que ayudan a la deterioración de estos plásticos y con el tratamiento conjunto de *Pseudomonas aeruginosa* y *Pleurotus ostreatus* para poder darle un buen uso a estos desechos y transformarlos en algo benéfico para nuestro planeta.

TEORÍA

Los plásticos son materiales de origen orgánico y de elevado peso molecular, constituidos por largas cadenas de moléculas llamadas polímeros. Se obtienen principalmente a partir del petróleo y de gas natural. Presentan el inconveniente de que la mayoría no son biodegradables y constituyen un grave problema medioambiental. Químicamente son macromoléculas, lo que significa que tienen un alto peso molecular y que se forman por la unión de unidades moleculares discretas denominadas monómeros, las cuales están unidos entre sí mediante enlaces covalentes (Cedrón *et al.*, 2011; Muñoz, 2014).

Algunas características de los polímeros son: a) son sintéticos generalmente de naturaleza química hidrófoba, b) poseen una alta durabilidad y resistencia, c) suelen no tener un punto de fusión fijo y poseen en determinado intervalo de temperaturas características flexibles y moldeables y d) se calcula que pueden tardar entre 100 y 1000 años para degradarse dependiendo del tipo de plástico. Los plásticos se producen mediante un proceso conocido como polimerización, ya sea por adición o por condensación, formando grandes estructuras moleculares a partir de moléculas orgánicas, estas moléculas pueden ser lineales, ramificadas o entrecruzadas, dependiendo del tipo de temperatura del plástico. La diferencia entre ambas, es que en las reacciones de adición no se elimina ningún tipo de molécula al medio de reacción, mientras que las reacciones de condensación si se eliminan. En la tabla 1 se muestran los diversos tipos de plásticos de interés y algunas de sus características.

Tabla1. Tipos de plásticos.

Plástico	Estructura	Características	Usos
Polietileno (PE)		Termoplástico con cristalinidad del 50 a 60%, $P_m=110-115\text{ }^\circ\text{C}$ y $\rho=0.910-0.940\text{ g/cm}^3$.	En la fabricación de envases como botellas, cestos y bolsas.
Polipropileno (PP)		Excelente estabilidad térmica, ligero y resistente a tensión, compresión, álcalis y ácidos, $\rho=0.91\text{ g/cm}^3$.	Elaboración de juguetes, recipientes para alimentos, medicinas, ropa y electrodomésticos.
Poliestireno (PS)		Se obtiene de la polimerización del estireno, soluble en solventes como el benceno, tolueno, cloroformo y acetato de butilo.	Fabricación de envases y objetos diversos y ocupa el cuarto lugar de consumo global en el mundo.
Cloruro de polivinilo (PVC)		Termoplástico versátil y modifica sus propiedades con aditivos, $\rho=1.4\text{ g/cm}^3$.	En construcción, salud, electrónica, tuberías y revestimientos.

La mayoría de este tipo de plásticos tienen en común el tiempo de su degradación; este es sumamente largo, llegando a permanecer hasta más de 100 años. El último reporte realizado por la ONU (2018), menciona que alrededor de 13 millones de toneladas de plástico son vertidas en los

océanos cada año, así mismo reporta que de la contaminación total de estos, entre el 80–60 % de los residuos marinos son plásticos.

El uso indiscriminado de este material, la falta de regulación en su proceso de desecho y su amplia permanencia en el ambiente ha llevado a que en los últimos años se profundice en la investigación de diversos procedimientos que ayuden a que su degradación sea más rápida y así reducir los efectos ambientales que produce.

La degradación de los plásticos es un proceso dirigido a modificar la estructura del polímero para hacerlo vulnerable a otros factores fisicoquímicos y biológicos. Se caracteriza porque es un proceso irreversible que produce cambios en el polímero relacionado con la pérdida de su estructura química, de tal forma que las propiedades físicas del material se deterioran.

Entre las modificaciones de sus propiedades físicas se describe la pérdida de brillo y color, formación de grietas, aparición de zonas pegajosas, y endurecimiento. Los cambios químicos producidos van dirigidos fundamentalmente a la aparición de grupos funcionales que puedes hacer a las cadenas más hidrosolubles o que facilitan la ruptura de las cadenas macromoleculares.

Actualmente se conocen diversos procedimientos de degradación de plásticos: a) degradación térmica, b) por oxidación, c) por hidrólisis, d) por fotólisis y e) biodegradación (Vega-Baudrit *et al.*, 2006).

A)Fotólisis: es la transformación fotoquímica de una molécula en otras, usualmente de menor peso molecular, causadas por la absorción de UV, VIS o IR (290 y 350 nm); estas transformaciones normalmente se basan en reacciones de fotoadición, fotocicloaddición, fotoeliminación y fotoisomerización. Las reacciones químicas se producen bajo la influencia de la luz, puede tener lugar en la atmósfera, en la superficie del suelo y del agua. Uno de los factores que condicionan este proceso de forma natural es la intensidad de la radiación UV que, a su vez, depende de la época del año, hora del día, latitud, altura sobre el nivel del mar, la presencia de nubes y tamaño del agujero de la capa de ozono. Podemos decir que un plástico es fotodegradable cuando la degradación se produce como resultado de la luz natural.

B)Degradación térmica: consiste en la separación de las cadenas del polímero ocasionado por la acción de la temperatura, produciendo la ruptura de enlaces covalentes en la cadena o de los grupos laterales. Esta degradación causada por el calor conduce a un cambio significativo de la estructura fisicoquímica del material. La degradación térmica de un plástico depende fundamentalmente de la magnitud de la energía de los enlaces presentes en la molécula. Para que un material se degrade debe absorber una cantidad de energía superior a la energía de disociación de los enlaces, lo cual ocurre a temperaturas superiores a 400-600 ° C.

C)Degradación por oxidación: en este proceso, en su mayoría son reacciones de oxidación generadas por agentes oxidantes, siendo los más usuales el O₂ y O₃ de la atmósfera. El oxígeno genera radicales libres en el polímero, que pueden dar todo tipo de reacciones secundarias capaces de degradar la estructura química del mismo. En general los polímeros con carbonos terciarios son menos resistentes al oxígeno radicalario debido a la reactividad de los carbonos arílicos y terciarios.

D) Degradación por hidrólisis: es causada por la acción conjunta del agua y ácidos o bases fuertes. El agua penetra en la matriz polimérica y provoca “hinchamiento” o ruptura de puentes de hidrógeno intermoleculares, hidratación de las moléculas y finalmente la hidrólisis de los enlaces inestables. Esta ruptura puede ocurrir tanto en los grupos de la cadena principal como en los sustituyentes laterales. Sin embargo, el concepto degradación de polímeros se asocia a una disminución del peso molecular, por lo que es necesario que la cadena principal se rompa por varios puntos.

E)Biodegradación: es la descomposición aeróbica o anaeróbica de un material por acción enzimática de microorganismos tales como bacterias, hongos y algas bajo condiciones normales del medio ambiente. La mayoría de los plásticos son inmunes al ataque de microorganismos, levaduras y hongos, sin embargo se ha demostrado que aquellos que han sufrido primero una fotooxidación, son vulnerables a ciertos microorganismos y a las enzimas generadas por éstos.

En condiciones aerobias, los productos de la biodegradación son: CO₂ y H₂O, estos son absorbidos por la naturaleza y así se cierra el ciclo del C. Una vez que un que un producto cumple con su vida útil, pasa a la categoría de residuo y cuando es recuperado por la naturaleza a través de la biodegradación, el ciclo se ha completado y esa materia vuelve a entrar al proceso (Muñoz, 2014).

En la actualidad, la mayoría de los procesos de degradación de plásticos con objeto de biorremediación se han enfocado a proceso de biodegradación empleando bacterias y algunos hongos. Por esa razón se han identificado en este proceso las siguientes etapas:

1. Bio-deterioración: es una degradación superficial que modifica las propiedades mecánicas, físicas y químicas de un material dado. El biodeterioro es el resultado de la actividad de microorganismos que crecen en la superficie o dentro de un material dado.
2. Bio-fragmentación: se refiere a las acciones catalizadoras que rompen el polímero del plástico en oligómeros, dímeros o monómeros, gracias a la acción de enzimas.
3. Asimilación: es la integración de las moléculas transportadas por el citoplasma en el metabolismo microbiológico.
4. Mineralización: se refiere a la degradación completa de las moléculas, dando como resultado los productos de CO₂, N₂, CH₄, H₂O.

La habilidad de los microorganismos de utilizar cualquier sustrato depende de su crecimiento y adherencia a ese sustrato. La adhesión bacteriana, sea la superficie hidrofílica o hidrofóbica está gobernada por varios factores, incluyendo la fuerza con la que la bacteria se adhiere a la superficie, las propiedades del sustrato y el microorganismo. Generalmente, una bacteria hidrofóbica prefiere una superficie hidrofóbica para adherirse, y al revés si la bacteria es hidrofílica. La superficie del polietileno es hidrofóbica, por lo mientras más hidrofóbica es la bacteria, mayor interacción tiene con el polietileno. Una vez que microorganismo se adhiere a la superficie, comienza a crecer usando el carbón como fuente. En la degradación inicial, la principal cadena se rompe, llevando a la formación de fragmentos de bajo peso molecular (oligómeros, dímeros o monómeros). La degradación es hecha por las enzimas extracelulares secretadas por la bacteria. Estos componentes de bajo peso molecular son utilizados por los microbios como carbón y fuente de energía. Los oligómeros pequeños también pueden difundirse dentro del organismo y ser asimilado. Los últimos productos de la degradación son CO₂, H₂O y biomasa bajo condiciones aerobias. Microorganismos anaeróbicos pueden también degradar el polímero bajo condiciones anóxicas, es decir que carecen de oxígeno. Los productos principales también serán CO₂, H₂O, CH₄ y biomasa bajo condiciones metanogénicas, es decir en presencia de CH₄ o H₂S, CO₂, y H₂O en condiciones sulfogénicas, es decir en presencia de sulfuro (Dominique *et al.*, 2017).

En la tabla 2, se muestran algunas de las especies de hongos y bacterias que se han usado en proceso de biodegradación de plásticos.

Tabla 2. Microorganismos empleados en proceso de biodegradación de plásticos.

Dominio	Género	Especie
Bacteria	<i>Acinetobacter</i>	<i>baumannii</i>
Bacteria	Bacillus	sp
Bacteria	<i>Escherichia</i>	<i>coli</i>
Bacteria	<i>Pseudomona</i>	<i>aeruginosa</i>
Bacteria	<i>Staphylococcus</i>	<i>aureus</i>
Bacteria	<i>Streptococcus</i>	<i>lactis</i>
Bacteria	<i>Streptomyces</i>	sp
Bacteria	<i>Enterobacter</i>	<i>asburiae</i>
Bacteria	<i>Micrococcus</i>	<i>luteus</i>
Fungi	<i>Alternaria</i>	<i>alternata</i>
Fungi	<i>Penicillium</i>	sp
Fungi	<i>Pleurotus</i>	<i>ostreatus</i>

La especie *Pseudomonas aeruginosa* pertenece al super-reino *Bacteria*, filo *Proteobacteria*, clase *Gammaproteobacteria*, del orden *Pseudomonadaceae*, familia *Pseudomonadaceae*, genero *Pseudomonas*. Tiene varias aplicaciones biotecnológicas, sobre todo en el área ambiental. Así se sabe que es uno de los pocos organismos capaces de degradar alcanos de cadena ramificada que produce biosurfactantes que son útiles para la limpieza de suelos contaminados con hidrocarburos

o con metales pesados; y que produce enzimas, como la lipasa, con distintas aplicaciones potenciales. El género *Pseudomonas* es un microorganismo capaz de degradar rápidamente derivados de materiales como los plásticos, al someterse a un medio donde éste último sea la fuente principal de carbono.

P. aeruginosa, son bacilos G- rectos o curvos, que pueden aparecer asilados, en pares o en cadenas, con un diámetro de 0.6 a 2 μm . Son aerobios, no esporulados y móviles. Poseen 1 a 3 flagelos polares y muchas proyecciones en su pared denominadas fimbrias. Algunos poseen microcápsula. Crece con facilidad en los medios de cultivo y produce, en ocasiones, un olor "dulzón", o de uvas. Se desarrolla a temperatura entre 10-42°C, aunque su temperatura óptima de crecimiento es de 35-37°C. Algunas cepas producen hemólisis y emiten pigmentos de fenazina en agar nutritivo, después de 24 horas de incubación a 37°C, estos pigmentos pueden ser piocianina (azul), pioverdina (amarillo verdoso), piorrubina (rojo) y piomelanina (negro): aproximadamente un 10% de *P. aeruginosa* que son apigmentadas.

La bioquímica de *P. aeruginosa* indica que es oxidasa y catalasa positiva, no crece bajo condiciones ácidas (<pH 4.5), crecen en agar Mc Conkey, como no fermentadores de lactosa.

La morfología colonial, pigmentación y propiedades de movilidad de esta especie pueden ser bastantes heterogéneas. Aunque la colonia típica es alargada y plana, con el centro elevado, dándole una apariencia como de huevo frito, los cultivos pueden mostrar varios tipos de colonias: lisas, rugosas, mucoides, redondas, alargadas, su crecimiento a 42°C con formación de velo en medio líquido ayuda a distinguirla de otras especies, la mayoría crece en medios mínimos, sin factores orgánicos de crecimiento, usando los iones amonio como única fuente de nitrógeno y la glucosa como única fuente de carbono y energía (Muñoz, 2014; Broock, 2018).

Pleurotus ostreatus, es un hongo pluricelular macroscópico, de tamaño relativamente grande, comestible, perteneciente al grupo de los *Basidiomycota*, algunos de sus nombres comunes son champiñón ostra, gírgola, orellana, pleuroto en forma de ostra, seta de ostra, entre otros. Es un hongo saprofito o parásito débil, descomponedor del grupo de la podredumbre blanca que crece de forma natural en árboles como aliso, balsa y arce, principalmente en los valles de los ríos. Perteneció al reino y sub-reino fungi, de la división *basidiomycota*, subdivisión *basidiomycotina*, clase *himenomycete* del orden los *Agaricales*, familia *Trocholomataceae* y género *Pleurotus*.

Es un típico hongo agarical, que a menudo se encuentra recubierto de una capa micelial en la base y presenta carne delgada y blanca. El píleo cuando madura adquiere forma de concha, las láminas son blancas o de color crema en las cuales se disponen los basidios no tabicados con cuatro basidiosporas blanquecinas elípticas.

Pleurotus ostreatus posee un píleo regularmente de 4 a 13 cm de diámetro, aunque ocasionalmente puede presentar tamaños mayores de acuerdo a las condiciones de fructificación. La superficie superior puede presentar color variable según la intensidad de la luz, con tonos entre blanquecinos, grises o azulados. Su margen es suave, delgado, ondulado y ocasionalmente enrollado.

Muchas de los estudios realizados en este campo se enfocan a la degradación de un solo tipo de plástico, siendo el PET el que presenta un mayor enfoque en este campo (Estrada-Flores, 2011); así mismo los diversos procesos que se realizan emplean un o dos factores de degradación; es decir, emplean sólo microorganismos, o procesos fisicoquímicos como la exposición a luz UV (Estrada-Flores, 2011; César De Faria *et al.*, 2015; Gutiérrez-Vicencio *et al.*, 2018; Barabarán-Silva *et al.*, 2018; Medina *et al.*, 2018).

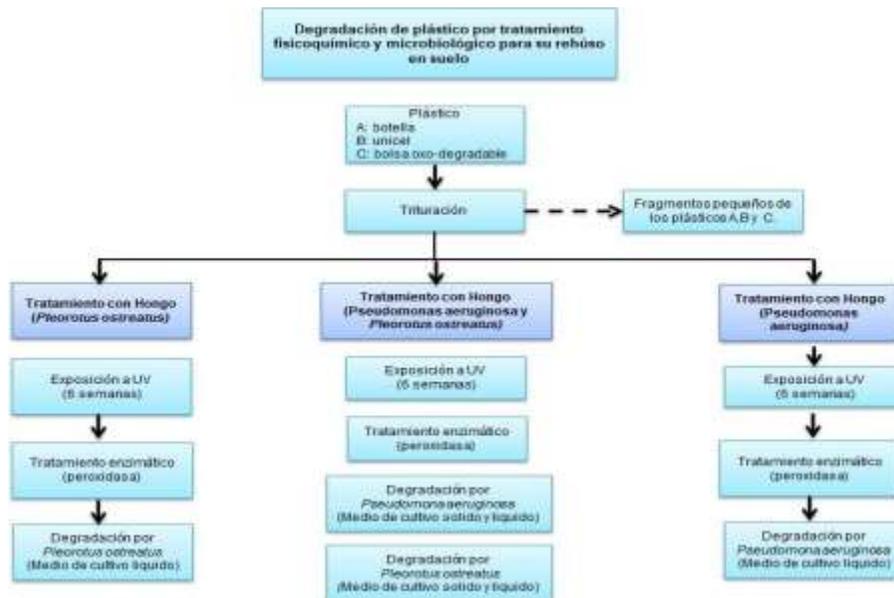
Considerando estos factores se realizó en 2016 un estudio preliminar en la Universidad Tecnológica de Tecámac combinando diversos tratamientos fisicoquímicos y microbiológicos para evaluar la degradación de plásticos oxo-degradables. En este primer estudio se empleó un tratamiento de luz UV a diferentes tiempos, una exposición a peroxidasas obtenidas a partir de rábano probada a diversas concentraciones y *P. aeruginosa*. Los resultados mostraron que el conjunto de los tres tratamientos sobre el plástico oxo-degradable incrementaba en un 35% la degradación del mismo. Estos resultados permitieron diseñar un proceso para evaluar el efecto degradativo empleando diversos tratamientos fisicoquímicos y microbiológicos sobre diversos tipos de plásticos. El objetivo final de este proyecto fue, evaluar el proceso de degradación de tres polímeros distintos empleando la exposición a UV como tratamiento físico, degradación enzimática por peroxidasas de *Raphanus*

savitus como tratamiento químico y degradación biológica por *Pseudomonas aeruginosa* y *Pleurotus ostreatus*.

PARTE EXPERIMENTAL

En la figura 1, se muestra el diagrama general del proceso metodológico.

Figura 1. Diagrama de flujo de proceso.



a) Trituración de plástico. Se emplearon 3 tipos de plásticos, unisel, PET (botellas) y oxo-degradable (bolsas). Estas se lavaron con agua y jabón común, posteriormente se secaron al ambiente y se trituraron en fragmentos pequeños con tijeras (Ver figura 2).

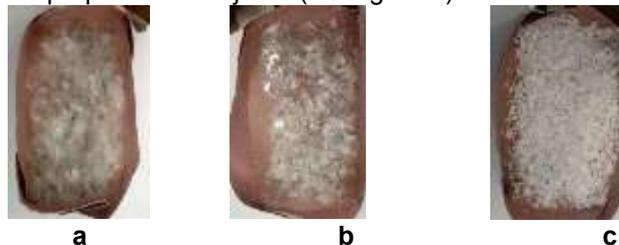


Figura 2. Plástico triturado, a) oxo-degradable, b) PET y c) unisel.

b) Obtención de la peroxidasa. La materia prima *Raphanus savitusen* (que no se encontrara en estado de descomposición), se lavó con agua y jabón de uso común y se secó a temperatura ambiente. Posteriormente se colocó en una licuadora (Osterizer clásica) con una solución de fosfato dibásico de potasio (K_2PO_4) al 0.1 M donde se trituraron a intervalos de 30 segundos por 5 minutos hasta obtener una mezcla homogénea. La mezcla obtenida se filtró con ayuda de gasas y un embudo de vidrio, el extracto obtenido se sometió a centrifugación en tubos Eppendorf a 4000 rpm por 20 min. Pasado este tiempo se separó el sobrenadante y se mantuvo en refrigeración a 4°C hasta su utilización (Ver figura 3).

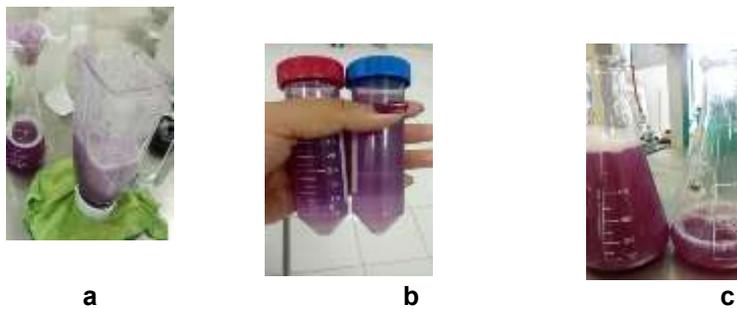


Figura 3. Obtención de la peroxidasa, a) molienda, b) centrifugado y c) filtrado.

c) Cultivo e identificación de *P. aeruginosa*. Se preparó medio de cultivo Agar y Caldo de Sal y Manitol, este se esterilizó en autoclave a 121°C/15 lb, por 15 minutos. Posteriormente se vaciaron 20 mL de agar en cajas Petri y 10 mL de caldo en tubos Erlenmeyer (por triplicado); se tomó una azada de un cultivo de *P. aeruginosa* y se sembró por estriado simple y por inmersión de asa respectivamente, posteriormente se incubaron por 48 horas a 37 ° C. Pasado este tiempo se realizó la identificación de *P. aeruginosa* por morfología macro y microscópica, tinción de Gram y por la prueba de catalasa y oxidasa.

d) Cultivo de *P. ostreatus*. Se realizó la compra de la semilla de *P. ostreatus* vía internet y se siguieron los procedimientos indicados en el instructivo para el cultivo. Se seleccionó la paja a emplear para que estuviera libre de humedad o de estado de putrefacción, posteriormente se cortó en trozos de 5-10 cm, se colocó en bolsas de polipapel, y se sometió a esterilización (autoclave a 121°C/15 lb, por 15 minutos). Se pesaron 100 g de semillas de *P. ostreatus* (Ver figura 4), y una vez estéril la paja se colocaron las semillas sobre esta, cubriéndolas con la misma; se incubó a 28°C durante un lapso de 21 días y se regaron con agua destilada diariamente.

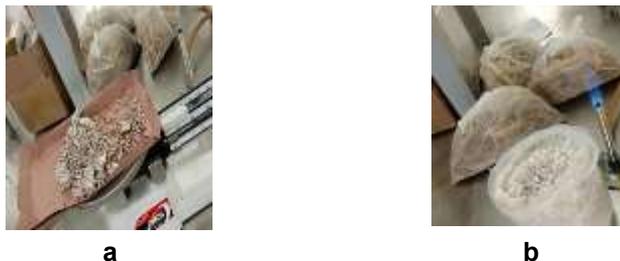


Figura 4. Cultivo de *P. ostreatus* a) semilla y b) materiales del cultivo.

e) Exposición a UV. El plástico triturado se colocó en contenedores por separado para su exposición a rayos UV de onda larga ($\lambda=300$ nm) por un periodo de seis semanas. Una vez terminado este periodo el plástico se guardó en frascos para aislarlo de la humedad y de la luz hasta su posterior tratamiento (enzimático).

f) Tratamiento enzimático. Después del tratamiento a UV (como indica el apartado e), se tomaron 4 g de cada plástico (por separado) y se vaciaron en un matraz Erlenmeyer (250 mL) y se adicionaron 5 mL de extracto enzimático (apartado b) por cada gramo de plástico. Posteriormente se cubrió cada matraz con papel aluminio para evitar la exposición a la luz y se dejó reposar 24 horas. Pasado este tiempo se filtró el contenido del matraz empleando papel filtro y se recuperó el plástico de prueba, este plástico recuperado se secó a temperatura ambiente por 3 días y se registró el peso final.

g) Tratamiento biológico. Para el tratamiento biológico se emplearon cepas de *P. aeruginosa* y *P. ostreatus* con tres esquemas de tratamientos:

g1. Ensayo de degradación de plásticos empleando UV-Enzima-*P. aeruginosa*. Se utilizó caldo y agar nutritivo enriquecido previamente esterilizado (autoclave a 121°C/15 lb por 15 min) en tubos y cajas Petri respectivamente. Se preparó un esquema por triplicado en medio líquido y sólido de tres concentraciones para cada uno de los tres plásticos de prueba recuperado del tratamiento previo con UV y enzima peroxidasa; las concentraciones de plástico empleadas fueron 0.05, 0.1 y 0.15 % de cada plástico. Una vez listos los tubos y cajas Petri, se adicionó 1 mL de las diluciones 1:10 y 1:100 (en agua estéril) de una asada anóxica de *P. aeruginosa*. Una vez inoculados los tubos se agitaron suavemente y en las cajas se realizó estriado masivo, posteriormente se incubó a 33 ° C por siete días. Se realizó el registro del peso de tubos y cajas Petri, a las 0, 24, 48, 72, 96, 120 y 124 horas. Pasados los 7 días se inactivaron los tubos y las cajas Petri y se filtró su contenido (c/u por separado) con papel Whatman de 45 µm de poro para recuperar el plástico de interés. El plástico retenido en el filtro, se lavó con agua estéril para quitar los residuos del medio de cultivo y se secaron en horno a 35°C/24 horas para eliminar los restos de humedad. Finalmente se pesó el plástico recuperado y se realizó el registro de todos los pesos finales.

g2. Ensayo de degradación de plásticos empleando UV-Enzima-*P. ostreatus*. Se empleó medio de cultivo caldo papa dextrosa previamente esterilizado (autoclave a 121°C/15 lb por 15 min). Se preparó un esquema por triplicado en tubos con el caldo papa dextrosa para cada uno de los tres plásticos de prueba recuperado del tratamiento previo con UV y enzima peroxidasa; las concentraciones de plástico empleadas fueron 0.05, 0.1 y 0.15 % de cada plástico. Una vez listos estos tubos se adicionó 1 mL de las diluciones 1:10 y 1:100 (en agua estéril) de una asada de *P. ostreatus*, se agitó suavemente y se incubó a 33°C por 7 días. Se registró el peso de los tubos a las 0, 24, 48, 72, 96, 120 y 124 horas. Pasados los 7 días se inactivaron los tubos y se filtró su contenido (c/u por separado) con papel Whatman de 45 µm de poro para recuperar el plástico de interés. El plástico retenido en el filtro, se lavó con agua estéril para quitar los residuos del medio de cultivo y se secaron en horno a 35°C/24 horas para eliminar los restos de humedad. Finalmente se pesó el plástico recuperado y se realizó el registro de todos los pesos finales.

g3. Ensayo de degradación de plásticos empleando UV-Enzima-*P. aeruginosa-P. ostreatus*. Se realizaron cultivos en medio sólido usando medio agar papa dextrosa previamente esterilizado (autoclave a 121°C/15 lb por 15 min), se vaciaron aproximadamente 20 mL en cajas Petri y antes de que solidificara, se adicionó el plástico recuperado del tratamiento g1 (con *P. aeruginosa*) a concentraciones de 0.05, 0.1 y 0.15 % por triplicado. Una vez que el medio solidificó se adicionó 1 mL de las diluciones 1:10, 1:100 (con agua estéril) de *P. ostreatus*, sembrando por estriado masivo. Posteriormente se incubó a 33°C por siete días. Se registró el peso de las cajas Petri a las 0, 24, 48, 72, 96, 120 y 124 horas. Pasados los 7 días se inactivaron las cajas y se filtró su contenido (c/u por separado) con papel Whatman de 45 µm de poro para recuperar el plástico de interés. El plástico retenido en el filtro, se lavó con agua estéril para quitar los residuos del medio de cultivo y se secaron en horno a 35°C/24 horas para eliminar los restos de humedad. Finalmente se pesó el plástico recuperado y se realizó el registro de todos los pesos finales.

RESULTADOS

Debido a que el tratamiento fisicoquímico y enzimático fueron comunes para los tres esquemas de degradación g1, g2 y g3, los resultados que se mostraran son sólo de estos esquemas de tratamiento biológico.

Es importante mencionar que con respecto a las dos diluciones empleadas para *P. aeruginosa* y *P. ostreatus*, la dilución que mostró resultados cuantificables en peso fue la dilución 1:10.

g1. Resultados del ensayo de degradación de plásticos empleando UV-enzima-*P. aeruginosa*.

En la tabla 3, 4 y 5, se muestran los porcentajes de degradación de los tres plásticos de prueba en este esquema de tratamiento.

Tabla 3. Degradación de PET empleando UV-Enzima-*P. aeruginosa*.

Concentración de plástico (%)	Tubo (n)	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Degradación (%)
0.05	1	0.150	---	---
	2	0.061	0.048	21.311
0.1	1	0.124	0.102	17.741
	2	0.121	0.097	19.834
0.15	1	0.181	0.134	25.966
	2	0.181	0.143	20.994

Tabla 4. Degradación de UNICEL empleando UV-Enzima-*P. aeruginosa*.

Concentración de plástico (%)	Tubo (n)	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Degradación (%)
0.05	1	0.063	0.023	63.492
	2	0.062	0.037	40.322
0.1	1	0.124	0.894	0
	2	0.122	0.137	0
0.15	1	0.182	0.443	0
	2	0.181	0.402	0

Tabla 5. Degradación de plástico OXO-DEGRADABLE empleando UV-Enzima-*P. aeruginosa*.

Concentración de plástico (%)	Tubo (n)	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Degradación (%)
0.05	1	0.062	0.047	24.193
	2	0.062	0.047	24.193
0.1	1	0.122	0.081	55.494
	2	0.120	0.062	48.333
0.15	1	0.182	0.106	41.758
	2	0.181	0.063	65.193

Considerando estos resultados podemos observar que con respecto a los tipos de plásticos empleados, el unicel no muestra degradación por tratamiento UV-enzima-*P. aeruginosa* y el mayor porcentaje de degradación lo presenta el plástico oxo-degradable con una degradación de hasta 50% más (en promedio).

g2. Resultados del ensayo de degradación de plásticos empleando UV-Enzima-*P. ostreatus*.

En la tabla 6, 7 y 8, se muestran los porcentajes de degradación de los tres plásticos de prueba en este esquema de tratamiento.

Tabla 6. Degradación de PET empleando UV-Enzima-*P. ostreatus*.

Concentración de plástico (%)	Tubo (n)	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Degradación (%)
0.05	1	0.060	0.041	31.666
	2	0.064	0.045	29.687
0.1	1	0.122	0.103	15.573
	2	0.122	0.103	15.573
0.15	1	0.181	0.131	16.022
	2	0.182	0.154	15.384

Tabla 7. Degradación de UNICEL empleando UV-Enzima-*P. ostreatus*.

Concentración de plástico (%)	Tubo (n)	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Degradación (%)
0.05	1	0.065	0.032	50.769
	2	0.063	0.022	65.077
0.1	1	0.126	0.214	0
	2	0.124	0.048	61.290
0.15	1	0.186	0.804	0
	2	0.182	0.757	0

Tabla 8. Degradación de plástico OXO-DEGRADABLE empleando UV-Enzima-*P. ostreatus*.

Concentración de plástico (%)	Tubo (n)	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Degradación (%)
0.05	1	0.064	0.027	57.812
	2	0.062	0.015	75.806
0.1	1	0.122	0.046	62.295
	2	0.124	0.038	79.459
0.15	1	0.183	0.056	69.398
	2	0.185	0.126	32.972

Con respecto a los tipos de plásticos empleados por tratamiento UV-enzima-*P. ostreatus*, el mayor porcentaje de degradación lo presenta el plástico oxo-degradable con una degradación de hasta 60% más (en promedio).

g2. Resultados del ensayo de degradación de plásticos empleando UV-Enzima-*P. aeruginosa -P. ostreatus*.

En la tabla 9 se muestran los resultados del tratamiento empleando UV-Enzima-*P. aeruginosa -P. ostreatus*.

Tabla 9. Degradación de los 3 plásticos bajo esquema de degradación completo.

Concentración de plástico (%)	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Degradación %
PET			
0.05	0.062	0.017	72.580
0.1	0.122	0.054	59.016
0.15	0.181	0.083	54.143
UNICEL			
0.05	0.062	0.137	0
0.1	0.125	0.385	0
0.15	0.182	0.738	0
OXO-DEGRADABLE			
0.05	0.063	0.010	84.126
0.1	0.126	0.024	80.952
0.15	0.183	0.040	78.142

Estos resultados nos muestran que considerando los tres esquemas empleados, el % de degradación es mayor empleando a ambos microorganismos, alcanzando hasta un 80% de degradación en plásticos como el oxo-degradable y 70% en PET. Podemos observar también que el unicel no es un tipo de plástico susceptible a este tipo de degradación.

Así mismo con este tratamiento se pudieron observar algunos cambios físicos de los plásticos empleados, como cambio en color y transparencia (Ver figura 5).

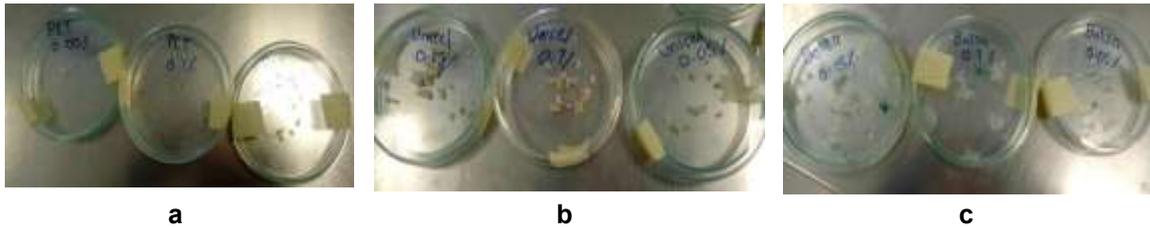


Figura 5. Cambios físicos de los plásticos en tratamiento UV-enzima-*P. aeruginosa*-*P. ostreatus*, a) PET, b) UNICEL y c) OXO-DEGRADABLE.

CONCLUSIONES

- La obtención de peroxidasa se obtuvo por métodos físicos obteniendo un rendimiento prácticamente del 100% y manteniendo su actividad de peroxidasa por un mes.
 - La identificación de *Pseudomonas aeruginosa* que se realizó por métodos bioquímicos lo que confirmó su presencia en el inóculo para su posterior el uso.
 - El proceso de cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus* se favoreció en medio paja, bajo condiciones estériles y con un sistema de riego bajo, su identificación se realizó por las características del micelio.
 - De los tres esquemas de degradación para los plásticos de prueba que (g1. UV- enzima- *P. aeruginosa*, g2. UV-enzima- *P. ostreatus* y g3. UV- enzima-*P. aeruginosa*-*P. ostreatus*), se mostró que la eficiencia de degradación de los plásticos de interés fue mayor en el sistema g3. UV-enzima-*P. aeruginosa*-*P. ostreatus*, alcanzando un % de degradación del 80% tanto en el medio empleado.
 - De los 3 plásticos de interés, oxo-degradable, PET y unigel, se probó que los sistemas de degradación empleados fueron más eficientes para el plástico oxo-degradable y PET, en ambos con % de degradación mayores al 50%. Sin embargo el % de degradación para unigel fue menor al 20%. De esta forma podemos concluir que el sistema UV-enzima-*P. aeruginosa*-*P. ostreatus* es un sistema que nos permite tener un excelente proceso de degradación para plásticos como *PET* y los *oxo-degradables*, alcanzando % de degradación de los mismos de hasta el 80%
- En una segunda fase del proyecto, se pretende determinar la cantidad de nitrógeno producido en medio líquido del sistema de degradación UV-enzima-*Pseudomonas aeruginosa*-*Pleurotus ostreatus*, para considerar el rehúso de la biomasa generada como agente enriquecedor de suelos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Muñoz Inostroza S.C (2014) Degradación de polímeros de interés industrial utilizando una mezcla de *Pseudomonas aeruginosa*, *Cladosporium sp* y *Alternaria sp*. Tesis para optar al título profesional de Tecnólogo Médico. Universidad Santo Tomás Tecnología Médica, Santiago, Chile. 2016.
2. Cedrón J., Landa V., Robles J. Química general. Universidad Pontificia de Lima. Perú. 2011.
3. <http://corinto.pucp.edu.pe/quimicageneral/contenido/82-polimeros.html>.
4. Vega-Baudrit J., Sibaja-Ballesteros M., Hernández-Hernández M. E. y Alvarado-Aguilar P. Síntesis y caracterización de redes elastomérica de poliuretano empleado en la fabricación de calzado. Rev. Iberoamericana de polímeros. Vol. 65, 4, 2006 pp. 65-89.
5. Dominique V., Michelle R., Jasuri H. y Vianka O. Biodegradación bacteriana de polietileno, propuesta de aplicación. Rev. De Iniciación científica. 6, 2017 pp.45-85.
6. Estrada-Flores J. D. Alternativas de Biodegradabilidad del PET. Tesis para obtener la especialidad de Química Aplicada. CIQA. México. 2011.
7. Gutiérrez-Vicencio J. P., Flores-Villavicencio L. L., Villagómez-Castro J. C. Estudio de la degradación de PET por consorcios fúngicos. Rev. de divulgación científica. Vo. 4, 1, 2018 pp 441-446.

8. Barbarán-Silva H. M., Cabanillas-Paredes L. J. y Rubio-Rodríguez Y. E. “Biodegradación de polietileno tereftalato (PET) por acción de *Pseudomonas aeruginosa*, en condiciones de laboratorio”. Tesis para obtener el título profesional de ingeniera ambiental. Facultad de Ingeniería, Universidad Cesar Vallejo. Perú. 2018.
9. Medina J., Rochea Y., Maldonado O., Hernández J. C. y Zapata C. Hydrolytic degradation and biodegradation of binary mixes of polylactic acid (PLA) with plastic residues. Rev. Ing UC. Vol. 25, 2, 2018, pp. 248 – 258.
10. Organización de las Naciones Unidas. 2018. ONU. www.onu.mx

APLICACIÓN ESPECIALIZADA EN EL CUIDADO DE ÁRBOLES FRUTALES CRECE CONMIGO

Portales González Claudia Deyanira, Chávez Castro Gricelda, Esquivel Lozano María Magdalena
Anguiano Corpus Ana María, Martínez Gaytán Dariela y Velázquez Martínez Yasmín

Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de la Región Carbonífera
9328@rcarbonifera.tecnmx.mx, 9815@rcarbonifera.tecnmx.mx, 2231@rcarbonifera.tecnmx.mx,
2405@rcarbonifera.tecnmx.mx, 171A0322@rcarbonifera.tecnmx.mx
171A0359@rcarbonifera.tecnmx.mx.

RESUMEN

La presente investigación consiste en una aplicación que se encargará de brindar la información indispensable para el buen desarrollo de los árboles frutales, proporcionando información necesaria para plantarlos y obtener mejores frutos.

Para esta aplicación son necesarios los recursos tecnológicos, así como el conocimiento del lenguaje de programación C# y el uso de la plataforma Xamarin Forms.

La app consiste en buscar el árbol del cual se quiere llevar un registro, luego de esto brindará información sobre el nombre común y científico, así como descripción, fruto, propiedades medicinales y cuidados.

El tipo de investigación utilizado fue experimental, donde los factores controlables son el agua con que se riega el árbol y los no controlables son el clima, la exposición al sol y las plagas, por último, están las variables de respuesta que son el crecimiento de la planta o que pueda llegar a estancarse. La técnica de investigación se plantea sobre si se obtendrá el crecimiento y frutos del árbol ó si no funcionará la app, sin embargo, el tiempo de crecimiento varía de acuerdo al tipo de árbol.

En la aplicación especializada en el cuidado de árboles frutales “Crece Conmigo” primordialmente nos enfocamos en varias necesidades muy importantes; como lo son el cuidado del medio ambiente, preservar árboles, concientizar a las personas sobre la existencia y reproducción de que más árboles nos favorecen no solo en el entrono sino en nuestra propia vida.

La manera en que daremos a conocer nuestra app, será mediante la publicidad, donde las compras y ventas se realizarán en línea, dando mayor oportunidad que le gente conozca de nuestros servicios y/o herramientas que esta misma brinda.

Por otra parte, en los resultados de las pruebas estadísticas se mostró un número sustancioso de personas con gusto por los árboles frutales, otras que tienen por lo menos un árbol frutal y que además cuentan con un dispositivo android para poder descargar la aplicación especializada en el cuidado de árboles frutales “Crece Conmigo”.

El proyecto se encuentra en la etapa de crecimiento, la aplicación ya está elaborada y esta cuenta con información de distintos árboles frutales que se dan en la región y sus alrededores, además de que ya se realizaron algunas pruebas para verificar su función, las cuales dieron un resultado positivo y satisfactorio.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad con el avance científico y tecnológico, salen a la luz novedosas aplicaciones para dispositivos móviles que son cada vez más fáciles y cómodas, por lo que ahora muchas operaciones se realizan a través del uso de teléfonos inteligentes e internet, lo cual ayuda a mejorar y facilitar muchos aspectos de nuestra vida diaria, desde el almacenamiento de datos personales, la adquisición de productos y servicios de una manera sencilla, rápida y desde la palma de nuestra mano y en cualquier ubicación, por lo que es lógico que las ventajas superan por mucho los inconvenientes.

Gracias a las facilidades de acceso a internet y a los avances tecnológicos, las aplicaciones móviles son muy utilizadas actualmente debido a que los teléfonos inteligentes cuentan con sistemas operativos que facilitan el desarrollo de aplicaciones gratuitas que se pueden instalar en el dispositivo móvil sin ningún problema.

Teniendo en cuenta el crecimiento que está teniendo el mercado de aplicaciones móviles y al realizar un análisis de los beneficios que ofrece la tecnología, se propuso una aplicación móvil que se enfoca específicamente en el cuidado de árboles frutales “Crece Conmigo”, la cual se encargará de brindar la información indispensable para plantar, cuidar y de esta forma obtener un mejor desarrollo de los árboles frutales, de una manera más práctica para obtener excelentes frutos. El objetivo de la aplicación es que el árbol obtenga una buena calidad de frutos.

TEORÍA

Para la creación de esta aplicación primero se visualizó el problema que se quería resolver, las oportunidades, opciones y/o apoyos existentes para poder lograr nuestros objetivos, así como las amenazas externas, las debilidades y especialmente la competencia.

Existen aplicaciones similares a la nuestra donde se ha recabado información acerca de árboles, flores y plantas donde se dispone por medio de una base de datos información sobre la especie que se desea conocer, algunos incluyen glosarios, mapas de distribución, fotografías, información científica sobre estos en distintos idiomas, otros incluyen test para verificar qué es lo que ha aprendido el individuo al interactuar con la variedad de información presentada por los distintos medios virtuales.

Estas aplicaciones que serían vistas como competencia para la nuestra están más enfocadas, abarcando la información de la vegetación anteriormente mencionada de una manera más general, no tienen un fin específico y/o especial, solamente el proporcionar información de la planta, flor o árbol seleccionado (a), el único conocimiento que se tendrían sería la identificación de la misma.

La aplicación especializada en el cuidado de árboles frutales “Crece conmigo” se enfoca en varias necesidades muy importantes como lo son el cuidado del medio ambiente, preservar árboles, concientizar a las personas que todo lo anterior favorece no sólo en el entorno sino en nuestra propia vida, además de que a través de esta app se puede fomentar el desarrollo económico convirtiéndose en una herramienta virtual útil para las personas que se dedican a cultivar frutos por todos los apartados que esta facilita, basándonos en la información que nos proporcionan los libros y principalmente el internet.

De esta manera fue más sencillo recopilar la información necesaria para completar nuestro catálogo de árboles frutales.

Nos enfocamos únicamente en los árboles frutales porque son una especie que beneficia en otros aspectos, pues con su plantación ayuda también al medio ambiente, su crecimiento motiva a las personas a ocuparse e interesarse más en ellos, cómo cuidarlos, qué beneficios o diferencias tienen de otros de su especie, su fruto sirve para consumo propio y para la comercialización según la finalidad que le quiera dar cada persona.

Después de una indagación, podemos definir que nuestro servicio tiene un amplio mercado que probablemente hará que se expanda en la región carbonífera y fuera de ella, pues existe un mercado potencial, ya que se podría dar un enfoque en el área industrial.

Dentro de los objetivos generales está, lograr que las personas tengan un amplio conocimiento y desarrollen mayor interés sobre el tema, generar una mejor sociedad y ayudar al medio ambiente con el hecho de que haya más árboles plantados, conectar más al hombre con la naturaleza y promover la interacción con la tecnología, alcanzar y promover un desarrollo sustentable.

Los objetivos específicos a corto plazo son, la aceptación de la aplicación en el mercado, así como tener respuestas favorables en cuanto al servicio brindado.

A mediano plazo, sería apoyar y promover el cultivo de frutos, ofrecer mayor conocimiento sobre los árboles frutales.

Y a largo plazo, es generar un mejor medio ambiente, siendo una herramienta útil tanto para agricultores y/o principiantes en el tema.

Este proyecto es muy útil ya que ofrece una aplicación más completa que algunas ya existentes no tienen, pues su prioridad es que los árboles sigan con vida y el desarrollo de su fruto se lleve a cabo con éxito; además de que se dirige únicamente a los árboles frutales, un área muy productiva en varios aspectos ya sea para consumo propio u otras actividades como el cultivo de estos con otros fines.

El propósito de este proyecto es lograr mejoras en 3 ámbitos importantes como lo son la economía, la sociedad y el medio ambiente, pues consideramos que la aplicación puede brindar apoyo a estos aspectos de manera simultánea.

A través de la aplicación especializada en el cuidado de árboles frutales "CRECE CONMIGO" se puede promover la economía siendo esta una herramienta virtual útil para los productores, comerciantes y/o consumidores de frutos; en cuanto a la sociedad, las personas se interesarían más sobre el cuidado y la preservación de los árboles logrando un buen impacto social y ambiental beneficiando del mismo modo a la naturaleza al cultivar mayor cantidad de árboles haciendo crecer la vegetación.

El cuidado del medio ambiente es una labor que nos corresponde a todos y esta es una forma en la que podemos ayudar para que el deterioro del planeta sea cada vez menor, siendo posible mejorar el entorno si ponemos en práctica algunas acciones ecológicas, como nuestra propuesta.

"Tenemos que aprender a entender a la naturaleza y no ir en contra de ella" Flavio Orta, especialista en biología, desarrollo sostenible y cambio climático.

PARTE EXPERIMENTAL

Son necesarios los recursos tecnológicos, para la elaboración de la aplicación, se necesita el conocimiento del lenguaje de programación C# y el uso de la plataforma Xamarin Forms.

Primero, se verificó que la aplicación funcionara para poder utilizarla y ponerla en práctica. Después se buscó a una persona que tuviese un invernadero, huerto o que plantase árboles frutales específicamente para poder hacer la aplicación de campo.

Al encontrarla se le pregunto si le parecía una buena idea hacer una prueba con la aplicación especializada en el cuidado de árboles frutales "CRECE CONMIGO", y esta acepto de inmediato, se le explico cómo debía de utilizar la app para que no tuviese problemas y que en caso de alguna duda podía contactarnos.

La app consiste en buscar el árbol del cual quieres llevar el registro, luego de esto la app te brindara información sobre el nombre común, nombre científico, descripción, el fruto, las propiedades medicinales y cuidados.

La persona encargada debe observar los cambios en el árbol para especificar si este obtuvo un beneficio al utilizar la aplicación especializada en el cuidado de árboles frutales CRECE CONMIGO. Por otra parte, la prueba de campo se realizó a base de un árbol de limones el proceso que se efectuó primeramente fue plantar el árbol, luego de eso se empezó a registrar cada vez que se le regara agua, y misma te notifica si le falta o no.

Este proceso fue realizado por aproximadamente 1 mes ya que árbol había sido plantado con anterioridad, pero aún no daba los frutos esperados.

Conforme paso el tiempo se notó que el árbol empezó a dar señales del brote de los limones. En el diseño experimental los factores controlables son el agua que se le agrega al árbol y lo que no son controlables es la exposición al sol y las plagas. Esto se enfoca en el proceso del crecimiento del árbol frutal. Y por último están las variables de respuesta son el crecimiento de la planta o que pueda llegar a estancarse.

La técnica de investigación se plantea sobre si se obtendrá el crecimiento y frutos del árbol o si no funcionara la app, de ahí se mantiene el registro de esta en la aplicación para seguir el proceso que se determinó con anterioridad. Sin embargo, el tiempo de crecimiento varía de acuerdo al tipo de árbol.

Crece Conmigo: Agregar

Datos de la planta



Nombre: Durazno

Nombre científico: (Opcional)

Fruto: prueba

Propiedades: prueba

Descripción: prueba

Cuidados: prueba

Registrar planta

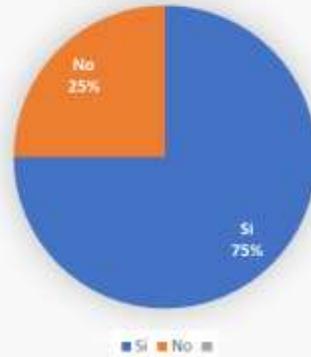




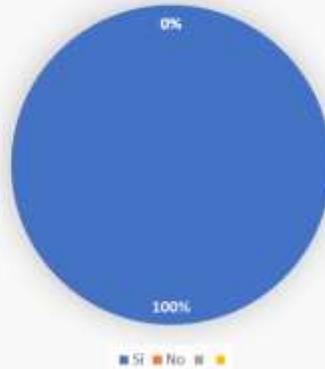
Encuesta:



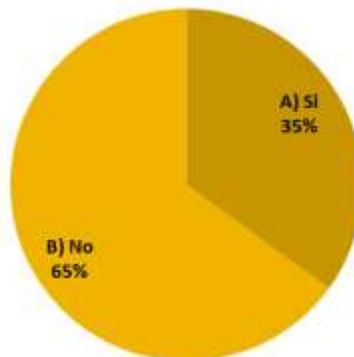
3. ¿Consume frutas directamente de un árbol?



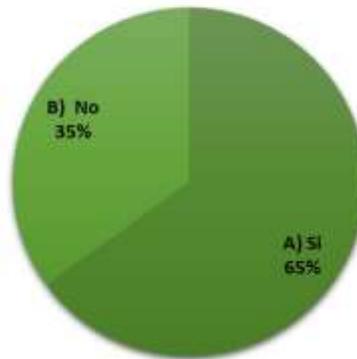
4. ¿Le interesa ayudar al medio ambiente?



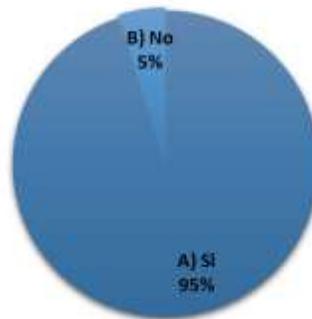
5.- ¿suele utilizar aplicaciones?



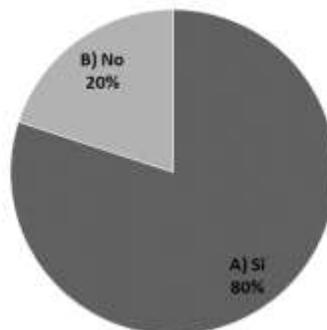
6.-¿Su dispositivo movil es ANDROID?



7.-¿ Estaría interesado en probar una App para ayudar al crecimiento de los árboles?



8.-¿pagaría por dicha App?



RESULTADOS

Por otra parte, en los resultados de las pruebas estadísticas se mostró un número sustancioso de personas con gusto por los árboles frutales, otras que tienen por lo menos un árbol frutal y que además cuentan con un dispositivo android para poder descargar la aplicación especializada en el cuidado de árboles frutales “CRECE CONMIGO”

La persona con la que se realizó esta práctica afirmó el funcionamiento de esta aplicación ya que fue de gran beneficio, así como también para su árbol de durazno.

En cuanto a nuestra investigación de mercado por medio de encuestas y entrevistas obtuvimos los resultados sobre cuáles son nuestros clientes potenciales, quienes resultaron ser los adultos y adultos mayores, sin embargo, nuestro objetivo no es solo abarcar a dichos clientes sino interesar a las personas más jóvenes a el cultivo de árboles frutales y el cuidado del medio ambiente y de esta forma incrementar nuestras ventas y nuestra extensión de mercado.

El proyecto ayudará en el sector productivo de manera que tiene una función de cosechar frutos permitiendo así una mejor producción para los agricultores de estos árboles.

Algunas de las responsabilidades en los resultados del proyecto se enfocan primero en beneficiar al medio ambiente, principalmente porque se trata de una aplicación y de esta forma no contamina y en segundo plano porque está contribuyendo a la cosecha de frutos mediante árboles. Promoviendo la economía de los comerciantes y productores. También como el aumento de vegetación en el ecosistema.

CONCLUSIONES

Esta aplicación es un dispositivo que ayudara con el cuidado de árboles frutales. La aplicación especializada en el cuidado de árboles frutales guiará por medio de información sobre el tipo de árbol frutal se requiera, proporcionando su nombre común, nombre científico, la descripción del fruto, sus propiedades y métodos de cuidado más adecuados.

La manera en que daremos a conocer nuestra app será mediante la Publicidad, donde las compras y ventas se realizaran por Online, dando más campo y oportunidad que la gente conozca de nuestros servicios y/o herramientas que esta misma brinda.

El proyecto se encuentra en la etapa de crecimiento, la aplicación ya está elaborada y esta cuenta con información de distintos árboles frutales que se dan en la región y sus alrededores, además de que ya se realizaron algunas pruebas para verificar su función las cuales dieron un resultado positivo y satisfactorio, sin embargo, aún no se coloca en ninguna plataforma para su venta

BIBLIOGRAFÍA

1. Gómez-Pompa, A. 1999. La conservación de la biodiversidad en México: mitos y realidades: mitos y realidades. Bol. Soc. Bot. México. 63:33-41
2. Ortega Rodríguez, Sergio A. 1981. Métodos y Epocas de Corte de Candelilla. Primera reunión nacional sobre ecología, manejo y domesticación de las plantas útiles del desierto. Monterrey, N.L. del 27 al 31 de enero de 1980.
3. Vizcarra Hidalgo, Luz Elvira. 1981. Comercialización y Aspectos Socioeconómicos del Cultivo del Guayule en México. Primera reunión nacional sobre ecología, manejo y domesticación de las plantas útiles del desierto. Monterrey, NL. del 27 al 31 de enero de 1980. Publicación Especial, SARH,/INIF (31): 331-336.
4. Iglesias, Gutiérrez L., J.A. Prieto Ruíz y M. Alarcón Bustamante. 1996. La propagación vegetativa de plantas forestales. Ciencia Forestal en México 21(79): 15-41.
5. Maldonado Aguirre, Lorenzo Jaime. 1991. El Rol de los Sistemas Agroforestales en Zonas Áridas y Semiáridas (experiencia en latinoamérica). Universidad Autónoma de Nuevo León. Fac. de Ciencias Forestales. Linares, N.L., México. Reporte Científico No. Especial 6.
6. Vázquez-Yanes, Carlos y Ana Batis-Muñoz, 1996. Adopción de árboles nativos valiosos para la reforestación ecológica y la reforestación. Boletín de la Sociedad Botánica Mexicana 58:75-84
7. <https://arbolesfrutales.org>

8. <https://gtush.com/arboles-frutales>
9. <https://1001consejos.com/12-mejores-arboles-frutales/>
10. <https://www.arbolesfrutales.info/arboles-frutales-cuidado/>
11. <https://disfrutaconelhuertoyeljardin.blogspot.com/2013/03/arboles-frutales.html>

BIOFUNCIONALIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ORO PARA SU APLICACIÓN EN BIODETECCIÓN

Juan de Dios Collazo Urbano¹, Lérica Liss Flores Villavicencio², Juan Luis Pichardo Molina³, Julio Cesar Villagómez Castro², Francisco Martín Huerta Martínez⁴, Cecilia Neri Luna⁴, Sanjuana Sánchez Ramos⁵ y José Pedro Castruita Domínguez⁴

¹Universidad de Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas, ²Departamento de Biología, DCNE, Universidad de Guanajuato, ³Centro de Investigaciones en Óptica, A. C., ⁴Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, ⁵Instituto Tecnológico Superior de Irapuato. jdd.collazourbano@ugto.mx, jose.castruita@academicos.udg.mx

RESUMEN

México es el principal proveedor a nivel mundial de tomate, aguacate y hortalizas en el mercado internacional. El tomate (*Solanum lycopersicum*), arándano azul (*Vaccinium corymbosum*) y el aguacate (*Persea americana*) son importantes cultivos vegetales cuya producción puede verse severamente afectada por la infección con hongos fitopatógenos. *Fusarium* sp., destaca como uno de los géneros de hongos más importantes desde el punto de vista económico debido a las pérdidas significativas en la producción agrícola, ya que causa el amarillamiento y marchitez de las plantas, así como pudrición de la raíz, que en última instancia conduce a su muerte. En este sentido, la detección es primordial por lo que existe una necesidad urgente de desarrollar un método de diagnóstico micológico novedoso, sensible y rápido. En este estudio, se planteó como objetivo biofuncionalizar nanopartículas de oro con anticuerpos policlonales anti-*Fusarium* sp. (NPsAu-Ab α *Fusarium*). Los anticuerpos policlonales contra *Fusarium* sp., se obtuvieron mediante un protocolo de inmunización en conejos. El patrón electroforético de los anticuerpos policlonales purificados de *Fusarium* sp. por cromatografía en resina de Proteína G-Agarosa, demuestra la presencia de proteínas de 25 y 50 kDa que corresponden a la cadena ligera y pesada de las inmunoglobulinas G respectivamente. La distribución de los antígenos se encuentra en la pared celular e intracelular de las conidias y micelio, con un marcaje heterogéneo. La inmunodetección de las proteínas antigénicas de *Fusarium* sp. muestra proteínas mayoritarias con movilidad relativa de 68 - 44 kDa como proteínas de mayor antigenicidad. Por otra parte, se sintetizaron NPsAu por el método de Turkevich. El análisis de espectroscopia de absorción óptica de las NPsAu, mostro que la banda de absorción está centrada alrededor de los 520nm. Mientras que la funcionalización se llevó a cabo usando polielectrolitos. La microscopia electrónica muestra que la forma geométrica de las NPsAu corresponde a nanopartículas esféricas, con un tamaño promedio de 24.0 nm, con un valor de potencial Z de -40 mV. Por otra parte, el radio hidrodinámico de las NPsAu obtenido por DLS para el caso de las NPsAu funcionalizadas fue de 124.0 \pm 2nm, mientras que los resultados de las mediciones de potencial Zeta presentan un valor promedio de 64mV respectivamente. Posteriormente, los anticuerpos policlonales anti-*Fusarium* sp. fueron utilizados para biofuncionalizar las nanopartículas de oro; la detección de las conidias por el complejo NPsAu-Ab α *Fusarium* mostró un cambio de coloración visible independientemente del número de las conidias: 10, 50, 100, 1000, 10000 conidias/mL y la sensibilidad se determinó por espectrometría, donde resultados preliminares indican el reconocimiento de *Fusarium* sp. De acuerdo con estos resultados, se concluye que el método de detección propuesto para *Fusarium* sp. utilizando nanopartículas de oro acopladas a anticuerpos policlonales, puede ser una alternativa para su detección rápida y confiable.

INTRODUCCIÓN

México es el principal proveedor a nivel mundial de tomate, aguacate y hortalizas en el mercado internacional; ocupa el primer lugar como exportador con la mayor capacidad de oferta en el mercado internacional. El tomate (*Solanum lycopersicum*) [1], arándano azul (*Vaccinium corymbosum*) [2] y el aguacate (*Persea americana*) [3] son importantes cultivos vegetales cuya producción puede verse severamente afectada por la infección con hongos fitopatógenos.

Entre los fitopatógenos, destaca *Fusarium* sp., quien es uno de los géneros de hongos más importantes desde el punto de vista económico debido a las pérdidas significativas en la producción

agrícola [4]. *Fusarium* sp., causa el amarillamiento y marchitez de las plantas, así como pudrición de la raíz, que en última instancia conduce a su muerte [5].

Las herramientas de detección basadas en ADN (generalmente basadas en PCR) son preferidas por su mayor sensibilidad y especificidad, pero necesitan un laboratorio bien equipado y un procesamiento de datos que requiere mucho tiempo para producir un resultado [6].

Dado que *Fusarium* sp. es un organismo fitopatógeno, su detección oportuna podría prevenir su introducción de manera eficiente en nuevas áreas o facilitar el manejo de la propagación en sitios ya infectados.

En este sentido, la detección es primordial por lo que existe una necesidad urgente de desarrollar un método de diagnóstico micológico novedoso, sensible y rápido. En este estudio, se planteó como objetivo biofuncionalizar nanopartículas de oro con anticuerpos policlonales anti-*Fusarium* sp. (NPsAu-Ab α *Fusarium*).

PARTE EXPERIMENTAL

Cultivo de *Fusarium* sp. y preparación del inmunógeno

Para la preparación del inmunógeno, *Fusarium* sp., fue sembrado en medio Agar Papa Dextrosa (PDA). Las cajas de cultivo se incubaron a 25°C, por un periodo de 10 días. Posteriormente, se recolectó el micelio en una solución de NaCl 0.9 M más un coctel de inhibidores de proteasas (ROCHE), después para la obtención del homogenado total (inmunógeno), se sónico en baño de hielo durante 1 minuto (SONICS Vibra-Cell™ Ampl. 90%, 20 Khz, 130 Watts).

Obtención de anticuerpos policlonales contra *Fusarium* sp.

Para la obtención de los anticuerpos policlonales, se utilizó un conejo macho raza Nueva Zelanda. Previo a la inmunización del conejo, se tomó una muestra de sangre de la vena marginal de la oreja, para la obtención del suero preinmune, el cual se utilizó como control en los ensayos. Mediante un protocolo de inmunización clásico se produjeron los anticuerpos policlonales contra *Fusarium* sp., para ello, se realizaron cuatro periodos de inmunización vía intramuscular, con adyuvante completo e incompleto de Freud (Sigma). Finalizado el esquema de inmunización, se obtuvo el suero inmune mediante sangrado letal del conejo.

Purificación y cuantificación de anticuerpos policlonales

Los anticuerpos policlonales contra *Fusarium* sp., fueron purificados por cromatografía de afinidad con proteína G-Agarosa (Sigma). Se analizaron las fracciones para determinar su pureza mediante un análisis por electroforesis en gel de poliacrilamida al 10% en condiciones desnaturizantes (SDS-PAGE 10%), teñidas con Azul de Coomassie para la visualización de las bandas proteicas. La adquisición de la imagen se realizó en un equipo ChemiDoc™ MP Imaging System BIO-RAD utilizando el software Image Lab™ Software (BIO-RAD). Además, se realizó la cuantificación de la proteína total por el método de Lowry, utilizando un espectrómetro Epoch BioTek y el software Gen5™ All-In-One Microplate Reader.

Inmunolocalización e inmunodetección de las proteínas antigénicas

Con el objetivo de inmunolocalizar las proteínas antigénicas de *Fusarium* sp., se expusieron a los anticuerpos policlonales contra *Fusarium* sp. (dil 1:40 en PBS Tween-20 0.05%) y después a un segundo anticuerpo acoplado a isotiocianato de fluoresceína (dil 1:20 chivo anti-IgG de conejo acoplado a FITC). Las muestras fueron montadas en medio de montaje (Vector) y observadas en un microscopio de epifluorescencia (LEICA DMLS) acoplado a una cámara AxioCam ICc 1 (ZEISS) para la adquisición de la micrografía. La especificidad de los anticuerpos se determinó mediante la técnica de Western blot, utilizando los anticuerpos policlonales como primer anticuerpo y un segundo anticuerpo chivo anti-IgG de conejo acoplado a peroxidasa revelado por quimioluminiscencia.

Síntesis y funcionalización de NPsAu

La síntesis de nanopartículas de oro de 24.0 nm se realizó por el método de Turkevich y se funcionalizaron usando polielectrolitos por el método de capa por capa, hasta obtener tres capas. En

cada paso se caracterizaron las nanopartículas de oro, por microscopía electrónica de transmisión (TEM), esparcimiento dinámico de luz (DLS) y potencial Z (DLS Malvern nanosizer SZ).

Biofuncionalización y detección de *Fusarium* sp. por el complejo NPsAu-Ab α *Fusarium*

Las nanopartículas de oro funcionalizadas se recubrieron con los anticuerpos policlonales purificados anti-*Fusarium* sp. para su biofuncionalización; resultando el complejo NPsAu-Ab α *Fusarium*. Finalmente, se realizaron ensayos de la detección del patógeno con el complejo NPsAu-Ab α *Fusarium* utilizando diferentes concentraciones: 10, 50, 100, 1000, 10000 conidias/mL. La sensibilidad del complejo se determinó por espectrometría.

RESULTADOS

Cultivo de *Fusarium* sp.

En los aislamientos de *Fusarium* sp. en medio de cultivo PDA, se observó el crecimiento de colonias de apariencia algodonosa y de color blanquecino (Fig. 1A), el cual tiene un crecimiento radial. Por el reverso, la superficie del agar tiene una coloración blanquecina rosada hacia el centro y de un tono más claro hacia el borde extremo (Fig. 1B). La micromorfología, muestra el micelio y una forma oval típica de los microconidios y macroconidios de *Fusarium* sp. (Fig. 1C).

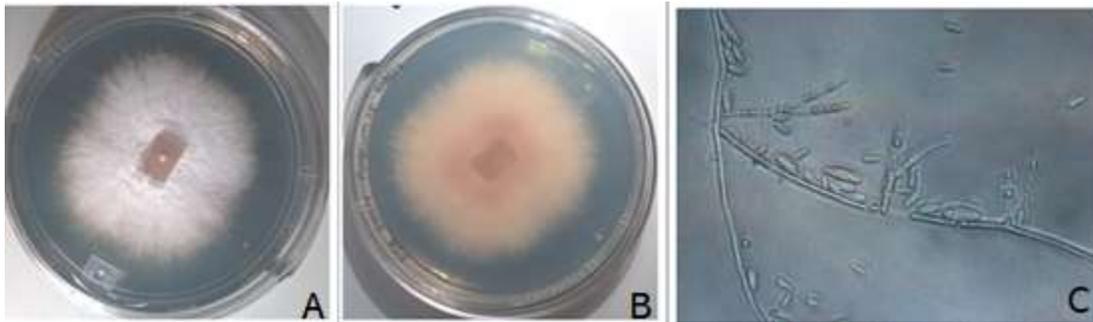


Figura 1. Morfología de *Fusarium* sp. A) y B) Micelio crecido en medio PDA, vista anterior y posterior respectivamente. C) Morfología de micelio y conidio (campo claro, 40x).

Anticuerpos policlonales contra *Fusarium* sp.

Los anticuerpos policlonales purificados de *Fusarium* sp. por cromatografía en resina de Proteína G-Agarosa (Fig. 2), muestra la presencia de proteínas de 25 y 50 kDa que corresponden a la cadena ligera y pesada de las inmunoglobulinas G respectivamente. Así mismo, se observa una disminución en la concentración de proteína en las fracciones, observando que las fracciones enriquecidas son las dos primeras fracciones eluidas.

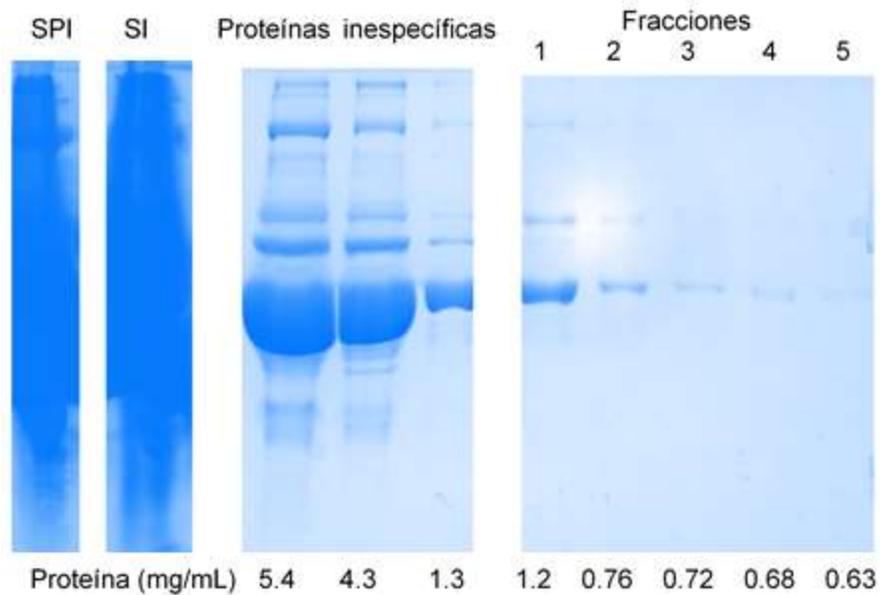


Figura 2. Patrón electroforético de los anticuerpos policlonales purificados de *Fusarium* sp., por cromatografía en resina de Proteína G-Agarosa. En la parte inferior se muestra la concentración de las proteínas. (SPI, suero preinmune y SI, suero inmune).

Determinación de las proteínas antigénicas de *Fusarium* sp.

Se determinaron proteínas con una mayor antigenicidad en *Fusarium* sp. con movilidad relativa de 68 - 44 kDa (Fig. 3, Carril 2). En contraste, con el suero preinmune, no se detectaron proteínas, lo que corrobora la reactividad específica de los anticuerpos anti-*Fusarium* sp. (Fig. 3, Carril 1).

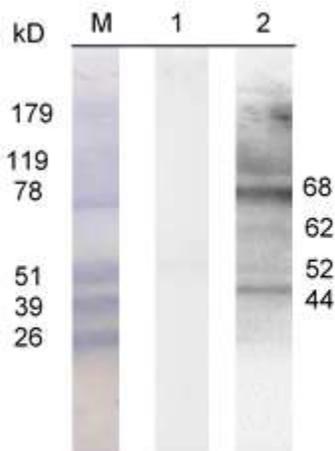


Figura 3. Determinación de las proteínas antigénicas en *Fusarium* sp. Carril 1. Control con suero preinmune, Carril 2. Inmunodetección con suero inmune y M. Marcadores de peso molecular.

Inmunolocalización de las proteínas antigénicas de *Fusarium* sp.

La Inmunolocalización permitió localizar a nivel celular las proteínas antigénicas de *Fusarium* sp. Los resultados indican que la distribución de los antígenos se encuentra en la pared celular e intracelular de los conidios y micelio, con un marcaje heterogéneo (Fig. 4A-D). En el suero preinmune (control), no se detectaron proteínas antigénicas (Fig. 4E).

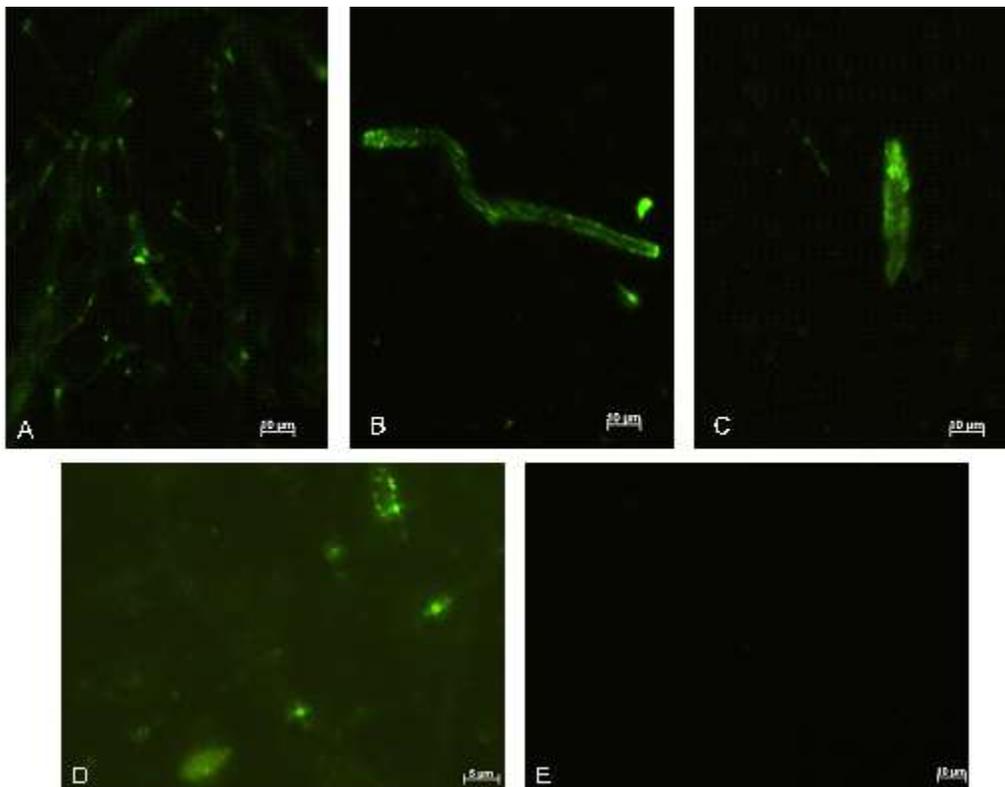


Figura 4. Inmunolocalización de proteínas antigénicas en *Fusarium* sp. La distribución de los antígenos se localiza en la pared celular e intracelular de *Fusarium* sp., con marcaje heterogéneo. Micelio A) y B); conidios C) y D); E) control con suero preinmune.

Caracterización del complejo NpsAu-Ab policlonales de *Fusarium* sp.

El análisis de espectroscopia de absorción óptica, mostro que la banda de absorción está centrada alrededor de los 520nm. La microscopia electrónica muestra que la forma geométrica de las NPsAu corresponde a nanopartículas esféricas, con un tamaño promedio de 24.0 nm, con un valor de potencial Z de -40 mV. Por otra parte, el radio hidrodinámico de las NPsAu obtenido por DLS para el caso de las NPsAu funcionalizadas fue de 124.0 ± 2 nm, mientras que los resultados de las mediciones de potencial Zeta presentan un valor promedio de 64mV respectivamente.

Por otra parte, se determinó la estabilidad del complejo NpsAu-Ab policlonales de *Fusarium* sp. en diferentes soluciones amortiguadoras (Fig. 5), observando que el complejo en la solución amortiguadora de Tris 0.2M pH 7.5 y Glicina 0.1M + Tris 1M pH 7.0 se mantuvo estable. En contraste, el complejo en las soluciones amortiguadoras de Carbonatos 0.1M pH 10.9 ó Fosfatos 60mM pH 7.0 es inestable, provocando un cambio de coloración evidente.



Figura 5. Determinación de la estabilidad de las NPsAu en diferentes soluciones amortiguadoras.

Análisis de la detección de *Fusarium* sp. por el complejo NPsAu-Ab α *Fusarium*

La detección de los conidios por el complejo NPsAu-Ab α *Fusarium* mostró un cambio de coloración visible independientemente de la concentración de las conidias: 10, 50, 100, 1000, 10000 conidios/mL (Fig. 6).

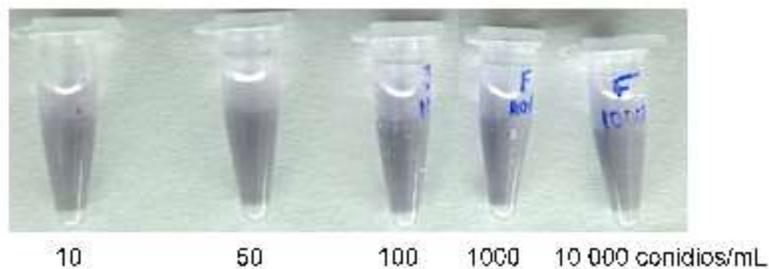


Figura 6. Detección de conidios de *Fusarium* sp. por el complejo NPsAu-Ab α *Fusarium*

Resultados preliminares de la espectrometría, indican que la sensibilidad del reconocimiento de *Fusarium* sp. por el complejo NPsAu-Ab α *Fusarium* a diferentes concentraciones de conidios (Fig. 7), muestra cambios significativos en el espectro de absorción dependientes de la concentración de conidios (10, 50 y 100 conidios/mL) con respecto al espectro de absorción del complejo NPsAu-Ab α *Fusarium* (Fig. 7, línea gris). Sin embargo, el espectro de absorción para 1000 conidios/mL es similar al complejo NPsAu-Ab α *Fusarium*, mientras que el espectro de absorción de la detección de 10 000 conidios/mL está por debajo del espectro del complejo, indicando una posible precipitación del complejo y los conidios. De acuerdo a estos resultados se puede considerar una alternativa viable de la detección de este fitopatógeno; sin embargo, es necesario estandarizar el método de detección.

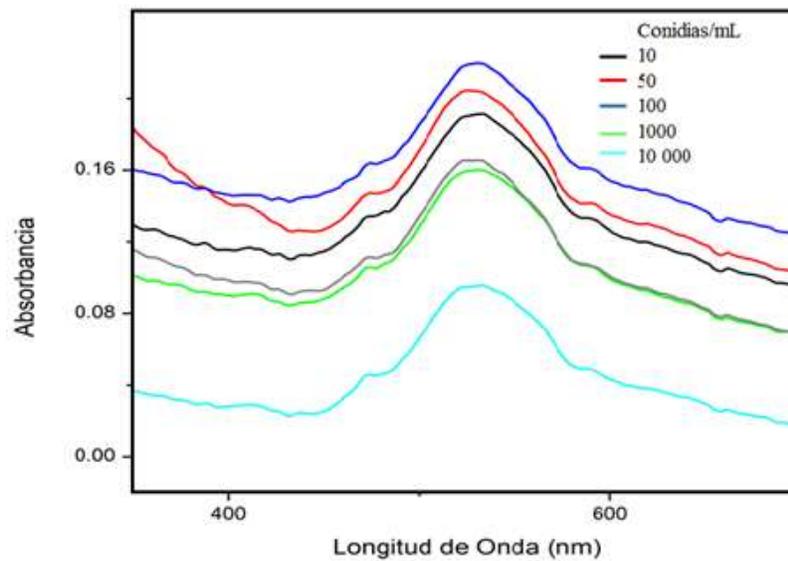


Figura 7. Espectrometría de la detección de conidias de *Fusarium* sp. por el complejo NPsAu-Ab α *Fusarium*.

CONCLUSIÓN

La biofuncionalización de las nanopartículas de oro con los anticuerpos policlonales (complejo NPsAu-Ab α *Fusarium*), se mantuvo estable en la solución amortiguadora de Tris 0.2M pH 7.5 y Glicina 0.1M + Tris 1M pH 7.0. Por otra parte, los resultados indican que la detección de las conidias de *Fusarium* sp. por el complejo NPsAu-Ab α *Fusarium*, es favorable cuando se utilizan hasta 100 conidias/mL. Por lo tanto, el método de detección propuesto para *Fusarium* sp. utilizando nanopartículas de oro acopladas a anticuerpos policlonales, puede ser una alternativa para su detección rápida y confiable.

BIBLIOGRAFÍA

1. D. Nirmaladevi, "Molecular phylogeny, pathogenicity and toxigenicity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*", *Sci. Rep.*, Vol. 6, 21367, 2016.
2. Y. H. Liu, "First report of *Fusarium* Wilt in Blueberry (*Vaccinium corymbosum*) caused by *Fusarium oxysporum* in China", *Plant disease*, Vol. 98, 8, 2014, pp. 1158-1158.
3. J. G. Ramírez, "Estudios etiológicos de la marchitez del aguacate en Antioquia-Colombia", *Rev. Ceres*, Vol. 61, 1, 2014, pp. 050-061.
4. M. Martínez, "Pathogenic nad genetic diversity of *Fusarium* isolates from Aguascalientes, Mexico", *Mexical Journal of Phytopatology*, Vol. 22, 3, 2004, pp. 321-327.
5. J.-Y. Cha, "Microbial and biochemical basis of a *Fusarium* wilt-suppressive soil", *ISME J.*, Vol. 10, 1, 2016, pp. 119-129.
6. S. Dagmar, "Real-time loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of *Fusarium circinatum*" *J. BioTechniques*, Vol. 10, 2144, 2020.

NUTRICIÓN NITROGENADA EN LA CONCENTRACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES EN HOJAS E INFLORESCENCIAS DE CEMPASÚCHIL

María Guadalupe Peralta Sánchez¹, Gabriel Alcántar-González¹, Fernando C. Gómez-Merino¹, Olga Tejeda-Sartorius¹, Libia I. Trejo-Téllez¹

¹Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Km 36.5 Carretera México-Texcoco. 56230 Montecillo, Texcoco, Estado de México.

mgperalta@colpos.mx; alcantar@colpos.mx; fernandg@colpos.mx; olgats@colpos.mx; tlibia@colpos.mx

RESUMEN

Los flavonoides se encuentran en las plantas tanto en estado libre como formando glicósidos. Éstos últimos compuestos son los que contribuyen a dar color a las flores, frutos y hojas. En esta investigación se determinó la concentración de flavonoides totales en hojas e inflorescencias de cempasúchil (*Tagetes erecta* L.) var. Inca, tratadas con cuatro concentraciones de N (0, 4.2, 8.4 y 12.6 mg L⁻¹) en la fase de floración. Como sustrato se empleó una mezcla de tezontle: perlita (60:40, v:v). Los tratamientos fueron evaluados en un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones. En hojas de plantas del tratamiento testigo, la concentración de flavonoides totales fue menor en 10.77% a la registrada en hojas de plantas tratadas con las dosis más altas de nitrógeno; sin embargo, la diferencia entre éstos no fue significativa. Así también, las concentraciones foliares de flavonoides no fueron estadísticamente diferentes entre tratamientos. En las inflorescencias, la más alta concentración de flavonoides totales se tuvo en el tratamiento con dosis de 4.2 mg L⁻¹ de N, superando estadísticamente al resto de los tratamientos. Se concluye que las plantas de cempasúchil var. Inca incrementan la concentración de flavonoides en inflorescencias cuando éstas son tratadas con concentraciones deficientes de nitrógeno.

INTRODUCCIÓN

Los metabolitos secundarios, no tienen una función directa en el crecimiento y desarrollo de la planta, éstos presentan una distribución restringida en el reino vegetal. Dentro de este grupo se encuentran terpenos, compuestos fenólicos y compuestos nitrogenados (Taiz y Zeiger, 2002).

Las plantas producen pigmentos de color, y entre los principales están los flavonoides, que son compuestos fenólicos que se encuentran en plantas, semillas y frutos; de los que se han identificado más de 5000 diferentes (Martínez *et al.*, 2002).

En la planta, los flavonoides la protegen de los daños causados por los rayos ultravioleta (Middleton y Teramura, 1993), participan en la pigmentación de algunos frutos durante su madurez (Yoshitama *et al.*, 1992) y en la protección contra fitopatógenos (como fitoalexinas). Se ha planteado que la coloración de las flores es una señal visual como atrayentes de polinizadores. Las agliconas flavonas y flavonoles contribuyen a la pigmentación de flores, con tonalidades diversas, desde blancas marfil o crema a colores anaranjados, escarlatas y azules (Cartaya y Reynaldo, 2001). Las flavonas pueden inhibir la respiración mitocondrial (Valdameri *et al.*, 2010) y participan en la adaptación de las plantas al estrés ya que pueden acumularse como reservorios de fitoalexinas, como forma de defensa (Zhang *et al.*, 2007).

Los flavonoides tienen propiedades biológicas, farmacológicas y medicinales, entre otras, además de la capacidad de eliminar radicales libres, potencial vasodilatador, anticancerígeno, antiinflamatorio, antibacteriano, inmuno estimulante, antialérgico, antiviral y estrogénico, entre otros (Rice-Evans *et al.*, 1996). Munhoz *et al.* (2014) demostraron el potencial de las flores de *T. patula* como fuente de flavonoides con actividad antioxidante y larvicida.

Por otra parte, el nitrógeno es uno de los principales elementos estructurales en la mayoría de los compuestos vitales para el metabolismo vegetal (Togun *et al.*, 2003). Este elemento es un constituyente de las proteínas, ácidos nucleicos y nucleótidos que son esenciales para la función metabólica de las plantas (Bijimol y Singh, 2001). Asimismo, el nitrógeno modula la biosíntesis de metabolitos secundarios (flavonoides, glucosinatos, carotenoides etc.) (Ibrahim *et al.*, 2011). La fertilización nitrogenada puede incrementar la producción de biomasa en sistemas de cultivo de

plantas medicinales, vegetales y cultivos; sin embargo, puede disminuir la biosíntesis y acumulación de sustancias activas incluyendo flavonoides y terpenos (Deng *et al.*, 2019).

Debido a la importancia del metabolismo secundario en plantas, el objetivo de este trabajo fue evaluar la concentración de flavonoides totales en hojas e inflorescencias de plantas de *Tagetes erecta* var. Inca, tratadas con diferentes concentraciones de nitrógeno en la solución nutritiva.

PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal

La investigación se realizó en hidroponía en el Campus Montecillo del Colegio de Postgraduados, Texcoco, Estado de México (19° 29' LN, 98° 53' LO y 2250 msnm), bajo condiciones de invernadero. Se utilizaron plántulas de cempasúchil (*Tagetes erecta* L.) var. Inca, adquiridas con la empresa Plántulas de Tetela.

Método de cultivo y tratamientos

Las plántulas fueron trasplantadas a macetas de plástico conteniendo como sustrato una mezcla de tezontle:perlita (60:40, v:v). La aplicación de tratamientos inició cuando se observó la aparición del primer botón floral, mismos que consistieron en diferentes niveles de nitrógeno adicionados a la solución nutritiva de Steiner al 5 %, testigo (sin adición de N), en la solución 4.2 mg L⁻¹ se adicionó como fuente de N nitrato de calcio, en la solución con dosis nitrogenada de 8.4 mg L⁻¹ se adicionaron como fuentes de N nitrato de calcio y nitrato de potasio y en la solución 12.6 mg L⁻¹ nitrato de amonio, nitrato de calcio y nitrato de magnesio. El riego fue suministrado a través de un sistema de riego por goteo y el pH de la solución nutritiva fue ajustado a 5.5. Cada uno de los tratamientos tuvo cuatro repeticiones, distribuidas de manera aleatoria.

Determinación de flavonoides

Treinta días después del inicio de la aplicación de tratamientos, se determinó la concentración de flavonoides a partir de la elaboración de la curva estándar con quercetina.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente mediante un análisis de varianza y a una prueba de comparación de medias por Tukey con un nivel de confianza de 95%, usando el software Statistical Analysis System (SAS, 2002).

RESULTADOS

En hojas de plantas del tratamiento testigo (sin N), la concentración de flavonoides totales no fue diferente desde el punto de vista estadístico a la obtenida en el tratamiento con la dosis más alta de nitrógeno; a pesar de que el testigo tuvo 10.77% menos flavonoides que éste último (Figura 1).

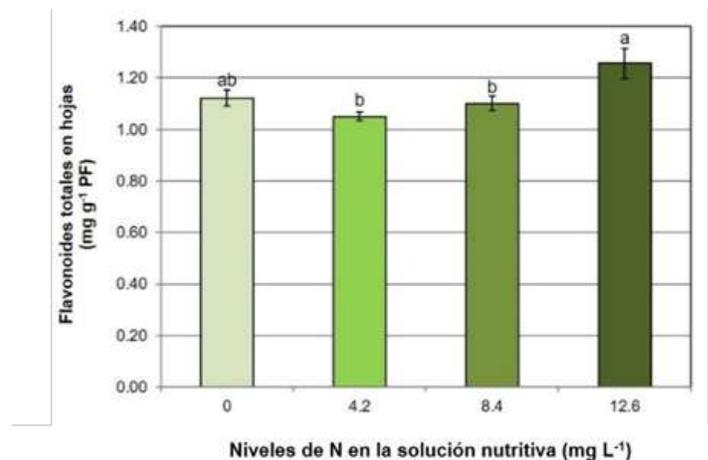


Figura 1. Flavonoides totales en hojas de plantas de cempasúchil var. Inca, tratadas por 30 días con diferentes niveles de nitrógeno en la solución nutritiva en fase de floración. Barras \pm DE con letras diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos (Tukey, $P \leq 0.05$). PF= peso fresco.

Por otra parte, se observó una relación directa entre la concentración de flavonoides y la dosis de N en el intervalo de 4.2 a 12.6 mg N L⁻¹, donde la dosis más alta incrementó esta variable en comparación con las dosis 4.2 y 8.4 mg N L⁻¹ (Figura 1).

En hojas de *Labisia pumila* Blume, se observó una relación negativa entre la concentración de nitrógeno aplicada y la concentración de flavonoides totales. Al incrementar la dosis de N de 0 a 90 kg ha⁻¹, la concentración de flavonoides se redujo en 41.8%; mientras que desciende en 43.8% y en 57.8% cuando la dosis de N se incrementó de 0 a 180 y de 0 a 270 kg ha⁻¹, respectivamente (Ibrahim *et al.*, 2011). Allahdadi y Farzane (2018) demostraron que en los niveles altos de N mejoran el crecimiento en alcachofa, pero disminuyen la concentración de flavonoides totales (1.30 mg QE g⁻¹ PS); para evitar los efectos negativos del nitrógeno en la calidad de las hojas, se recomiendan dosis bajas de N (100 kg N ha⁻¹) para uso medicinal. Coronado *et al.* (1995) demostraron que el crecimiento en plantas de alfalfa en condiciones limitantes de nitrógeno incrementa la expresión de genes de biosíntesis de flavonoides. Deng *et al.* (2019) mencionan que la principal vía de biosíntesis de flavonoides proporciona fenilalanina no solo para la síntesis de aminoácidos y proteínas, sino también para la producción de metabolitos secundarios como flavonoides y terpenos.

La amplia gama de fitoquímicos presentes en las flores puede prevenir el envejecimiento y las enfermedades crónicas en relación con la inflamación y el estrés oxidativo (Moliner *et al.*, 2018). En *Tagetes erecta* se identificaron y cuantificaron compuestos fenólicos en dos cultivares de flores, registrando que, la mayor cantidad de estos compuestos fueron miricetina-hexósido (4.42 mg g⁻¹ de extracto) en inflorescencias naranjas y larcitrina (8.08 mg g⁻¹ de extracto) en inflorescencias amarillas (Moliner *et al.*, 2018). En inflorescencias, la más alta concentración de flavonoides totales se tuvo en el tratamiento con dosis de N de 4.2 mg L⁻¹, superando estadísticamente al resto de los tratamientos (Figura 2).

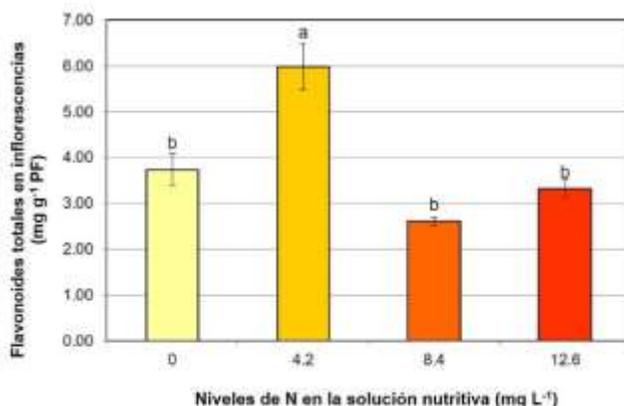


Figura 2. Flavonoides totales en inflorescencias de plantas de cempasúchil var. Inca, tratadas por 30 días con diferentes niveles de nitrógeno en la solución nutritiva en fase de floración. Barras \pm DE con letras diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos (Tukey, $P \leq 0.05$). PF= peso fresco.

De la misma manera a lo aquí observado, en caléndula (*Calendula officinalis*), las flores de plantas que recibieron las dosis más altas de nitrógeno (120 y 160 kg ha⁻¹), tuvieron contenidos inferiores de compuestos fenólicos (Król, 2011). Asimismo, en flores de lavanda, Biesiada *et al.* (2008) reportan una disminución en el contenido de polifenoles bajo el efecto de la alta fertilización nitrogenada. También en *Brassica juncea*, al incrementar la dosis de nitrógeno de 0 a 25 mM en la solución nutritiva, las concentraciones de compuestos fenólicos totales disminuyeron (Li *et al.*, 2008). Allahdadi y Farzane (2018) menciona que los incrementos de flavonoides pueden relacionarse con el aumento de fenilalanina ocasionado por la restricción de síntesis de proteínas, en condiciones deficientes de nitrógeno.

CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos se concluye que, las plantas de cempasúchil var. Inca incrementan la concentración de flavonoides en inflorescencias cuando éstas son tratadas con concentraciones deficientes de nitrógeno de 4.2 mg L⁻¹. Mientras que, en hojas la tendencia del nitrógeno fue inversa. Por tanto, bajo condiciones de estrés por la fertilización nitrogenada en esta variedad se puede obtener un gran potencial en diferentes campos de estudio.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. Biesiada, A. Sokół-Łętowska, and A. Kucharska. "The effect of nitrogen fertilization on yielding and antioxidant activity of Lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.)" *Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus.*, Vol. 7, 2, 2008, pp. 33-40.
2. A. O. Togun, W. B. Akanbi, and R. Dris. "Influence of compost and nitrogen fertilizer on growth, nutrient uptake and fruit yield of tomato (*Lycopersicum esculentum*)". *J. Crop Res.*, Vol. 98, 2003, pp. 40-56.
3. B. Deng, Y. Li, D. Xu, Q. Ye, and G. Liu. "Nitrogen availability alters flavonoid accumulation in *Cyclocarya paliurus* via the effects on the internal carbon/nitrogen balance". *Sci. Rep.*, Vol. 9, 2370, 2019, pp. 1-9.
4. B. Król. "The effect of different nitrogen fertilization rates on yield and quality of marigold (*Calendula officinalis* L. Tokaj). Raw material". *Acta Agrob.*, Vol. 64,3, 2011, pp. 29-34.
5. C. A. Rice-Evans, N. J. Miller, and G. Paganga. "Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids", *Free Radic. Biol. Med.* Vol. 20, 7, 1996, pp. 933-956.

6. C. Coronado, J. A. S. Zuanazzi, C. Sallaud, J. C. Quirion, R. Esnault, H.P. Husson, A. Kondorosi, and P. Ratet. "Alfalfa root flavonoid production is nitrogen regulated". *Plant Physiol.*, Vol. 108, 1995, pp. 533-542.
7. C. Moliner, L. Barros, M. I. Dias, V. López, E. Langa, I. C. F. R. Ferreira, and C. Gómez-Rincón. "Edible flowers of *Tagetes erecta* L. as functional ingredients: phenolic composition, antioxidant and protective effects on *Caenorhabditis elegans*". *Nutrients*. Vol. 10, 2018, pp. 1-14.
8. F. S. Martínez, J. G. González, J. M. Culebras, y J. M. Tuñón. "Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes". *Nutr. Hosp.*, Vol. 17, 6, 2002, pp. 271-278.
9. G. Bijimol, and A. K. Singh. "Effect of spacing and nitrogen on flowering, flower quality and postharvest life of gladiolus". *J. Appl. Hort.*, Vol. 3, 1, 2001, pp. 48-50.
10. G. Valdameri, T. Herrerias, E. G. Carnieri, S. M. Cadena, C. R. Martínez, and M. E. Rocha. "Importance of the core structure of flavones in promoting inhibition of the mitochondrial respiratory chain". *Chem. Biol. Interact.*, Vol. 188, 1, 2010, pp. 52-58.
11. J. Li, Z. Zhu, and J. Gerendás. "Effects of nitrogen and sulfur on total phenolics and antioxidant activity in two genotypes of leaf mustard". *J. Food Sci.*, Vol. 40, 2, 2008, pp. 410-411.
12. J. Zhang, S. Subramanian, Y. Zhang, and O. Yu. "Flavone synthases from *Medicago truncatula* are flavanone-2-hydroxylases and are important for nodulation". *Plant Physiol.*, Vol. 144, 2, 2007, pp. 741-751.
13. K. Yoshitama, N. Ishikura, T. Fuleki, and S. Nakamura. "Effect of anthocyanin, flavonol copigmentation and pH on the color of the berries of *Ampelopsis brevipedunculata*". *J. Plant Physiol.*, Vol. 139, 1992, pp. 513-518.
14. L. Taiz, and E. Zeiger. "Plant Physiology", Sunderland: Sinauer Associates. 3ra ed. 2002. 690 p.
15. M. Allahdadi, and P. Farzane. "Influence of different levels of nitrogen fertilizer on some phytochemical characteristics of artichoke (*Cynara scolymus* L.) leaves". *J. Med. Plants Stud.*, Vol. 6, 1, 2018, pp.109-115.
16. M. E. Middleton, and H. A. Teramura. "The role of flavonol glycosides and carotenoids in protecting soybean from ultraviolet-B damage". *Plant Physiol.*, Vol. 103, 3, 1993, pp. 741-752.
17. M. H. Ibrahim, H. Z. E. Jaafar, A. Rahmat, and Z. A. Rahman. "The relationship between phenolics and flavonoids production with total non structural carbohydrate and photosynthetic rate in *Labisia pumila* Benth. under high CO₂ and nitrogen fertilization". *Molecules*. Vol. 16, 1, 2011, pp.162-174.
18. O. Cartaya, e I. Reynaldo. "Flavonoides: Características químicas y aplicaciones", *Cultivos Tropicales*. Vol. 22, 2, 2001, pp. 5-14.
19. SAS High-Performance Forecasting 2.2: User's Guide. (Vol. 1 & 2). Cary, NC: SAS Institute Inc. Ver. 9). 2002. 652 p.
20. V. M. Munhoz, R. Longhini, J. R. P. Souza, J. A. C. Zequi, E. V. S. L. Mello, G. C. Lopes, and J. C. P. Mello. "Extraction of flavonoids from *Tagetes patula*: process optimization and screening for biological activity". *Rev. Bras. Farmacogn.*, Vol. 24, 5, 2014, pp. 576-583.

CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES TOTALES CEMPASÚCHIL (*TAGETES ERECTA*) VAR. INCA EN RESPUESTA A DIFERENTES PORCENTAJES DE SOMBREADO

María Guadalupe Peralta Sánchez¹, Gabriel Alcántar-González¹, Fernando C. Gómez-Merino¹, Olga Tejeda-Sartorius¹, Libia I. Trejo-Téllez¹

¹Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Km 36.5 Carretera México-Texcoco. 56230 Montecillo, Texcoco, Estado de México.

mgperalta@colpos.mx; alcantar@colpos.mx; fernandg@colpos.mx; olgats@colpos.mx; tlibia@colpos.mx

RESUMEN

Los azúcares son producto de la fotosíntesis, y tienen gran influencia en la calidad de la flor. En esta investigación se evaluaron los efectos de cuatro porcentajes de sombreado (0, 30, 50 y 70%) en plantas de cempasúchil (*Tagetes erecta* L.) var. Inca cultivado en hidroponía en invernadero, en la concentración de azúcares totales en hojas y en inflorescencias. Como sustrato se empleó una mezcla de tezontle/perlita (60:40, v:v). Los tratamientos fueron evaluados en un diseño experimental completamente al azar, con veinte repeticiones cada uno. Se usó un sistema de riego por goteo, con solución nutritiva Steiner al 30%. La cosecha de inflorescencias se realizó manualmente cuando éstas alcanzaron su mayor apertura, lo cual ocurrió 38 días después del inicio de tratamientos (ddit). La determinación de azúcares totales se hizo a partir de 1 g de materia fresca de hojas e inflorescencias por el método de la antrona. En hojas de plantas sometidas a porcentajes de sombreado de 50 y 70%, se observaron incrementos significativos en la concentración de azúcares en comparación con el resto de los tratamientos. En las inflorescencias, se observan concentraciones ligeramente superiores en los tratamientos con mayor sombreado; sin embargo, estos incrementos no fueron significativos. Se concluye que el mayor sombreado afecta de manera positiva la acumulación de azúcares en hojas.

INTRODUCCIÓN

Los factores ambientales afectan la distribución de las plantas y ejercen un efecto selectivo hacia aquellas que tienen una mejor adaptación (Rosa *et al.*, 2009). El estrés abiótico afecta diferentes procesos celulares como el crecimiento, la fotosíntesis, la partición del carbono, el metabolismo de carbohidratos y lípidos, la homeostasis osmótica, síntesis de proteínas y expresión génica (Rosa *et al.*, 2009; Vélez-Ramírez *et al.*, 2017).

Dentro de los factores ambientales que influyen a las plantas superiores está la luz, la cual impulsa la fotosíntesis como fuente de energía y controla muchos procesos fisiológicos (Chen *et al.*, 2019). Además de ser la principal fuente de energía, la luz juega un papel regulador y de señalización en los procesos metabólicos y de desarrollo (Eckstein *et al.*, 2012). El exceso de luz puede afectar el crecimiento de las plantas y como consecuencia provocar una reducción en la productividad como resultado la fotoinhibición (Gonçalves *et al.*, 2005). Para evitar este estrés, las plantas han desarrollado diversos mecanismos de protección que limitan la absorción de luz, como los movimientos de la lámina foliar o la presencia de pelos o tricomas en las hojas (Eckstein *et al.*, 2012). Una de las principales biomoléculas del metabolismo vegetal son los azúcares, los cuales son producidos durante la fotosíntesis. Estas moléculas sirven como sustratos en procesos energéticos y en la síntesis de compuestos metabólicos y estructurales (aminoácidos, ácidos grasos y celulosa). Así también, son el principal material de almacenamiento en las plantas (Eckstein *et al.*, 2012). La sacarosa es la principal azúcar transportable en las plantas y es degradada por la enzima invertasa a fructosa y glucosa.

Los azúcares solubles no solo funcionan como recursos metabólicos y constituyentes estructurales de las células como se indicó previamente, sino que también actúan como señales que regulan diversos procesos asociados con el crecimiento y desarrollo de las plantas. Pueden actuar directamente como señales negativas o como moduladores de la sensibilidad de la planta, por tanto,

pueden desempeñar un papel importante en las respuestas celulares a las señales remotas inducidas por el estrés (Rosa *et al.*, 2009).

Las respuestas de las plantas pueden ser activadas por cambios en la intensidad, calidad de la luz y el fotoperiodo, entre los cuales la calidad de la luz actúa con efectos complejos en la morfología y fisiología de la planta (Chen *et al.*, 2019).

Por otra parte, el género *Tagetes* (Asteraceae) incluye 53 especies anuales y perennes nativas del continente americano, desde el sureste de Estados Unidos hasta América del Sur. Varias especies de *Tagetes*, comúnmente llamadas cempasúchil, son plantas ornamentales y medicinales bien conocidas que se cultivan en todo el mundo (Cicevan *et al.*, 2016). El objetivo de esta investigación fue evaluar diferentes porcentajes de sombreado con la implementación de malla sombra en el cultivo, en la concentración de azúcares solubles totales en hojas e inflorescencias de cempasúchil.

PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal

La investigación se realizó en hidroponía en el Campus Montecillo del Colegio de Postgraduados, Texcoco, Estado de México (19° 29' N y 98° 53' O y 2250 m de altitud), bajo condiciones de invernadero. Se utilizaron plántulas de cempasúchil (*Tagetes erecta* L.) var. Inca, adquiridas con la empresa Plántulas de Tetela.

Método de cultivo y tratamientos

Las plántulas fueron trasplantadas a macetas de plástico conteniendo como sustrato una mezcla de tezontle:perlita (60:40, v:v). Las plantas fueron irrigadas a través de un sistema de riego por goteo, con la solución nutritiva Steiner al 30 %, pH 5.5.

La aplicación de tratamientos inició cuando se observó la aparición del primer botón floral. Se evaluaron cuatro porcentajes de sombreado (0, 30, 50 y 70 %) con malla sombra de color negro.

Determinación de azúcares totales

La cosecha de inflorescencias se realizó manualmente cuando éstas alcanzaron su mayor apertura, lo cual ocurrió 38 días después del inicio de tratamientos (ddit). La determinación de azúcares totales se hizo a partir de 1 g de materia fresca de hojas e inflorescencias por el método de la antrona.

Análisis estadístico

Estos resultados fueron analizados estadísticamente mediante un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias por Tukey con un nivel de confianza de 95% con el software Statistical Analysis System (SAS, 2002).

RESULTADOS

Las concentraciones de azúcares totales en hojas e inflorescencias de plantas de cempasúchil tratadas con diferentes niveles de sombreado se presentan en la Figura 1.

En hojas de plantas sometidas a porcentajes de sombreado de 50%, se observan incrementos significativos en la concentración de azúcares en comparación con el resto de los tratamientos, excepto con el tratamiento 70% de sombreado, con el cual no existe diferencia (Figura 1A). Zhu *et al.* (2018) reportan que las hojas maduras son los principales órganos fotosintéticos que fijan el carbono atmosférico para producir sacarosa para suministrar a los tejidos no fotosintéticos a través del transporte a larga distancia mediado por el floema en la mayoría de las plantas.

En las inflorescencias, los tratamientos de sombreado no influyeron la concentración de azúcares como se observa en la Figura 1B).

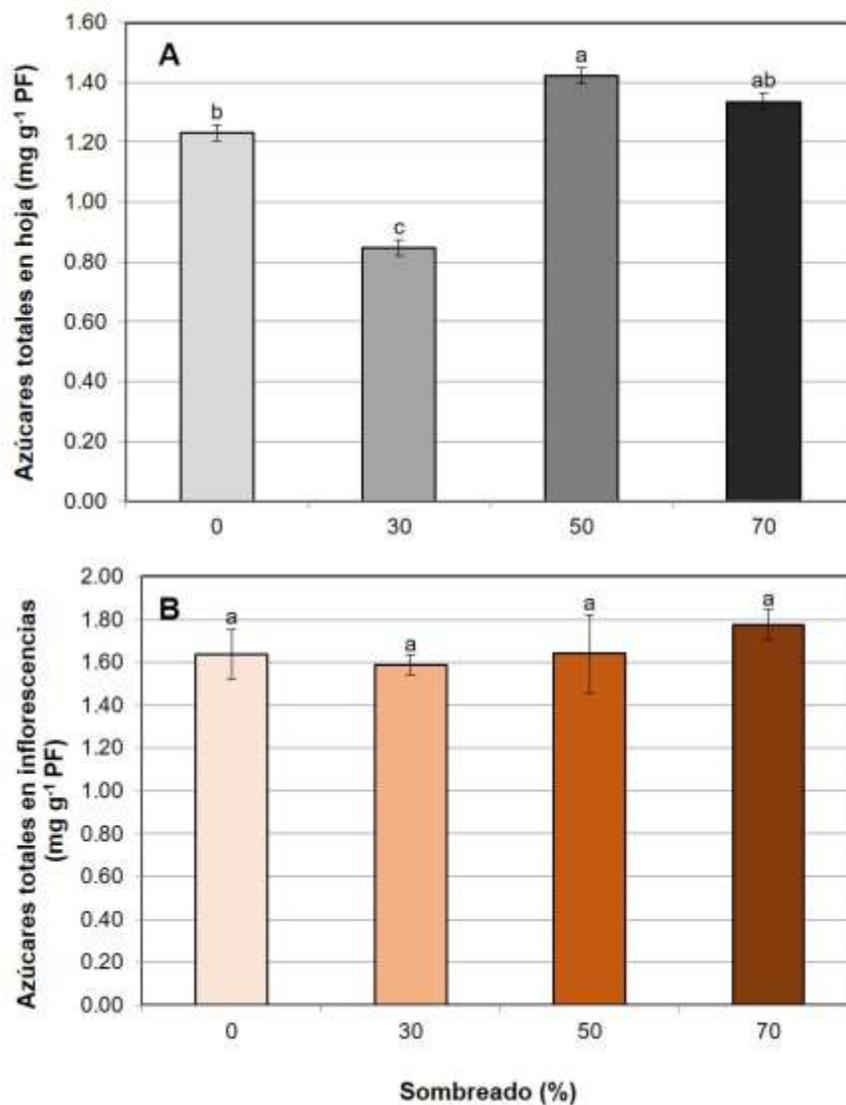


Figura 1. Azúcares totales en hojas (A) e inflorescencias (B) de plantas de cempasúchil var. Inca, tratadas por 38 días con diferentes porcentajes de sombreado en fase de floración. Barras \pm DE con letras diferentes en cada subfigura indican diferencias estadísticas entre tratamientos (Tukey, $P \leq 0.05$). PF= peso fresco.

Las hojas e inflorescencias testigo (sin sombreado) tienen valores de concentración de azúcares inferiores en 92.24 y 92.06%, respectivamente, en comparación con el tratamiento de sombreado a 70%. Contrario a lo aquí obtenido, Páez *et al.* (2007) mencionan que la radiación más baja (30% de la radiación total) redujo la concentración de carbohidratos totales en hojas de verdolaga (*Portulaca oleracea* L.) al 18%, en comparación con las plantas que crecieron bajo luz total (100%). Por otra parte, Watson *et al.* (2002) mencionan que diferentes niveles de sombreado (0, 25 y 47 %) tuvieron un efecto significativo en las concentraciones de glucosa y sacarosa en plantas de fresa. Las concentraciones de sacarosa en la fruta mostraron diferencia significativa entre el testigo sin sombreado (0.7%) y el tratamiento consistente en 47% de sombreado (0.1 %) en todas las fechas de cosecha. Hou *et al.* (2018) indicaron que el sombreado incrementa los niveles de azúcares solubles en *Rosa hybrida* L. Del mismo modo, Samojeden *et al.* (2018) mencionan que las plantas de *Cordia americana* bajo sombra presentaron mayor contenido de azúcares solubles con respecto

a las plantas expuestas a pleno sol. Vélez-Ramírez *et al.* (2017) demostraron que la luz continua altera el metabolismo de los carbohidratos a nivel transcripcional en plantas de tomate, el contenido de sacarosa y almidón se correlaciona negativamente con la eficiencia cuántica máxima de PSII bajo cuatro tratamientos con luz. Asimismo, el metabolismo de la sacarosa juega un papel fundamental en el desarrollo de las hojas de las plantas (Zhu *et al.*, 2018).

CONCLUSIONES

En plantas de cempasúchil var. Inca, el sombreado de 50% afecta de manera positiva la acumulación de azúcares totales en hojas, destacando la importancia del metabolismo de los azúcares en este órgano de la planta; mientras que, el sombreado no tiene influencia en la concentración de azúcares en las inflorescencias. Por tanto, el sombreado afecta de manera diferencial la acumulación de azúcares en ambos órganos.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. Eckstein, P. Zięba, and H. Gabry's. "Sugar and light effects on the condition of the photosynthetic apparatus of *Arabidopsis thaliana* cultured *in vitro*". J. Plant Growth Regul., Vol. 31, 1, 2012, pp. 90-101.
2. A. I. Vélez-Ramírez, N. Carreño-Quintero, D. Vreugdenhil, F. F. Millenaar, and W. V. Leperen. "Sucrose and starch content negatively correlates with PSII maximum quantum efficiency in tomato (*Solanum lycopersicum*) exposed to abnormal light/dark cycles and continuous light". Plant Cell Physiol., Vol. 58, 8, 2017, pp. 1339-1349.
3. A. Páez, P. M. Páez, M. E. González, A. Vera, D. Ringelberg, y T. J. Tschaplinski. "Crecimiento, carbohidratos solubles y ácidos grasos de verdolaga (*Portulaca oleracea* L.) sometida a tres niveles de radiación". Rev. Fac. Agron. (Luz), Vol. 24, 4, 2007, pp. 642-660.
4. C. G. Samojeden, A. C. Artusi, H. A. A. Delavatti, S. V. Milesi, R. L. Cansian, C. Kissmann, and T. L. Sausen. "Light environment influences the flood tolerance in *Cordia americana* (L.) Gottschling, and J. S. Mill.". An. Acad. Bras. Cienc., Vol. 90, 3, 2018, pp. 2945-2953.
5. J. F. C. Gonçalves, D. C. S. Barreto, U. M. dos S. Junior, A. V. Fernandes, P. de T. B. Sampaio, and M. S. Buckeridge. "Growth, photosynthesis and stress indicators in young rosewood plants (*Aniba rosaeodora* Ducke) under different light intensities". Braz. J. Plant Physiol., Vol. 17,3, 2005, pp. 325-334.
6. J. Zhu, J. Qi, Y. Fang, X. Xiao, J. Li, J. Lan, and C. Tang. "Characterization of sugar contents and sucrose metabolizing enzymes in developing leaves of *Hevea brasiliensis*". Front. Plant Sci., Vol. 9, 58, 2018.
7. M. Rosa, C. Prado, G. Podazza, R. Interdonato, J. A. González, M. Hilal, and F. E. Prado. "Soluble sugars-Metabolism, sensing and abiotic stress". Plant Signal. Behav., Vol. 5,4, 2009, pp. 388-393.
8. R. Cicevan, M. Al Hassan, Sestras A. F., Prohens J., O. Vicente, R. E. Sestras, and M. Boscaiu. "Screening for drought tolerance in cultivars of the ornamental genus *Tagetes* (Asteraceae)". PeerJ., 4: e2133, 2016, pp. 2-20.
9. R. Watson, C. J. Wrigth, T. McBurney, A. J. Taylor, and R. S. T. Linforth. "Influence of harvest date and light integral on the development of strawberry flavor compounds". J. Exp. Bot., Vol. 53, 377, 2002, pp. 2121-2129.
10. SAS High-Performance Forecasting 2.2: User's Guide. (Vol. 1 & 2). Cary, NC: SAS Institute Inc. Ver. 9). 2002, p. 652.
11. W. Hou, Y. Luo, X. Wang, Q. Chen, B. Sun, Y. Wang, Z. Liu, H. Tang, and Y. Zhang. "Influence of shading on ornamental and physiological characteristics during flower development of groundcover rose (*Rosa hybrida* L.)". AIP Conference Proceedings 1956. 2018. 020010.
12. X. Chen, L. Wang, T. Li, Q. Yang, and W. Guo. "Sugar accumulation and growth of lettuce exposed to different lighting modes of red and blue LED light". Sci. Rep. Vol. 9, 6926, 2019, pp. 1-10.

ESTIMULACIÓN DE LA OVULACIÓN CON MIEL, EN RATAS BAJO UN ESQUEMA DE DESNUTRICIÓN.

¹Demetrio Ambriz García, ¹Alfredo Trejo Córdova, ²Bárbara Vargas Miranda
¹María del Carmen Navarro Maldonado

¹Departamento de Biología de la Reproducción Animal. ²Departamento de Ciencias de la Salud. División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa. Avenida San Rafael Atlixco 186 Vicentina, Iztapalapa, 09340. Ciudad de México, D.F. deme@xanum.uam.mx

RESUMEN

Algunos procesos fisiológicos vitales para los organismos tienden a ser conservados a pesar de las limitantes que pueda haber en el entorno, otros sufren las consecuencias temporales o permanentes de la situación carencial a la que se enfrentan y son dependientes de la magnitud, severidad o temporalidad de ésta. En el presente trabajo se estimuló la ovulación en ratas hembras que desde su nacimiento habían sido sometidas a un protocolo de desnutrición a través de aumentar el número de crías (16) por hembra (adopción múltiple) y con ello limitar la disponibilidad de leche por cría. A la edad de 3 meses las hembras se separaron en dos grupos: el grupo experimental (GE), fue suplementado durante 12 días con miel de abeja comercial ("La casita" 1ml/100 ml de agua), el grupo control (GC), solo recibió agua. Se dio seguimiento a los ciclos estrales mediante citología vaginal exfoliativa. Al tercer ciclo, las hembras fueron sacrificadas y registrada su tasa ovulatoria. El GE aumentó en un 30% su tasa ovulatoria en comparación con el GC (14.3 vs. 11.0 ovocitos/hembra, $p < 0.05$). Demostrando la capacidad resiliente de este proceso fisiológico con un estimulante energético como es la miel. Posteriormente fue repetido este experimento pero ahora en ratas que no habían sido sometidas al protocolo de desnutrición. De nueva cuenta el GE tuvo una tasa ovulatoria aumentada con respecto al GC (17%, 12.9 vs. 11.0 ovocitos/hembra, $p < 0.05$). Se concluye que la administración de miel, como energizante, consumido durante 3 ciclos estrales aumentó significativamente la tasa ovulatoria y este efecto fue mayor en las hembras con antecedentes de desnutrición, demostrando con ello que el proceso fisiológico de la ovulación puede ser resiliente ante la suplementación energética.

INTRODUCCIÓN

Desde hace tiempo se conoce el fenómeno de "flushing" que es practicado de manera rutinaria como técnica de manejo reproductivo en el ganado, principalmente con ácidos grasos insaturados como el linoleico (Herrera *et al.*, 2010). En dicho proceso fisiológico se administra un suplemento proteico y energético a las hembras con corto tiempo de duración (15 días en promedio) para lograr aumentar o asegurar su tasa ovulatoria y tener mayor éxito reproductivo en el apareamiento o inseminación. Este flush, traducido del inglés, no como rubor, sino con las acepciones de purgar, arrojar o fluir, existe naturalmente cuando hay gran provisión de alimento. Para ello es importante recordar como la vida de los organismos transcurre en ciclos; durante el estiaje, comienza el tiempo de intenso calor, para con él, formar nubes desde las zonas lacustres o marítimas que posteriormente irán a precipitar sobre la tierra continental. Las semillas ahí presentes, en espera de ese vital elemento, despiertan a la germinación y a su desarrollo, lo que a su vez provoca el despertar de la producción de insectos y otros organismos para que en su conjunto comience el "fluir" de otra temporada reproductiva. Con ello las hembras y los machos de mamíferos se preparan para el almacenamiento y aprovechamiento de sustancias nutricias para su labor reproductiva en perpetuación de su especie y de los ciclos biológicos (Herrera *et al.*, 2010). Es por ello que se han ensayado diferentes esquemas de este "fluir" a través de una sobrealimentación que los organismo interpretan como una abundancia de recursos y tienden a corresponder con un aumento de su reproducción.

Por otra lado la miel, es un producto elaborado por las abejas de la especie *Apis mellifera mellifera*, quienes a partir del néctar de diversas flores, lo recolectan y transportan hasta su colmena para transformarlo y convertirlo en un gran producto nutracéutico, que es muy complejo, y no solo se trata de un edulcorante, dado que posee diferentes tipos de azúcares rápidamente asimilables (la fructosa y la glucosa que representan el 85% de sus sólidos totales), proteínas (0.5%, con 11 a 21

aminoácidos dentro de los cuales destaca la prolina) minerales (0.02% a 1% dentro de ellos destaca el potasio), vitaminas (C, del grupo B: tiamina, niacina riboflavina, ácido pantoténico, piridoxina y biotina), factores de crecimiento, antibióticos y anti fúngicos, ácidos orgánicos (0.5% dentro de ellos destaca el ácido glucónico), flavonoides y polifenoles de amplia actividad antioxidante, entre otros (Cauich *et al.*, 2015; Isuasty *et al.*, 2016). La miel no existe naturalmente fuera de la colmena y tampoco es solo una síntesis deshidratada del néctar. Para convertirlo las abejas adicionan enzimas invertasas que transforman los azúcares complejos del néctar en simples. Además su proceso de maduración incluye la deshidratación (sifoneo constante dentro del alveolo o celdilla de almacenamiento) que permite además la inclusión de otros elementos que las abejas denominadas estibadoras y maduradoras, van añadiendo al producto conocido como miel. Es por esto que desde la antigüedad se conocían y apreciaban importantes propiedades de la miel. Algunas culturas como la egipcia, la utilizaron por ejemplo en labores de conservación de cuerpos o embalsamamiento. Las propiedades de la miel para su propia conservación y materiales añadidos (por ejemplo carne) fueron ampliamente conocidas. En otras culturas también se utilizó para fines medicinales. Así su aplicación directa a la piel, los ojos, o las mucosas tenía fines terapéuticos, destacando aquí, por ejemplo, los conocimientos de los mayas con las abejas sin aguijón o meliponas (*Melipona becheii*) (Vazquez, 1991, Zamora y Arias, 2011). Al respecto es importante añadir que dependiendo de las fuentes de néctar (tipo floral), las meliponas podían ser aprovechadas con su miel para combatir padecimientos específicos (Cauich *et al.*, 2015). La miel provee 326 calorías por cada 100 gr.

Fig 1. La miel importante nutraceutico.



En épocas recientes, con las complicaciones económicas que han sufrido diferentes países, así como dificultades para la disponibilidad de algunos suplementos específicos de laboratorio, se ha recurrido a la miel y otros productos de las abejas (polen, propóleos, jalea real y veneno) para su inclusión en cultivos celulares o en beneficio del desarrollo embrionario *in vitro*. Es como se ha venido anotando en diferentes campos del conocimiento: Volver a lo básico (Spinelli, 1998; Cueto *et al.*, 2011).

Por otro lado, estudios recientes realizados en medio oriente (Visweswara *et al.*, 2017) han utilizado la miel con éxito para la prevención del cáncer de mama y cervicouterino, sobre la base de que tiene elementos que ocupan por competencia los receptores estrogénicos, sin la activación natural del estrógeno, paliando con ello las consecuencias de dichos padecimientos y han reportado incluso las vías de señalización pormenorizadas que están intervenidas y que justifican dicho efecto.

Finalmente, se ha cuestionado mucho la habilidad resiliente de algunos organismos de distintas poblaciones animales (incluido el humano) para sobreponerse a condiciones adversas, cabe señalar

que no todos los organismos lo consiguen, por lo que la ciencia está interesada en descubrir porque algunos si lo logran.

Con la finalidad de conocer el efecto de la miel, sobre la tasa de ovulación de las ratas en desnutrición y con normo peso, es que se realizó el presente experimento.

Fig 2. Rata Wistar con su camada.



Tomada del libro "El Bioterio de la UAMI".

MÉTODO

Animales

Se utilizaron 8 ratas nulíparas de la cepa Wistar de 3 meses de edad y de 252 ± 13 gr de peso, que fueron inicialmente sometidas a un tratamiento de desnutrición desde su nacimiento. Este consistió en seguir el protocolo de adopción múltiple, en él le son colocadas a una rata recién parida un total de 16 crías, para su competencia durante la lactancia y en consecuencia sobreviene una condición de desnutrición generalizada en las crías (Pacheco *et al.*, 2018). Estas ratas se dividieron en dos grupos de 4 individuos cada uno. Uno de los grupos recibió la miel con agua como grupo experimental y otro recibió solo agua como testigo.

Otras 8 hembras nulíparas fueron utilizadas con normo peso (332 ± 32 g) a la edad de 4 meses, sin seguir el tratamiento de desnutrición. Fueron divididas en dos grupos de 4 hembras, para uno de ellos recibir la miel con agua (experimental), en tanto que el otro solo agua (testigo).

Alojamiento

Los animales fueron alojados en grupos de 4 individuos bajo condiciones de bioterio estándar en la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa a 25°C y 60% de humedad relativa (NOM-062-OO-1999). En cajas de acrílico medianas de 35cm de largo, 28cm de ancho y 20cm de alto con cama sanitaria de viruta de 5 cm de espesor. Y cubiertas con una rejilla metálica.

Alimentación

Se alimentaron *ad libitum* con nutricubos Abene (16% de PC y 2.8 Mcal de Energía) Conteniendo: maíz, sorgo, trigo, gluten de maíz, harina de alfalfa deshidratada molida, salvadillo, salvados de maíz, trigo y arroz, harinas de soya, cártamo y ajonjolí, melaza de caña, sal, carbonato, iodato y ortofosfato de calcio, aceite vegetal, DL-metionina, L-lisina, óxidos de magnesio, manganeso y zinc, cloruros de potasio y cobalto, sulfatos de potasio, cobre y ferroso, carbonato ferroso, selenito de sodio, vitaminas A, D3, E, B1, B2, B6, B12, K, cloruro de colina, pantotenato de calcio, niacina, folacina y biotina.

El agua de bebida también fue *ad libitum*.

Marcaje

Cada hembra fue marcada individualmente con plumón indeleble siguiendo un patrón de líneas en la cola.

Citología Vaginal Exfoliativa

Se hicieron lavados vaginales (20µl) diariamente a las 9am durante 12 días continuos, por reflujo con solución salina y se colocó el lavado en un portaobjetos para su lectura al microscopio (10X) y determinar la etapa del ciclo estral presente.

Consumo de miel

Se dio la miel diluida en agua. Se utilizó la de marca comercial "La casita" a razón de 1ml/100ml de agua. Cada tercer día fue desechado el sobrante y ofrecida agua con miel fresca (1.2 gr/kg de Peso Vivo).

Sacrificio

Luego de 12 días de consumo de miel en agua, las hembras en estro fueron sacrificadas a las 12 horas a través de cámara de CO₂ (NOM-062-ZOO-1999).

Tasa de ovulación

Se diseccionaron los ovarios de cada hembra y bajo el microscopio estereoscópico se analizaron para detectar los cuerpos hemorrágicos y determinar así la tasa ovulatoria.

Análisis estadísticos

Se hizo estadística básica y prueba de t-Student, considerando diferencias estadísticamente significativas a $p < 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los animales experimentales aceptaron bien la mezcla de agua con miel, sin afectar el consumo de agua, ni de alimento. De manera relevante en las hembras desnutridas que fueron suplementadas durante 12 días con miel, tuvieron una significativamente mayor tasa ovulatoria (30%) que las hembras testigo (Tabla 1, 14.3 vs 11.0, $p > 0.05$). Como resultado de la condición de desnutrición estas hembras tuvieron menor peso que las hembras del siguiente experimento consideradas como normopeso. Esto resulta de interés si consideramos que estas hembras desnutridas respondieron mejor que las de normopeso al estímulo energético al consumir la miel. Por otro lado, las hembras testigo tuvieron en ambos grupos (desnutridas y normopeso) una tasa similar de ovulación (11 vs 11), así como valores similares en la dispersión (DE, 0.8 vs 0.8). De esta manera se logró el aumento en la tasa ovulatoria, como efecto del consumo de miel (flushing) durante tres ciclos estrales. Los datos aquí obtenidos están acorde con los demostrados por otros autores en relación a la tasa ovulatoria de la rata intacta de 2 a 3 meses de edad, que la ubican desde 10 hasta 12 ovocitos (Venegas *et al.*, 2019). En algunas especies animales que han sido sometidas a flushing y que son preferentemente monotocas, se ha logrado un aumento en la tasa de ovulación cercana a 0.5% (Herrera *et al.*, 2010) lo que dependerá además del tipo de nutraceutico utilizado. En cuanto a hembras politocas, es decir de ovulaciones múltiples, se ha llegado a reportar hasta un aumento en la tasa ovulatoria del 30%, lo que corresponde con lo aquí encontrado. Sin embargo en cualquiera de estos tratamientos el resultado dependerá de la especie animal, edad, condición corporal y reproductiva, del tratamiento utilizado, principio activo, dosis y frecuencia, así como la estación del año en que esto se realice.

Tabla 1. Tasa ovulatoria (cuerpos hemorrágicos) en ovarios de ratas desnutridas suplementadas con miel.

Miel	Peso (gr)	OI	OD	Total
e1	265	8	4	12
e2	234	6	7	13
e3	272	8	6	14
e4	250	10	8	18
Media	255.3	8.0	6.3	14.3
DE	16.9	1.6	1.7	2.6
Testigo				
c1	256	4	7	11
c2	254	5	6	11
c3	238	5	7	12
c4	248	3	7	10
Media	249	4.3	6.8	11.0
DE	8.1	1.0	0.5	0.8

Con respecto a las ratas con normopeso, las que consumieron miel (experimentales), también tuvieron, como en el experimento anterior, una tasa ovulatoria aumentada con respecto a las testigo, aunque en este caso solo fue del 17% mayor (Cuadro 2, 12.9 vs 11.0, $p > 0.05$) pero que si mostró diferencia estadísticamente significativa, esto reafirma que la administración de miel durante tres ciclos estrales provocó un aumento en la tasa ovulatoria en la rata. En el caso de las ratas con normopeso se apreció, como ya se mencionó, que fueron de mayores pesos que las desnutridas y cuando se hicieron las disecciones para obtener sus ovarios, se avistaron en todos los especímenes, importantes depósitos grasos periováricos a diferencia de las desnutridas que carecían de ellos. Pudiera ser ésta una razón, del mayor efecto del suplemento energético en las desnutridas, contra lo que se encontró en las ratas con normopeso.

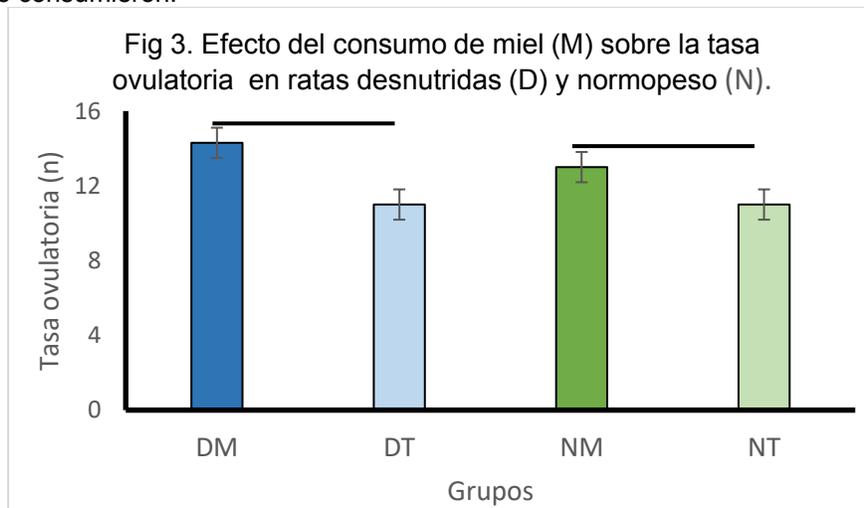
El mecanismo de acción íntimo de este proceso, pudiera estar relacionado con el aumento en la secreción de LH y de progesterona, que han sido descritas en otras hembras de especies diferentes, que son sometidas a tratamientos de flushing (Herrera *et al.*, 2010), sin embargo llama la atención que Herrera y colaboradores en 2010, trabajando flushing en borregas, reportaron no encontrar relación entre la condición corporal de las hembras y la suplementación alimenticia, para aumentar la tasa ovulatoria, explicando que quizá la relación no esté en el número de folículos o en su tamaño de desarrollo, sino en la capacidad esteroideogénica de éstos (Herrera *et al.*, 2010). Al respecto cabe señalar que a pesar de que en su modelo utilizaron diferentes condiciones corporales, no tuvieron alguna categoría similar a la aquí utilizada de desnutridas, pudiendo radicar en esa diferencia los resultados diversos entre ese estudio y el presente.

Por otro lado, se han descrito muchas moléculas bioactivas en la miel, que pudieran estar relacionadas con este fenómeno de respuesta al flushing y aumento de tasa ovulatoria, algunos compuestos contenidos, tienen además gran capacidad antioxidante como los ácidos fenólicos, flavonoides y las enzimas glucosa oxidasa y catalasa, pero además se han reportado tocoferoles, ácido ascórbico, carotenoides, aminoácidos libres, flavonoles, catequinas (Cauich, *et al.*, 2015), en suma este basto potencial antioxidante de la miel, pudiera ser el que esté favoreciendo el aumento en la tasa ovulatoria. Cabe señalar que también dicho potencial antioxidante, se le atribuye ser el mecanismo protector de la miel contra numerosas enfermedades incluyendo el cáncer.

Tabla 2. Tasa ovulatoria (cuerpos hemorrágicos) en ovarios de ratas con normopeso suplementadas con miel.

Miel	Peso (gr)	OI	OD	Total
e1	351	6	7	13
e2	350	6	6	12
e3	270	7	8	15
e4	325	6	6	12
Media	324	6.25	6.75	12.9
DE	38	0.6	0	0.6
Testigo				
t1	360	6	6	12
t2	297	6	5	11
t3	295	5	5	10
t4	336	6	5	11
Media	322.0	5.8	5.3	11.0
DE	31.6	0.5	0.5	0.8

Finalmente en la Figura 3 se resume el efecto en valores promedio y de dispersión, del consumo de miel sobre la tasa ovulatoria, Siendo el grupo que alcanzó la mayor tasa el de hembras desnutridas que comieron miel (DM) seguido del normopeso, que también la consumió (NM) y en tercer lugar tanto las desnutridas que no la consumieron (testigo, DT) y las normopeso testigo (NT) que tampoco consumieron.



CONCLUSIÓN

La administración de miel, como energizante, consumido durante 3 ciclos estrales en mezcla con el agua de bebida, aumentó significativamente la tasa ovulatoria y este efecto fue mayor en las hembras con antecedentes de desnutrición que en las hembras con peso normal, demostrando con ello que, el proceso fisiológico de la ovulación puede ser resiliente ante una adecuada suplementación energética.

BIBLIOGRAFIA

1. E. Insuasty; J. Martínez y H. Jurado-Gámez, "Identificación de la flora y análisis nutricional de miel de abeja para la producción apícola", *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. Vol. 14, 1, 2016, pp. 34-44.
2. A. Herrera, J. Salazar, G. Morales, A. Pro y J. Gallegos, "Efecto del aceite de soya en la dieta y condición corporal sobre la población folicular y tasa ovulatoria de ovejas pelibuey en dos épocas reproductivas", *Universidad y Ciencia*, Vol, 26,2, 2010, pp. 205-210.
3. M. Pacheco, E. Cortés, L. Rodríguez y R. Ortiz, "Efecto de la desnutrición grave en las frecuencias de mutación en el gen *Pig-a* en reticulocitos y eritrocitos de rata", *Revista Especializada en Ciencias Químicas Biológicas*, Vol, 21 (Suppl 2), 2018, pp. 5-12.
4. A.M. Vazquez, "La miel alimento de la eternidad", *Gerión, Revista de Historia Antigua*, 1991, pp. 61-93.
5. R. Cauich, C. Ruiz, E. Ortiz y M. Segura, "Potencial antioxidante de la miel de *Melipona becheii* y su relación con la salud: una revisión", *Nutrición Hospitalaria*, Vol, 32, 4, 2015, pp. 1432-1452, doi y:10.3305/nh.2015.32.4.9312
6. L.G. Zamora y M.L. Arias, "Calidad microbiológica y actividad antimicrobiana de la miel de abejas sin aguijón", *Revista Biomédica*, Vol, 22, 2011, pp.59-66.
7. A.P. Cueto, S. Alves, M. Pilau, R. Weiblen, T. Kubica y T. Luciane, "Antiviral activity of propolis extracts against feline calicivirus, canine adenovirus 2, and bovine viral diarrhea virus", *Ciencias Rural*, Vol, 41,10, 2011, pp. 1800-1806.
8. J. Spinelli, "Desarrollo de un medio de cultivo para embriones de conejo que incluye jalea real de abejas", *Veterinaria Argentina*, Vol, 15,149, 1998, pp. 646-659.
9. P. Visweswara, S. Lakshmi, R. Nagesvari y H. Siew, "Honey, Propolis and Royal Jelly: A comprehensive review of their biological actions and health benefits", *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2017. doi: 10.1155/2017/1259510. Epub 2017 Jul 26
10. B. Vargas, D. Ambriz, C. Navarro, A. Trejo, G. Rodríguez y R. González. "Manejo de animales del bioterio de la UAMI" UAM, México, 2018, pp. 70.
11. B. Venegas, L. De León, G. Rosad, J. Espinoza.C. Morán, R. Dominguez, L. Morales, "In rats with estradiol valerate-induced polycystic ovary syndrome, the acute blockade of ovarian B-adrenoreceptors improve ovulation", *Reprod. Biol. Endocrinol.*, Vol, 19,7, 2019, pp. 95. doi: 10.1186/s12958-019-0539-y.

PROPIEDADES MECÁNICAS Y DEGRADACIÓN QUÍMICA DE PELÍCULAS ELABORADAS CON ALMIDÓN DE *S. EDULE* Y POLIVINIL ALCOHOL

Josefina Porras-Saavedra*¹, Anahí García-Reyes¹, Tomás Tovar-Benítez¹, Nalleli Concepción Pérez-Pérez¹, Michel de la Cruz Canul-Chan², Elena Rustrían Portilla²

¹División de Ingeniería en Industrias Alimentarias, Instituto Tecnológico Superior del Occidente del Estado de Hidalgo, ²Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Veracruzana.
jporras@itssoeh.edu.mx

RESUMEN

En la actualidad, existe una tendencia creciente en el desarrollo de recubrimientos y películas biodegradables de forma que se minimice el impacto ambiental generado durante los procesos de producción y eliminación de los envases elaborados por polímeros no renovables. Y al mismo tiempo brinde la oportunidad de generar alimentos de alta calidad, por lo que se han buscado fuentes renovables en específico de origen vegetal para obtener polisacáridos y combinarlo con polivinilalcohol. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la combinación de almidón de *Sechium edule* (AL) y polivinil alcohol (PVA) sobre las propiedades mecánicas de películas degradables que preserven los alimentos. Se estableció un diseño experimental completamente al azar unifactorial con seis niveles, la variable independiente fue la concentración de AL y PVA, y como variables dependientes se evaluaron las propiedades físicas, mecánicas y la degradabilidad en condiciones ácidas y alcalinas. Las películas son transparentes con tiempos de disolución de 2.7 a 21.7 min. Las propiedades mecánicas de las películas fueron medidas a través de un análisis de perfil de textura, indican que la incorporación de AL reduce los parámetros de dureza, elasticidad, gomosidad y cohesividad con diferencias significativas ($p < 0.05$) respecto a las películas elaboradas con PVA al 100 %. Son degradables en soluciones ácidas y alcalinas, sin embargo, se sugiere su aplicación en alimentos con características ácidas para evitar la interacción de NaOH con las moléculas de almidón. En conclusión, es posible obtener películas biodegradables de polivinil alcohol y almidón de *S. edule* con propiedades mecánicas que preserven los alimentos.

INTRODUCCIÓN

Los plásticos son uno de los materiales más utilizados en el desarrollo de envases y recubrimientos, debido a que representan características funcionales deseables como transparencia, propiedades mecánicas eficientes y estabilidad térmica, dentro de estos se encuentran aquellos elaborados con productos químicos (Camacho-Elizondo *et al.*, 2011). Sin embargo, impactan negativamente al medio ambiente. Ante esta problemática, surge la necesidad de desarrollar recubrimientos o películas biodegradables sustituyendo total o parcialmente estos productos de origen sintético por materiales provenientes de fuentes naturales y renovables (Su *et al.*, 2010). Por ejemplo, con aquellos que se extraen de plantas (almidón, pectina, goma guar, inulina, celulosa), de animales (quitosano), algas (alginato), o de microorganismos (dextranos). El uso de estos materiales, se debe a que son de bajo costo, no son tóxicos, no son grasosos, son películas de bajas calorías y pueden emplearse para extender la vida de anaquel de frutas y hortalizas sin alto riesgo de desarrollar condiciones de anaerobiosis (Lee y Shim, 2004).

Los recubrimientos se definen como una o varias capas delgadas que pueden actuar como barrera a la transferencia de agua, gases y solutos de alimentos, mientras que las películas se definen como capas continuas y delgadas de material formada sobre (como cubierta) o colocada entre los componentes de los alimentos. El desarrollo de biopelículas con aplicaciones alimentarias son de gran interés en la conservación de los alimentos porque incrementan la vida de anaquel, mejoran las propiedades mecánicas, controlan la pérdida de sabores, y conservan compuestos nutricionales atractivos por su capacidad antioxidante (Domínguez-Courtney y Jiménez-Munguía 2012).

Para que las películas biodegradables sean funcionales, se deberá seleccionar los materiales que la forman. La formulación de cada recubrimiento depende directamente de su aplicación, la cual determina las propiedades mecánicas y de barrera deseables (Domínguez-Courtney y Jiménez-Munguía 2012). El desarrollo de películas biodegradables a base de polisacáridos conlleva un

incremento importante en las aplicaciones debido a la protección que brindan a los alimentos (Rojas-Graü et al., 2009).

Al respecto se han empleado poli vinil alcohol (PVA), material sintético soluble en agua y en combinación con diversas concentraciones de aislados proteicos de soya para generar recubrimientos biodegradables. Estos mostraron excelentes propiedades físicas y de barrera, que al someterse bajo condiciones apropiadas, se degradan más rápido que los polímeros basados en petróleo. Una de las fuentes no convencionales propuestas en la presente investigación, es a partir del aprovechamiento del fruto de *Sechium edule*, comúnmente conocido como chayote.

S. edule es una planta altamente arraigada a la cocina mexicana, contiene carbohidratos, proteínas, calcio, fósforo, hierro, vitamina A, tiamina, riboflavina, niacina, ácido ascórbico, azúcar soluble y agua. El chayote es una planta trepadora perenne, monoica, con raíces engrosadas y tallos delgados, ramificados de hasta 10 m de longitud. Con frutos solitarios o raramente en pares, vivíparos, carnosos, algunas veces longitudinalmente sulcados o crestados, de muy diversas formas, tamaños, indumento, número y tipo de espinas o crestados y amarillentos, pulpa verde pálida (Lira, 1996). De acuerdo a estudios de SAGARPA, en México en el año del 2004 se produjeron 94 656 toneladas del fruto de chayote e incrementó en el 2008 hasta 48 381 toneladas, los principales estados productores fueron Veracruz, Michoacán, Jalisco y San Luis Potosí. Las variedades que se existen México son diversas, sin embargo no en todos los casos se aprovechan los frutos para su consumo y dado que contiene un elevado porcentaje de humedad se deteriora en algunos días por lo que constituye un problema de gestión de residuos ambientales, ante ello una alternativa de uso es la extracción del almidón, se ha observado que el almidón del tubérculo de este vegetal posee propiedades físicas similares al almidón de papa y maíz (Jiménez-Hernández, 2007).

La búsqueda y aprovechamiento de este tipo de biopolímeros puede dar un valor agregado y proveer materiales con propiedades particulares para aplicaciones en el desarrollo de películas biodegradables de interés alimentario. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la combinación de almidón de *S. edule* y polivinil alcohol sobre las propiedades mecánicas y degradabilidad química.

METODOLOGÍA

Obtención de películas biodegradables

Para la obtención de las películas se utilizó un diseño experimental unifactorial completamente al azar, las variables independientes fueron la concentración de almidón (AL) de frutos de *S. edule* y polivinil alcohol (PVA) (Cuadro 1), como variables dependientes se establecieron las propiedades físicas, propiedades mecánicas y la degradación de las películas en condiciones ácido alcalino.

Obtención de películas

La elaboración de películas se realizó por el método de casting (vertido en placa) a partir de la combinación de AL y PVA. Primero se prepararon dispersiones al 2 % de sólidos totales y fueron tratadas térmicamente a 80 °C por 30 min, enseguida se incorporó 2 ml de glicerol. Al finalizar el tratamiento, se colocaron 30 ml de las soluciones en cajas Petri de 9 cm de diámetro. Posteriormente las cajas Petri se colocaron en una estufa de secado (Biobase, Modelo BOV-D125, China) a una temperatura de 60 °C durante 24 h (Su, 2010). Una vez que se obtuvieron las películas, se almacenaron en bolsas de plástico ziploc con sello hermético para hasta su posterior análisis.

Cuadro 1. Diseño experimental de elaboración de películas de almidón de <i>S. edule</i> (AL) y polivinil alcohol (PVA).		
Tratamiento	Almidón de <i>S. edule</i> (% p/v)	Polivinil alcohol (% p/v)
0 AL-100 PVA	0	100
5 AL-95 PVA	5	95
25 AL-75 PVA	25	75
50 AL-50 PVA	50	50
75 AL-25 PVA	75	25
95 AL-5 PVA	95	5

Caracterización física de las películas

Transparencia en las películas. Para la obtención de la transparencia, se utilizó un patrón, que consiste en líneas de diferente grosor (0.25 puntos a 6 puntos)

Contenido de humedad. Las películas fueron evaluadas respecto al contenido de humedad de acuerdo al método de la AOAC (2005).

Tiempo de disolución. En un vaso de precipitado se colocaron 50 ml de agua destilada a 80°C, y se incorporó la muestra con una superficie de la película de 1.5 cm² y se mantuvo en agitación constante de 800 rpm (Sabberi et al., 2017).

Propiedades mecánicas

Las propiedades mecánicas de las películas se evaluaron en un texturómetro (Brookfield, modelo CT310K, USA) con la sonda TA- DGF001 (Sabberi et al., 2017). Primero se midió la deformación, para ello se fijaron las muestras de 7 cm de largo y 2 cm de ancho en la sonda (TA-DGF001). Su valor meta fue de 50.0 mm, la carga activación es de 30g, velocidad del test 3.00mm/seg .

Para realizar el análisis de perfil de textura se utilizaron accesorios de soporte de película para la prueba de punción. Se colocaron muestras de 2 x 2 cm fijados entre dos placas de acrílico, con un orificio central de 1.1 cm de diámetro, el diámetro de la sonda fue de 0.4cm. La fuerza máxima justo antes del rompimiento fue tomada como resistencia a la ruptura. Los parámetros del texturómetro fueron: objetivo 4.0 mm, carga activación 7 g, velocidad de vuelta 0.5 mm/s, contador de ciclos 2.0, velocidad de 1.00 mm/s, factor de muestreo: 50.00 points/sec, celda carga 10000 g.

Degradación química de las películas en solución ácida y solución alcalina

Se colocaron 40 ml de la solución de HCl (0.1 N) en cajas Petri de 9 cm, enseguida se agregó la película con dimensiones de 4 x 4 cm y se almacenó a una temperatura de 25 °C por 30 días. Este mismo procedimiento se desarrolló para evaluar la degradabilidad de las películas con NaOH (Hu G, 2009). Todos los análisis se realizaron por triplicado.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza de una sola vía, utilizando el software GraphPad Prism Software, Inc. 5.03, con un nivel de confianza del 95% y se realizó una prueba de Tukey para comparar medias ($p \leq 0.05$).

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

Propiedades físicas

Las dispersiones de almidón de *S. edule* y PVA formaron películas por el método de vaciado en placa (Figura 1), estas películas se caracterizaron por presentar matrices continuas, homogéneas y transparentes. La formación de la matriz continua se asocia a la gelatinización del almidón. Según se muestra (Figura 1), las películas permiten la observación nítida de las líneas de fondo de 0.25 puntos - 6 puntos.

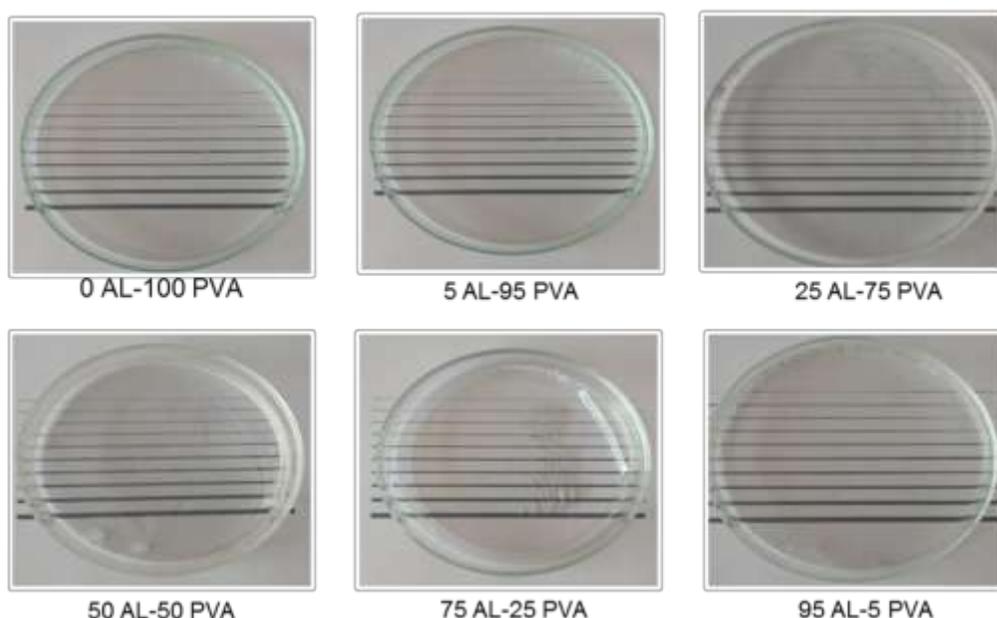


Figura 1. Transparencia de las películas de almidón de *Sechium edule* en combinación con polivinil alcohol.

Posterior a la deshidratación, el contenido de humedad oscila entre 9.4 a 18.3 % (Cuadro 2) con diferencias significativas entre los tratamientos 25 AL-75 PVA y 50 AL-50 PVA, la incorporación de almidón en concentraciones mayores al 50 % incrementa el porcentaje de humedad (Cuadro 2), esto se atribuye a la capacidad de retención de agua del almidón asociada a la formación de puentes de hidrógeno con el agua (Dominguez-Courtney, 2012)

El tiempo de disolución de las películas a una temperatura de 80 °C se encuentra en un intervalo de 2.7 a 21.7 min (Cuadro 2), muestran diferencias significativas entre los tratamientos con 50 %, 75% y 95 % de almidón, la incorporación de PVA reduce el tiempo de disolución. La solubilidad involucra la penetración de las moléculas de agua en la matriz polimérica de la película, seguido de la disrupción de las fuerzas de Van der Waals entre las cadenas poliméricas. Generalmente, la solubilidad está directamente relacionada con la baja resistencia de las películas por el agua, esta propiedad determina su aplicación en la protección de los alimentos, principalmente cuando la película interactúa con el material a proteger (Kumari et al., 2017).

Cuadro 2. Humedad y tiempo de disolución en películas almidón de s. Edule y polivinil alcohol

Tratamiento	Humedad (%)	Tiempo de disolución (min)
0 AL-100 PVA	10.8 ± 0.4 ^a	2.7 ± 1.2 ^a
5 AL-95 PVA	9.4 ± 0.9 ^a	3.3 ± 2.1 ^a
25 AL-75 PVA	10.3 ± 1.0 ^a	4.7 ± 2.5 ^a
50 AL-50 PVA	16.6 ± 3.6 ^b	6.7 ± 3.1 ^a
75 AL-25 PVA	17.6 ± 3.5 ^b	21.7 ± 2.5 ^b
95 AL-5 PVA	18.3 ± 2.9 ^b	11.3 ± 2.1 ^c

Los subíndices con letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre los tratamientos con un nivel de significancia del 95 %.

Propiedades mecánicas

La funcionalidad de las películas está relacionada con las propiedades físicas, funcionales y mecánicas. Estas últimas reflejan su capacidad para preservar la integridad del producto empacado así como la resistencia del material. Los resultados muestran que las películas de AL con PVA se deforman en un intervalo de 10.77 a 46.46 mm al aplicar una fuerza de 30 g, sin diferencias significativas entre los tratamientos sin AL con 5 % y 25 % de almidón (95 % de intervalo de confianza) (Cuadro 3). En el primer ciclo del análisis de perfil de textura, la fuerza necesaria para deformar las películas de AL con PVA se encuentra en un intervalo de 734 a 202 g con diferencias significativas entre los tratamientos, en otras palabras, la dureza de las películas se reduce con la incorporación de almidón de *S. edule* (Cuadro 3), este comportamiento es similar para la dureza del ciclo 2, elasticidad, gomosidad y cohesividad. Sessini et al (2016), describen que las propiedades mecánicas de las películas son afectadas por el origen botánico del almidón, específicamente por la proporción de amilosa y amilopectina. Los materiales basados en amilopectina presentan valores altos de elongación, mientras que aquellos preparados con amilosa son más quebradizos (Sessini et al., 2016). Sin embargo, la concentración de glicerol es un parámetro que afecta las propiedades mecánicas y que debería analizarse.

Tratamiento	Deformación (mm)	Análisis de Perfil de Textura				
		Dureza ciclo 1 (g)	Dureza ciclo 2 (g)	Elasticidad (mm)	Gomosidad (g)	Cohesividad
0 AL-100 PVA	46.46 ± 5.84 ^a	734 ± 168 ^a	683 ± 157 ^a	3.33 ± 0.17 ^a	402 ± 81 ^a	0.67 ± 0.07 ^a
5 AL-95 PVA	45.00 ± 4.30 ^a	347 ± 39 ^{bcd}	327 ± 38 ^{bc}	3.05 ± 0.08 ^b	226 ± 20 ^{bc}	0.58 ± 0.04 ^b
25 AL-75 PVA	34.93 ± 7.42 ^a	432 ± 7 ^{bc}	406 ± 6 ^b	3.02 ± 0.12 ^b	279 ± 22 ^b	0.64 ± 0.04 ^b
50 AL-50 PVA	22.19 ± 1.64 ^b	516 ± 73 ^b	507 ± 22 ^{ab}	3.09 ± 0.07 ^b	321 ± 52 ^{ab}	0.63 ± 0.05 ^b
75 AL-25 PVA	10.77 ± 1.02 ^b	202 ± 13 ^d	27 ± 14 ^d	2.52 ± 0.07 ^c	21 ± 14 ^d	0.10 ± 0.06 ^c
95 AL-5 PVA	18.67 ± 3.08 ^b	280 ± 14 ^{cd}	177 ± 65 ^c	2.95 ± 0.08 ^b	135 ± 25 ^{cd}	0.51 ± 0.10 ^b

Los subíndices con letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre los tratamientos con un nivel de significancia del 95 %.

Degradabilidad química de las películas en soluciones ácidas y alcalinas

La degradabilidad de las películas de almidón con PVA en solución ácida o alcalina se evaluó durante 30 días a una temperatura de 25 °C. En medio alcalino (pH 13), las películas con 5 % de AL y 95 % de PVA permanecieron estables durante 8 días, en el día 9 mostraron deterioro en su estructura física, mientras que las películas con 75 % de PVA y 25 % de AL no presentaron daños aparentes hasta el día 25 (Figura 2). En general, la estabilidad de las películas en medio alcalino se atribuye a la interacción del NaOH con los grupos hidroxilo de las moléculas amilosa y amilopectina, lo que causa la disminución de las interacciones intra e intermoleculares.

Las películas almacenadas en medio ácido (pH 1) son estables hasta el día 11, su estructura se preserva hasta el día 20 (Figura 3). En las soluciones ácidas (HCl) se presentó mayor degradación en las formulaciones 95PVA-5AL, 25PVA-75AL, 5PVA-95AL a los 21 días. Sin embargo, las películas con 5 % de PVA y 95 de AL almacenadas en soluciones ácidas se disolvieron completamente (Figura 3), este comportamiento se puede asociar al hecho que el almidón posee gran cantidad de grupos hidroxilo en su estructura que le confiere un carácter hidrofílico. Bajo estas condiciones, se sugiere que las películas podrían utilizarse para la protección de alimentos ácidos, esto debido a que el NaOH interactúa con los grupos funcionales del almidón y coincide con las aportaciones de Hu et al. (2009). A los 27 días, se observa degradación tanto en las películas almacenadas en medio ácido como aquellas almacenadas en medio alcalino; en todos los tratamientos mostraron degradación.

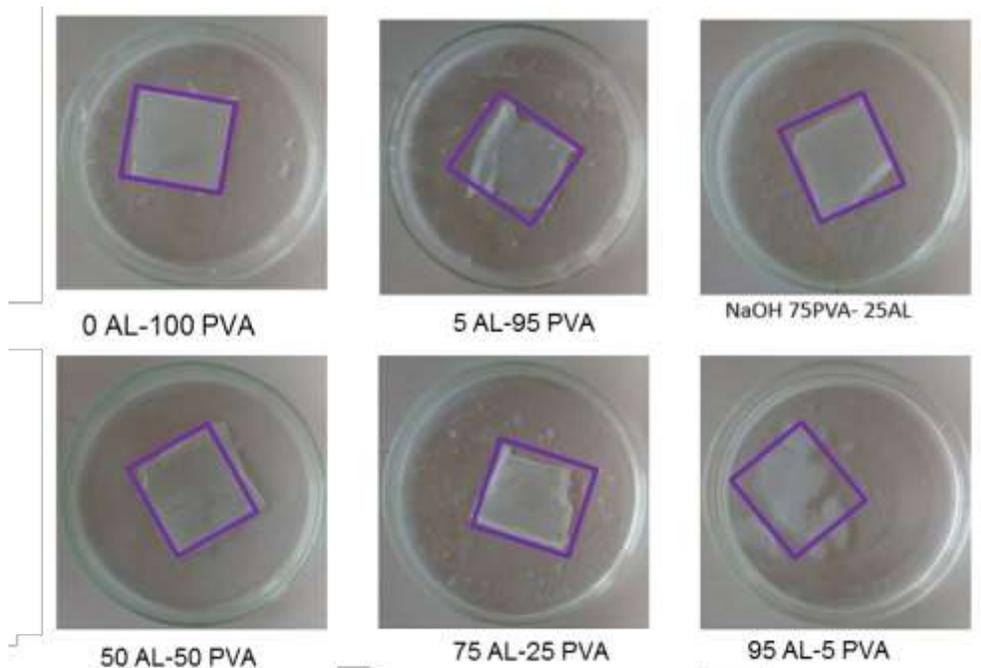


Figura 2. Degradación de películas almacenadas en soluciones alcalinas con pH 13 durante 30 días a 25 °C.

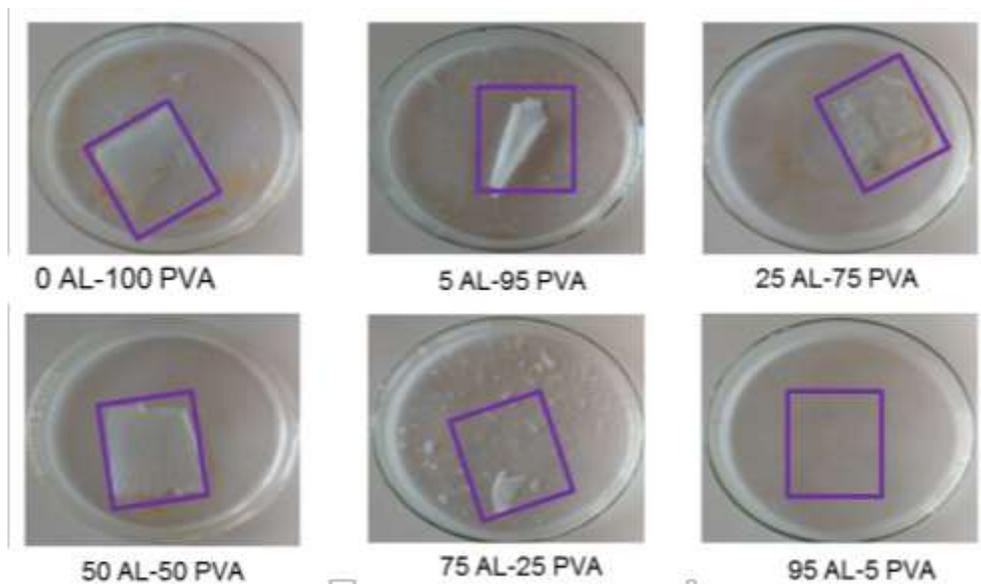


Figura 3. Degradación de películas almacenadas en soluciones ácidas con pH 1 durante 30 días a 25 °C.

CONCLUSIONES

La concentración mínima de almidón para la formación de películas es de 5 % en combinación con el 95 % de polivinil alcohol. Bajo las condiciones de estudio, la incorporación de almidón incrementa el porcentaje de humedad, reduce significativamente el tiempo de disolución y la deformación de las películas. La incorporación de almidón a las películas y en combinación con polivinil alcohol se

degradan a partir del día 12 en condiciones ácidas y bajo condiciones alcalinas se degradan partir del día 9.

BIBLIOGRAFÍA

1. AOAC. (2005). Official methods of analysis of AOAC Internacional (16th ed.). Gaythersburg, USA.
2. Camacho-Elizondo M., Baudrit-Vega J., Campos-Gallo A. (2011). Uso de nanomateriales en polímeros para la obtención de bioempaques en aplicaciones alimentarias. *Rev. Soc. Quím Perú*. 77 (4). pp 292-306.
3. Domínguez-Courtney M. F., Jiménez-Munguía M. T. (2012). Películas comestibles formuladas con polisacáridos: propiedades y aplicaciones. *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos*. 6 (2). pp 110-121.
4. Hu G., Chen J., Gao J. (2009). Preparation and characteristic of oxidized potato starch films. *Carbohydrate Polymers* 76, 291-298.
5. Kumari M., Mahajan H., Joshi R., Gupta M. (2017). Development and structural characterization of edible films for improving fruit quality. *Food Packaging and shelf life*. 12. 42-50.
6. Saberi B., Chockchaisawasdee S., Golding J. B., Scarlett C.J., Stathopoulos C. E. (2017). Physical and mechanical properties of a new edible film made of pea starch and guar gum as affected by glycols, sugars and polyols. *Biological Macromolecules*. 104. 345-359.
7. Sessine V., Arrieta M. P., Kenny J. M., Peponi L. (2016). Processing of edible films base don nanoreinforced gelatinized starch. *Polymer Degradation and Stability*. 1-12.
8. Jiménez-Hernández J., Salazar-Montaya J.A., Ramos-Ramírez E. G., Physical, chemical and microscopic characterization of a nez starch from chayote (*Sechium edule*) tuber and its comparison with potato and maize starches. *Carbohydrate Polymers*. 68. 679-686.
9. Su, J. F., Yuan, X. Y., Huang, Z., & Xia, W. L. (2010). Properties stability and biodegradation behaviors of soy protein isolate/poly (vinyl alcohol) blend films. *Polymer Degradation and Stability*, 95(7), 1226-1237.
10. Lee, K; Shim, J. 2004. Mechanical properties of gellan and gelatin composite films. *Carbohydrate Polymers* 56, 251-254.
11. Rojas Grau M. A. (2006). Recubrimientos comestibles y sustancias de origen natural en manzana fresca cortada: Una nueva estrategia de conservación. *Universidad de Lleida*, 1, 76.

FERTILIZACIÓN Y DESARROLLO *IN VITRO* DE EMBRIONES DE OVINO OBTENIDOS POR OPU Y TRANSPORTADOS DURANTE 7 HORAS.

Areli Monter López¹, José Guadalupe Ávila Ontiveros², Diana Arboleda Santa² María del Carmen Navarro Maldonado³, Salvador Romo García⁴, José Roberto Vazquez Avendaño⁵, Demetrio Alonso Ambriz García³.

¹Maestría en Biología de la Reproducción Animal. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, ²AA Biotecnología Reproductiva S.A. de C.V., ³Departamento de Biología de la Reproducción Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, ⁴FMVZ-Cuautitlán UNAM, ⁵Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana. Ciudad de México. deme@xanum.uam.mx

RESUMEN

La obtención de ovocitos *in situ* directamente del ovario de las hembras, es un proceso conocido como Ovum Pick Up (OPU). Los ovocitos son colocados en medio de maduración *in vitro* (MIV) y pueden ser transportados desde el sitio de la colecta hasta el laboratorio donde se realizará la fertilización *in vitro*. La MIV se completará al arribo al laboratorio por 20-24 horas de incubación. Posteriormente, los ovocitos son fertilizados y los embriones resultantes son desarrollados en cultivos y transferidos en hembras subrogadas. Sin embargo, en ocasiones la ubicación de los ranchos donde se encuentran las hembras de genética selecta donadoras de ovocitos, es muy distante de los laboratorios de reproducción, por lo que es necesario transportar ovocitos y los embriones resultantes, en condiciones de incubación (38° C, 5% CO² y humedad a saturación), durante varias horas. En el presente trabajo se colectaron ovocitos de ovejas Dorper, por OPU en un rancho ubicado en la Ciudad de Querétaro. Los ovocitos colectados fueron transportados en medio MIV al Laboratorio de Reproducción Animal Asistida de la UAM Iztapalapa en la Ciudad de México, en una transportadora portátil a 38.5°C, durante 7 horas. La MIV inició en la transportadora y se completó en el laboratorio en una incubadora a las condiciones señaladas hasta cumplirse 20-24h totales de cultivo. Posteriormente los ovocitos fueron fertilizados en medio FIV (Cook Medical) con semen congelado/descongelado de machos genéticamente selectos Dorper, a las mismas condiciones de incubación. Finalmente, fueron cultivados 3 días en medio Cleavage (Cook Medical) y 4 días en medio Blastocyst (Cook Medical) hasta completar 7 días de cultivo. Esto permitió el desarrollo embrionario a la etapa de blastocisto eclosionado (33%), demostrando que el OPU y el transporte de ovocitos en medio MIV, permiten la producción de embriones de animales de alto valor genético. Ello favorecerá la interacción entre el sector académico y el sector productivo, en beneficio de la producción Nacional.

INTRODUCCIÓN

En México, la producción de embriones ovinos por fertilización *in vitro* (FIV), aunque es una técnica vanguardista, con fines comerciales no existe. Todos los trabajos reportados son a nivel de investigación y no se ha logrado una alianza entre las instancias de la investigación científica y las instancias comerciales. Una de las razones por las que se encuentra limitada esta tecnología en las empresas que ofrecen servicios para la reproducción animal, es de índole económica (lograr que la FIV sea rentable para prestadores de servicios y demandantes), así como el costo de montaje y mantenimiento de un laboratorio de FIV. Los retos actuales son llegar a trabajar con protocolos de producción de embriones *in vitro* que muestren eficacia y rentabilidad.

Una técnica alternativa y vanguardista, pero que tampoco ha sido del todo desarrollada en nuestro país, es la colecta de ovocitos *in situ* (OPU, por sus siglas en inglés *Ovum Pick Up*). Esta técnica toma particular interés al ser aplicada en hembras selectas que han sido sujetas a presión de reproducción para la obtención de embriones *in vivo* y que ya no responden a tratamientos hormonales, lo que hace que deban ser descartadas. Por lo que la OPU ofrece una alternativa para la obtención ovocitos de estos animales de alto valor genético y productivo (Paramio e Izquierdo, 2016). Una vez colectados, los ovocitos son transportados en incubadoras portátiles durante las primeras horas de la maduración *in vitro* (MIV), para su llegada al laboratorio, donde se continuará

el proceso de maduración *in vitro* (MIV), fertilización *in vitro* (FIV) y desarrollo embrionario *in vitro* (DIV) (Byrd *et al.*, 1997; Carnevale, 2016).

El presente trabajo se llevó a cabo en hembras de raza Dorper, para la producción cárnica y que han sido sujetas a presión de reproducción, para obtener sus ovocitos por OPU. Las hembras pertenecen a la empresa AA *Biotecnología Reproductiva, S.A. de C.V.*, ubicada en el Estado de Querétaro. Los ovocitos colectados fueron transportados al Laboratorio de Reproducción Animal Asistida (Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa), en incubadora portátil donde se inició el proceso de MIV, finalizándose ésta en el laboratorio.

TEORÍA

Se considera a la producción de embriones por FIV, como aquel proceso artificial por el cual el espermatozoide fertiliza al ovocito homólogo, para dar paso a un embrión que se desarrollará bajo condiciones controladas de laboratorio, hasta su transferencia en una hembra receptora (Filipiak y Larocca, 2012). Las etapas de este procedimiento incluyen: la obtención de ovocitos (de hembras de rastro o por OPU), la maduración *in vitro* de ovocitos (MIV), la fertilización *in vitro* (FIV) y el desarrollo embrionario *in vitro* (DIV).

Sobre la MIV se han descrito diversos protocolos que presentan más similitudes que diferencias. Los primeros trabajos en bovinos utilizaron medios de maduración a base de TCM-199 suplementado con 10% de suero fetal, gonadotropinas (FSH y LH), estradiol y albúmina sérica bovina, incubándolos a 38.5 °C y 5% de CO₂ (Fuyuki *et al.*, 1988).

Los niveles de oxígeno durante el cultivo son de 5%, ya que niveles mayores producen la síntesis de especies reactivas de oxígeno (ERO), que provocan daños en los ovocitos (Leoni, *et al.* 2007). Se ha prescindido del suero fetal y la BSA por cuestiones de índole sanitaria, reemplazándolas con PVP-40 (polivinil pirrolidona), molécula sintética no metabolizable de función similar a las proteínas. Por último, junto con los niveles bajos de oxígeno, se utiliza glucosa en el medio de maduración, con resultados aceptables (Farin, 2001).

La FIV de ovocitos 24 h después del inicio de la MIV, se da con el co-cultivo de éstos con los espermatozoides colectados en fresco o descongelados. En caso del semen descongelado, debe realizarse una selección de la fracción móvil de los espermatozoides a través del lavado y centrifugación. La capacitación espermática es fundamental, ya que es el proceso por el cual el espermatozoide tendrá la habilidad de fecundar al ovocito. Lu y Seidel (2004) concluyen que, la inclusión de heparina y de cafeína, dan buenos resultados en la capacitación espermática. Una vez fertilizados, los ovocitos inician el desarrollo embrionario hasta alcanzar el estadio de blastocisto, que es la etapa ideal para la transferencia embrionaria o, la criopreservación (Crespo y Guaman, 2015).

La OPU es una técnica que se aplica desde el año 1994, con la finalidad de aumentar el aprovechamiento de animales selectos que, por presión de reproducción, han presentado algún tipo de fallo reproductivo por los métodos convencionales: falla en la respuesta ovárica a tratamientos hormonales para superovulación y el que se trate de animales de edad avanzada o muy jóvenes (Zhu *et al.*, 2018). Por ello se han estudiado factores fisiológicos que pudieran estar involucrados, como la dinámica folicular, la población folicular antral, la irrigación ovárica y la concentración de FSH antes, durante o después de la superovulación (Mossa *et al.*, 2007; Bartlewski *et al.*, 2016). También se han estudiado los receptores a FSH, GnRH y LH, determinando que, aunque se apliquen los esquemas hormonales en las dosis efectivas, si éstos no se encuentran en funcionamiento adecuado, no se logrará estimular el crecimiento y desarrollo folicular (Wei *et al.*, 2012; Dovolou *et al.*, 2013).

La OPU permite la aspiración de ovocitos *in situ* directamente de los folículos ováricos de ovejas en los ranchos, y pueden ser aprovechados para la producción *in vitro* de embriones (Berlinguer *et al.*, 2006; Sanchez *et al.*, 2014; Souza *et al.*, 2014; Jorge *et al.*, 2018). En ovinos, esto se efectúa generalmente por laparoscopia, por ser poco invasiva y permitir el aprovechamiento de las hembras en sucesivas ocasiones (Valasi *et al.*, 2009; Sanchez *et al.*, 2014). Sin embargo, la laparotomía asegura la obtención de un mayor número de ovocitos colectados (Wieczorek, 2018). La laparotomía consiste en exteriorizar los ovarios de cavidad abdominal y puncionar-aspirar sus folículos para obtener el líquido folicular que contiene los ovocitos, mismos que son utilizados para los programas

de fertilización *in vitro* (Tian *et al.*, 2019). Las tasas de éxito en la obtención de embriones en estadio de blastocisto producidos por FIV a partir de ovocitos colectados por OPU, van del 27% al 43% (Gou *et al.*, 2009; Max *et al.*, 2012; Tian *et al.*, 2019). La obtención de ovocitos de rastro, también permite producir blastocitos por FIV, con resultados muy variables, que van desde un 22% hasta un 54% (Fair *et al.*, 2006; Robledo *et al.*, 2009; Romao *et al.*, 2013; Davachi *et al.*, 2018; Heydaynejad *et al.*, 2019; Zabihi *et al.*, 2019).

Los sistemas de transporte de ovocitos se realizan en incubadoras que regulan solo la temperatura interior, la mayoría de estos dispositivos no incluyen regulación de gases como el CO₂. Los ovocitos colectados se colocan en tubos de material especial que evitan que se pierda el CO₂ inyectado (Max *et al.*, 2012). En bovinos, el transporte de ovocitos al mismo tiempo que se da el inicio de la MIV, es una técnica totalmente estandarizada (Byrd *et al.*, 1997). Sin embargo, poco hay al respecto sobre los protocolos especiales para ovinos, mientras que para equinos es una técnica que últimamente se está aplicando (Carnevale, 2016).

Recientemente se han lanzado al mercado medios de MIV exclusivos para el transporte de los ovocitos que no requieren estabilización con CO₂. La base de estos medios de maduración es el uso del TCM-199 con Hepes, reportándose resultados aceptables en los porcentajes de MIV en bovinos (Barceló *et al.*, 2015; Hashem *et al.*, 2019).

PARTE EXPERIMENTAL

Hembras a utilizar y condiciones de mantenimiento

Se efectuó la colecta de ovocitos mediante OPU, en hembras *Ovis aries* multíparas híbridas F1 (Katahdin x Pelibuey) y Pelibuey, pertenecientes al rancho *Ovinos Querétaro* de la empresa *AA Biotecnología Reproductiva, S.A de C.V.*, ubicada en el Estado de Querétaro, México.

Se incluyeron las hembras que cumplían con una condición corporal de 2.5 a 3.0 en escala de 1-5, con al menos 1.5 meses post destete (vacías), sanas clínicamente y libres de parásitos. El régimen alimenticio consistió en una dieta basada en pastoreo de pasto estrella (*Cynodon dactylon*) durante el día, suplementadas con 100g de pasta de soya y 100g de maíz molido en la mañana.

Grupos experimentales

Se realizaron 4 ensayos de obtención de ovocitos por OPU, los cuales fueron transportados al Laboratorio de Reproducción Animal Asistida de la Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa en la Ciudad de México, en una incubadora portátil, donde dio inicio la MIV (GE). Una vez que arribaron al laboratorio, los ovocitos completaron la MIV en incubadora de CO₂ (hasta cumplirse 24h de cultivo). Al término de la MIV, los ovocitos fueron fertilizados *in vitro* (FIV) utilizando semen descongelado de ovinos raza Dorper, propiedad del mismo rancho.

Como control de la técnica de FIV (GC1), se colectaron ovocitos de ovarios de hembras sacrificadas en rastro. Estos ovocitos llevaron toda la MIV en incubadora de CO₂ durante 24h de cultivo.

Se determinó la tasa de MIV de ambos grupos, evaluando la expansión de las células del cúmulo de los ovocitos y la extrusión de su primer cuerpo polar, indicadores de que alcanzaron la Metafase II (MII).

Por otro lado, una muestra del 10% de los ovocitos colectados de rastro que habían alcanzado la MII, se usaron para producir embriones partenogenéticos como grupo control (GC2) del sistema de cultivo para el desarrollo *in vitro* (DIV). El 90% de los ovocitos restantes fueron sometidos a FIV utilizando semen descongelado de borregos Dorper. Se evaluó la tasa de FIV y DIV en los 3 grupos (GE, GC1 y GC2). Finalmente, se evaluó la calidad de los embriones desarrollados por FIV en ambos grupos, mediante los criterios de la ASEBIR (2015).

Obtención de ovocitos *in vivo*, mediante OPU

La colecta de ovocitos por OPU se apegó a lo establecido en la Ley de Protección a los Animales del Distrito Federal (2014), Artículo 4 Numeral X.

La aspiración folicular (OPU) *in vivo*, se realizó por laparotomía medio ventral, se exteriorizaron los ovarios y se puncionaron los folículos de 2-5 mm de diámetro (Max *et al.*, 2012). Cada oveja se anestesió de manera general con 0.1 mL de Xilacina-10% IM y 0.1 ml de Ketamina-10% intravenosa. Se efectuó una incisión de 5 cm en la línea media ventral a nivel del abdomen hasta llegar a cavidad

abdominal, para localizar y exteriorizar los ovarios. Éstos se puncionaron con jeringa con aguja No 18, conteniendo 1 mL de TCM-199 con HEPES (*In Vitro*, S. A.) suplementado con 4.5 µg de heparina (*Sigma*). Se recuperaron los ovocitos en una caja Petri, donde se clasificaron y seleccionaron aquellos de morfología normal, de acuerdo con los parámetros establecidos por la ASEBIR (2015) y por el número de capas de células de la granulosa (Kakkassery, 2010).

Maduración *in vitro* (MIV) de ovocitos y transporte al laboratorio

Siguiendo la metodología de Robledo *et al.* (2009), los ovocitos seleccionados se lavaron dos veces consecutivas en medio de aspiración TCM-199 con Hepes (*In Vitro*, S. A.) y Heparina (4.5 µg). Se les dio un tercer lavado en medio de maduración *in vitro* (MIV) a base de TCM-199 sin Hepes suplementado con: Cisteína (0.57 mM), D-glucosa (3.05 mM), alcohol polivinílico (0.1 %), Piruvato de sodio (0.91 mM), 10 % de suero fetal bovino (SFB), hormona coriónica humana (hCG, 5 UI/mL, *Ferring Pharmaceuticals*), hormona folículo estimulante (FSH, 0.1 UI/mL, *Merck Serono*), factor de crecimiento epidermal (EGF 10 ng/mL, *Sigma*) y antibiótico-antimicótico (2%, *Microlab*).

Para el grupo experimental (GE), los ovocitos se colocaron en tubos viales de 5ml (*Falcon*) con 500 µL de medio MIV, cubiertos con aceite mineral, previamente atemperados a 38.5 °C y equilibrados a 5 % de CO₂, dentro de una incubadora portátil (*Biotherm INC-RB1*, *CryoLogic*). Con este paso, se dio inicio al proceso de MIV (Max *et al.*, 2012; Carnevale, 2016). La incubadora viajó de Querétaro al Laboratorio de Reproducción Animal Asistida (W-210), ubicado en la Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, en la Ciudad de México, durante aproximadamente 6 h. Una vez en el laboratorio, los ovocitos se colocaron en una caja de 4 pozos y se incubaron en incubadora convencional a las mismas condiciones descritas, donde continuaron la MIV hasta completar 24h.

Para los grupos controles (GC1 y GC2), los ovocitos fueron colectados por punción de folículos de 2 a 5 mm de diámetro, de ovarios de hembras sacrificadas en un rastro local, utilizando jeringas de 10 mL conteniendo 1 mL de TCM-199 con Hepes y heparina, del mismo modo que ya se describió. Estos ovocitos fueron madurados *in vitro* durante 24 h en el mismo medio MIV y a las mismas condiciones descritas.

Fertilización *in vitro* (FIV) y desarrollo embrionario *in vitro* (DIV)

A las 24h posteriores a la MIV, los ovocitos de todos los grupos (GE, GC1 y GC2) que alcanzaron la metafase II (MII), se trabajaron por separado. Los grupos GE y GC1 se sometieron a FIV, mientras que el grupo GC2 se utilizó para producir embriones partenogénéticos, como se describe más adelante.

Los ovocitos que alcanzaron la MII en grupos GE y GC1, se sometieron al proceso de FIV. Para ello, se utilizaron pajillas de semen de borregos Dorper propiedad de la empresa *AA Biotecnología Reproductiva, S. A. de C. V.* resguardadas en el Laboratorio de Reproducción Animal Asistida en tanque de N₂. Siguiendo la metodología descrita por Rodríguez (2012), en el laboratorio se descongelaron en baño María a 35 °C, por 30 seg. Una concentración de 0.5 x 10⁶ espermatozoides móviles/mL se obtuvieron de la fracción superior del proceso de selección por Swim up y se depositaron en la caja de cultivo de 4 pozos, que contenía los ovocitos en MII. Los grupos GE y GC1 fueron tratados por separado.

Para la fertilización *in vitro* (FIV), los gametos femenino y masculino de cada grupo (GE y GC1) fueron cultivados por separado en medio FIV (*Cook Medical*). Antes de colocar los espermatozoides con los ovocitos, se retiraron las células de la granulosa de los ovocitos utilizando Hialuronidasa (5 mg/ml). Una vez desnudos, se evaluó la presencia del primer cuerpo polar. Esto verificó que hubieran alcanzado la MII.

Después se lavaron dos veces en gotas de 50 µL con medio FIV y se colocaron en la gota final de medio FIV cubierto con aceite mineral. Los gametos fueron incubados durante 24 h a las mismas condiciones descritas. Posterior a este tiempo, los remanentes de células del cúmulo y de espermatozoides, fueron removidos por pipeteo continuo. Los ovocitos fertilizados se lavaron dos veces en gotas de 50 µL de medio de Desarrollo *in vitro* o DIV (*Cleavage, Cook Medical*) y transfirieron a la caja de cultivo correspondiente conteniendo 70 µL de medio DIV cubierto con aceite mineral, incubándolos a las condiciones descritas. La tasa de DIV y la evaluación morfológica de los

embriones obtenidos, se evaluó a los 2, 4, y 7 días de iniciado el cultivo, utilizando los criterios del Manual de la IETS (Stringfellow y Givens, 2011).

Obtención de embriones partenogenéticos

Como control del sistema de DIV (GC2), 10% de los ovocitos colectados de rastro que alcanzaron la MII, se activaron para su desarrollo como embriones partenogenéticos. Para ello, una vez que los ovocitos maduraron, se les retiraron las células del cúmulo seleccionando aquellos con primer cuerpo polar (MII). Posteriormente, se activaron de acuerdo a la metodología de Jena *et al.*, (2012), con ionóforo de Ca⁺ y 6-Dimetil adenosín fosfato. Cuatro horas después se cambiaron al medio de desarrollo Cleavage (*Cook Medical*) por 4 días y posteriormente al medio Blastocyst (*Cook Medical*), hasta cumplir 7 días de cultivo o hasta que alcanzaran la etapa de blastocisto.

Análisis estadístico

Se aplicó exclusivamente estadística descriptiva, por la naturaleza del presente estudio.

RESULTADOS

En un primer experimento, se efectuaron 4 ensayos de colecta de ovocitos por OPU de ovejas Pelibuey y cruza, en los que la colecta de ovocitos fue variable, desde 1 hasta 8 ovocitos por hembra. Los ovocitos colectados fueron colocados en criotubos para su transporte desde el rancho hasta la Universidad en un lapso de 5 a 7 horas, en TCM-199 gasificado con CO₂, en una incubadora portátil sin CO₂. En los 3 primeros ensayos, los ovocitos transportados al laboratorio no lograron la MIV, FIV, ni el desarrollo. Sin embargo, en el último ensayo pudo obtenerse el primer blastocisto (33%) expandido por FIV de ovocitos colectados por OPU de una hembra comercial (cruza), fertilizados con semen descongelado del macho Tabú (Tabla 1 y figura 1). Esto permitió verificar la viabilidad de la presente investigación.

Tabla 1. Obtención de blastocistos a partir de ovocitos obtenidos por OPU.

RAZA	OCT	OST	OMIV	%MIV	%FIV	%BLA
Pelibuey	8	7	6		0	
Pelibuey	1	1	1		0	
Cruza	6	6	6		0	
Cruza	3	3	3	100	66	33
TOTAL	18	17	16			

OCT: ovocitos colectados totales. OST: Ovocitos seleccionados para transportar al laboratorio. OMIV: Ovocitos seleccionados morfológicamente para entrar a MIV. %MIV: Porcentaje de maduración. %FIV: Porcentaje de fertilización. %BLA: Porcentaje de blastocistos.



Figura 1. Blastocisto en expansión-eclosión obtenido por FIV de ovocitos colectados por OPU (Aumento a 40X).

En un segundo experimento, se efectuaron 4 ensayos para evaluar el medio MIV con Hepes, como medio de transporte al laboratorio, de los ovocitos colectados por OPU, en criotubos sin gasificación de CO₂. Esto, con la finalidad de evitar la gasificación que hubiera podido afectar los resultados del experimento anterior y para favorecer que más ovocitos iniciaran la MIV durante su transporte al laboratorio, en la incubadora portátil sin CO₂. Una vez en el lab., se continuó la MIV en la incubadora convencional. Pero ninguno de los ovocitos alcanzó la MIV, probablemente debido al medio con Hepes.

En un tercer experimento se efectuaron 5 ensayos utilizando para el transporte de los ovocitos colectados por OPU, criotubos con medio TCM-199 sin HEPES, gasificados con trigas (5% CO₂, 90% N₂, 5% O₂), en un intento por mejorar las condiciones de la MIV durante el transporte. Pero tampoco se obtuvieron resultados favorables. Muy probablemente esto se debió a la mala calidad de la mayoría de los ovocitos colectados por OPU, ya que se utilizó una hormona exógena (FSH-Folltropin) en la estimulación ovárica de las ovejas, cuya vida útil estaba por caducar.

En un cuarto experimento, se efectuaron 3 ensayos de MIV de ovocitos colectados de ovejas sacrificadas en un rastro del Edo. de México, ubicado a 1 hora de distancia de la Universidad. Se colectaron un total de 113 ovocitos que se metieron a madurar, lográndose tasas de MIV de 70 a 82%. Este experimento sirvió únicamente como control de la MIV.

En un quinto experimento, se efectuaron 6 ensayos de FIV utilizando ovocitos colectados de ovejas sacrificadas en rastro (GC1) y semen descongelado de 3 diferentes machos: Tabú y But de raza Dorper y uno de raza Pelibuey. Los machos But y Pelibuey, obtuvieron en la FIV el 42.8 y 76.47%, respectivamente, pero sin lograr desarrollo embrionario. Mientras que Tabú alcanzó desarrollo de embriones en blastocistos, en un 16 a 40% (Tabla 2 y figura 2). La variabilidad en los resultados pudo deberse a un efecto de raza o edad de los sementales, o del manejo de las pajillas de semen durante la congelación.

Tabla 2. Resultados de obtención de embriones a partir de ovocitos de ovarios de rastro.

Macho	OCT	OVMIV n (%)	MIV n (%)	FIV n (%)	BLAS n (%)	Eclosión n (%)
Tabú	18	14 (77.0)	13 (92.0)	10 (76.0)	4 (40)	4 (100)
Tabú	48	37 (77.1)	31 (83.8)	14 (73.0)	5 (37)	4 (80)
Tabú	62	47 (75.8)	41 (87.2)	21 (67.7)	8 (38)	6 (75)
Tabú	61	33 (54.1)	19 (57.0)	6 (36.6)	1 (16)	0
But	10	8 (80.0)	7 (87.5)	3 (42.8)	0	0
Pelibuey	58	45 (77.6)	37 (77.8)	13 (76.5)	0	0

OCT: Ovocitos colectados totales. OVMIV: Ovocitos metidos a maduración. MIV: Ovocitos madurados. FIV: Fertilizados. BLAS: Blastocistos. Eclosión: Blastocistos eclosionados.

Figura 2. Blastocistos producidos por FIV de ovocitos de ovejas sacrificadas en rastro con semen descongelado de macho Tabú.

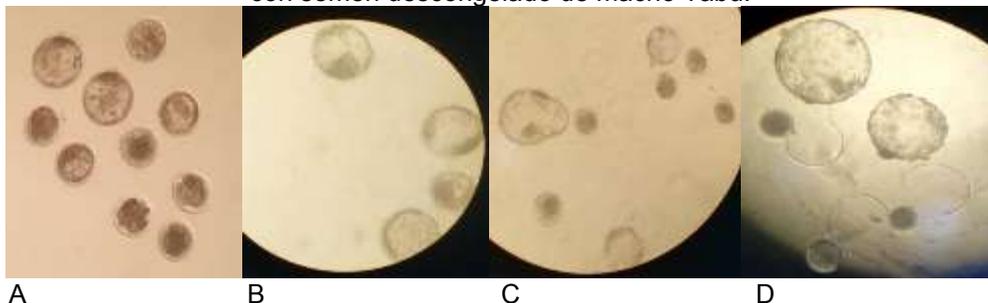


Figura 2. A y B. Blastocistos expandidos. C y D. Blastocistos eclosionados. Obtenidos por FIV a partir de ovocitos de ovarios de ovejas sacrificadas en rastro y semen de Tabú, a los 6 y 7 días de cultivo. (Aumento a 10X).

Como medida de control del funcionamiento del sistema de cultivo durante el desarrollo *in vitro* (DIV), se efectuó un sexto experimento con 2 ensayos de ovocitos colectados de ovarios de rastro, activados químicamente para su desarrollado en embriones partenogenéticos (GC2). En ellos se obtuvieron únicamente mórulas en un 50 a 75%.

Todos los embriones producidos por FIV, tanto aquellos provenientes de ovocitos colectados por OPU, como de los colectados de hembras sacrificadas en rastro, fueron evaluados y clasificados de acuerdo con los criterios de morfología embrionaria de la ASEBIR (2015). Determinándose la presencia de embriones de calidades 1 a 4.

Comparando los resultados de los grupos GE, GC1 y GC2, encontramos que se obtuvo un 33% de blastocitos por FIV, a partir de ovocitos colectados por OPU y madurados *in vitro* durante su transporte al laboratorio, vs. 16 a 40% de blastocitos logrados por FIV de ovocitos colectados en rastro. Mientras que los embriones partenogenéticos no alcanzaron la etapa de blastocisto, permaneciendo en la etapa de mórula.

DISCUSIÓN

Fue factible demostrar la viabilidad del objetivo del presente estudio, en términos de la producción *in vitro* de embriones que alcanzan la etapa de blastocisto, incluso de blastocistos expandidos y eclosionados, utilizando ovocitos colectados por OPU, transportados desde el rancho hasta un laboratorio especializado y ser inseminado con semen descongelado, de machos selectos. Para el caso de las hembras, permitió demostrar la factibilidad de la obtención de embriones de animales que ya no pueden ser aprovechados para inseminación artificial, por el desgaste a causa del manejo reproductivo intenso a que fueron sometidas. Otros autores han obtenido blastocistos a partir de ovocitos colectados por OPU y semen congelado-descongelado en ovinos, cuyas tasa de éxito son muy variables (27.4%, 45.4%, 31.8% y 37.9%) (Berlinguer *et al.*, 2006; Morton *et al.*, 2007; Sanchez *et al.*, 2014; Tian *et al.*, 2019, respectivamente). Lo que resulta ser similar a lo obtenido en este laboratorio (33%). Con respecto al transporte en incubadora portátil de los ovocitos colectados por OPU, se observó que influye en los resultados el medio de transporte utilizado (TCM-199 vs. TCM-199 HEPES) y la gasificación (CO₂, vs. trigas) de los criotubos. En ovinos se ha reportado un 51% de mórulas obtenidas bajo un sistema de transporte de ovocitos en incubadora portátil, en TCM-199 gasificado con trigas (Max *et al.*, 2012). En bovinos se reportan valores de 39.8% de blastocistos a partir de ovocitos transportados en incubadora portátil con el mismo medio (Chedik *et al.*, 2017). Por otro lado, el porcentaje de maduración obtenido en el presente trabajo (100%) fue superior a lo reportado en bovinos con valores de maduración *in vitro* de 86.9 a 91.4% en un sistema de transporte de ovocitos en una incubadora portátil, en TCM 199 sin HEPES gasificado con CO₂ (Ambrogi *et al.*, 2017). En lo referente a la FIV utilizando ovocitos colectados de ovejas sacrificadas en rastro, se obtuvieron resultados muy variables con el semen descongelado de los diferentes machos (desde 36.6% hasta 76.42%), siendo similares a otros trabajos donde reportan FIV de 60.1%, 67.59%, y 77% con semen descongelado (Dadashpour *et al.*, 2018; Heydaynejad *et al.*, 2019; Zabihi *et al.*, 2019, respectivamente). En el presente trabajo, únicamente con el semen del macho Tabú, se logró obtener blastocistos (16 a 40%), datos que están de acuerdo con resultados previos en nuestro laboratorio, donde se obtuvieron 14.3 a 16.1 % de blastocistos en ovinos silvestres (Vázquez *et al.*, 2017; Hernández *et al.*, 2020) y de 27.7% en ovejas domésticas raza Charollais (Vazquez *et al.*, 2018). Esto está de acuerdo considerando que dicho seminal ha mostrado en campo, su potencial en la fertilización *in vivo* a través de la utilización de pajillas congeladas-descongeladas.

La tasa de blastocistos obtenida en este trabajo, también es similar a lo reportado por Cocero *et al.* (2019) que obtuvieron 41.6% de blastocistos por FIV, y están por arriba de lo reportado por otros autores (10%, 12%, 15.7%) (Reader *et al.*, 2015; Tripathi *et al.*, 2016; Mendez *et al.*, 2020).

Los resultados de producción de únicamente mórulas de los embriones partenogenéticos (50 a 75%) fueron inesperados, ya que en nuestro laboratorio se han obtenido blastocistos partenogenéticos (24%) en ovejas domésticas (Hernández *et al.*, 2020). Pero son similares a lo reportado por Khan *et al.* (2014), quienes obtuvieron mórulas en un 42.06 a 65.26%. Adicionalmente, Quan *et al.* (2017) reportan en ovinos 40.38% de blastocistos partenogenéticos, mientras que en caprinos los resultados van de 20 a 25% de blastocistos (Fernandes *et al.*, 2014).

CONCLUSIONES

El presente trabajo, permitió producir embriones a partir de ovocitos colectados por OPU de ovejas selectas en desgaste reproductivo, madurados *in vitro* durante su transporte y fertilizados en el laboratorio con semen descongelado de ovinos de alto valor genético. Ello favorece la interacción entre el sector productivo y el académico, en beneficio de la producción ovina Nacional.

BIBLIOGRAFÍA

1. M. Ambrogi, D. Acqua, R. Frigoni, B. Leao y G Leao, "Transporting bovine oocytes in a medium supplemented with different macromolecules and antioxidants: Effects on nuclear and cytoplasmic maturation and embryonic development *in vitro*", *Reproduction in Domestic Animals*. 2017. DOI: 10.1111/rda.12923
2. ASEBIR. Criterios de evaluación morfológica de ovocitos, embriones tempranos y blastocistos humano. España. 3ª ed, (2015).
3. F. Berlinguer, A. Gonzalez-Bulnes S. Succu, Leoni, A. Veiga-López, F. Mossa, R. García-García, D. Bebbere, M. Galioto, M. Cocero y S. Naitana, "GnRH antagonist enhance follicular growth in FSH-treated sheep but affect developmental competence of oocytes collected by ovum pick-up" *Theriogenology*, Vol. 65, 2006, pp. 1099-1109
4. J. Cocero, P. Marigorta, F. Novillo, j. Folch, P. Sanchez, L. Alabart, B. y Lahoz, "Ovine oocytes display a similar germinal vesicle configuration and global DNA methylation at prepubertal and Adult ages", *Theriogenology*, Vol, 138, 2019, pp. 154-163.
5. N. Dadashpour, R. Fallahi, E. Dirandeh, X. Liu y P. Bartlewski, "Effects of co-incubation with conspecific ampulla oviductal epithelial cells and media composition on cryotolerance and developmental competence of *in vitro* matured sheep oocytes", *Theriogenology*, Vol 120, 2018, pp. 10-15.
6. C. Fernandes, C. Feltrin, L. Martins, G. Neto, L. Aguiar, A. Silva, C. Oliveira, C. Silva, M. Bertolini y D. Rondina, "Goat oocyte quality and competence to undergo IVM and embryo Development after parthenogenetic activation from goats fed with different levels of cashewnut bran as source of dietary lipids" *Theriogenology*. 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.04.011>
7. A. Heydarnejad, S. Ostadhosseini, S. Varnosfaderani, F. Jafarpour, A. Moghimi y M. Nasr-Esfahani "Supplementation of maturation medium with CoQ10 enhances developmental competence of ovine oocytes through improvement of mitochondrial function" *Molecular Reproductive Developmental*, Vol, 86, 2019, pp. 812-824.
8. M. Hernández., P. Hernández. A. Vázquez., D. Ambríz y M. Navarro, "Developmental dynamics of cloned Mexican bighorn sheep embryos using morphological quality standards" *Vet Med Sci*. Vol, 00, 2020, pp.1-11.
9. F. Khan, M. Bhat, S. Yaqoob, S Waheed, N. Naykoo, H. Athar, H. Khan, M. Fazili, N. Ganai, S. Singla y R. Shah, "In vitro Development of goats-sheep and goat-goat zona-free cloned embryos in different culture media" *Theriogenology*, Vol, 81, 2014, pp. 419-423.
10. M. Max, G. Santos, F. Melo-Sterza, K. Silva-Santos, F. Morotti, A. Basso, J. Pontés, H. Baldsarre y M. Seneda, "In vitro embryo production in sheep: PREGANANCY after large periods of oocyte and embryo transport", *Small Ruminant Research*, Vol 105, 2012, pp. 286-289.
11. B. Menéndez, X. Soto, G. Catalá, M. Roura, D. Izquiero y M. Paramio, "Effect of crocetin added to IVM médium for prepubertal goat oocytes on Blastocyst outcomes after IVF, intracytoplasmic sperm injection and parthenogenetic activation" *Theriogenology*, 2020 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.06.008>
12. K. Morton, W. Maxwell y G. Evans, "Effect of aspiration pressure during oocyte harvesting on oocyte recovery and *in vitro* Development of ovine oocyte", *Reproduction Domestic Animal*, Vol, 43 2020, pp. 106-110.
13. L. Reader, R. Cox, L. Stanton y L. Juengel, "Effects of acetyl-L-carnitine on lamb oocyte Blastocyst rate, ultrastructure and mitochondrial DNA copy number", *Theriogenology*. 2015 Doi 10.1016/j.theriogenology.2015.01.028

14. D. Sanchez, S. Melo, G. Souza, C. Sousa, A. Rocha, S. Campelo, A. Texeira, F. Pereira, M. Melo y F. Freitas, "Repeated hormonal treatment and laparoscopic ovum pick-up followed by in vitro embryo production in goats raised in the tropics", *Livestock Science*. 2014, <http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2014.04.012>
15. B. Quan, Y. Ma, Y. Ni y G. Wu, "Effects of synthetic polymers on in vitro maturation of sheep oocytes and subsequent developmental capacity after parthenogenetic activation or fertilization" *Small Ruminant Research*. 2017, <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.smallrumres.2017.06.008>
16. H. Tian, K. Liu, Y. Zhang, Q. Qi, C. Wang, H. Guan, F. Yan, J. Hou, "Adult follicular fluid supplementation during in vitro maturation improves the developmental competence of prepuberal lamb oocytes", *Theriogenology*, Vol, 10, 2015, pp. 157-162.
17. K. Tripathi, M. Farman, S. Nandi, S. Mondal, P. Gupta, y V. Kumar, "*In vitro* culture of oocytes and granulosa cells collected from normal, obese, emaciated and metabolically stressed ewes", *Animal Reproduction Science*. 2016, <http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2016.04.007>
18. A. Vázquez, M. Hernández, H. Pichardo, J. Rivera, D. Ambríz y M. Navarro, "Efecto del uso de medio secuencial humano en la producción de blastocistos de hembra *Ovis canadensis* mexicana por clonación manual interespecies" *Acta Zoológica Mexicana*, Vol, 33 2016, pp 323-325.
19. R. Vazquez A., S. Hernández, J. Hernández, R. Rangel, D. Ambriz y M. Navarro "Clonación de embriones de Charollais, una raza mejorada de ovino doméstico". En *Desarrollo Científico en México*. (Editorial del CIO, León, Gto., México, 2018). Capítulo 1. Biotecnología Científica y Agropecuaria, pp. 373-378.
20. A. Zabihi, H. Shabankareh, H. Hajarian y S. Foroutanifar, "Resveratrol addition to in vitro maturation and in vitro culture media enhances developmental competence of sheep embryos", *Domestic Animal Endocrinology*, Vol 68 2016, pp. 25-31.

ACTIVIDAD ANTIFUNGICA DE EXTRACTOS ETANOLICOS Y ACEITES ESENCIALES EN HONGOS PATOGENOS.

¹Flores González Maribel, ¹Rodríguez Chávez José Amando, ²Ramírez Fajardo Jorge Antonio.

¹Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, CIBA-IPN, ² Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

maribelfloresg@hotmail.com

RESUMEN

Las plantas y cultivos pueden ser afectados por enfermedades, causadas por un número diverso de organismos fitopatógenos. A nivel mundial, los hongos son la principal causa de pérdidas en cultivos, por lo que el uso de fungicidas va en aumento, sin embargo, estos productos suelen tener efectos adversos que dañan la piel, los pulmones y los ojos. Los químicos de los fungicidas como el metam-sodio, ziram y ferbam son conocidos por causar dermatitis de contacto, enfermedad crónica de la piel, alteraciones visuales, edema pulmonar y otros efectos que pueden llegar a ser fatales.

En los últimos años el estudio de los aceites esenciales como producto fungicida ha llamado la atención de la ciencia, convirtiéndose así, en un área amplia de investigación y desarrollo. Por su parte, el estudio de los extractos de plantas, así como, el de las partes activas, permite conocer los recursos naturales con los que se cuenta y obtener un mejor aprovechamiento de los mismos; proporcionando mayor valor agregado al comercializarlas como productos puros o extractos.

Los resultados obtenidos con los extractos etanolicos de *Citrus limon* (limón), *Citrus sinensis* (naranja), *Thymus vulgaris* (tomillo) y *Lavandula angustifolia* (lavanda), probados en *Alternaria sp.*, *Fusarium sp.*, *Rhizopus sp.* y *Trichoderma sp.* fue negativa, debido a que no mostró efecto inhibitorio en el crecimiento del hongo, sin embargo, los aceites esenciales de tomillo y naranja inhibieron el crecimiento de los cuatro hongos estudiados. Por otra parte, el aceite de lavanda causo sensibilidad en el crecimiento de *Alternaria sp.*, *Fusarium sp.* y *Trichoderma sp.*, no así, para *Rhizopus sp.*, donde no se observaron modificaciones en el crecimiento. Para el caso del aceite esencial *Citrus limon* (limón), no mostró inhibición del crecimiento de ninguno de los hongos analizados.

INTRODUCCIÓN

Los aceites esenciales se pueden definir como aceites volátiles odoríferos de origen vegetal. Estos son, en su mayor parte, insolubles en agua, solubles en disolventes orgánicos, pueden variar de color desde amarillos o cafés hasta incoloros. Estos aceites tienen la volatilidad suficiente para destilarse intactos; sin embargo, en la mayor parte de los casos también pueden arrastrarse con vapor. Un aceite esencial generalmente es una mezcla de compuestos (Barbosa-Carmona *et al.*, 2009).

Se han utilizado a través del tiempo para obtener aromas y sabores. En años recientes se han estudiado los extractos y aceites esenciales de condimentos y especias desde un punto de vista funcional. Es decir, se ha estudiado si los extractos o aceites tienen actividad antimicrobiana, si actúan como agentes antioxidantes o si aportan nutrimentos (Peredo-Luna *et al.*, 2009). Una de las utilidades más promisorias con las que cuentan los aceites esenciales es su actividad antimicrobiana y antifúngica.

Algunas de las muchas aplicaciones de los aceites esenciales son las siguientes: como aromatizantes, alcoholaturas, perfumes, *shampoos* para el cabello, cremas vinílicas con olor para tableros de automóviles, desengrasante para pisos o alfombras, o pastillas para baño (Barbosa-Carmona, *et al.*, 2009).

La finalidad de este proyecto es la obtención de un aprovechar el potencial de los aceites esenciales mediante la obtención de un extracto etanólico para evaluar su efecto antifúngico.

TEORÍA

Los aceites esenciales son mezclas que pueden contener más de cien sustancias químicas distintas y estas se encuentran en proporciones diferentes, de esta manera le otorgan al aceite esencial sus características propias. Estos aceites pueden ser percibidos en las fragancias de las pantas a través del olfato. El aceite esencial es el producto obtenido de la planta tras un tratamiento fisicoquímico

(Ortuño, 2009). Los terpenos, una familia de los hidrocarburos son a menudo los componentes mayoritarios de los aceites esenciales, llegando a alcanzar concentraciones entre el 7 y 90% del peso total del compuesto. Paradójicamente los terpenos son inodoros o suelen contribuir poco al aroma global y simplemente contribuyen a la fase diluyente del aceite esencial, proporcionando a éste su carácter volátil e inflamable y sus propiedades físicas como la densidad y viscosidad. Los responsables del aroma suelen ser sustancias que se encuentran en menor proporción, y se trata de compuestos orgánicos con grupos funcionales del tipo: cetona, éster, alcohol, aldehído, éter, etc. (Ortuño, 2009). Esta composición puede variar considerablemente a nivel intraespecífico dependiendo del genotipo, las condiciones de extracción y factores ambientales como las condiciones climáticas, localización geográfica y fecha de recolección (Santana *et al.*, 2012).

El uso de los aceites esenciales surgió como medicina aromática en culturas como la de Egipto donde se utilizaban para fines espirituales (Lavabre, 1995). En Europa estas sustancias adquirieron relevancia en el mundo de los alquimistas donde la destilación desempeñó un papel importante y los productos de esta eran usados como medicinas. Posteriormente en el renacimiento el uso de los aceites esenciales se extendió a la perfumería y los cosméticos. Habiendo progresado más la química y la destilación, florecieron la producción de elixires, bálsamos aguas, aceites fragantes, así como ungüentos medicinales y para el cuidado de la piel. El uso de los aceites esenciales cayó en decadencia con la llegada de la ciencia moderna en el siglo XIX (Lavabre, 1995). En la actualidad han retomado su importancia debido a que los consumidores buscan o prefieren adquirir productos naturales, orgánicos o mínimamente procesados sin que se comprometa la inocuidad de los alimentos u otros productos (Aguilar-González *et al.*, 2013).

El uso de las hierbas aromáticas y medicinales de donde son obtenidos principalmente estos aceites ha formado parte de nuestra historia y costumbre. Las cualidades de estas plantas se remontan a tiempos prehistóricos (Juárez-Rosete *et al.*, 2013). Actualmente el mercado de estas plantas se considera un negocio de nichos o especialidades (López-Méndez, 2011); entre estas plantas destaca la albahaca como la principal hierba aromática que se produce en México para exportación (Juárez-Rosete *et al.*, 2013).

En México los principales estados productores de hierbas aromáticas son Morelos, Baja California, Estado de México, Nayarit, Oaxaca, Puebla y Tlaxcala. En estos estados se pueden encontrar empresas y pequeños productores de hierbas finas aromáticas para la actividad culinaria y medicinal que se destinan al mercado de exportación, siendo Estados Unidos el principal destino (Espinosa y Munguía, 2018).

Los aceites esenciales se clasifican con base en diferentes criterios, estos pueden ser (1) consistencia: que abarca esencias fluidas, bálsamos y oleorresinas. (2) origen: naturales, artificiales o sintéticos. (3) naturaleza de los compuestos mayoritarios: monoterpenoides, sesquiterpenoides y compuestos oxigenados (Martínez, 2013).

Los extractos etanólicos también llamados tinturas o alcoholatos cuya definición proviene de la farmacopea de París (Henry *et al.*, 1842) donde se dice que “los alcoholatos son medicamentos que resultan de la destilación de alcohol sobre una o muchas sustancias”.

Algunos trabajos han reportado que este tipo de extractos tienen potencial para la inhibición del crecimiento de hongos como es el caso de lo reportado por Manzano-Santana *et al.* (2011) sobre el extracto alcohólico de *Conyza bonariensis* (Canilla de venado) contra *M. furfur* demostrando que tenía actividad antimicótica. O el caso de Luna-Vílchez *et al.* (2017) donde demostró que el extracto alcohólico de *Erythroxylum coca var coca* (coca) mostró actividad inhibitoria del crecimiento de *Trichophyton rubrum*.

Existen distintas formas para la obtención del aceite esencial: maceración, percolación o destilación (González, 2004). La destilación consiste en calentar un líquido hasta que sus componentes más volátiles pasan a la fase de vapor, para luego, condensar el vapor recuperándolo en forma líquida. La finalidad principal es obtener el componente más volátil en forma pura (Mulet-Hing, 2012).

En la agricultura mundial los hongos Fitopatógenos son causantes de enfermedades de pre y pos cosecha de hortalizas, cereales, frutas y siendo estos causantes de pérdidas económicas cuantiosas; el daño que ocasionan no solo se refieren a las pérdidas de producción económica, sino también a las pérdidas en la producción biológica, es decir, a la alteración que existe en el crecimiento y desarrollo de las plantas hospedantes atacadas por estos microorganismos (Agrios,

1995). Se considera que existen más de 8000 especies de hongos que producen enfermedades en las plantas. La mayoría de las plantas pueden ser atacadas por un tipo de hongo (o varios) y también se sabe que un mismo hongo fitopatógeno puede infectar a uno más tipos de plantas, aunque estas sean de diferentes familias (Juárez-Becerra et al., 2010). Por ejemplo, *Fusarium* es un género de hongos de distribución universal, ubicuos y con gran importancia económica ya que son habituales Fitopatógenos. El género *Alternaria* es uno de los principales fitopatógenos en el mundo. Por su parte el género *Rhizopus* como en el caso de *Rhizopus stolonifer* que es un hongo fitopatógeno versátil que puede crecer y desarrollarse en una amplia gama de temperaturas y humedades relativas. Su rápida velocidad de crecimiento le permite colonizar la superficie de los productos agrícolas y causar la enfermedad conocida como pudrición blanda que ocasiona importantes pérdidas económicas (Velázquez et al., 2008). Los tres géneros mencionados anteriormente también presentan importancia clínica, lo que les confiere un carácter patógeno. Por su parte, los hongos del género *Trichoderma* se pueden encontrar en la rizosfera, donde son capaces de competir por nutrientes y espacio con otros microorganismos. Además, este grupo fúngico es importante para las plantas, al contribuir en el control de hongos fitopatógenos ya que poseen propiedades micoparasíticas y antibióticas, por lo que algunas especies han sido catalogadas como excelentes agentes de control biológico de hongos causantes de enfermedades para diferentes plantas hortícolas (Argumedo-Delira et al., 2009).

Por lo anterior se eligieron estos cuatro géneros de hongos, con la finalidad de evaluar la actividad antifúngica de extractos etanólicos y aceites esenciales en los tres primeros hongos patógenos (*Rhizopus sp.*, *Alternaria sp.* y *Fusarium sp.*) y para el caso de *Trichoderma sp.* evaluar la inhibición de su crecimiento dada su importancia en el control biológico de otras plagas y enfermedades en plantas.

PARTE EXPERIMENTAL

Origen de las muestras

Las muestras se pueden obtener de alimentos en estado de descomposición o con presencia de moho. Las muestras seleccionadas fueron: pan, raíces de plantas, hoja de apio, jitomate y de una pared húmeda.

Se realizó una punción en placa con medio de cultivo sólido 1F con pH 5.5 para la siembra de los hongos.

Identificación de hongos patógenos

La identificación se realizó mediante la técnica de microscopia de campo claro, utilizando la técnica de cinta pegante. Usando esta técnica se conserva la yuxtaposición original de las esporas y segmentos, además permitió observar las estructuras fúngicas sin alteración (Arias, 2008).

Obtención del extracto

Para la extracción etanólica piloto se utilizaron muestras del sistema biológico *Schinus molle* (pirul), debido a su alta disponibilidad en las cercanías del centro de investigación donde se realizó el trabajo. Una vez elegidas las condiciones de operación se utilizaron los sistemas biológicos tales como: *Citrus × sinensi* (naranja), *Citrus × aurantifolia* (limón), *Thymus vulgaris* (tomillo) y *Lavandula angustifolia* (lavanda).

Al ser el método de extracción utilizado una propuesta para obtener alcoholatos o extractos etanólicos, durante las pruebas de rendimiento por solvente se decidió realizar una comparativa del tiempo empleado con respecto a la cantidad de extracto obtenido. El equipo para utilizar es un rotavapor Hahnvapor MR. Modelo: HS-2000NS. El baño maría de la misma marca y modelo: HS-3001.

Extracción de alcoholatos

La técnica seleccionada para la obtención de alcoholatos es una modificación de la propuesta por (Barbosa-Carmona et al. (2009).

Desinfección de la muestra vegetal

La desinfección de la muestra se realizó mediante lavados; constando de un primer lavado con agua potable, posteriormente la muestra se dejó reposar con hipoclorito de sodio al 5% durante diez minutos. Después, la muestra vegetal fue enjuagada con agua potable para posteriormente ser sometida a un segundo enjuague con agua destilada estéril durante tres minutos. Finalmente, la muestra se dejó escurrir hasta perder el exceso de humedad.

Tratamiento de la muestra vegetal

Se tomaron muestras frescas de 200g que fueron lavadas y desinfectadas, posteriormente se sometieron a una temperatura de 60°C por un periodo de 72 horas. Tras cumplirse el lapso, la muestra seca fue triturada y mezclada con el solvente, donde posteriormente se realizó la extracción.

Extracción

La metodología que se propuso llevar a cabo para la extracción se realizó en un rotavapor Hahnvapor MR. Modelo: HS-2000NS. Donde se utilizaron 400 ml. de solvente. La materia prima previamente tratada y desinfectada fue depositada con el solvente elegido dentro del matraz balón a baño maría.

Recuperación de solventes

Al finalizar la extracción, se recuperó el solvente. Se concentró la disolución extraída, de la misma manera se recuperó parte del solvente utilizado como lo sugiere Barbosa-Carmona et al. (2009). El extracto fue introducido nuevamente en el rotavapor a una temperatura de 80°C a 50 rpm.

Almacenamiento de alcoholatos

Tras haber realizado la extracción y la recuperación del solvente, el alcoholato es almacenado en viales color ámbar y mantenidos en refrigeración constante a 4°C.

Purificación de los extractos etanólicos

Después de haber sido obtenidos y antes de realizarse la evaluación antifúngica, los extractos etanólicos fueron filtrados con el fin de purificarlos y reducir el riesgo de contaminación.

La purificación se realizó en condiciones asépticas utilizando un filtro milipore y una membrana de 25 mm de diámetro y poro de 45 µm. La cantidad de extracto etanólico tomada fue de 2 ml por cada extracto.

Aceites esenciales

Los aceites esenciales de lavanda, tomillo, naranja y limón se compraron a SEDONA DESERT MR. Evaluación de la actividad antifúngica con extractos etanólicos y aceites esenciales

Se esterilizó el material y el medio 1F en placas de Petri, así como los círculos de papel filtro y el material utilizado para el montaje del experimento. Los aceites esenciales y los extractos fueron calentados a 80°C y posteriormente filtrados en esterilidad antes de ser utilizados.

Las placas de Petri con agar son inoculadas con un hongo diferente respectivamente. Posteriormente se tomaron discos de papel filtro de 0.8 cm de diámetro, los cuales se empaparon con las concentraciones del alcoholato o aceite esencial a utilizar. La caja de Petri se dividió en cuatro cuadrantes en los que se colocó un papel filtro respectivamente, estos papeles filtro se dispusieron a una distancia de 2 cm del centro de la placa (Jaramillo *et al.*, 2012). Se utilizan dos papeles filtro de un alcoholato a dos concentraciones contraponiéndolos con dos papeles filtro empapados con el aceite esencial, también a dos concentraciones. Para los controles se dejan placas de Petri con el inóculo y los papeles filtro, pero sin aplicar aceite o extracto. Las dos concentraciones para ambos extractos representan una máxima y una mínima de acuerdo establecidas previamente de acuerdo con la bibliografía. Al transcurrir 5 días se mide el diámetro del micelio, se hacen dos medidas: una de arriba abajo y otra de izquierda a derecha. Para determinar el porcentaje inhibición de crecimiento se comparó el diámetro de crecimiento del control con los de los ejemplares tratados. La inhibición del crecimiento se calculó según la fórmula de porcentaje de inhibición del crecimiento (%ICM) (Jaramillo *et al.*, 2012). La cual es la siguiente: $\% \text{ ICM} = 100 \left[\frac{(100 \cdot dT)}{dC} \right]$. Donde: ICM = inhibición de crecimiento micelial, dT = diámetro del tratamiento y dC = diámetro del control.

Diseño experimental de la evaluación antifúngica.

Las placas divididas en cuatro cuadrantes en las cuales se pondrá una concentración máxima y una concentración mínima de los aceites esenciales o alcoholatos contraponiendo dos aceites esenciales o alcoholatos dentro de una misma placa. Cada tratamiento se hará por duplicado, resultando un total de 32 unidades experimentales.

Concentraciones máximas y mínimas de los aceites y extractos etanolicos.

Las concentraciones fueron determinadas de acuerdo con la revisión bibliográfica. Para aceites esenciales se determinó una concentración mínima de 6 µl, así como una concentración máxima de 11 µl. De la misma manera, las concentraciones elegidas para el extracto etanólico fueron como mínima 20 µl y como máxima 100 µl.

RESULTADOS

Recuperación e identificación de hongos

La recuperación de hongos se realizó exitosamente de las muestras y la purificación de estos se realizó mediante resiembras. La purificación se hizo de manera rápida en un espacio de dos semanas.

Identificación de hongos filamentosos

Rhizopus sp. La morfología colonial resultó ser de textura aterciopelada, el micelio de color blanco a traslucido con puntos negros en la parte aérea de la colonia. Por el lado de la morfología microscópica, fue posible observar las estructuras reproductoras, las hifas no septadas y estructura rizoide. La comparación de imágenes encontradas en la bibliografía, tanto las características de la colonia como las imágenes en microscopio corresponden al género *Rhizopus*.

Trichoderma sp. Colonias de color verde con un halo de crecimiento blanco y de textura rugosa, forma de colonia plana. De rápido crecimiento. La morfología microscópica. Las características corresponden con lo reportado por Harman (2001). La morfología de colonia corresponde con lo reportado por Błaszczuk *et al.* (2014).

Alternaria sp. Colonia de color verde en sus primeros días de crecimiento y café a púrpura en una etapa madura, de textura aterciopelada con halo de crecimiento blanco y velocidad de crecimiento lenta. La morfología colonial y microscópica corresponden con lo reportado Rivas *et al.* (2014).

Fusarium sp. Colonia algodonosa de color blanco y rosado, de crecimiento rápido corresponden a las características de la colonia. La morfología los macroconidios presentan forma de medialuna, hialinos y septados, coinciden con lo reportado por Tapia *et al.* (2014).

Obtención de los extractos

Las condiciones seleccionadas de operación fueron las siguientes:

Temperatura 90°C, peso seco: 64.3 g, volumen de disolvente: 400 ml y 50 rpm. De la misma manera la muestra fresca fue previamente lavada y desinfectada, después secada y posteriormente molida para finalmente ser llevada a la destilación. Los extractos fueron obtenidos a partir de Naranja, Limón, tomillo, Lavanda, Pirul y Epazote.

Aceites esenciales

Los aceites esenciales de lavanda, tomillo, naranja y limón se compraron a SEDONA DESERT MR.

Evaluación de la actividad antifúngica

Controles: Los controles (Figura 1) fueron inoculados durante 9 días, los hongos crecieron de manera normal sobre los círculos de papel filtro u no se presentó ningún tipo de inhibición.



Figura 1. Crecimiento de hongos después de 9 días, controles

Extractos etanólicos: Los extractos etanólicos (Figura 2) no inhibieron el crecimiento de ninguno de los hongos estudiados. Los papeles filtro dispuestos no ejercieron cambios o variaciones en el crecimiento de ninguno de los hongos trabajados.

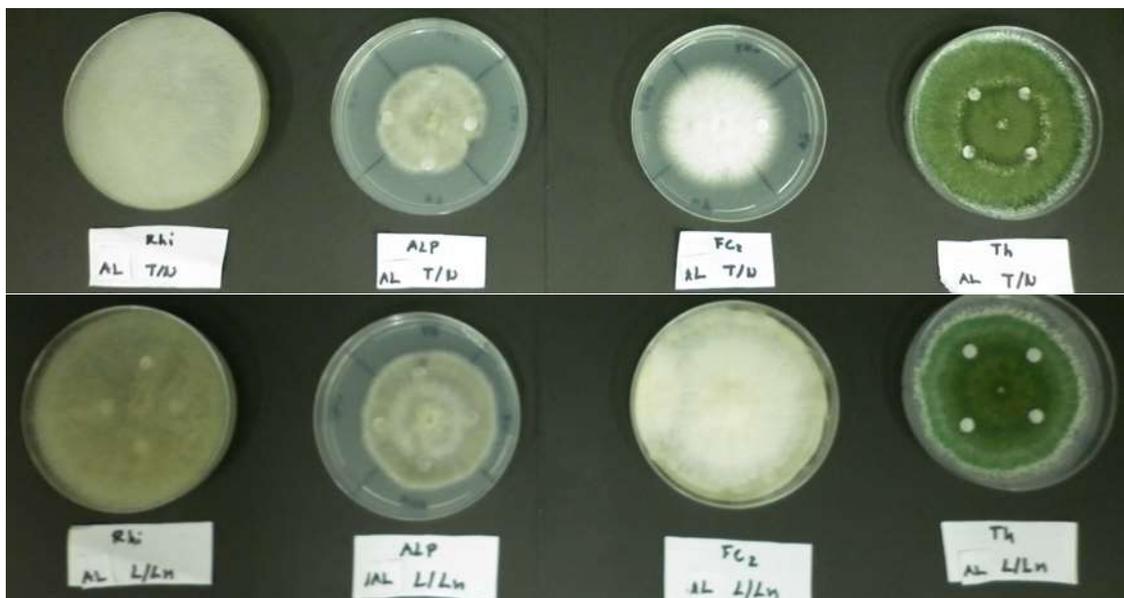


Figura 2. Crecimiento de hongos después de 9 días, para el tratamiento AL T/N (tomillo y naranja) y AL L/Ln (lavanda y limón).

Aceites esenciales: Los aceites esenciales de Tomillo y Naranja (Figura 3) en sus dos concentraciones generaron inhibición en el crecimiento de los cuatro hongos estudiados. De los aceites de Lavanda y limón se observó que únicamente el aceite esencial de lavanda mostraba actividad inhibitoria en tres hongos siendo la excepción *Rhizopus sp.* La actividad inhibitoria del aceite esencial de lavanda mostro menor actividad inhibitoria que los aceites de tomillo y naranja. Esto para sus dos concentraciones.

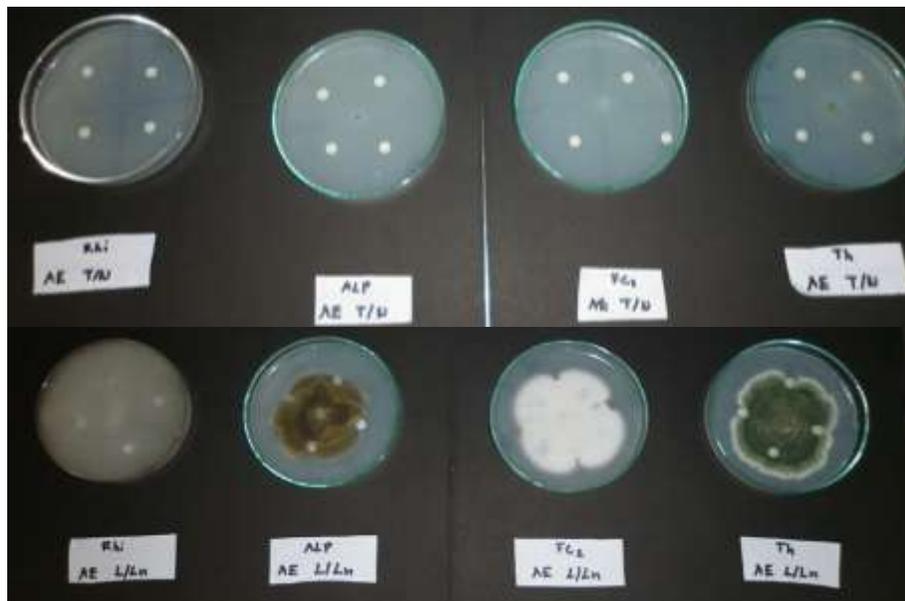


Figura 3. Crecimiento de hongos después de 9 días, para el tratamiento AE T/N (tomillo y naranja).

Diseño experimental de la evaluación antifúngica.

Tras obtenerse resultados negativos en la mayoría de las unidades experimentales no se realizó el análisis estadístico de resultados puesto que no tenían valor estadístico.

CONCLUSIONES

Los alcoholatos evaluados no mostraron actividad inhibitoria sobre ninguno de los hongos estudiados. Los aceites esenciales de tomillo y naranja provocaron inhibición en el crecimiento de los hongos estudiados. El aceite esencial de naranja generó sensibilidad de crecimiento para los mismos hongos a excepción de *Rhizopus sp.* El aceite esencial de Limón no inhibió el crecimiento de ningún hongo. El método de obtención de extractos etanólicos probado no correspondía con la técnica más común para este tipo de extractos (maceración). Por lo que la técnica en sí misma pudo haber interferido con la capacidad antifúngica del compuesto activo de los sistemas biológicos utilizados.

BIBLIOGRAFÍA

1. Agrios G. (1995). introducción a la fitopatología. Limusa S.A. de C.V. México. P:
2. Argumedo-Delira R., Alarcón A., Ferrera-Cerrato R. & Peña-Cabrales J. J. (2009). El género fúngico *Trichoderma* y su relación con los contaminantes orgánicos e inorgánicos. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 25(4), 257-269.
3. Barbosa - Carmona, X., Gomez - Villalpando, C. I., Mendoza - Salazar, O. I., & Ojeda - Gasca, A. (2009). Desarrollo de un ecolimpiador a partir de aceite esencial de Naranja. *Revista enlace químico, Universidad de Guanajuato*, 2(6), 1-21.
4. Błaszczuk, L., Siwulski, M., Sobieralski, K., Lisiecka, J., Jedryczka, M. (2014). *Trichoderma* spp. - Application and prospects for use in organic farming and industry. *Journal of Plant Protection Research*. Vol. 54, No. 4. Pp: 309-317.
5. Henry, N. E., Guibourt, N.J.B.G., & Jiménez, D. M. (1842). *Farmacopea razonada ó tratado de farmacia práctico y teorico*. Madrid: Sanchiz. P: 21.
6. Juárez-Becerra G. P., Sosa-Morales M. E. & López-Malo A. (2010). Hongos fitopatógenos de alta importancia económica: descripción y métodos de control. *Revista Temas selectos en ingeniería en alimentos*. Volumen 4. P. 14.
7. Lavabre, M. A. F. (1995). *Aromaterapia: Libro practico*. Mexico, D.F: Lasser Press Mexicana.

8. León Méndez, G., Osorio Fortich, M. del R. & Martínez Useche, S. R. (2015). Comparación de dos métodos de extracción del aceite esencial de *Citrus sinensis* L. *Revista Cubana de Farmacia*, 49(4). Pp: 742-750.
9. Luna-Vílchez, M., Díaz-Vélez, C. & Baca-Dejo, F. (2017). Efecto del extracto acuoso, ácido y alcohólico de las hojas secas de *Erythroxylum coca* var *coca* (coca) en *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum canis* y *Candida albicans* in vitro. *Horizonte Médico (Lima)*, 17(1), 25-30.
10. Manzano Santana, P., Miranda, M., Gutiérrez, Y., García, G., Orellana, T. & Orellana-Manzano, A. (2011). Efecto antiinflamatorio y antimicótico del extracto alcohólico y composición química del aceite de hojas de *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist (canilla de venado). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 16(1), 13-23.
11. Martínez, B., Infante, D., & Reyes, Y. (2013). *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Revista de Protección Vegetal*, 28(1). Pp: 1-11.
12. Ortuño, S. M. F. (2006). *Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes*. Orihuela. (alicante: Aiyana. Pp: 14.
13. Rivas, L. M., & Mühlhauser, M. (2014). *Alternaria* spp. *Revista chilena de infectología*, 31(5), 605-606.
14. Tapia, C., & Amaro, J. (2014). Género *Fusarium*. *Revista chilena de infectología*, 31(1), 85-86.
15. Velázquez-del Valle, Miguel Gerardo, Bautista-Baños, Silvia, Hernández-Lauzardo, Ana Niurka, Guerra-Sánchez, María Guadalupe, & Amora-Lazcano, Enriqueta. (2008). Estrategias de Control de *Rhizopus stolonifer* Ehrenb. (Ex Fr.) Lind, Agente Causal de Pudriciones Postcosecha en Productos Agrícolas. *Revista mexicana de fitopatología*, 26(1), 49-55.

EVALUACION DE EXTRACTO DE OREGANO EN CULTIVO DE FRIJOL PINTO SALTILLO CONTRA TIZON DE HALO

Sonia Valdez Ortega, Erika Cecilia Gamero Posada*, Ixchel Abby Ortiz Sanchez, Oscar Gilberto Alaniz Villanueva, Armando Montelongo Maturino y Arnulfo Cordova Corral

Tecnológico Nacional de México campus Valle del Guadiana.

* erika.gp@vguadiana.tecnm.mx

RESUMEN

El presente experimento se llevó a cabo en el laboratorio de biotecnología vegetal y en el campo del Instituto Tecnológico del Valle del Guadiana ubicado en el Ejido Villa Montemorelos Durango. En este proyecto se evaluó el uso de extracto de orégano y tratamiento químico en cultivo de frijol infectado con la bacteria *Pseudomonas syringae*, causante de la enfermedad del tizón de halo, la cual se tomó de una sepa del laboratorio de biotecnología vegetal que se aisló de semilla de frijol var. Pinto Saltillo. Para la obtención del extracto de orégano se utilizó la técnica de arrastre por vapor, esta solución se aplicó al bloque correspondiente cada semana durante el ciclo, se realizó un diseño experimental de bloques al azar de 4 bloques con 4 repeticiones los cuales fueron; semillas infectadas (I), semillas no infectadas (SI), semillas con tratamiento químico (Q) y semillas inoculadas con extracto de orégano (EO). Las variables por evaluar fueron: número de vainas por planta, número de granos por planta, peso seco de la raíz, peso seco de la planta. Los resultados obtenidos fueron analizados mediante análisis estadístico de Friedman, con el programa Infostat el cual indico que hay diferencias significativas entre tratamientos. En cuanto al número de vainas por planta, el tratamiento Q es el mejor, pero es estadísticamente igual a los tratamientos EO e I, mostrando diferencias significativas con SI; con respecto al número de granos por planta y peso seco de la planta, el mejor tratamiento fue el Q seguido de EO, ambos sin mostrar diferencias con el tratamiento I; los resultados de peso seco de raíz, indican que le mejor tratamiento fue I seguido del EO y Q, éstos mostrando diferencias con el tratamiento SI. Cabe mencionar que, al aplicar el tratamiento de extracto de orégano, la enfermedad causada por *Pseudomonas syringae* se observó solo en las hojas primarias y al continuar el desarrollo de la planta el tizón no se propago, ya que al momento de que las hojas cayeron a consecuencia del desarrollo foliar las hojas secundarias no presentaron la presencia de la enfermedad. Se puede concluir que el tratamiento con extracto de orégano tuvo resultados similares a los de tratamiento químico, por lo que puede ser una alternativa a los productos químicos, siendo estos productos amigables con el medio ambiente además de ser más económicos, con lo que se fomenta la agricultura orgánica.

INTRODUCCION

El frijol, es el cultivo de mayor importancia económica, alimenticia y social en Durango. En México el cultivo del frijol, con frecuencia es atacado por enfermedades bacterianas como son el Tizón Común y de Halo, los cuales tienen una amplia distribución en las zonas productoras de esta leguminosa (Campos, 1991; Navarrete, 1996).

El Tizón de Halo, inducido por *Pseudomonas syringae*, provoca la defoliación prematura de las plantas y puede llegar a causar la muerte de plantas jóvenes de genotipos susceptibles (Campos, 1991; Navarrete y Acosta, 2000).

Los extractos de diferentes especies vegetales han demostrado ser muy efectivos en el manejo de plagas y enfermedades, así como su utilización para proteger los cultivos e incrementar la calidad de producción, ya que tienen la propiedad de ser menos tóxicos y más fácilmente degradables. Estos productos han sido estudiados por muchos años y diferentes especies de orégano han demostrado actividad biológica tales como: antifúngica, antibacterial, insecticida, nematocida y antioxidante, (Cueto Wong; 2010).

TEORIA

En México, el grano de frijol por su alto contenido de proteína es básico para la alimentación de su población; ocupa el segundo lugar en importancia nacional después del maíz. La producción de las leguminosas, principalmente el frijol ha disminuido una tasa de 3.2%, con respecto a un crecimiento

de población más rápido que la producción. El frijol es una leguminosa que constituye una fuente de proteínas e hidratos de carbono natural; además es abundante en vitamina B como: niacina, ácido fólico y tianina; también proporciona hierro, cobre, zinc, fósforo, potasio, magnesio y calcio, contiene un alto contenido de fibra. Existen múltiples variedades de frijol que se caracterizan por su tamaño, color, forma y tipo de crecimiento. Se considera que en total existen 70 especies; en México éstas ascienden a 50, destacan cinco especies que se han domesticado *Phaseolus vulgaris* L. (frijol común), *Phaseolus coccineus* L. (frijol ayocote), *Phaseolus lunatus* L. (frijol comba), *Phaseolus dumosus* (frijol gordo) y *Phaseolus acutifolius* Gray (frijol tepari). En México se cultivan cerca de 70 variedades, de acuerdo con la norma son: negros, pintos, bayos, amarillos y rosados. El cultivo del frijol presenta características propias y definidas en el marco de la soberanía alimentaria, en virtud de que representa un alimento principal para la población rural y urbana. El frijol que se produce y consume en México, proviene en gran parte de genotipos nativos o criollos, y en menor nivel de variedades mejoradas, las cuales presentan ventajas agronómicas y también de calidad. En ambos casos, pero particularmente en los genotipos nativos, -cuya siembra tradicionalmente es para autoconsumo-, es común, además de la producción de grano seco, aprovechar el cultivo para obtener vainas tiernas o ejotes.

En México, existe una gran cantidad de enfermedades bacteriológicas que atacan a los cultivos causando grandes pérdidas en la producción y calidad del producto, tal es el caso de la bacteria *Pseudomonas syringae* (Tizón de halo), afectando principalmente al cultivo del frijol. Ésta enfermedad bacteriana se ubica dentro de los primeros cuatro problemas fitosanitarios que afectan al cultivo (López, 1991). Los estados donde se presenta con más frecuencia son: Chihuahua, Nuevo León, Tamaulipas, Zacatecas, Aguascalientes, Jalisco, Estado de México, Tlaxcala, Puebla y Durango (Campos, 1987; Navarrete y Acosta, 2000). En este último, el cultivo de frijol es de gran importancia económica alimenticia y social en el estado, ya que ocupa el segundo lugar a nivel nacional por la producción que registra (Rosales et al., 2009; Rosales et al., 2016). Este tipo de enfermedad se encuentra presente en un 83 % de las áreas de producción de semilla y hasta un 79 % en campos comerciales del cultivo, siendo la temperatura superior a 27 °C y una alta humedad relativa los factores que optimizan su desarrollo e infestación (Fourie, 2002). De no efectuar un control eficiente durante el ciclo agrícola, es capaz de causar severos daños que se ven reflejados en la disminución de la calidad del grano y rendimiento del frijol hasta un 47 %, lo cual reduce el precio de venta y los beneficios económicos obtenidos por los productores (López, 1991). Entre las soluciones propuestas para el control de esta enfermedad, se encuentra la aplicación de pesticidas químicos, sin embargo, han tenido efectos negativos sobre el ambiente, incluso sobre aspectos relacionados con la calidad de vida de las poblaciones humanas. Asimismo, se ha demostrado que su eficacia puede ser de corta duración y que algunas plagas y patógenos pueden presentar resistencia a los ingredientes activos de los productos (López et al., 2005). Otra opción es el empleo de productos orgánicos que contienen toxinas o sustancias que inhiben el desarrollo de las enfermedades.

El empleo de extractos vegetales para el control de plagas y enfermedades en el marco de una agricultura sostenible constituye una alternativa promisoría, debido a su elevada efectividad, bajo costo y no ser contaminantes del ambiente (Rodríguez et al., 2000).

Algunos extractos vegetales poseen actividad antimicrobiana y fungicida que no perjudican al cultivo, sino por el contrario favorecen la producción o el rendimiento de las cosechas; entre ellos se encuentran los extractos y aceites esenciales de orégano (García et al., 2006). Estos bioproductos se caracterizan por la presencia de determinados compuestos de origen natural, los cuales forman parte de las estrategias defensivas de las plantas (Villalobos, 1996) y son agrupados en compuestos nitrogenados, fenólicos y terpenoides (Harborne, 1993).

Pseudomonas syringae

Los primeros síntomas en hojas pueden variar entre manchas café sin aureola y manchas color café oscuro o negro con aureolas amarillas y brillantes

Es necesario aislar la bacteria y realizar pruebas de laboratorio para determinar qué patógeno es el que está presente ya que se puede confundir con otras causas

La bacteria se conoce por poder sobrevivir en plantas hospederas y no-hospederas en un estado no-parasítico, y se pueden propagar desde estas plantas en condiciones frías y húmedas. Las lesiones son indispensables para la infección y el patógeno puede invadir las lesiones causadas por otra enfermedad. (Steve et al., 2011).

PARTE EXPERIMENTAL

El presente experimento se llevó a cabo en el laboratorio de biotecnología vegetal y en el campo del Instituto Tecnológico del Valle del Guadiana ubicado en carretera Durango-México Km. 22.5 a 24°01'00' latitud norte, 104°40'00' longitud oeste, elevación 1860m en el Ejido Villa Montemorelos, Dgo.

Aislamiento de la cepa de tizón de halo.

Para la obtención de la bacteria se utilizó una cepa del laboratorio de biotecnología vegetal que fue aislada de frijol variedad pinto saltillo, el proceso consistió en realizar previa asepsia correspondiente en el área donde se trabajó, se preparó el medio de cultivo para posteriormente sembrar la bacteria, para esto se utilizó una asa de siembra que se sumergió en etanol para después colocarla sobre el fuego del mechero hasta que llegó al rojo vivo, se dejó enfriar un poco, luego se toma una muestra de la caja con la sepa de *pseudomonas syringae*, para sembrarla y reproducirla en las cajas petri con el medio de cultivo preparado previamente, se utilizó la técnica de siembra de estrías por cuadrante, posteriormente se introducen a la estufa microbiológica por 48 horas para el correcto desarrollo de la bacteria, pasado este tiempo se sacan de la estufa verificando su crecimiento para después guardarlas en el refrigerador hasta su utilización.

Infección de semilla a sembrar

Para la infección de las semillas de frijol se procedió a sacar las cajas sembradas del refrigerador para luego con la utilización de búfer de fosfatos vaciar un poco sobre la caja con la bacteria para despegarla del medio de cultivo con la utilización de una varilla en L, posteriormente se vació la bacteria sobre el frijol colocado previamente en un envase, para su correcta infección se llenó con búfer y agua destilada hasta quedar por arriba de la semilla.

Área experimental y distribución de tratamientos.

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con 4 tratamientos y 4 repeticiones de cada uno, los tratamientos utilizados fueron semillas infectadas (I), semillas sin infectar (SI), semillas infectadas con tratamiento químico (Q) y semillas inoculadas con extracto de orégano (EO), las variables dependientes a analizar fueron: número de vainas por planta, número de granos por planta, peso seco de la raíz, peso seco de la planta.

La siembra en el cuadro experimental se realizó de manera manual para tener un mejor diseño y precisión y optimizar las demás actividades planeadas como las mediciones y aplicaciones de los tratamientos, se sembraron 2 semillas en cada espacio para garantizar la germinación con una separación de 10 cm cada una, la siembra de la semilla infectada se realizó al final por precaución de no infectar los demás tratamientos.

Producción de extracto de orégano.

Para la obtención del extracto de orégano a evaluar se utilizó la técnica de arrastre por vapor, la cual consistió en colocar 200 gr de material seco en una olla de presión adaptada con 3 L de agua, se tapó con un tapón de hule para evitar pérdida de vapor. Se conectó la olla a un condensador con un tapón de hule horadado cerciorándose que no se tuvieran fugas de vapor, y con la corriente de agua de abajo hacia arriba.

Con un mechero o una placa calefactora se calentó la mezcla hasta ebullición con el fin de generar vapor, recuperando de esta manera el extracto. Se suspendió el calentamiento cuando empezó a verse la mezcla deshidratada, posteriormente se colocó el extracto embudo de separación, obteniendo así el aceite esencial y el extracto acuoso.

El extracto obtenido se colocó en frascos ámbar y se almacenaron en refrigeración hasta su uso. El material vegetal utilizado durante el experimento fue obtenido comercialmente en la ciudad de Durango, Dgo.

Para aplicar el extracto, se diluyo 1 litro de extracto de orégano por cada litro de agua común cada ocasión que se aplica el tratamiento en los cuadros experimentales teniendo así una concentración al 50% de la solución.

Manejo agronómico del cultivo.

Para el tratamiento químico se utilizó estreptomycina+oxitetraciclina la cual es usada como antibiótico para controlar enfermedades causadas por bacterias, la preparación indicada es de 60g de este producto por cada 100 litros de agua común, en este caso solo se utilizó 1.2 g con 2 litros de agua por cada aplicación en los cuadros experimentales.

El modo de aplicación tanto del tratamiento químico y del extracto de orégano fue con mochila aspersora para así asegurar el total cubrimiento del follaje con los productos en cada una de las plantas estudiadas de cada tratamiento, la dosis utilizada aproximadamente por planta fue de 25ml. Por cada cuadro experimental se tomaron 20 plantas para realizar las evaluaciones correspondientes a partir de los 14 días después de la siembra (DDS), ya que a los 7 DDS no fue posible la toma de datos por cuestiones climáticas (aplicación de productos, medición de germinación, identificación de plantas).

Las mediciones de cada planta se realizaron con un vernier y cuando ya no fue posible, con un metro de madera, las medidas se tomaron de la superficie al tallo y otra de la superficie a la hoja más alta. Para la identificación de cada planta en cada tratamiento experimental se utilizaron etiquetas de papel encerado identificando cada una con número de planta, tratamiento y bloque, esto para tener una óptima y acertada toma de datos.

Las escardas realizadas fueron de manera manual con un azadón esto para proteger las etiquetas de identificación y también el cuidado de las plantas seleccionadas a evaluar.

Una vez concluido el tiempo del experimento se procedió a recolectar las 20 plantas por tratamiento para ser llevadas al laboratorio y cuantificar el número de vainas por planta y el número de granos por planta, posteriormente se colocaron las plantas en papel y se dejaron por varios días hasta sequedad, para poder obtener los datos de peso seco de la raíz y el peso seco de la planta.

RESULTADOS

Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente en el programa computacional Infostat, mediante el análisis estadístico de Friedman, el cual indico que hay diferencias significativas entre tratamientos. Como se muestra en el Cuadro 1, en cuanto al número de vainas por planta, el tratamiento Q obtuvo mayor número de vainas por planta con una media de 2.94, sin embargo, es estadísticamente igual a los tratamientos I y EO (con medias de 2.71 y 2.61 respectivamente), mostrando diferencia significativa con SI y un valor de la media de 1.74. Con respecto al número de granos por planta el mejor tratamiento resulto ser Q con una media de 2.92, seguido de EO con una media de 2.75, ambos sin mostrar diferencias con I que obtuvo una media de 2.71, teniendo los resultados anteriores diferencia significativa con SI con una media de 1.62; de la misma manera, en el peso seco de la planta, el mejor tratamiento fue el Q con una media de 2.76, seguido de EO con una media de 2.74, sin mostrar diferencia con el tratamiento I con una media de 2.73, siendo el tratamiento SI el único significativamente diferente con una media de 1.77; finalmente para el peso seco de la raíz los resultados indican que le mejor tratamiento fue I con una media de 2.93 seguido del EO y Q (con medias de 2.71 y 2.57 respectivamente), éstos mostrando diferencias con el tratamiento SI con una media de 1.79.

Cuadro 1. Comparación de medias de variables agronómicas de calidad de frijol infectado con tizón de halo bajo la aplicación de extracto de orégano.

Tratamiento	No. de vainas por planta	No. Granos por planta	Peso seco de la planta	Peso seco de raíz
SI	1.74 A	1.62 A	1.77 A	1.79 A
EO	2.61 B	2.75 B	2.74 B	2.71 B
I	2.71 B	2.71 B	2.73 B	2.93 B
Q	2.94 B	2.92 B	2.76 B	2.57 B

†Medias con una letra común no son significativamente diferentes, según la prueba de Friedman ($P > 0.05$).

Cabe mencionar, que, al aplicar el tratamiento de extracto de orégano, la enfermedad causada por *Pseudomonas syringae* se observó solo en las hojas primarias y al continuar el desarrollo de la planta el tizón no se propago, ya que al momento de que las hojas cayeron a consecuencia del desarrollo foliar las hojas secundarias no presentaron la presencia de la enfermedad.

CONCLUSIONES

Al observar los resultados favorables con la aplicación de esta solución a partir del extracto de orégano se puede decir que el tratamiento con extracto de orégano tuvo resultados similares a los del tratamiento químico por lo que se puede concluir que el uso de extracto de orégano en el manejo cultural del frijol puede ser una alternativa orgánica recomendada de control de enfermedades bacterianas o fitosanitarias como el tizón de halo. A pesar de no aumentar el rendimiento del cultivo, es una opción viable de tratamiento ya que puede resultar más económico aunado a que es amigable con el medio ambiente, lo que fomenta la agricultura orgánica.

BIBLIOGRAFIA

1. J. Campos, "Enfermedades del frijol", Ed. Trillas, Primera Edición, México, pp. 70-73
2. Cueto, "Productos Naturales para el Control de Agentes Fitopatógenos" Comunidad de Instituciones de Educación Superior de la Laguna. Encuentro Regional de Investigadores, 2010.
3. Fourie, "Distribution and severity of bacterial diseases on dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in South Africa", *Phytopathology*. Vol.150, No. 4-5: 2002, pp. 220-226.
4. C.E. García, V.M. Quezada, L.J. Moreno, H.G. Sánchez, M.E. Moreno, R.M. Pérez, "Actividad antifúngica de aceites esenciales de canela (*Cinnamomum zeylanicum blume*) y orégano (*Origanum vulgare l.*) y su efecto sobre la producción de aflatoxinas en nuez pecanera" *Revista Mexicana de Fitopatología*, Vol. 24, No. 1, 2006, pp. 8-12.
5. J. B. Harborne, "Handbook of bioactive compound from plants", *Phytochemical Dictionary*, 1993, pp. 791
6. F. L. López, "Definición de prioridades de investigación fitopatológica para la zona templada del Altiplano Central de México. *Agric. Téc. Méx.*, Vol. 17, 1991, pp. 17-54
7. B. A. López, B. S. López, E. M. Mendoza "Efecto de extractos vegetales en el crecimiento de *Rhizoctonia solani* Kun *in vitro* y en plantas de frijol susceptible", Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. CIGA, ITA, No. 33, 2005
8. M.R. Navarrete, "Variación patogénica de *Xanthomonas campestris* pv. *Phaseoli* en México y resistencia del frijol al tizoón común", Tesis de Doctorado, Colegio de Posgraduados, Instituto de Fitosanidad, 1996, pp. 1-11
9. M. R. Navarrete, J. A. Acosta, "Resistencia del frijol al tizón de halo en el Valle de México y progreso de la enfermedad". *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 23, 2000, pp. 17-28.

10. J.M. Prudencio, R. Navarrete. J. Navarrete, J.A. Acosta, “Dinámica de los tizones común y de halo del frijol en el Valle de México”, *Agricultura Técnica en México*, Vol. 34, No. 2, 2008, pp. 213-223.
11. T. Rodríguez, D. Morales, M. A. Ramírez, “Efecto de extractos vegetales sobre el crecimiento in vitro de hongos Fitopatógenos”, *Revista Cultivos Tropicales*, Cuba, Vol. 21, No. 2, 2000, pp. 79-82
12. S. Rosales, G. J. Acosta, P. F. J. Ibarra, R. E. Cuéllar, B. C. Nava, “Validación de variedades y líneas mejoradas de frijol en Durango”, *Publicación Especial. INIFAP-CIRNOC-Campo Experimental Valle del Guadiana*. Durango, Méx., No. 27, 2009, pp.93
13. H. S. Taha, S. A. Bekheet, M. K. El-Bahr. “A new concept for production and scaling up of bioactive compounds from Egyptian date palm (Zaghloul) cultivar using bioreactor. *Food Agriculture*, Vol. 24 Num 5, 2012, pp. 425-433.

INDICE DE AUTORES

- Abud González Monserratt 244
Aguirre Arroyo Estefania 145
Alaniz Villanueva Oscar Gilberto 39, 280, 303, 487
Alba Jimenez Jimena Esther 10, 90
Alcalá González Perla Mayara 187
Alcalá González Rubí 187
Alcalá González Guadalupe Esmeralda 187
Alcántar González Gabriel 56, 140, 218, 285, 309, 447, 452
Alcántara Trejo Lizzet 419
Alcázar-Valle Elba Montserrat 210
Ambriz García Demetrio 470
Angel Cuapio Alejandro 388
Ángel Sahagún César Andrés 145
Anguiano Corpus Ana Ma 431
Aparicio Fernández Xochitl 252, 351
Aquino Bolaños Elia Nora 10, 90
Arboleda Santa Diana 470
Armenta Romero Evelin Lizabeth 90
Arriaga Villegas Ana Yazmin 330
Arroyo Figueroa Gabriela 5, 198
Ávila Ibarra José Francisco 129
Ávila Ontiveros José Guadalupe 470
Baez Estrada Carolina 223
Barajas Mendoza María Antonieta 244
Barrera Martínez Araceli 114, 210
Barrientos Bonilla Abril Alondra 79
Bautista Hernández Susana 79
Betancourt Chaidez Beatriz 46
Bivián Castro Eglá Yareth 351
Bonilla Murillo Marín 39
Buendía Valverde María de la Luz 298, 362
Bustos Gómez Andy Bryham 172
Cabrera Álvarez Angel Alexis 5
Canul Chan Michel de la Cruz 463
Carbajal Mariscal Oscar 393
Carballo Huerta María Azucena 290
Carrillo Rodríguez José Cruz 90
Casasola Elizondo César Antonio 69, 285
Castañeda Vazquez Hugo 393
Castañeda Vazquez Martha Alicia 393
Castillo Anguiano Martha 262
Castro Soriano Raquel 262
Castruita Domínguez José Pedro 323, 440
Cervantes Silva Francisco Guadalupe 32
Chávez Castro Gricelda 431
Chávez Gutiérrez Brenda Lesly 351
Chávez Servia José Luis 10
Claverie Romero Claudia Concepción 419
Collazo Urbano Juan de Dios 440
Contreras Chavez Rafael 366
Contreras Mora Erick Eduardo 398
Cordova Corral Arnulfo 303, 487
Cornejo Corona Ivette 102
Cornejo Pérez Cristina Abigail 32
Corona Torres Tarsicio 298, 362
Cortez Álvarez César Ricardo 244
Cruz Izquierdo Serafin 298, 362
Danza Merino Carmen Lidia 233
Díaz Godoy Raúl Venancio 379
Díaz Hernández Andreas Fenix 290
Díaz Ortega Yasmín 313
Domínguez Guillén Jorge Alberto 79
Escalona Rueda Perla Esmeralda 106
Espinosa Alonso Laura Gabriela 252
Espitia Rangel Eduardo 202
Esquivel Lozano María Magdalena 431
Fernández Martínez María Carmen 233
Fernández Pavía Yolanda Leticia 218, 285
Figueroa Cardenas Juan de Dios 366
Flores Gonzalez Maribel 479
Flores Villavicencio Lérída Liss 323, 440
Foroughbakhch Pournavab Rahim 408
Galán Galán Idalia Berenice 10
Gameró Posada Erika Cecilia 39, 129, 280, 303, 313, 345, 357, 487
García Chávez Jesús Armando 280
García Morales Soledad 114, 210
García Ortiz Nohemi 388
García Reyes Anahí 463
García Vieira María Isabel 198
Garnica Romo Ma. Guadalupe 366
Gasca Tirado José Ramón 32
Gerónimo Márquez Andrea Lizeth 388
Gilberto Villanueva Oscar 46
Gómez Delgadill Cesar E. 229
Gómez Luna Blanca Estela 32
Gómez Merino Fernando Carlos 56, 74, 140, 218, 285, 298, 309, 362, 383, 447, 452
Gómez Navor Tsujmejy 135, 218, 383
Gómez Trejo Libia Fernanda 74, 383
Gómez Velázquez Haiku Daniel de Jesus 351
González Cervantes Guillermo 313
González Hidalgo Beatriz 379
González López Marco Antonio 61
Gutiérrez Alonso Daniela Guadalupe 187
Gutiérrez Cardenas Elena Marcia 61
Guzmán Chávez Erika 345
Guzmán Maldonado Salvador Horacio 106, 202, 330
Hernández Aragón Leonardo 56, 140
Hernández Hernández María Fernanda 79
Hernandez Trejo Miriam 398
Herrera Hernández María Guadalupe 106, 330
Herrera Cué Frida Scandra 290
Herrera Méndez Carlos Hernán 5
Higareda Mendoza Ana Edith 123
Huerta Beristain Gerardo 240
Huerta Martínez Francisco Martín 323, 440
Huerta Santos Karina 21
Ibarra Ramírez Alondra 357
Jaramillo Graciano José Carlos 129

- Jilote Martínez Yolanda Elena 202
Jiménez González Beatriz Adriana 74, 383
Jimenez Valdez Jose Alfredo 240
Jiménez Zúñiga Marcos Ignacio 419
Jiménez Torres Humberto Daniel 223
León-Morales Janet María 210
Lima Silva Asalia Yukaidy 10
López Pérez José Francisco 323
López Ramírez Varinia 102
López-Velázquez Julio César 114
López-Zamudio Amairany 158
Loza Cornejo Sofía 252
Lozano Villalba Flor Nataly 90
Macias García Maria Juventina 114, 210
Mancera Ramos Eugenio 290
Martínez Cano Evelia 351
Martínez Chacón Armando J. 10, 90
Martínez Enriquez Andrea Guadalupe 313
Martínez Flores Héctor Eduardo 366
Martínez Gaytán Dariela 431
Martínez Ortega Regina 383
Martínez Rodríguez Miranda 290
Mateos Nava Rodrigo Anibal 298, 362
Medina Ramos Gabriela 106, 202, 330
Medina Saavedra Tarsicio 5, 198
Mendoza García Patricia Guillermina 158
Mendoza Puga Luis Enrique 336
Mexicano Santoyo Lilia 198
Mondragón Chávez Jorge Humberto 123
Montelongo Maturino Armando 303, 487
Monter López Areli 470
Morales Vargas Adán Topiltzin 32
Nava Berumen Cynthia Adriana 129, 345, 357
Navarro Maldonado María del Carmen 470
Navez Gonzalez Daysi 240
Neri Luna Cecilia 323, 440
Noriega Luna Berenice 336
Núñez Cardona María Teresa 379
Olivares Trejo José de Jesús 61
Orona Tamayo Domancar 102, 267
Oropeza Mariano Octavio 240
Orozco Guareño Eulogio 223
Ortega-Martínez Regina 74
Ortiz Sánchez Ixchel Abby 39, 129, 280, 303, 313, 345, 357, 487
Padilla Ramírez Francisco Javier 393
Padilla Torres Karla 351
Palacios Espinosa Juan Francisco 379
Pardo Galván Marco Aurelio 123
Peña Montes Carolina 158
Peralta Sanchez Maria Guadalupe 309, 447, 452
Perez Arzeta Yurizi 240
Pérez Pérez Nalleli Concepción 463
Perez Valera Eloy 398
Pichardo Molina Juan Luis 323, 440
Polanco Medina Irma Patricia 10, 90
Porrás Saavedra Josefina 463
Portales González Claudia Deyanira 431
Puy Y Alquiza María Jesús 336
Quezada Cabrera Erick Uriel 379
Quinones Páramo Monica Dariela 198
Quintana Rodríguez Elizabeth 102, 267
Quiñones Gurrola Miriam Judith 345
Quiroz Reynoso Laura Cecilia 252
Ramírez Fajardo Jorge Antonio 479
Ramírez Godina Francisca 408
Ramírez Granados Juan Carlos 32
Ramírez Nuñez Estefanía 290
Ramírez Olvera Sara Monzerrat 56, 74, 140
Ramos Espinoza Osvaldo 267
Reyes Cruz Eder Yaveth 79
Reynaga Delgado Eire 21, 223
Ríos Barreto Yasbet 69
Robledo Torres Valentín 408
Rodríguez Sotelo Ana Laura 172
Rodríguez Chávez José Amando 479
Rodríguez Menchaca Giovanna 187
Rodríguez Olivarez Miriam 10, 90
Rodríguez Rodríguez Stephanie Mavíael 102
Rodríguez Saldaña Jesús Gabriel 187
Rodríguez Téllez Rosario 187
Rojas Gutierrez Lizbeth Guadalupe 388
Romania Martínez María Anahí 187
Romo García Salvador 470
Ruiz Posadas Lucero del Mar 56, 140
Rustrián Portilla Elena 463
Salas Castañeda Erika Patricia 393
Salgado Garciglia Rafael 123
Sánchez Aguirre Óscar Antonio 79
Sánchez Cruz Cristhian 61
Sánchez Martínez Heriberto 106
Sánchez Ramos Sanjuana 440
Sandoval Anguiano Martha Patricia 262
Saucedo Rodríguez Javier 39
Saucedo Veloz Crescenciano 56, 140
Serafin Muñoz Alma Hortensia 336
Tacuba Badillo Yareth 240
Tapia Ponce de León Daniela Michelle 172
Tavitas Fuentes Leticia 56, 140
Tejeda Sartorius Olga 69, 74, 309, 383, 447, 452
Toledo Trejo Erika 398
Topete Betancourt Alfonso 366
Torres López Yolanda 280
Tovar Benítez Tomás 463
Trejo Téllez Libia Iris 56, 69, 74, 135, 140, 218, 285, 298, 309, 362, 383, 447, 452
Uribe Soto Jose Natividad 46
Uzarraga Salazar Rafael 267
Valdez Ortega Sonia 39, 129, 280, 303, 313, 345, 357, 487
Valencia Posadas Mauricio 145
Vazquez Avendaño José Roberto 470
Velarde Avalos Adriana 244
Velázquez Juárez Gilberto 21
Velázquez Martínez Yasmin 431
Vidrio Llamas Gloria 229
Villagómez Castro Julio César 323, 440
Villarreal Garza Jorge Alberto 408
Villeda Gutierrez Erika Adriana 419
Virgen Montelongo María 244

Yañez Fernandez Jorge 233
Zamudio Hernández Luis Ramón 172