Inducción a la Ciencia, la Tecnología y la Innovación en la Región Centro

Vol. II, Num. 2

Ciencias Agropecuarias

18° Verano de la Ciencia
Región Centro 2016

Inducción a la Ciencia, la Tecnología y la Innovación en la Región Centro

Vol. II, Num. 2

Ciencias Agropecuarias

18° Verano de la Ciencia

Región Centro 2016

Ciencias Agropecuarias

Índice

Ciencias Agropecuarias

14 **OBTENCION DE UNA HARINA CON ALTO CONTENIDO DE CARBOHIDRATOS INDIGERIBLES A PARTIR DE CAMOTE BLANCO**
Adame De la Cruz Ileana Dafne | Universidad Autónoma de Aguascalientes
Espinosa Solís Vicente | Universidad Autónoma de San Luis Potosí

20 **EVALUACION DE DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO PARA EL CRECIMIENTO DE HONGOS ENTOMOPATOGENOS**
Agudo Rentería María Trinidad | Universidad Autónoma de Zacatecas
Villegas Rodríguez Fabiola | Universidad Autónoma de San Luis Potosí

27 **SISTEMA DE PRODUCCIÓN LECHERA EN EL EJIDO LOS LLANOS, MUNICIPIO DE ARTEAGA, COAHUILA: UN ESTUDIO DE CASO EN LA LECHERIA FAMILIAR**
Armendariz Rojas Magdalena | Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Aguirre Villaseñor Luis | Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

32 **EFICIENCIA DE DOS BIOFERTILIZANTES BACTERIANOS PARA SUSTITUIR DE FERTILIZANTES SINTÉTICOS DE NITRÓGENO EN CULTIVOS DE TRIGO**
Chairez Guerrero Yosue Leonel | Universidad Autónoma de Coahuila
Cárdenas Flores Antonio | Centro de Investigación en Química Aplicada

37 **CARACTERIZACION DEL POTENCIAL AGRONOMICO, CALIDAD FORRAJERA Y DE GRANO DE COLECTAS DE MAIZ DEL BANCO DE GERMOPLASMA DE CIMMYT**
Cruz Cruz Guadalupe | Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Antuna Grijalva Oralia | Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

43 **DETERMINACIÓN DE MASTITIS SUBCLÍNICA EN CABRAS ESTABULADAS**
Cruz Rodríguez Araceli | Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Ávila Ramos Fidel | Universidad de Guanajuato

49 **DETERMINACIÓN DE LA CÁLIDAD DE UVA DE MESA DE LA VARIEDAD EMERALD SEEDLESS (Vitis vinifera L.) POR EFECTO DEL ANILLADO Y/O APLICACIÓN DE HORMONAS**
Enriquez Mendoza Pedro Damian | Universidad Autónoma de Querétaro
Madero Tamargo Eduardo Emilio | Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

54 **DETERMINACIÓN DE LA BIOMASA MICROBIANA DE SUELOS SÓDICOS DEL BAJÍO**
Espinosa Valladares Verónica | Instituto Tecnológico de Celaya
Conde Barajas Eloy | Instituto Tecnológico de Celaya

60 **DIAGNÓSTICO MOLECULAR Y CARACTERIZACIÓN GENÓMICA PARCIAL DE BEGOMOVIRUS QUE INFECTAN CULTIVOS Y MALEZAS EN SAN LUIS POTOSÍ**
Gómez Pacheco Liliana | Universidad Autónoma de Querétaro
Torres Tirado José David | Universidad Autónoma de San Luis Potosí

66 **INVESTIGACIÓN EN NUTRIENTES ORGÁNICOS PARA LA ELABORACIÓN DE BIOFERTILIZANTES**
Gómez Pedro María Rosalba | Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Armenta Villanueva Raúl | Instituto Tecnológico Superior de Irapuato

71 **ESTUDIO DE LA DIGESTIBILIDAD DE HARINAS DE FRUTAS DE LA REGIÓN HUASTECA SUR (PLÁTANO, MANGO Y JACA)**
Hernández Hernández Francisco Manuel | Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Espinosa Solís Vicente | Universidad Autónoma de San Luis Potosí

77 **CARACTERIZACION DEL POTENCIAL AGRONOMICO, CALIDAD FORRAJERA Y DE GRANO DE COLECTAS DE MAIZ DEL BANCO DE GERMOPLASMA DE CIMMYT**
Hernández Juárez Normayda | Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Antuna Grijalva Oralia | Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

81 **RESPUESTA FISIOLÓGICA DE LAS PLANTAS A CONDICIONES ADVERSAS RELACIONADAS CON EL CAMBIO CLIMÁTICO (zea mays)**
Hernández Mendoza Omar | Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Coyac Rodríguez José Luis | Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

84 **ANÁLISIS DE IMAGEN DIGITAL: UNA PODEROSA HERRAMIENTA PARA EL MUESTREO Y ANÁLISIS FÍSICO DE SEMILLAS Y PRODUCTIVIDAD VEGETAL**
López Murillo José Antonio | Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Coyac Rodríguez José Luis | Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

90 **MÉTODOS DE CONSERVACIÓN POR TEMPERATURA DEL MUCÍLAGO DEL NOPAL (Opuntia ficus-indica variedad Atlixco)**
Lozano García Miriam Guadalupe | Instituto Tecnológico Superior de Purísima del Rincón
Vargas Rodríguez Lorena | Universidad de Guanajuato

95 **IDENTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS DE ORIGEN ANIMAL PARA SU APLICACIÓN EN ALIMENTOS FORTIFICADOS**
Luna Hernández Angélica Elizabeth | Universidad Autónoma de Aguascalientes
Herrera Mendez Carlos Hernan | Universidad de Guanajuato

100 **MÉTODOS DE CONSERVACIÓN POR TEMPERATURA DEL MUCILAGO DE NOPAL (Opuntia spinulifera)**
Medina Pizaño Mariana Yazmín | Universidad Autónoma de Aguascalientes
Vargas Rodriguez Lorena | Universidad de Guanajuato

106 **CRIOPRESERVACIÓN DE SEMEN CAPRINO CON TREHALOSA Y ORTOVANADATO DE SODIO**
Mendoza Martínez Daniela | Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Saavedra Leos María Dolores | Universidad Autónoma de San Luis Potosí

111 **EVALUACIÓN DE CINCO CEPAS DE BACILLUS THURINGIENSIS SOBRE LA MORTALIDAD DE LARVAS DE MUSCA DOMESTICA**
Morales García Rodrigo | Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Ángel Sahagún César Andrés | Universidad de Guanajuato

116 **DETERMINACIÓN DE LA BIOMASA MICROBIANA DE SUELOS SÓDIOS DEL BAJÍO**
Noria Balderas Diego Fernando | Instituto Tecnológico de Celaya
Conde Barajas Eloy | Instituto Tecnológico de Celaya

122 **SILENCIAMIENTO GÉNICO INDUCIDO POR VIRUS EN PLANTAS DE Amaranthus caudatus**
Ordaz Arias Ayabeth | Instituto Tecnológico Superior de Irapuato
Délano Frier John Paul | Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN - Irapuato

128 **EFICIENCIA DE DOS BIOFERTILIZANTES BACTERIANOS PARA SUSTITUCIÓN DE FERTILIZANTES SINTÉTICOS DE N EN TRIGO**
Oviedo Olvera Mónica Vanessa | Universidad Autónoma de Querétaro
Cárdenas Flores Antonio | Centro de Investigación en Química Aplicada

134 **CARACTERIZACIÓN FÍSICA Y DE CAPACIDAD GERMINATIVA DE CULTIVARES TRADICIONALES DE CHILE**
Pérez Galvez Nelvi | Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Aguilar Benítez Gisela | Universidad Autónoma de San Luis Potosí

139 **DETERMINACIÓN DE LA BIOMASA MICROBIANA DE SUELOS SÓDICOS DEL BAJÌO DEL 18° VCRC**
Pérez Patiño Jaime Alejandro | Instituto Tecnológico de Celaya
Conde Barajas Eloy | Instituto Tecnológico de Celaya

145 **SOBREVIVENCIA DE LOMBRIZ ROJA CALIFORNIANA CON DIFERENTES DESECHOS ORGANICOS**
Ramírez Pérez Carmen | Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Jarquín Gálvez Ramón | Universidad Autónoma de San Luis Potosí

149 **GENES DE FUNCIÓN DESCONOCIDA DE AMARANTO DE GRANO QUE SE EXPRESAN EN CONDICIONES DE ESTRÉS BIÓTICO (i.e., INFECCION BACTERIANA)**
Rodríguez Alvarez Brenda Liliana | Instituto Tecnológico Superior de Purísima del Rincón
Délano Frier John Paul | Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN - Irapuato

155 **EFECTO DE LA APLICACIÓN DE UN TRATAMIENTO CALOR-HUMEDAD SOBRE LA DIGESTIBILIDAD DE HARINA DE CAMOTE AMARILLO (Ipomea batata)**
Rodríguez Chavez Victor Eduardo | Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Espinosa Solís Vicente | Universidad Autónoma de San Luis Potosí

162 **MICROPROPAGACIÓN EUCHILE MARIAE (AMES) WITHNER, Y EPIDENDRUM CILIARE L.**
Rodríguez Cruz Yahaira Eliazabeth | Universidad Autónoma de Aguascalientes
Carranza Álvarez Candy | Universidad Autónoma de San Luis Potosí

168 **ESTUDIO DE COSTOS E INGRESOS EN EL EJIDO LOS LLANOS, ARTEAGA, COAHUILA; ELCASO DE UNA UNIDAD DE PRODUCCIÓN LECHERA FAMILIAR**
Rodríguez Valdes Edgar Alejandro | Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Aguirre Villaseñor Luis | Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

174 **ANÁLISIS GENÓMICO Y METABOLÓMICO DE LA INTERACCIÓN PLANTA-MICROORGANISMO**
Romo Avalos Alejandro | Universidad Autónoma de Coahuila
Lara Ávila José Pablo | Universidad Autónoma de San Luis Potosí

179 **MICROENCAPSULACIÓN DE PIGMENTOS NATURALES EXTRAÍDOS DE LA CASCARA DE TUNA PURPURA Y NARANJA ASISTIDA CON ULTRASONIDO**
Salas Gaona Mariana | Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Abraján Villaseñor Myrna Alicia | Universidad Autónoma de Aguascalientes

185 **ANALISIS DE LA INMUNOGENICIDAD DE PÉPTIDOS CONTRA BABESIA BOVIS**
Salinas Aguilar Sergio Arturo | Universidad Autónoma de Querétaro
Mosqueda Gualito Juan Joel | Universidad Autónoma de Querétaro

189 **ESTABLECIMIENTO DE CIERTAS ACCESIONES DE LA COLECCIÓN NACIONAL DE AGAVES UG-SAGARPA EN SISTEMAS DE INMERSIÓN TEMPORAL (SIT)**
Salvador Arroyo Gloria Ivete | Instituto Tecnológico de Querétaro
Núñez Palenius Héctor Gordon | Universidad de Guanajuato

195 **COMPORTAMIENTO DE UN FERTILIZANTE FOSFÓRICO EN MATRIZ DE CERA DE CANDELILLA IN VITRO E IN VIVO**
Santiago López Carmen Alejandra | Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Cárdenas Flores Antonio | Centro de Investigación en Química Aplicada

201 **ELABORACIÓN Y APLICACIÓN DE BIOPELÍCULAS DE ALMIDÓN DE PAPA (*Solanum tuberosum*) Y ALMIDÓN DE ARROZ (*Oryza sativa*) EN FRESA (*Fragaria ananassa*)**
Segura Cerda Viridiana | Instituto Tecnológico de Celaya
Rodríguez Chong Antonio | Universidad Autónoma de San Luis Potosí

207 **ESTUDIO DE GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE *Pinus cembroides* PARA RESTAURACIÓN ECOLÓGICA**
Torres Mena Denis Betsabé | Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Miranda Aragón Liliana | Universidad Autónoma de San Luis Potosí

212 **ANÁLISIS DE LA EXPRESION DIFERENCIAL DE PROTEÍNAS DE MANGO A TRAVÉS DE SDS-PAGE**
Uribe Trujillo Leticia Estela | Universidad Autónoma de Querétaro
Cruz Hernández Andrés | Universidad Autónoma de Querétaro

218 **DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD DEL MÉTODO LAMP EN LA DETECCIÓN DE B. BOVIS EN SUERO BOVINO**
Uribe Villarreal Carlos Manuel | Universidad Autónoma de Querétaro
Mosqueda Gualito Juan Joel | Universidad Autónoma de Querétaro

224 **MICROENCAPSULACIÓN DE BETALAÍNAS DE TUNA PURPURA CON FIBRA Y MUCILAGO DE NOPAL TRATADOS CON ULTRASONIDO**
Valencia Flores Tannya | Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Abraján Villaseñor Myrna Alicia | Universidad Autónoma de Aguascalientes

230 **INVESTIGACIÓN EN NUTRIENTES ORGÁNICOS PARA LA ELABORACIÓN DE BIOFERTILIZANTES**
Vargas Martínez Guillermo | Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Armenta Villanueva Raúl | Instituto Tecnológico Superior de Irapuato

235 **MICROENCAPSULACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS EXTRAÍDOS DE LA CASCARA DE TUNA CON ASISTENCIA DE ULTRASONIDO**
Vargas Rodríguez Paulina | Universidad Autónoma de Zacatecas
Abraján Villaseñor Myrna Alicia | Universidad Autónoma de Aguascalientes

241 **ESTABLECIMIENTO DE CIERTAS ACCESIONES DE LA COLECCIÓN NACIONAL DE AGAVES UG-SAGARPA EN SISTEMAS DE INMERSIÓN TEMPORAL (SIT)**
Villeda García Adriana | Instituto Tecnológico de Querétaro
Nuñez Palenius Héctor Gordon | Universidad de Guanajuato

247 **EVALUACIÓN DEL FECTO ANTAGONICO DE *Bacillus* CIS-45 ANTE ESPECIES BACTERIANAS PATOGENAS PARA EL SER HUAMNO**
Vargas Padilla Nicy Daniela | Universidad Autónoma de Aguascalientes
Hernández Morales Alejandro | Universidad Autónoma de San Luis Potosí

OBTENCION DE UNA HARINA CON ALTO CONTENIDO DE CARBOHIDRATOS INDIGERIBLES A PARTIR DE CAMOTE BLANCO

Ileana Dafne Adame de la Cruz[1], Vicente Espinosa Solis[2]

RESUMEN

En el presente trabajo se modificó harina y almidón de camote blanco a través de un tratamiento de calentamiento y almacenamiento a 25 y 4°C durante 3 días, para ver su efecto sobre la digestibilidad de almidón. La modificación térmica destruyó la estructura granular del almidón. En general los almidones nativos y modificados presentaron un contenido mayor de almidón total en comparación con las harinas. El tratamiento térmico incremento el contenido de almidón resistente en las muestras de almidón y harina (61.8 y 37.3 %, respectivamente), mientras que no tuvo efecto alguno sobre el contenido de ADL. Los altos contenidos de AR en este estudio deberían corroborarse con un estudio molecular para tener un mejor entendimiento de los resultados.

ABSTRACT

In this paper white sweet potato flour and starch were modified through a heat treatment and storage at 25 and 4 °C, for 3 days, to see its effect on the digestibility of starch. The thermal modification disrupted the granular structure of sweet potato flour and starch. Generally native and modified starches had higher total starch content compared to flour. The heat treatment increases the content of resistant starch in the flour and starch samples (61.8 and 37.3 % respectively), while it had no effect on the content of ADL. The high levels of AR in this study should be corroborated with structural studies to have a better understanding of the results.

Palabras clave: camote, digestibilidad de almidón, ciclos de calentamiento-enfriamiento

INTRODUCCIÓN

El Camote, *Ipomoea batata Lam.*, es una planta dicotiledóneas de que pertenece a la familia Convolvulaceae. A nivel mundial, camote es el sexto cultivo de alimentos más importante después de arroz, trigo, patatas, maíz, y yuca. Es el quinto más importante cultivo de alimentos en países en desarrollo, desempeñando un papel crítico en la seguridad alimentaria. Existen diversos beneficios del consumo de camote debido a la presencia de diferentes componentes funcionales como fibras dietéticas, carotenoides, ácidos fenólicos, antocianinas vitaminas y minerales (Zhu y Wang, 2014).

El componente principal del camote es el almidón, puede contener hasta un 80% de la materia seca. Los gránulos de almidón están formados por una serie de anillos semi-cristalinos de entre 100 y 400nm de espesor. Cuando se calientan en presencia de agua, los gránulos de almidón absorben agua, se hinchan y se rompen los gránulos, lo que provoca un desorden en la conformación; a este proceso se le llama gelatinización. El almidón como macromolécula consta de dos componentes principales: amilosa y amilopectina. La amilosa es lineal con pequeñas ramas. El contenido de amilosa contribuye en gran medida a las propiedades funcionales del almidón. La amilopectina se encuentra en un 80% aproximadamente en el almidón, absorbe mucha agua durante la cocción y es en gran parte responsable de la hinchazón de los gránulos. Las moléculas de amilopectina no tienen tendencia a la recristalización y poseen un elevado poder de retención de agua. (Perez y Bertof, 2010).

Dependiendo la fuente de almidón la velocidad de digestión de los mismos varía. Para poder diferenciar estas velocidades, los almidones han sido clasificados en almidones de digestión rápida

[1]Universidad Autónoma de Aguascalientes, Av. Universidad no. 940, Col. Ciudad Universitaria, C.P. 20131, Aguascalientes, Ags. ile.ucina1@gmail.com
[2]Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Coordinación Académica Región Huasteca Sur. Carr. Tamazunchale-San Martin KM. 5. Tamazunchale, SLP. 79960. Vicente.espinosa@uaslp.mx

(ADR), lenta (ADL) y Resistente (AR) (Englyst *et al.,* 1992). Los beneficios del ADL son: una entrada de glucosa al torrente sanguíneo de forma paulatina y una respuesta glucémica menor, es digerido completamente en intestino delgado a una menor velocidad en comparación con el ADR, en particular sus beneficios a la salud de quien consume este tipo de almidón está relacionado con la generación de un índice glucémico bajo por lo que ayuda en el tratamiento de obesidad, diabetes y enfermedades cardiovasculares; mientras que el AR es la fracción del almidón que no puede ser digerido en el intestino grueso, pero es fermentado en el intestino grueso, lo cual lleva a la generación de ácidos grasos de cadena corta, entre ellos el ácido butírico, el cual mantiene en buen funcionamiento las funciones de los colonocitos, por lo cual al AR se le han atribuido propiedades para la prevención del cáncer de colon (Zhang *et al..,* 2006)

Para poder incrementar estas dos fracciones benéficas del almidón, los almidones nativos pueden ser modificados química, física o enzimáticamente. Entre estos métodos, los métodos físicos son más utilizados, debido a los bajos costos y mejor capacidad de poder ser utilizado en un producto comercial. Muchos estudios ha demostrado que la retrogradación del almidón es un fenómeno deseable en términos de significancia nutricional, debido a que disminuye la velocidad de digestión y modera la liberación de glucosa en el torrente sanguíneo (Shi y Gao, 2016). La técnica de ciclos térmicos de calentamiento y enfriamiento (gelatinización y retrogradación) ha sido utilizada en otras investigaciones para incrementar los contenidos de ADL y AR (Tian et al., 2012; Zeng et al., 2014). Debido a ello, el objetivo del presente trabajo es evaluar un tratamiento térmico de calentamiento – enfriamiento sobre las propiedades de digestibilidad de harinas de camote blanco. Y con ello obtener una harina que pueda ser utilizada en la formulación de alimentos saludables.

METODOLOGIA

Materiales. El camote utilizado se adquirió en la central de abastos del estado de Morelos. Las enzimas α-amilasa, amiloglucosidasa y glucosa oxidasa-peroxidasa (GOPOD) fueron adquiridas en la empresa Megazyme International (Ireland). Mientras que las enzimas invertasa (S. cerevisae), pepsina (Mucosa gástrica porcina), pancreatina (Páncreas Porcino) y amiloglucosidasa (A*spergillus Níger*) empleadas en la técnica de Englyst fueron adquiridas en Sigma Aldrich (EUA).

Obtención de la harina de camote. Para la obtención de la harina de camote, se lavó el camote, se cortaron en rodajas de aproximadamente 0.5 cm, y se pusieron en una solución de ácido cítrico al 3%, por 15 minutos, pasado el tiempo se colocaron para su secado en un horno de secado sin convección a 45 °C, durante toda una noche (16h), pasado el tiempo se procedió a triturar las rodajas en un molino (Nutribullet, Reino Unido). La muestra fue tamizada utilizando un tamiz no. 50. Y almacenada en bolsas hasta su posterior utilización.

Aislamiento de almidón de camote blanco. El almidón de camote fue aislado utilizando una molienda húmeda de acuerdo al método utilizado por Whistler, (1998) algunas modificaciones, el camote se lavó y se retiró la cascara, para después obtener pedazos de tubérculo de 5 cm de diámetro, los trozos del material biológico fueron sumergidos inmediatamente en una solución de bisulfito de sodio (1%, p/p, pH 4.5) en una relación 1:2 material biológico/solución. A continuación la mezcla fue molida en una licuadora industrial dejando reposar esta solución por 4 horas, posteriormente se tamizó dicha mezcla, utilizando tamices de 50, 100 y 200 mesh. La solución tamizada se guardó por 12 horas a 4°C y posteriormente se decantó. La solución final fue centrifugada (Centrifuge 5810R, Eppendorf, Germany) a 4000 rpm por 10 min y se eliminó el sobrenadante, se procedió a enjuagar el residuo con agua destilada y fue nuevamente centrifugado bajo las condiciones antes descritas, este proceso fue repetido 2 veces más. El precipitado final fue secado en un horno a 45 °C durante 16 horas. La muestra fue tamizada a través de una malla de 50 mesh y almacenada en bolsa de plástico hasta su posterior uso.

Tratamiento ciclos térmicos de calentamiento y enfriamiento. Se colocaron 5 g de almidón de camote en un tubo de 50 mL, se agregaron 10 mL de agua, se realizó el proceso de gelatinización, colocando la muestra sobre agua en ebullición durante 30 minutos, una vez formado el gel de camote, este se

almaceno durante 24 horas a 4 °C, posteriormente a 25°C durante 24 horas y finalmente a 4 °C durante 24 horas. Una vez pasado el tiempo de almacenamiento las muestras fueron congeladas a -15 °C y liofilizadas, posteriormente las muestras fueron tamizadas a través de una malla de 50 y almacenadas en tubos de plástico, hasta su posterior uso.

Determinación del contenido de humedad de muestra. Se utilizó el método 44-19 (AACC, 2000) El análisis se hizo por triplicado.

Determinación de almidón Total: Para conocer el contenido de glucosa presente en la muestras se utilizó el reactivo de GOPOD de la empresa megazyme, y se leyó la absorbancia a 510 nm utilizando un espectrofotómetro (RAYLEIGH, China). El contenido de glucosa fue calculado utilizando una curva estándar de glucosa.
Para conocer la pureza de los almidones obtenidos y poder cuantificar el contenido de almidón resistente, se determinó el contenido de almidón total siguiendo la metodología de la AACC 76.13. Para lo cual se utilizó el kit de la empresa Megazyme International (Ireland Ltd).

Digestibilidad *in vitro* (ensayo de Englyst): La digestibilidad de los almidones nativo se analizó utilizando la técnica propuesta por Englyst *et al,* (1992) con algunas modificaciones. Con la cual se determinaron las fracciones de ADR, ADL y AR. Para este análisis se utilizaron muestras crudas y muestras sometidas a un proceso de retrogradación (20 min, en agua en ebullición y 12 horas en refrigeración a 4 °C) posteriormente se sometieron a un ataque enzimático utilizando un coctel enzimático de amiloglucosidasa, pancreatina, invertasa, pepsina, la reacción fue evaluada tras haber transcurrido 20 y 120 min de reacción utilizando el reactivo GOPOD.

Micrografía de harina y almidón: Para conocer los cambios en la estructura de los gránulos de almidón, se hidrato el almidón en agua al 10%, durante 15 min y se tomaron alícuotas de 20 µL y estas fueron puestas en un portaobjetos, para ser analizados en un microscopio (Leica,) (100X) y se tomaron fotografías de las mismas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1 se puede apreciar las micrografías tomadas a las harinas utilizadas en este estudio, la figura 1A corresponde a la muestra de almidón nativo de camote blanco, este presenta gránulos en formas redondas y al parecer divididos o rotos, este tipo de morfología de los gránulos de almidón concuerda con los reportado por Yadav *et al.* (2006), quienes reportaron el mismo tipo de morfología para camote blanco utilizando microscopia electrónica de barrido. También se observa que dichas muestra carece de otro tipo de componente como es el caso de la figura 1C, donde se tienen, además de los gránulos de almidón, la presencia de fibras provenientes de las paredes celulares del camote.

Por otra parte, se distingue que los gránulos de almidón de camote, crecen en estructuras que propician su división, dichas estructuras aparentan dividirse, estas estructuras solo se aprecian en la harina y en el almidón no y este efecto, muy posiblemente se deba a la acción del bisulfito de sodio, quien hace más permeable la pared celular del camote y propicia la división de dichos gránulos.

En la figura 1B y D, vemos que el proceso de modificación a través de ciclos términos de calentamiento – enfriamiento desaparece las estructuras granulares de la muestra, esto debido principalmente a que durante el proceso térmico, los gránulos de almidón tienden a gelatinizarse y a perder su estructura semi cristalina y adquirir una estructura amorfa, la cual se incrementa conforme aumentan los días de almacenamiento de la muestra.

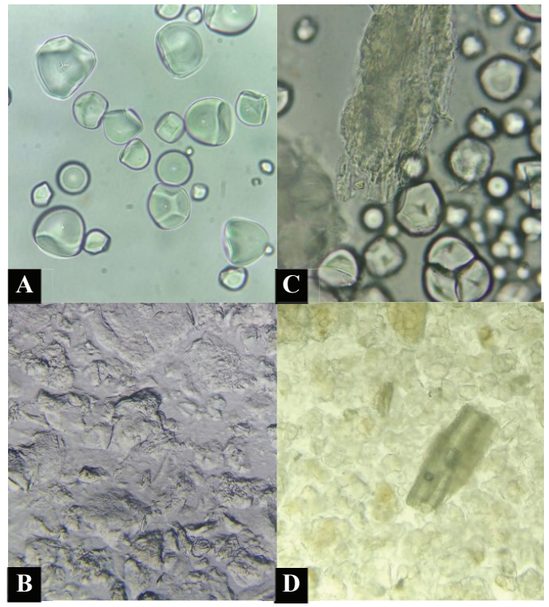


Figura 1. Micrografías de muestras de camote blanco. A) Almidón nativo; B) Almidón Modificado con ciclos térmicos; C) Harina Nativa de camote y D) Harina Modificada con ciclos térmicos

En la tabla 1, se tienen los resultados del contenido de humedad y almidón presente en las muestras. El porcentaje de humedad se obtuvo para dar un valor real a las fracciones de digestibilidad y no presentan un patrón o efecto por la modificación térmica. También podemos observar que existen diferencias entre los almidones y las harinas, siendo estas últimas las que presentaron los menores contenidos de AT. Los valores de AT encontrados en la harina de camote son mayores a los reportados por Liu *et al.* (2006) quienes reportaron un 64.4 % de AT. Para harina de camote blando. Al parecer las muestras modificadas presentan un mayor contenido de AT.

Tabla 1. Resultados de almidón Total y humedad de las muestras analizadas

Muestra	Humedad (%)	Almidón Total (%)
ANCB	6.26±0.4	94.0 ± 0.4
AMCB	8.8 ± 0.4	99.3 ± 1.0
HNCB	7.08±0.3	71.6 ± 0.4
HMCB	5.3 ± 0.3	76.1 ± 0.8

Los resultados son medias ± desviación estándar de 2 réplicas.
ANCB = Almidón Nativo de Camote Blanco; ATCB= Almidón Modificado de Camote Blanco; HNCB= Harina Nativa de Camote Blanco; HMCB = Harina Modificada de Camote Blanco.

En la Tabla 2 se muestras los resultados de la prueba de digestibilidad para harinas de camote cocidas durante 20 min a 100 °C. Se observa que la modificación durante 3 días favorece la generación de AR, tanto en almidón como en harina de camote. Cuando un polímero es almacenado experimenta el fenómeno de cristalización. La cristalización involucra 3 etapas (Wunderlich, 1976). 1) nucleación (formación de núcleos críticos), 2) propagación (crecimiento de los cristales a partir de los núcleos mediante asociaciones intermoleculares y 3) maduración (perfección de los cristales o continua un

crecimiento lento). En este estudio el cambio de temperaturas de 4 y 30°C lo cual favoreció la maduración de los cristales (perfeccionamiento de los mismos) lo cual incremento el contenido de AR.
La variación de las temperaturas de almacenamiento a 1 °C durante mayor horas, podría generar un incremento de la fracción de ADL como lo reportado por Shi y Gao, (2016). Los valores de AR encontrado en este estudio son relativamente alto, por lo cual se deberían comprobar con técnicas estructurales como la cromatografía de alta definición de intercambio iónico, para poder determinar el tipo de cadenas presentes en la amilopectina y establecer si el camote blanco tiene moléculas capaces de rec ristalinizar y dar altos valores de AR.

***Tabla 2. Resultados de la digestibilidad in vitro de las muestras obtenidas a partir de camote blanco (Ipomoea batata* Lam).**

Muestra	ADR (%)	ADL (%)	AR (%)
ANCB	22.3 ± 2.6	5.0 ± 2.7	58.8 ± 0.4
AMCB	22.9 ± 2.7	6.9 ± 3.4	61.8 ± 0.4
HNCB	25.1 ± 1.3	7.4 ± 3.8	29.5 ± 2.4
HMCB	23.2 ± 1.7	6.3 ± 0.0	37.3 ± 2.0

Los resultados son medias ± desviación estándar de 2 réplicas.
ANCB = Almidón Nativo de Camote Blanco; ATCB= Almidón Modificado de Camote Blanco; HNCB= Harina Nativa de Camote Blanco; HMCB = Harina Modificada de Camote Blanco.
ADR = Almidón de Digestión Rápida; ADL = Almidón de Digestión Lenta; AR = Almidón Resistente

CONCLUSIONES

Se obtuvo una harina modificada a partir de camote blanco, mediante tratamientos de calentamiento y enfriamiento con un contenido de 61.8 % de AR.

BIBLIOGRAFIA

AACC. (2000). Approved methods of the American association of cereal chemist, 10th Vol II. St. Paul, M. N.

ENGLYST H.N., KINGMAN S.M. & CUMMINGS J.H. (1992). Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *Journal of Clinical Nutrition*, 46, 33–50.

FAN ZHU, SUNAN WANG. (2014). Physicochemical properties, molecular structure and uses of sweetpotato starch. *Trends in Food Science and technology, 36,* 68-78.

LIU, Q., DONNER, E., YIN, Y., HUANG, R.L. AND FAN, M.Z. (2006). The physicochemical properties and in vitro digestibility of selected cereals, tubers and legumes grown in china. Food Chemistry, 99, 470-477.

PEREZ, S. & BERTOFT, E. (2010). The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: a comprehensive review. *Starch/starke*. 62, pp.389-420.

SHI, M, AND GAO, Q. (2016). Recrystallization and in vitro digestibility of wrinkled pea starch gel by temperature cycling. *Food hydrocolloinds*, 61, 712-719

TIAN, Y. Q., ZHANG, L. L., XU, X. M., XIE, Z. J., ZHAO, J. W., & JIN, Z. Y. (2012). Effect of temperature-cycled retrogradation on slow digestibility of waxy rice starch. International *Journal of Biological Macromolecules*, 51(5), 1024-1027.

WHISTLER, R. L. (1998). Banana starch production. *US Patent 5797985*.

WUNDERLICH, B. (1976). Macromolecular physics: Crystal nucle-ation, growth, annealing, 2. Academic Press.

YADAV, A. R., GUHA, M., THARANATHAN, R.N., AND RAMTEKE, R.S. (2006). Changes in characteristics of sweet potato flour prepared by different drying techniques. LWT, 39, 20-26

ZENG, F., MA, F., GAO, Q., YU, S., KONG, F., & ZHU, S. (2014).Debranching and temperature-cycled crystallization of waxy rice starch and their digestibility. *Carbohydrate Polymers*, 113, 91-96.

ZHANG, G., AO, Z., AND HAMAKER, B.R. (2006). Slowly digestion property of native cereal starches. *Biomacromolecules*, 7, 3252-3258.

EVALUACION DE DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO PARA EL CRECIMIENTO DE HONGOS ENTOMOPATOGENOS

Agudo Renteria Maria Trinidad[1] y Villegas Rodríguez Fabiola[2]

RESUMEN

Con el interés de incrementar la producción de hongos entomopatogenos se evaluó el crecimiento de dos cepas de *Metarhizium anisopliae* (Ma-1amp y Ma-2amp) en diferentes medios de cultivo los cuales fueron los siguientes: agar agua (AA), agar papa dextrosa (PDA), agar papa dextrosa más extracto de sacarosa (PDA+ S), agar papa dextrosa más extracto de levadura (PDA +L). Se reactivaron las cepas en los medios de cultivo, con la finalidad de evaluar el crecimiento del hongo durante 10 días y se observó que el medio en el cual ambas cepas se propagaron más rápido fue PDA+L; además, se realizaron pruebas de esporulación, resultando de igual manera el medio PDA + L donde se generaron mayor cantidad de esporas. Para los ensayos de viabilidad no se encontraron diferencias entre los medios evaluados.

ABSRACT

In the interest of increasing the production of entomopathogenic fungi growth of two strains of *Metarhizium anisopliae* (Ma-1amp and Ma-2amp) in different culture media which were the following was evaluated: water agar (AA), potato dextrose agar (PDA), potato dextrose agar extract more sucrose (PDA + S) , potato dextrose agar plus yeast extract (PDA + L). Strains were reactivated in culture media, in order to evaluate the growth of the fungus for 10 days and it was observed that the medium in which both strains were propagated faster was PDA + L; also sporulation tests were performed, resulting in the PDA + L culture media where greater numbers of spores were generated. For viability assays there were no differences between culture media.

Palabras clave: *Metarhizium_anisopliae,* medio_de_cultivo, nutrición.

INTRODUCCIÓN

El control biológico es una práctica agrícola en constante crecimiento que busca la destrucción total o parcial de patógenos e insectos plaga, frecuentemente mediante el uso de sus enemigos naturales (Spardo y Gullino, 2004). Existen numerosos reportes sobre la utilización de microorganismos entomopatógenos, que por su capacidad de producir enfermedad y muerte en insectos, son utilizados como agentes de control biológico (Asaff*et al,* 2002). De los diferentes microorganismos empleados se encuentran bacterias, virus, protozoarios hongos y nematodos. Los hongos tienen mecanismos de invasión únicos que les permiten atravesar de forma directa la cutícula o la pared del tracto digestivo de los insectos, lo que los hace excelentes agentes de control biológico actuando como insecticidas de contacto (Charnley y Collins, 2007). Debido a la resistencia desarrollada por las plagas a los pesticidas químicos, la contaminación que provocan y el alto costo en el mercado se ha empleado como estrategia alternativa para el manejo de plagas los hongos entomopatogenos, resultando además, inocuos. Los hongos

[1]Unidad Académica de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Zacatecas Carr. Guadalajara Km 6, Ejido la Escondida C.P.98160, Zacatecas,Zac, triniagudo_94@hotmail.com

[2] Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Carretera San Luis Potosí – Matehuala, km 14.5, C.P.78321. Soledad de Graciano Sánchez, S.L.P, fabiola.villegas@uaslp.mx

entomopatogenos están el orden *Entomophthorales* (clase *Zygomicetes*). Existen más de 700 especies de hongos entomopatogenos en aproximadamente 100 géneros (Ferrera*et al.*, 2007).En la actualidad, las especies que están siendo más estudiadas en programas de manejo integrado y en cooperación con la industria para el control de plagas de pastos, suelo y mosquitos, son *Beauveria bassiana, Metarhizium anisopliae, Verticillium lecanii, Paecilomyces fumosoroseus y Lagenidium giganteum* (Berlanga, 1997;Casamayor,1998).Por ahora, el grupo más importante de hongos entomopatogenos, con fines prácticos de manejo, está constituido por *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* (Gómez y Mendoza, 2004). Los medios de cultivo utilizados en la propagación de hongos deben contener los nutrientes suficientes para asegurar el desarrollo de sus estructuras (Carbono, Nitrógeno, vitaminas, oligoelementos, etc). El pH debe ser preferentemente ácido para facilitar el crecimiento de los hongos e inhibir al mismo tiempo el desarrollo de otros microorganismos, incluso se utilizan algunos antibióticos para inhibir el crecimiento de las bacterias saprófitas que suelen contaminar las muestras (Alean-Carreño, 2003). El objetivo de este proyecto fue evaluar diferentes medios de cultivo para el crecimiento, esporulación y viabilidad de dos cepas de hongos entomopatogenos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cepas
Se utilizaron dos cepas de *Metarhizium anisopliae* Ma-1amp y Ma-2amp.

Medios de cultivo
Se evaluaron cuatro medios de cultivo diferentes: agar agua (AA), agar papa dextrosa (PDA), agar papa dextrosa más extracto de sacarosa (PDA+ S), agar papa dextrosa más extracto de levadura (PDA +L). Para ello, en cada uno de los medios se colocaron círculos de micelio activo de ambas cepas en el centro de cajas Petri, se incubaron por 10 días a 25°C±1 midiendo el crecimiento del micelio en forma de cruz para realizar un promedio.

Concentración de conidias
A cada medio se le agregaron 10mL de agua + INEX®, posteriormente, con ayuda de un asa de extensión se realizó un raspado para desprender las esporas, recuperándose el sobrenadante en frascos y se agitándose en el vórtex. De ésta solución se contabilizaron las conidias en la cámara de Neubauer y el microscopio con el aumento de 40x.

Viabilidad
Se tomó una pequeña cantidad de esporas en 500µl de agua + INEX®, se tomaron 200µl de esta solución y se colocaron sobre pequeños rectángulos de medio ADS (agar dextrosa sabouraud) que estaban sobre un portaobjeto dentro de una caja Petri, estos fueron tapados con el cubreobjetos con la finalidad de observar las conidias viables y no viables en el microscopio unas vez transcurridas 17 horas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación del crecimiento del micelio
El hongo se propagó más en el tratamiento PDA+L y de una forma muy rala en el tratamiento AA. Las colonias que crecieron en los diferentes medios van desde una coloración amarillenta hasta un verdoso dependiendo del tratamiento que se empleó, y de morfología circular (Figura 1). Esto concuerda con lo descrito por Lazzarini (2006) en donde *Metarhizium anisopliae* presentó al inicio del crecimiento, en todos los tratamientos en 24 horas, un micelio blanco de apariencia granulosa que con el tiempo mostró una coloración verde.

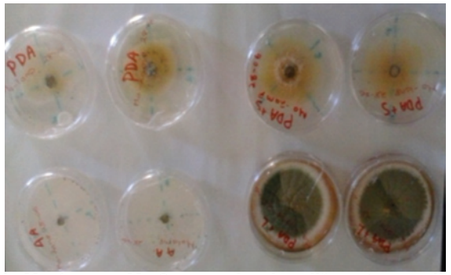


Figura 1. Crecimiento de Ma-1amp y Ma-2amp sobre los diferentes medios de cultivo evaluados

El crecimiento del micelio fue desde 2.6 hasta 5cm como máximo de diámetro, obteniéndose en el medio de cultivo PDA+L los mejores resultados para ambas cepas (Figura 2).De acuerdo con Cañedo- Ames (2004) el PDA es un medio muy usado que sirve para aislar todo tipo de hongos obteniéndose resultados favorables, sin embargo, el extracto de levadura ha demostrado ser una fuente de nitrógeno más eficaz en la promoción del crecimiento micelial y la esporulación (Alean-Carreño, 2003).

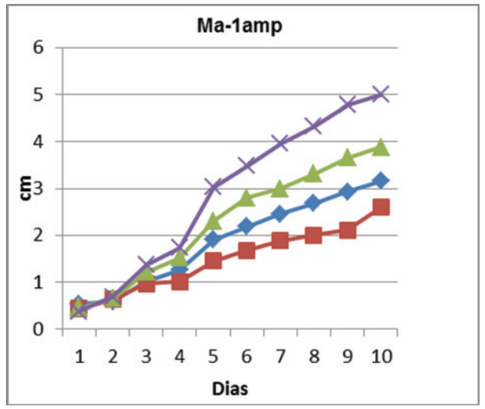


Figura 2.Crecimiento del micelio de las cepas Ma-1amp y Ma-2amp durante los diez días de evaluación (AA: agar agua, PDA: agar papa dextrosa. PDA+S: agar papa dextrosa más extracto de sacarosa, PDA+L: agar papa dextrosa más extracto de levadura).

De acuerdo a los resultados del análisis estadístico se observó diferencia significativa: para el caso de la cepa Ma-1amp el mejor tratamiento en crecimiento fue el PDA+L, después el PDA+S y PDA y por último AA; en el caso de la cepa Ma-2amp el mejor tratamiento fue PDA+L, en segundo PDA+S y por ultimo PDA y AA (Figura 3).

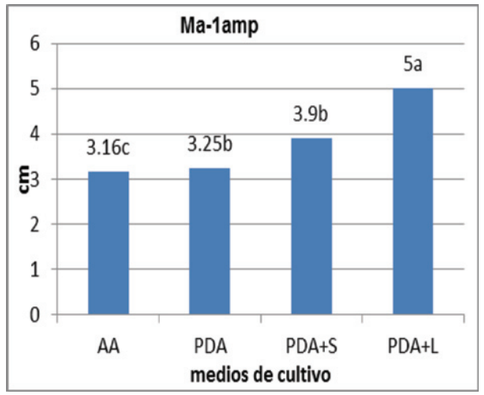
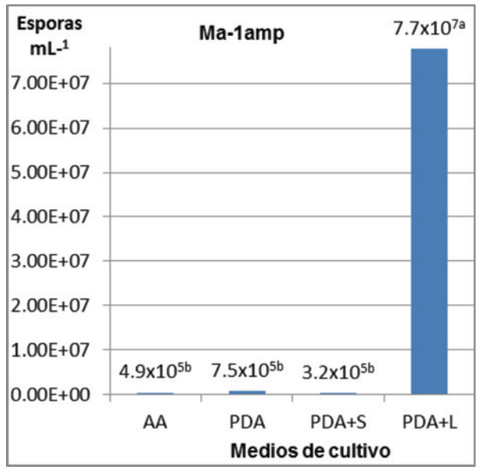


Figura 3. Crecimiento del micelio de las cepas Ma-1amp y Ma-2amp en los diferentes medios de cultivo (AA: agar agua, PDA: agar papa dextrosa. PDA+S: agar papa dextrosa más extracto de sacarosa, PDA+L: agar papa dextrosa más extracto de levadura) *Las letras indican diferencias significativas.

Evaluación de esporulación

En las dos cepas de acuerdo al análisis estadístico el mejor tratamiento en esporulación fue el PDA+L, encontrándose en segundo lugar los 3 tratamientos restantes (Figura 4).



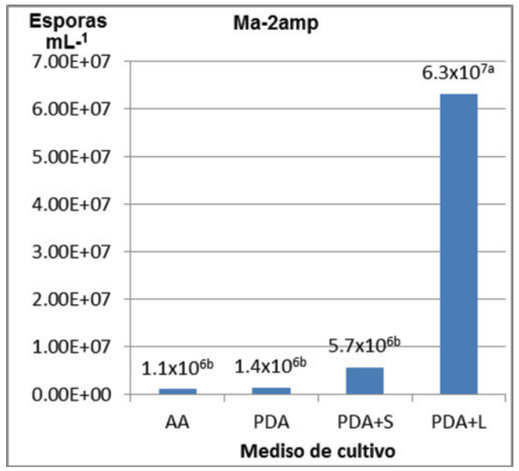
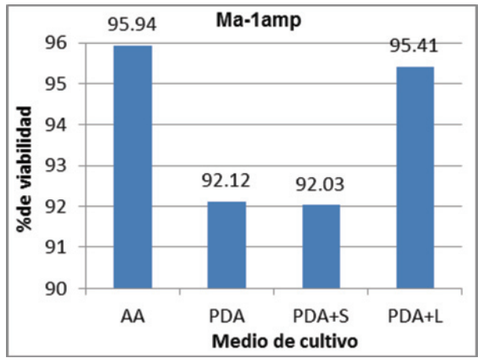


Figura 4. Esporulación de las cepas Ma-1amp y Ma-2amp en los diferentes medios de cultivo (AA: agar agua, PDA: agar papa dextrosa. PDA+S: agar papa dextrosa más extracto de sacarosa, PDA+L: agar papa dextrosa más extracto de levadura) *Las letras indican diferencias significativas.

Evaluación de viabilidad

De acuerdo al análisis estadístico no hubo diferencia significativa en los resultados obtenidos para ambas cepas. La viabilidad se encontró en un rango de 92.12% hasta 95.94 % (Figura 5). Los porcentajes de viabilidad concuerdan con Lacey*et al*., (2009) quienes obtuvieron un porcentaje que varió de 95 a99%.



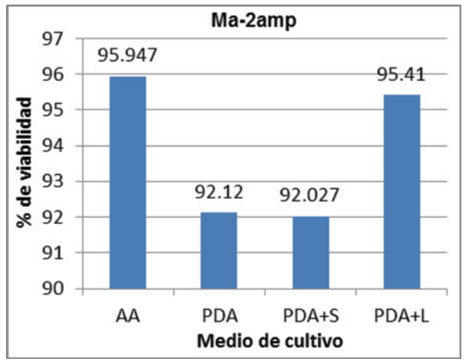


Figura 5. Viabilidad de las cepas Ma-1amp y Ma-2amp en diferentes medios de cultivo (AA: agar agua, PDA: agar papa dextrosa. PDA+S: agar papa dextrosa más extracto de sacarosa, PDA+L: agar papa dextrosa más extracto de levadura) *Las letras indican diferencias significativas.

CONCLUSIONES

En el crecimiento del micelio y la producción de esporas hubo una diferencia significativa en las cepas Ma-1amp y Ma2-amp donde el mejor medio de cultivo para el crecimiento y esporulación fue PDA+L. Para la viabilidad no se encontraron diferencias.

BIBLIOGRAFIA

FERRERA-CERREATO, R.; ALCON, A. (2007). Microbiología agrícola: hongo, bacterias, micro y macro fauna, control biológico, México: Trillas Editorial.pp410-412.

BERLANGA,1997; CASAMAYOR,1998, “Hongos entomopatogenos” en: Gallegos-Morales,G. (2003). Entomopatogenos, México: Trillas Editorial.pp60.

ASAFF *et al,* 2002; CHARNLEY Y COLLINS, 2007; SPARDO Y GULLINO, 2004 en: Tellez, A., Mercado, Y., Cruz, M.G., Torres A., Arana. A.(2009). Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos. Revista mexicana de micología 30: 78-80. Consultado en:http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0187-31802009000200007&script=sci_arttext&tlng=en (Fecha de consulta 6-07-2016)

GÓMEZ P. Y MENDOZA J. (2004). Guía para la producción de *Metarhizium anisopliae.* Publicación técnica No.5 Consultado en http://cincae.org/wp-content/uploads/2013/05/Producci%C3%B3n-Metarhizium-anisopliae-Publicaci%C3%B3n-T%C3%A9cnica-N%C2%B05.pdf (Fecha de consulta 4-07-2016)

ALEAN-CARREÑO, 2003. "Medios de cultivo" en: Gandarilla- Pacheco, F.L. (2012). Evaluación de aislados nativos de hongos entomopatogenos de zonas citrícolas sobre *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). Tesis de Doctorado[1063].Universidad Autónoma de Nuevo León. Consultado en http://cdigital.dgb.uanl.mx/te/1080237547.PDF(Fecha de consulta 6-07-2016).

CAÑEDO, V. Y AMES, T. (2004). Manual de Laboratorio para el Manejo de Hongos Entomopatógenos. Lima, Perú; Centro Internacional de la Papa (CIP), Lima, Perú, 62. Consultado en http://cipotato.org/wp-content/uploads/2014/09/AN65216.pdf (Fecha de consulta 12-07-2016).

LAZZARINI, 2006 en Barajas-Ontiveros, C.G., Morales-Romano, M.D., Del Pozo-Nuñez, E.M., Rodríguez-Aguilar, M.D., Núñez-López, M. (2009). Condiciones para el desarrollo de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* para el control biológico de chapulín frijolero. Tecnociencia Chihuahua, 3(1): 33-38.

LACEY *et al.*, 2009. En: "Viabilidad" Villegas-Rodríguez, F. (2011).Hongos entomopatogenos para el control de psilido de la papa *Bactericera cockerelli (Sulc) (Hemiptera:Triozidae*) y su identificación molecular. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Consultado en http://ninive.uaslp.mx/jspui/bitstream/i/34111/1/MCA1HONO1101.pdf (Fecha de consulta 10-07-2016).

SISTEMA DE PRODUCCIÓN LECHERA EN EL EJIDO LOS LLANOS, MUNICIPIO DE ARTEAGA, COAHUILA: UN ESTUDIO DE CASO EN LA LECHERIA FAMILIAR

Magdalena Armendáriz Rojas[1] y Luis Aguirre Villaseñor[2]

RESUMEN

La presente investigación se realizó con el objetivo de analizar el sistema de producción lechero a escala familiar, en un caso particular, se analizó el proceso de producción paso a paso y detalladamente, desde la ordeña, la alimentación, la sanidad del ganado hasta llegar a la comercialización, es decir, todo lo que se realizó en el proceso de producción hasta el momento en el que el productor entrega la leche al comprador, de este modo se podría encontrar los elementos en los que se está fallando, si así fuera el caso o bien aprovechar las fortalezas y las condiciones con las que se cuenta.

ABSTRACT

This research was conducted to analyze the system of milk production at household, in a particular case, the production process step by step and in detail, from the milking, feeding, health of livestock to reach analyzed marketing, i.e. everything that was done in the production process until the moment the producer delivers milk to the buyer thus could find the elements that are failing, if it were the case or leverage the strengths and the conditions with which it counts.

Palabras Clave: Sistema de Producción; Lechería Familiar; Especializado; Semi Especializado, Familiar o de Traspatio, Doble Propósito.

INTRODUCCIÓN

En México el sector lechero se ha venido integrando progresivamente a la globalizada economía mundial, con la consecuente apertura de sus mercados al comercio exterior. Este proceso de mercado comercial novedoso, cambiante y sorpresivo ha creado amenazas y también oportunidades en nuestro país y el mundo entero. Un ejemplo de los cambios y sus impactos, son los tratados de libre comercio de México y otros países del mundo.

Los principales productores de leche en el mundo son los países de la Comunidad Europea, siguiéndole en orden de importancia Estados Unidos, India, Rusia, Brasil y Nueva Zelanda. A nivel mundial nuestro país ocupa el decimoprimer lugar como productor, con cerca de 11,129.622 millones de litros de leche líquida al año (SIAP, 2014).

En cuanto a consumo, México está considerado a nivel mundial como el primer importador de leche en polvo descremada y como país en desarrollo, la demanda de este producto va en aumento, al igual que a nivel mundial, su consumo per cápita fluctúa alrededor de los setenta litros por año. La producción nacional no satisface el consumo interno, existe por lo tanto un gran mercado a satisfacer.

Según datos del SIAP (2014), en el país existen 4 principales estados productores de leche: Jalisco, Coahuila, Durango y Chihuahua en su respectivo orden de importancia, representando el 31% de la producción anual en miles de litros en el año de 2014 y aportando el 37% del valor de la producción en miles de pesos.
A continuación se muestran estos principales estados productores de leche:

[1]Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, departamento de Economía Agrícola; Santa Hilda #140, Parajes de Santa Elena, C.P: 25084, Saltillo, Coahuila, yami_0194@outlook.com
[2] Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, departamento de Economía Agrícola; Calle Real 460-1, Col. J. de Valle, Saltillo, Coahuila., CP 25260. luisaguirrev@prodigy.net.mx

Cuadro 1. Principales Estados productores de leche en México, 2014.

Estado	Producción (Miles de litros)	Precio (Pesos por litro)	Valor de la producción (Miles de pesos)
Jalisco	2,085,859	5.37	11,210,083
Coahuila	1,361,619	6.57	8,940, 659
Durango	1, 036,137	6.59	6,827,471
Chihuahua	1,007,346	6	6,042,235
Otros	5,638,662.00	6	31,979,731
Total Nacional	***11,129,622***	5.84	***65,000,180***

Fuente: elaboración propia con datos de SAGARPA, a través del SIAP.

Las diferencias en los volúmenes de producción entre los estados obedecen a varios factores, sobre todo al sistema de explotación que predomina y que de acuerdo a la zona puede ser: Especializado, Semi especializado, Doble Propósito y Familiar o de traspatio.

La lechería familiar ocupa un lugar importante en el estado de Coahuila, debido a que muchos productores no cuentan con sistemas de producción altamente tecnificados y realizan la actividad de manera familiar, algunas veces en el patio de su casa. Con este trabajo se pretende analizar el proceso de producción lechera familiar: como se realiza paso a paso, con qué instalaciones y equipo se cuenta para encontrar las posibilidades de mejorar estos aspectos cuando procedan y tener claras las oportunidades y las fortalezas que se tengan tanto en la unidad de producción, cómo en el núcleo familiar, puesto que en este tipo de sistema el apoyo familiar juega un papel sumamente importante.

MARCO TEORICO

La producción de leche en nuestro país es una actividad representativa de la economía nacional, es realizada mediante diferentes tipos de sistemas, entre ellos se encuentra la clasificación del INIFAP, el cual maneja que en el país hay cuatro sistemas bovinos:

- Especializado
- Semi especializado
- Familiar o de traspatio
- Doble propósito

Especializado; caracterizado por contar con ganado especializado para la producción de leche, principalmente de la raza Holstein y en menor medida de las razas Pardo Suizo y Jersey; estos sistemas cuentan con tecnología altamente especializada, el manejo del ganado es predominantemente estabulado y la dieta se basa en forrajes de corte y alimentos balanceados. La ordeña es mecanizada y la producción se destina principalmente a las plantas pasteurizadoras y transformadoras.

Semi especializado: Aun cuando predomina el ganado de las razas Holstein y Pardo Suizo no se llega a los niveles de producción del sistema anterior. El ganado se mantiene en condiciones de semi estabulado que se desarrolla en pequeñas extensiones de terreno, la ordeña puede ser manual o mecanizada, en ordeñadoras individuales o de pocas unidades, mantiene un nivel medio de tecnología y en ocasiones se cuenta con algunos sistemas de enfriamiento aunque no es lo común.

Doble Propósito: dentro de este sistema predominan las razas Cebú y sus cruzas; en este sistema el ganado sirve para la producción de carne como de leche. El manejo del ganado se da en forma extensiva, confinándose a los corrales solo durante la noche, su alimentación se basa en el pastoreo y con un mínimo de complementos en alimentos balanceados. La ordeña es manual.

Familiar o de traspatio: esta actividad se limita a pequeñas extensiones de terreno, cuando se ubican cerca de la vivienda se denomina de traspatio. Las razas varían desde Holstein y Suizo Americano y sus cruzas, la alimentación se basa en el pastoreo o en el suministro de forrajes y esquilmos provenientes de los que se producen en la misma granja.

Este se puede definir como el sistema que tiene como objetivo el sostén del presupuesto del hogar. La principal singularidad de la lechería familiar es la tradición de la actividad lechera, es por ello que la lechería familiar constituye una fuente importante de materia prima para la industria de lácteos en general; la leche en este tipo de sistemas se comercializa como leche bronca, para la elaboración de queso fresco y el productor no participa más allá de la cadena de valor.

MÉTODOS Y MATERIALES

En el ejido Los Llanos, municipio de Arteaga, Coahuila, se llevó a cabo un estudio acerca de la agricultura familiar y los sistemas de producción agropecuaria, tomando como base los resultados obtenidos de una tesis sobre el abasto de alimentos en las familias campesinas del ejido mencionado; en ella se destaca que en el ejido existen 10 productores de leche, siendo la ganadería familiar una de las principales actividades que allí se realizan, también se encontró que los productores de leche son los que presentan un ingreso mayor.

A partir de los resultados analizados anteriormente, se realizó un ejercicio sobre el sistema de producción lechera en un caso particular en la lechería familiar, aplicando el método Delphi cuyo objetivo es la aplicación de la opinión de expertos en el tema; en este caso se eligió al principal productor de leche del ejido y con más experiencia realizando esta actividad. Se le preguntó si estaba dispuesto a trabajar con nosotros y permitir que se obtenga información sobre su unidad productiva.

Posteriormente se acopió información documental y teórica, sobre los sistemas de producción y en particular el de la lechería familiar, para tener un enfoque y un conocimiento amplio de lo que es correcto y como debe de ser un buen proceso de producción sustentándonos en lo que dicen las fuentes especializadas y los expertos en el tema, para poder darle las recomendaciones necesarias de mejora si fuera el caso.

También se obtuvieron asesorías de expertos en el tema, como fue el caso de una visita al Dr. Gregorio Álvarez Fuentes, del Instituto de Investigación de las Zonas Desérticas ubicado en la ciudad de San Luis Potosí. Esta visita se realizó con el fin de recibir asesorías y algunas sugerencias para poder dar las recomendaciones precisas al productor.

De la asesoría recibida se retoma que, para que el productor tenga un control más adecuado sobre el sistema de producción se recomienda llevar los siguientes registros:

El primer registro es el de producción el cual se lleva a cabo una vez teniendo identificado cada una de las vacas, al momento de la ordeña saber la cantidad de litros obtenida de cada una, un método fácil es al momento de pasar a la sala de ordeña la vaca en un cuaderno anotar el código del arete y en el mismo recipiente de la ordeñadora marcar los litros de leche de esa vaca y así con cada una. Con esta información se obtiene qué vacas son productivas y cuales significan un costo, con esto se recomienda desechar las no productivas y remplazarlas.

También se tiene que llevar un control sobre los costos que representa el semental, es decir darle a conocer al productor cuánto le está costando mantener al semental y que tan efectivo es, si bien se sabe que el semental su única labor es cargar a las vacas e implica un costo muy elevado porque es el que más

come. Con este control se pretende conocer en un determinado tiempo cuántas vacas cargó y el costo que implicó tenerlo; se conoce que el semental en una eyaculación pueden obtenerse hasta 100 pajillas, entonces al tener esta información se debe hacer la comparación de qué es lo que sale más económico, seguir manteniendo el semental o tomar una capacitación de inseminación artificial.

En el registro de producción también se debe tener un apartado sobre las fechas de partos y celos de cada vaca, esto es muy importante porque se debe dejar de ordeñar las vacas a los 7 meses de gestación para evitar abortos, se dejan 2 meses que es cuando se le conoce a las vacas como vacas secas; en cada etapa se le debe dar un tipo de alimentación distinto, cuando están en la etapa de vaca secas es cuando se debe tener mayor atención y cuidado en la alimentación de la vaca. Se debe tener en cuenta la calidad de la alimentación que reúna los nutrientes y las proteínas necesarias para que el ganado esté alimentado correctamente.

Otros registros importantes son los sanitarios, al llevar estos se pueden evitar enfermedades del ganado y con ello un incremento en la producción; en este registro se debe tomar en cuenta la fecha de las vacunas del ganado, cuantas veces se tuvo la visita de un médico veterinario a la unidad y si se enfermó el ganado qué antibióticos se utilizaron y la fecha de cada uno, si se ve por el lado de que no sabemos cuándo se enfermara el ganado, es más barata la medicina preventiva que la curativa y así se evitarían pérdidas de ganado o una disminución en la producción lechera por alguna enfermedad.

RESULTADOS

Se planteó el siguiente análisis FODA de la unidad de producción:

Cuadro 2. Foda de la unidad de producción.

Fortalezas	***Oportunidades***
Terrenos agrícolas disponibles para sembrar y producir los propios forrajes que sirvan como alimento para el ganado.	Dar un valor agregado al producto
Maquinaria disponible como es la ordeñadora mecánica y el molino para moler la pastura obtenida de las parcelas.	Apoyos institucionales para capacitación y cursos de inseminación artificial.
Experiencia que ha adquirido el productor a lo largo de los años, al realizar la actividad productiva con conocimientos empíricos tradicionales.	
Como es un sistema de producción familiar se requiere el apoyo de la familia y en este caso cuenta con el apoyo de un hijo que le ayuda y forma parte importante en la realización de la actividad.	
Debilidades	***Amenazas***
Precio de la leche.	Incremento en el costo del alimento
Calidad de la leche.	Incremento en el costo del agua.
Infraestructura inadecuada e incompleta para realizar la actividad.	Enfermedades del ganado (epidemias, clima, etc).
Atención sanitaria del ganado.	
Manejo del ganado.	
Falta de tractor para incrementar la superficie agrícola.	

Fuente: elaboración propia con información obtenida de la unidad de producción.

Haciendo una análisis del FODA mostrado anteriormente, se apreció que el productor tiene un gran potencial para seguir realizando esta actividad, pero sobre todo tiene el interés y el apoyo de su familia para llevarla a cabo; se tienen algunas amenazas y debilidades pero el productor las puede sobrellevar y poder continuar realizando esta actividad que le deja un ingreso para poder solventar los gastos de su familia.

Algo importante que se debe señalar y que el productor tiene muy claro, es que dedica su tiempo por completo a la actividad, en una visita menciono “yo soy mi propio jefe, y como tal debo de velar por mis intereses, si es necesario trabajo todos los días, yo no descanso ni los domingos, ni días festivos”. Este interés que muestra el productor al realizar su trabajo lo ha ayudado a que siga realizando esta actividad y no la ha abandonado como muchos otros productores.

CONCLUSIONES

La presente unidad de producción al ser un sistema de producción familiar, se enfoca en llevar a cabo el proceso de manera tradicional y con conocimientos empíricos; incluye algunos elementos modernos como la ordeñadora; es una actividad que genera un ingreso para la solvencia familiar y cubre algunas necesidades básicas: pagar el estudio a los hijos y algunas necesidades prioritarias que surjan, por medio de la venta de la leche, sin embargo el productor no cuenta con algunas obras de infraestructura necesarias para tener un mejor diseño del proceso de producción y obtener un ingreso mayor; carece de algunos elementos que le son un tanto limitantes en el proceso productivo, como: la falta de un semental para mejorar genéticamente el hato, según dijo, un tractor para incrementar la superficie agrícola y obtener mayor cantidad de forraje, así como mejorar la sala de ordeña. Por lo mismo de que es una actividad realizada con conocimientos tradicionales, aunque carezca de algunos elementos en el proceso de producción se identifican las fortalezas y las oportunidades de la explotación que se pueden aprovechar en un corto plazo y poder mejorar en la producción y como consecuencia mejorar económicamente.

En el ejido como no hay muchas fuentes de empleo, las personas más adultas se dedican a la ganadería y las más jóvenes prefieren salir del ejido y buscar empleo en algunas fábricas; quieren tener un ingreso semanal asegurado y es por ello que están comenzando a abandonar la actividad. El productor muestra un interés y un entusiasmo de seguir realizando la actividad y sobre todo existe un apoyo familiar.

BIBLIOGRAFIA

Méndez, C. E. (2014). *El abasto de alimentos en las familias campesinas del ejido Los Llanos, municipio de Arteaga Coahuila y la incidencia de las actividades productivas y de traspatio.* Tesis de Maestría UAAAN. Saltillo, Coahuila.

H, T., Tj, G., MN, G., C, S., & L, F. (2007). La sustentabilidad en la producción familiar y sus indicadores. Montevideo, Uruguay.

Moral, A. O. (2010). *Producción de Leche en la Zona Alta de Veracruz.* Consultado el 01 de Marzo de 2016.

SIAP. (2014). *Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera*. Consultado el 03 de Marzo de 2016. Disponible en: http://www.siap.gob.mx/ganaderia-resumen-estatal-pecuario/.

EFICIENCIA DE DOS BIOFERTILIZANTES BACTERIANOS PARA SUSTITUIR DE FERTILIZANTES SINTÉTICOS DE NITRÓGENO EN CULTIVOS DE TRIGO

Yosue Leonel Chairez Guerrero[1] y Antonio Cárdenas Flores[2]

RESUMEN

Se evaluó la capacidad biofertilizante de dos cepas de Azotobacter en cultivos de trigo, mediante la fijación biológica de nitrógeno de la bacteria. Las plantas de trigo fueron cultivadas en invernadero en condiciones controladas, teniendo como sustrato una mezcla de peatmoss y perlita. El objetivo de la investigación fue determinar la concentración óptima de solución biofertilizante en plantas de trigo para la sustitución de los fertilizantes químicos usados tradicionalmente, por lo que se evaluaron ambos fertilizantes para ver el efecto de esto. Se obtuvieron resultados de factores de crecimiento como altura promedio de las plantas y concentración de clorofila.

ABSTRACT

The biofertilizer capacity of two strains of Azotobacter in wheat crops through biological nitrogen fixation of the bacterium was evaluated. Wheat plants were grown in the greenhouse under controlled conditions, having as a substrate a mixture of peatmoss and perlite. The aim of the research was to determine the optimal concentration of bio-fertilizer solution wheat plants to replace chemical fertilizers traditionally used, so both fertilizers were assessed to see the effect of this. growth factors results average plant height and chlorophyll concentration were obtained.

Palabras claves: Azotobacter, fertilizante químico, fijación de nitrógeno, biofertilizante.

}

INTRODUCCIÓN

Las actividades agrícolas tienen un rol muy importante en los países en desarrollo, en su economía como la principal fuente de ingresos para las comunidades rurales, y en la alimentación siendo estas la principal fuente de alimentos para el país.

La agricultura, básicamente en su tecnificación ha ido evolucionando a lo largo del tiempo, anteriormente por ejemplo los cultivos eran crecidos sin la necesidad de utilizar químicos, no fue sino hasta los años 40's que se comenzaron a utilizar agentes químicos a gran escala para obtener mejor calidad en los cultivos y por supuesto mayor rendimiento, gracias a estos agroquímicos (fertilizantes y pesticidas) la producción mundial de alimentos aumento de manera considerable, esto con ayuda también de maquinaria que optimizo la cosecha, el procesamiento y el transporte de los productos agrícolas (Pelletier et al., 2011). El rol de estos agroquímicos es el de reponer los nutrientes que pierde el suelo debido a su uso agrícola y de esta manera aumentar la producción de suelos pobres o carentes de nutrientes, lo que genero un incremento en el uso de estos productos dada la alta necesidad de producción de alimentos por el incremento de la población mundial (Pelletier et al., 2011& Ahlgren et al., 2008).

Sin embargo el uso de los fertilizantes químicos aumenta año con año, lo que provoca si un incremento en el rendimiento de las cosechas pero también la reducción de la ganancia del productor debido a los altos costos que a los que se comercializan los fertilizantes, y sin olvidar por supuesto el hecho los

[1]Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciências Biológicas; Carretera Torreón – Matamoros km 7.5 C.P: 27275. Torreón, Coah., guerreroleo1@hotmail.com
[2] Centro de Investigación en Química Aplicada Departamento de Plásticos de la Agricultura, Boulevard Enrique Reyna No. 140, Col. San José de los cerritos. C.P: 25294. Saltillo, Coah. antonio.cardenas@ciqa.edu.mx

problemas ambientales que están ocasionando su uso no solo en suelos sino también en los mantos freáticos, daños que hasta hoy en día son muy difíciles de eliminar (Kaewchai *et al.,* 2009). Todas estas implicaciones en el uso de los fertilizantes químicos abrió camino para la búsqueda de nuevas alternativas para seguir obteniendo mejores rendimientos en los cultivos, por lo que se ha optado por usar fertilizantes orgánicos (estiércol y compostas), así como microorganismos capaces de beneficiar al crecimiento de las plantas, microorganismos conocidos como promotores del crecimiento vegetal, y gracias a los cuales se lleva a cabo la fabricación de uno de los productos más reconocidos por la biotecnología y la microbiología moderna; los biofertilzantes, gracias a ellos se ha logrado aumentar el rendimiento de los cultivos así como el margen de ganancia de los agricultores debido a que en comparación a los fertilizantes químicos tradicionales son mucho más baratos. Por otro lado actúan contra los microorganismos nocivos para los cultivos (Bashan, 2008).

Los biofertilizantes son productos agrobiotecnologicos que emplean diversos microorganismos vivos o latentes para promover el crecimiento de las plantas, estos actúan convirtiendo los nutrientes que se encuentran en forma no disponible para la planta en formas disponibles gracias a procesos biológicos propios del metabolismo bacteriano como fijación de nitrógeno y a la solubilización de fosforo principalmente (Bloemberg y Lugtenberg, 2001 & Esipov *et al.*, 1975).

Una de las bacterias más utilizadas para la elaboración de biofertilizantes es la bacteria Azotobacter, una bacteria que muestra características propias de rizobacterias promotoras del crecimiento de plantas (PGPR, por sus siglas en inglés) (Vacheron *et al*., 2013), debido a que es una bacteria fijadora de nitrógeno, y con cierta capacidad de solubilizacion de fosfatos. Esta bacteria es nativa del suelo, más específicamente de las raíces de plantas como el tomate, ayudando a la misma proporcionándole Nitrógeno mediante la fijación biológica del mismo (Escobar et al, 2011). Este beneficio se observa en el incremento de la altura, área reticular, y por supuesto en el rendimiento de la cosecha (Dibut, 2009).

Se ha demostrado en plantas de tomate, que cuando Azotobacter se inocula en consorcio se obtiene un índice de efectividad biofertilizante superior al que se obtendría en inoculación individual (Escobar et al, 2011). Lo cual ha permitido la selección de las cepas que presentan mayor efectividad en cuanto a fijación de nitrógeno se refiere.

En el presente trabajo se probara la eficiencia biofertilizadora de dos cepas de la bacteria *Azotobacter spp*, (cepa "A" y cepa "B") proporcionada por la empresa Lidag, S.A. de C.V., en cultivos de trigo.

METODOLOGÍA

El trabajo experimental se realizara en uno de los invernaderos del Departamento de Plásticos de la Agricultura del Centro de Investigación en Química Aplicada, ubicado en Boulevard Enrique Reyna No. 140, Col. San José de los cerritos en la ciudad de Saltillo Coahuila con una altitud de 1520 msnm.

Condiciones del invernadero

1.- Preparación de las unidades experimentales (macetas)

Para la preparación de las macetas se utilizó como sustrato una mezcla de Peatmoss (70%) y perlita (30%), se revolvieron con ayuda de palas, se agregó agua para humedecer la mezcla y se vaciaron en bolsas negras de plástico perforadas de la parte de abajo, con una capacidad de 9 litros, se llenaron hasta tres cuartos de la misma. Se prepararon un total de 96 macetas.

2.- Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental de bloques completamente al azar, para la distribución de las unidades experimentales, se contara con 9 tratamientos de la cepa "A" pero con 8 repeticiones cada uno, y para la cepa "B" se contara con 6 tratamientos pero con 4 repeticiones para cada uno. Se trabajara con la solución nutritiva STEINER al 100, 75 y 50 %, a las dos últimas se les aplicara la solución biofertilizante

como complemento y se contara con testigos convencionales con 100% , 75% y 50% de la solución nutritiva sin la solución de Azotobacter.

3.- Siembra e inoculación de los cultivos

3.1.- Riego previo a la siembra

Se regaron las macetas para humedecer el sustrato, para que estas estuviesen húmedas al momento de la siembra.

3.2.- Siembra e Inoculación.

Se sembró en cada maceta cuatro semillas para todos los cultivos, así mismo se inoculo cada semilla con 3 mL de la solución de *Azotobacter* correspondiente (a excepción de los testigos).

3.3 Riegos posteriores a la siembra

Se regaron las macetas con agua para mantener la humedad constante en el sustrato, esto hasta la etapa de plántula de cada cultivo.

4.- Riego con soluciones fertilizantes

Cuando la planta alcanza una altura promedio de 20 cm o muestra una tercera hoja, necesita de mayores nutrientes para su desarrollo, por tanto el riego ahora fue con la solución fertilizante STEINER, la cual se manejaron tres concentraciones; al 100, 75 y 50 por ciento, correspondientes a un contenido de 15, 9 y 6 miliequivalentes de Nitrógeno respectivamente. El riego de las soluciones fue de acuerdo al tipo de tratamiento (tabla 1 y tabla 2) y el mismo se realizó por fertiriego. Se realizaran riegos de refuerzo según el desarrollo de las plantas.

Este riego para ver el efecto de la bacteria en cada cultivo, donde se la intención es que esta reponga la cantidad de nitrógeno faltante en el sistema y aporte este para promover el crecimiento de la planta.

Tabla 1. Tratamientos de la cepa "A" de acuerdo a su riego con soluciones nutritivas

Tratamiento	Solución nutritiva de riego	Concentración de bacteria
1	12 meq NO_3^-	$1x10^6$ UFC
2	9 meq NO_3^-	$1x10^6$ UFC
3	6 meq NO_3^-	$1x10^6$ UFC
4	12 meq NO_3^-	$1x10^7$ UFC
5	9 meq NO_3^-	$1x10^7$ UFC
6	6 meq NO_3^-	$1x10^7$ UFC
***7**	STEINER	0 UFC
***8**	9 meq NO_3^-	0 UFC
***9**	6 meq NO_3^-	0 UFC

*** Testigos**

Tabla 2. Tratamientos de la cepa "B" de acuerdo a su riego con soluciones nutritivas

Tratamiento	Solución nutritiva de riego	Concentración de bacteria
1	12 meq NO_3^-	$1x10^6$ UFC
2	9 meq NO_3^-	$1x10^6$ UFC
3	6 meq NO_3^-	$1x10^6$ UFC
4	12 meq NO_3^-	$1x10^7$ UFC
5	9 meq NO_3^-	$1x10^7$ UFC
6	6 meq NO_3^-	$1x10^7$ UFC

5.- Evaluación de indicadores de crecimiento

Se evaluaron indicadores de crecimiento como indicativo de la eficiencia de la solución biofertilizante a base de Azotobacter en la fijación y aportación de nitrógeno a los cultivos. Se evaluó; la altura de la planta y las unidades SPAD (indicador de concentración de clorofila) en un muestreo realizado 30 días después de la siembra e inoculación de las bacterias.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente con ayuda del programa Infostat 2016e. En la tabla 3 se indica los resultados obtenidos en cuanto a alturas promedios de las plantas de trigo y concentración de clorofila (SPAD) inoculadas con ambas cepas de *Azotobacter*.

En ninguno de los casos se observaron diferencias significativas por las distintas concentraciones de nitrógeno y las cepas bacterianas inoculadas, esto debido a que fue el primer muestreo y las plantas aun no demandan suficiente Nitrógeno para su desarrollo, por lo que es necesario esperar a que la planta demande una mayor cantidad de este nutriente para poder observar una diferencia en cuanto a la aportación de nitrógeno y la sustitución de este por medio de las cepas de *Azotobacter*.

Tabla 3. Alturas promedio y concentración de clorofila en unidades SPAD

	Cepa A		Cepa B	
Tratamiento	Altura (cm)	Concentración de clorofila (SPAD)	Altura (cm)	Concentración de clorofila (SPAD)
1	47.1	36.9	46.8	38.2
2	46.4	37.8	45.3	38.0
3	47.7	36.9	45.1	37.8
4	47.4	38.2	48.0	36.6
5	47.7	38.2	46.6	35.5
6	47.7	37.0	45.7	37.5
7	46.1	36.8	46.1	36.8
8	47.5	37.1	47.5	37.1
9	47.4	36.9	47.4	36.9
p	0.20	0.55	0.54	0.24

Es evidente que por falta de tiempo aun no podemos tener una idea clara de la eficiencia de las cepas de Azotobacter, hace falta evaluar aun cuestiones tanto fisiológicas como agronómicas, las cuales una vez analizadas podremos obtener resultados más concretos para el objetivo del trabajo.

CONCLUSIONES

Debido a la falta de resultados experimentales, es precipitado aun establecer si las cepas de *Azotobacter* utilizadas son benéficas para el aporte de nitrógeno y sustitución de los fertilizantes químicos en el desarrollo de cultivos como el trigo, sin embargo de acuerdo a lo reportado en la literatura en otros cultivos como el tomate, se espera obtener resultados satisfactorios.

BIBLIOGRAFIA

- Ahlgren, S., Baky, A., Bernesson, S., Nordberg, Å., Norén, O. and Hansson P. 2008. Ammonium nitrate fertiliser production based on biomass- Environmental effects from a life cycle perspective. Biores. Technol. 99:8034-8041.

- Bashan, Y. 2008. El uso de bioinoculantes microbianos como una importante contribución al futuro de la agricultura mexicana. *en*: La biofertilización como tecnología sostenible. Díaz-Franco, A. y Mayek-Pérez, N. (eds). Plaza y Valdéz, México.
- Bloemberg, G.V. and Lugtenberg, B.J. 2001. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. Curr. Opin. Plant Biol. 4:343- 350.
- Dibut, B., 2009. Biofertilizantes como insumos en agricultura sostenible. Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical. La Habana, Cuba. Editorial Universitaria. Disponible en: http://revistas.mes.edu.cu.
- Escobar, C., Horna, Y., Carreño C., & Mendoza, G. 2011. Caracterización de cepas nativas de Azotobacter spp., y su efecto en el desarrollo de Lycopersicon esculentum Mill (Tomate) en Lambayeque. Scientia agropecuaria 2(2011) 39 - 49.
- Esipov, S.E., Adanin, V.M., Baskunov, B.P., Kiprianova, E.A. and Garagulia, A.D. 1975. New antibiotically active fluoroglucide from Pseudomonas aurantiaca. Antibiotiki 20:1077-1081.
- Kaewchai, S., Soytong, K., and Hyde, K.D. 2009. Mycofungicides and fungal biofertilizers. Fungal Diversity 38:25- 50.
- Pelletier, N., Audsley, E., Brodt, S., Garnett, T., Henriksson, P., Kendall, A., Kramer, K.J., Murphy, D., Nemecek, T. and Troell, M. 2011. Energy intensity of agriculture and food systems. Annu. Rev. Environ. Resour. 36:223-246.
- Vacheron, J., Desbrosses, G., Bouffaud, M. L., Touraine, B., Moënne-Loccoz, Y., Muller, D., & Prigent-Combaret, C. (2013). Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. Frontiers in plant science, 4.

CARACTERIZACION DEL POTENCIAL AGRONOMICO, CALIDAD FORRAJERA Y DE GRANO DE COLECTAS DE MAIZ DEL BANCO DE GERMOPLASMA DE CIMMYT

Guadalupe Cruz Cruz[1] y Oralia Antuna Grijalva[2]

RESUMEN

Este proyecto fue realizado con el objetivo de evaluar y seleccionar las mejores colectas de maíz en base al potencial de forraje y rendimiento de grano. Para la Evaluación de la Calidad forrajera y de grano, la siembra se realizo en el campo Experimental de la UAAAN-UL, y posteriormente se evaluaron en el laboratorio de Fito mejoramiento, para checar si las colectas de maíz presentan el mismo potencial de rendimiento en calidad de forraje y grano. Los resultados que se obtuvieron durante el desarrollo del proyecto, ambas variables en la calidad fueron consideradas en el rango optimo, sin afectar mucho el vigor de las semillas.

ABSTRACT

This project was undertaken with the objetive of evaluating and selecting the best collections of corn based on the potential of forage and grain yield. Assessment of quality forage and grain planting was done in UAAAN-UL. Experimental field and subsequently evaluated in the laboratory of plant breeding, to check if the collections have the same corn yield potential and grain quality forage. The results obtained during the project, both in quality variables were considered in the optimal range without affecting much the seed vigor.

PALABRAS CLAVES: *Zea mays* L., Vigor, Rendimiento, Germoplasma.

INTRODUCCION

México es el centro de domesticación y uno de los centros de diversidad del maíz posee, por lo tanto, una amplia variabilidad genética expresada en una gran cantidad de poblaciones (CIMMYT, 1987), de las cuales algunas muestran alta capacidad de rendimiento en combinación con otras, por lo que son consideradas un valioso recurso fitogenético (Márquez, 1992).

La diversidad genética de maíz en el mundo, es de mas de 300 razas, en las cuales se encuentran representadas en los bancos de germoplasma, con cerca de 60, 000 colectas (Martínez, 1990). Sin embargo, esta gran riqueza germoplasmica a sido poco aprovechada por los programas de mejoramiento génico, que se a enfocado a la explotación de solo una poción de vigor manifestado entre patones heteroticos específicos, centrándose básicamente en características como el rendimiento, composición química del grano, caracterización de variedades nativas para la elaboración de tortillas (Mauricio *et al.,* 2004).

Los maíces que se utilizan en México se han desarrollado para la producción de grano y los progenitores muestran diferencias en altura de planta y ciclo biológico, entre otras características. El maíz forrajero que se cultivan en México tienen bajo valor energético (en comparación con los de EE.UU) debido a que sólo se dio énfasis al mejoramiento del rendimiento de grano, sin considerar la calidad del forraje (Núñez et al., 2003), los maíces de alto rendimiento de grano muestran alto contenido de energía metabolizable y alta digestibilidad. El maíz de doble propósito es la alternativa en el corto y mediano plazos para incrementar su rentabilidad en el centro de México (Núñez et al., 2001). La calidad del grano

[1] Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro- UL, Departamento Fito mejoramiento; Raúl López Sánchez, Col. Valle Verde, C.P: 27054, Torreón Coahuila, Flakita_trivinsolo@hotmail.com
[2] Oralia Antuna Grijalva, profesor investigador, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro- UL, Departamento Fito mejoramiento: Raúl López Sánchez, col. Valle Verde, C.P: 27054, Torreón Coahuila.

de maíz está asociada tanto con su constitución física, que determina la textura y dureza, como con su composición química, que define el valor nutricional y las propiedades tecnológicas (E.E.A. 2006).

Existen maíces con reducido efecto negativo en el rendimiento de grano y forraje al ser utilizadas en F2 por lo que es posible utilizar las generaciones avanzadas para reducir el costo de producción del cultivo. Las pruebas de campo se están llevando a cabo en distintos lugares de México, en donde se observan condiciones desfavorables para la producción de maíz, en colaboración con el INIFAP y la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) (MasAgro). El objetivo de esta investigación fue evaluar y seleccionar las mejores colectas de maíz en base al potencial de forraje y rendimiento de grano.

MATERIALES

Analisis Germinacion
*Muestras maíz
*Charola
*Trozos de papel
*Agua Destilada
*Ligas
*Canasta plástico

Calidad forraje
*Cinta métrica
*Bascula
*1 Machete
*Etiquetas
*Charolas Plástico
* 1 molino
*Bolsas

METODOLOGIA

Este proyecto se realizo en el Campo Experimental de la Universidad Autónoma Antonio Narro, Campus Laguna, el cual tuvo como objetivo evaluar y seleccionar las mejores colectas de maíz en base al potencial de forraje y rendimiento grano, se trabajo durante el ciclo de primavera- verano, en la cual el material genético que se utilizo eran provenientes del banco de germoplasma del CIMMYT, el diseño experimental que se utilizo fue bloques completamente al azar con dos repeticiones, cada parcela experimental tenia cuatro surcos de 10m de largo, y 0.75m entre surcos, a una distancia ente planta de 0.25m.

Antes de realizar la siembra se analizo la semilla que se iba a utilizar en cada parcela considerando el porcentaje de germinación y vigor, la cual consistió en colocar en el centro horizontalmente de las toallas o papel húmedo las semillas necesarias de tal manera que no quedaran muy separas ni muy juntas, tomando en cuenta que el pedicelo quedara hacia abajo, para que al momento de germinar no hubiera problemas, posteriormente se cubrieron con otras 2 toallas húmedas y se fueron envolviendo cuidadosamente para no mover las semillas, al terminar de enrollarse se amarraron con dos ligas de ambos lados, se realizaron cuatro muestras.

Figura 1. Colocación de las semillas horizontalmente

Igualmente se colocaron cien semillas en otra toalla húmeda, a diferencia de la primera en esta se distribuyeron en todo el papel colocando diez hileras con cinco semillas, separándolas de igual forma con el pedicelo hacia abajo para no tener problemas al momento de germinar, se cubrieron y se amarraron, se realizaron cuatro muestras. Finalmente las ocho muestras se colocaron en una bolsa de plástico, sobre una charola y se dejo en el laboratorio durante una semana a una temperatura ambiente.

Figura 2: Colocación semilla sobre todo el papel y enrollamiento.

Calidad Forraje

Para lograr desarrollar esta evaluación fue necesario tener la planta de maíz a 1/3 de leche para que la prueba llegara a ser más exacta en cuanto a la calidad del forraje. Fue necesario estar monitoreando diariamente para evitar que se pasara la maduración tanto del grano como de la planta, el corte se realizo en cada parcela tomando dos metros de largo en cada una de ellas, considerando que no estuviera muy a la orilla en ambos lados, en el cual era mas recomendable hacer el corte en el centro, teniendo las plantas ya cortadas se acomodaron en orden, posteriormente se contaba el numero de plantas, numero de mazorcas de los 2 m de cada corte en las diferentes parcelas, enseguida se pesaba aparte las plantas y las mazorcas.

Figura 3: Corte plantas maíz y conteo.

Finalmente de cada muestra se tomaban tres plantas con tres mazorcas, se molieron en el molino para evitar que se deshidratara, conforme se molió, se revolvió la mezcla, y se peso 500gr, lo cual fue colocado en una bolsa de plástico con su respectiva etiqueta y se dejo secar durante unas dos semanas.

Figura 4: Molienda, peso y separación muestras.

RESULTADOS

En el proyecto realizado para evaluar la calidad de forraje y de grano de colectas de maíz del banco de germoplasma de CIMMYT, los resultados fueron favorables debido a que tuvieron una alta capacidad de porcentaje en germinación, esos datos se puede observar en la tabla (1) que la mayor parte de las semillas presentan entre un 12% de germinación, sin afectar el vigor de las mismas.

Se podría decir que del 100 % de las semillas el 80% representan un alto grado de calidad en grano. Así mismo para la calidad de forraje en la evaluación de materia seca, almidón y proteína, los resultados fueron favorables debido a que las diferentes colectas presentaron un alto porcentaje de almidón y proteína, lo cual representa un alto nivel nutricional para el ganado.

Prueba Germinación Y Vigor										Vigor
SN	SA	SD	SM	3	5	7	9	11	13	L Plumula.
25	0	0	0	0	0	3	7	4	11	10.84
24	0	1	0	0	0	1	0	2	21	12.08
25	0	0	0	0	0	1	3	0	21	12.28
25	0	0	0	0	0	0	1	2	22	12.68
24	1	0	0	0	0	0	1	2	21	12.16
25	0	0	0	0	0	0	3	2	20	12.36
25	0	0	0	0	0	1	0	1	23	12.68
25	0	0	0	1	0	0	3	1	20	12.04
25	0	0	0	0	0	2	2	6	15	11.72
25	0	0	0	1	1	0	3	0	21	12.32
25	0	0	0	1	0	0	1	4	19	12.12
25	0	0	0	0	0	1	1	1	22	12.52
25	0	0	0	1	1	3	1	0	19	11.4
25	0	0	0	0	1	0	2	0	22	12.36
21	3	0	1	0	0	0	0	2	19	10.76
24	0	1	0	0	0	1	5	4	14	11.12
25	0	0	0	0	0	0	0	2	23	12.84
25	0	0	0	0	0	0	1	2	22	12.68
25	0	0	0	1	0	1	0	0	23	12.36
25	0	0	0	1	1	2	2	4	15	11.16
25	0	0	0	0	1	0	2	3	20	12.64
21	1	3	0	1	3	6	4	2	5	7.32

Tabla 1: Porcentaje germinación

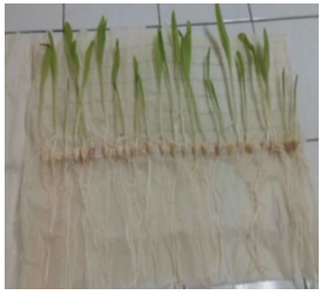


Figura 5: Semillas Germinadas

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos se puede concluir que el objetivo se logro debido a que durante este proyecto de investigación, sobre la evaluación de rendimiento, tanto calidad del grano como de forraje, sin intervenir mucho el germoplasma que presentaba cada una de las diferentes colectas, representando la mayor parte de las colectas de maíces en el CIMMYT un alto valor nutricional para el consumo de ganado lechero.

BIBLIOGRAFÍA

Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) 1987. CIMMYT-Hechos y tendencias mundiales relacionadas con el maíz 1986: Aspectos económicos en la producción de semilla de variedades comerciales de maíz en los países en desarrollo. México. p. 210-223.

ZE.E.A. INTA Balcarce. 2006. Argentina. Calidad de grano de Maíz. Consultado en una pagina weeb: http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/suplementacion/80-grano_maiz.pdf

Mauricio S.R.A, J.D. Figueroa, S.Taba, M.L. Reyes, F.Rincon, A. Mendoza (2004). Caracterización de accesiones de maíz por calidad de grano y tortilla. Revista Fitotecnia Mexicana. 27-213-222.

Márquez S. F. 1992. La interacción genético-ambiental en genotecnia vegetal. Memorias. Simposio Internacional Genotipo-Ambiente en Genotecnia Vegetal. SOMEFI. Guadalajara, Jal. México. pp. 1-27.

Martínez A.J. 1990. Selección para adaptación de Chapingo de una población de maíz. Agro ciencia serie Fito ciencia 4 (1) 69-84.

MasAgro. Informe de actividades 2011-2012: CIMMYT; SAGARPA. Consultado en una página web: http://libcatalog.cimmyt.org/download/cim/97930.pdf

Núñez, H. G.; Faz, C. R.; Tovar, G. M. R. y Zavala, G. A. 2001. Híbridos de maíz para la producción de forraje con alta digestibilidad en el norte de México. Téc. Pecu. Méx. 39:77–88.

Núñez, H. G.; Contreras, G. E. F. y Faz, C. R. 2003. Características agronómicas y químicas importantes en híbridos de maíz para forraje con alto valor energético. Téc. Pecu. Méx. 41:37–48.

DETERMINACIÓN DE MASTITIS SUBCLÍNICA EN CABRAS ESTABULADAS

Araceli Cruz Rodríguez[1] y Fidel Ávila Ramos[2]

RESUMEN

Este trabajo de investigación se basa en identificar la mastitis subclínica en un hato de catorce cabras, la mastitis es la principal enfermedad que ocasiona pérdidas económicas en la industria lechera, la infección de mastitis subclínica es el problema que hoy en día tiene planteado el complejo patológico de las infecciones de la ubre en este tipo de ganadería. El principal objetivo es identificar las muestras en factores fisiológicos mediante la prueba de mastitis test, por otro lado con el uso de la cámara termografica identificaremos la glándula mamaria la zona más caliente esto con el fin de observar físicamente en que zona de la ubre se encuentran los micoorganismos que ocasionan la mastitis.

ABSTRACT

This research is based on identifying subclinical mastitis in a herd of goats fourteen, mastitis is the main disease that causes economic losses in the dairy industry, subclinical mastitis infection is the problem today has raised the pathological complex of udder infections in this type of farming. The main objective is to identify the samples in physiological factors mastitis test by test , on the other hand with the use of the imager mammary gland we identify the hottest area that in order to physically observe that area of the udder are the microorganisms that may cause mastitis .

Palabas clave: mastitis, células somáticas, termografía, agar, microorganismo.

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial la leche de cabra se consume como un producto del cual derivan muchos productos lácteos, razón por la cual sus características son muy importantes a nivel nutricional, económicamente, la leche de cabra es importante en muchas regiones. (*Gonzales, 1978)*

La calidad de la leche está asociada con la ausencia de mastitis en el rebaño. La mastitis es la inflamación de la glándula mamaria, esto ocasiona cambios físicos y químicos en la leche así como patología en la ubre. La inflamación de la glándula mamaria se atribuye a las numerosas causas entre las que destacan los microorganismos, factores ambientales y manejo, generalmente durante la ordeña, la cual es de mucha importancia, ya que juega un papel determinante en la presencia de la enfermedad. (*Ortega, 2006*)

La leche es la principal fuente de calcio dietario para el ser humano, La leche de cabra provee aproximadamente el doble de vitamina A, La leche de la cabra contiene selenio, el cual actúa como antioxidante en el cuerpo humano, La proteína de la leche de cabra suele presentar una relación entre aminoácidos esenciales y totales de 0,46 y una relación de esenciales contra no esenciales de 0,87. (Aldrete *et al,* 2014)

[1] Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Depto. De Nutrición Animal, Calzada Antonio Narro No 1923 Col. Buenavista, C.P: 25315, Coahuila, Saltillo, Teléfono (844) 411 0200. rodriguezaraceli444@yahoo.com.mx
[2] Universidad de Guanajuato, Profesor Investigador de Tiempo Completo, Depto. De Medicina Veterinaria y Zootecnia, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, C.P: 36500. Irapuato, Guanajuato, México. ledifar@hotmail.com

El estudio de técnicas nuevas de diagnóstico por imagen, son una gran herramienta de trabajo, la termografía es una técnica que es de gran ayuda, para los cambios de temperatura en la zona estudiada, que puede tener distintas variantes, debido al grado de infección o algún problema, causando variación de la temperatura. La termografía detecta cambios de temperatura, identificando problemas potenciales antes de que los signos o manifestaciones clínicas sean aparentes. (*Mahmoud, 2006*)

MÉTODOS Y MATERIALES

Ubicación del hato lechero

El trabajo se llevó a cabo en la unidad caprina de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Ésta unidad se ubica en km 14.5 de la carretera San Luis Potosí, Matehuala, ejido la Palma la Cruz, Soledad de Graciano Sánchez, San Luis Potosí. S.L.P. C.P. 78321. Se tomó la muestra láctea en 14 cabras destetadas.

Prueba de Mastitis Test

Se tomó una muestra de leche de cada ubre de la cabra en una raqueta de (CMT) limpia, se colocó la raqueta a 45° para tirar el exceso de leche y colocar la misma cantidad de reactivo de CMT a cada compartimiento, se mezcló con movimientos giratorios durante 20 segundos y se interpretó la prueba con una calificación visual.

Toma de temperatura de la ubre

A cada cabra se le tomó una fotografía con una cámara termográfica (FLIR ThermaCAM E45) en la parte posterior a 1 m de distancia que incluyó la ubre completa con los dos pezones.

Conteo de células somáticas

Se tomó una muestras de 60 µl de leche en un casete desechable para el conteo de células somáticas con un equipo automatizado (DeLaval DCC, modelo MarCom, DeLaval international AB Sweden, Stockholm, 2003,11819-sp/0310).

Bacteriología de la leche

La leche se sembró sobre un Agar sangre, MaConkey y estándar (DIBICO MEXCIO, DF. C.P. 15540). Los cultivos se dejaron durante 24 horas para determinar el crecimiento de bacterias y realizar su aislamiento nuevamente por dos ocasiones.

RESULTADOS

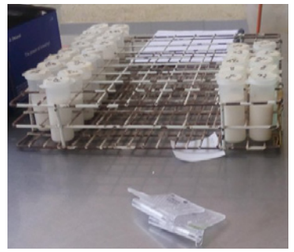
En la tabla 1. Se observan los resultados sobre la prueba del método de california mastitis test. El numero 3 es positivo, el 2 ± positivo y el 1 negativo. A la prueba de mastitis test se observan que seis cabras del hato de 14, salieron positivas a la prueba de california al cual se le dio al calificación de 3. De la misma manera seis cabras salieron con una calificación de ± 2. Y dos cabras salieron negativas a esta prueba de california.

Tabla 1: resultados de la prueba de california

No. De cabra	California Test
58	2
125	2
52	3
56	3
19	2
108	3
55	2
43	3
126	3
16	1
103	3
40	1
51	2
8	2

Tabla 2: conteo de células somáticas

No. De cabra	CCS
58	1584
125	1254
52	1600
56	1530
19	1254
108	2686
55	1533
43	1544
126	1682
16	260
103	2004
40	900
51	1078
8	1200

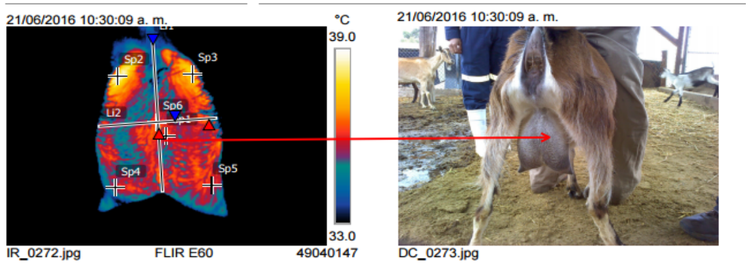


En la tabla Nom. 3. Observamos los componentes de las muestras de las 14 cabras, teniendo en cuenta que el valor real de la grasa en cabras es de 3.9 %, lactosa 4.3 %, proteína 3.5% y SNG 8.8 %.

Tabla No. 3: componentes de la leche de cabra

No. De cabra	Grasa	SNG	DENSIDAD	lactosa	proteína	PH
58	0.251	6.8	26.5	2.0	11.1	6.4
125	1.912	9.1	34.3	3.8	7.8	6.7
52	0.605	9.8	38.7	3.1	12.4	6.3
56	0.000	10.5	41.0	1.7	17.6	6.6
19	2.000	8.9	34.7	3.9	5.3	6.3
108	1.511	9.0	32.0	2.2	5.3	6.5
55	0.611	8.9	35.1	2.8	11.5	6.5
43	0.621	8.9	35.2	2.8	6.3	6.6
126	2.243	7.6	28.5	3.7	4.9	6.4
16	2.801	7.6	26.5	4.1	2.6	6.3
103	0.100	12.7	50.6	3.2	18.7	6.7
40	3.000	10.0	40.0	5.0	7.7	6.3
51	0.000	9.2	39.8	0.0	0.0	6.4
8	0.000	10.23	41.075	2.315	16.21	6.60

Las imágenes termográficas que a continuación se muestran dan como resultado las zonas en las que se detectaron más calientes esto nos indica que los microorganismos que ocasionan esta enfermedad se hospedan en este lugar.



Anotaciones de texto

cabra # 125
-Glandula maamaria izquierda: Encuentra aumentada de calor en su parte mas dorsal/superior.
-Glandula mamaria derecha: Se encuentra mas aumentada de calor en su parte mas dorsal/superior.

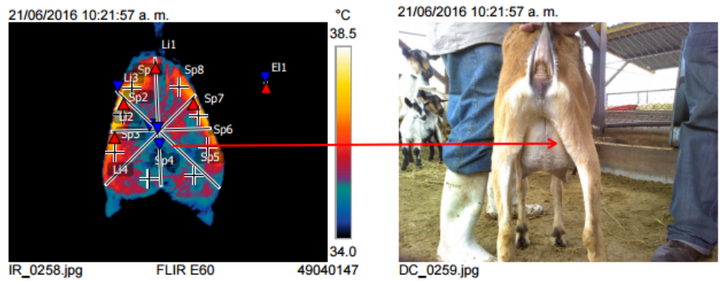
Prueba de california mastitis test:
Izquierda: 3
Derecha: 3

Los colores amarillos muestran una temperatura muy elevada.

Sp2: glandula izquierda, 38.6°C
Sp3: glandula derecha, 37.6°C

Parámetros

Emisividad	0.98
Temp. refl.	20 °C
Distancia	1 m
Temp. atmosférica	16 °C
Temp. óptica ext.	20 °C
Trans. óptica ext.	1
Humedad relativa	90 %



cabra # 52 (cria recien destetada)
-Glandula maamaria izquierda: Glandula mas corta,
-Glandula mamaria derecha: Cisterna de la glandula engrosada, linfonodos aumentados de tamaño.

CCS X1000:
Izquierda:
Derecha:

Prueba de california mastitis test:
Izquierda: 3
Derecha: 3

En la imagen se puede apreciar de color amarillo las zonas mas afectadas.

Parámetros

Emisividad	0.98
Temp. refl.	20 °C
Distancia	1 m
Temp. atmosférica	16 °C
Temp. óptica ext.	20 °C
Trans. óptica ext.	1
Humedad relativa	90 %

CONCLUSIÓN

Con este estudio hemos observado que existe un vínculo entre el contenido de células somáticas, la prueba de mastitis y las imágenes termograficas con las cabras que salieron positivas, de esta manera la cámara termografica es de gran ayuda al campo de la zootecnia porque nos facilita la detección de la misma.

BIBLIOGRAFÍA

Arauz, S., Edil. 2011. La mastitis subclínica y su influencia en la producción, calidad y economía lechera y medidas de manejo estratégico para su prevención y control apropiado. Engormix Lechería.

Ortiz, C, Z., Vera, R, A. (2006). Recuento de células somáticas en hatos lecheros de diferente nivel tecnológico en Arequipa. Revistas de investigaciones Veterinarias del Perú. DOI: 17(2): 104-107.

Ortega, S., Hernández, S., Gallegos, R. (2007). Niveles de células somáticas y prevalencia de mastitis en hatos caprinos del municipio de Mapimi, Durango México. Universidad autónoma de Chapingo. Revista Chapingo. DOI: 6:235-238.

DETERMINACIÓN DE LA CÁLIDAD DE UVA DE MESA DE LA VARIEDAD EMERALD SEEDLESS (Vitis vinifera L.) POR EFECTO DEL ANILLADO Y/O APLICACIÓN DE HORMONAS

Pedro Damian Enriquez Mendoza[1] y Eduardo E. Madero Tamargo[2]

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo consistió en evaluar el efecto de la aplicación citocininas (CCN) y/o anillado en la calidad de la uva variedad Emerald Seedless. Se evaluaron 5 tratamientos, 1.- Testigo, 2.- Anillado, 3.-Anillado más una aplicación de CCN, 4.-sin anillado más dos aplicaciones de CCN y 5. Sin anillado con una aplicación de CCN, con 5 repeticiones (cada repetición es una planta), bajo diseño de bloques al azar. Se promediaron los valores de 10 bayas para cada variable: diámetro (cm), longitud (cm), peso (g), volumen (cc) y sólidos solubles (°Bx). Los mejores tratamientos en la calidad de la uva fueron el manejo con anillado y anillado con una aplicación de CCN, en el manejo solo anillado se logró incrementar en un 37% el peso y el volumen en 29% más que el testigo y en manejo de anillado más una aplicación de CNN se incrementó el peso en un 76% y el volumen en un 63% en comparación con el testigo, mientras que el manejo sin anillado más una y dos aplicaciones de CCN no tuvieron efecto. En los dos casos se adelanta la maduración de la uva

ABSTRACT

The objective this study consisted to evaluate the effect cytokinin(CCN) application and / or ringing in the quality in grape variety Emerald Seedless. 5 treatments; 1. control, 2-Ringed, 3-Ringed more CCN application, 4. without girdling plus two CCN applications and 5. Ringed with an application of CCN, 5 replicates were evaluated (each rep is a plant) under randomized block design. It averaged the values of 10 berries for each variable: Diameter (cm), length (cm), weight (gr.), volume (cc) and soluble solids (°Bx). The best treatments in quality of grapes were handling with girdling and ringed with an application of CCN, in handling ringed only it were able to increase by 37% in the weight and volume in 29% more that the control, in the management of girdling more an application of CNN increased the weight in 76% and the volume by 63% compared with control, while handling without girdling had no effect. In the two cases it put forward the ripening of the Grapes

Palabras clave: Sin semilla, bayas, calidad, hormonas, anillado,

INTRODUCCIÓN

La viticultura es una actividad muy importante a nivel nacional, tanto por ser muy rentable, como por ser una fuente de empleo para las personas de campo. A nivel nacional existen 41 mil has con vid. La producción de uva se reparte principalmente en una superficie de 29,444 hectáreas que cultivan 2 mil 119 productores en los estados de Aguascalientes, Baja California, Baja California Sur, Chihuahua, Coahuila, Durango, Guanajuato, Jalisco, Morelos, Nuevo León, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Sonora, y Zacatecas, (SIAP 2014).

México ocupa el quinto lugar a nivel mundial como exportador de uva de mesa, el año 2004 de uva a los mercados internacionales, La producción de uva, total del país aproximadamente es de 651,000 toneladas en los tres tipos de uvas: uva de mesa, uva pasa y uva industrial. El principal estado productor de uva de mesa en México es Sonora, su producción comprende el 70% de producción nacional. (SAGARPA,

1Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química; Cerro de Las Campanas S/N, Las Campanas, C.P: 76010, Santiago de Querétaro, Querétaro, pdm.enriquez@outlook.com
[2]Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Horticultura, Periférico Raúl López Sánchez S/N, Valle Verde, C.P: 27059, Torreón, Coahuila. edmad2002@yahoo.com.mx

2005). Entre las principales cultivares de uva sin semilla se puede mencionar Perlette, Flame Seedless, Superior Seedless, Thompson Seedless y Emerald Seedless. (Márquez .2004)

El crecimiento de la planta está gobernado por hormonas naturales que se producen en distintos puntos de la planta. Uno de esos puntos es la semilla, cuya producción de hormona, o auxina determina el crecimiento del grano. (Herrera,1973). Las uvas sin semilla son la consecuencia del aborto de los óvulos en distintos estadios luego de la fecundación. Ello implica que la producción de hormona sea muy baja o se detenga, y en consecuencia es limitado el crecimiento y pequeño el tamaño del grano. (Herrera,1973).

Emerald Seedless es una variedad de uva de mesa sin semilla, que de manera natural carece de atractivo hacia al consumidor, por lo que es necesario mejorar su calidad con ayuda del manejo y/o aplicación de hormonas vegetales. Al ser una variedad sin semilla presenta un reducido tamaño de grano. Esto es debido a una muy baja producción de la hormona natural que regula el crecimiento del mismo. El crecimiento de la planta está gobernado por hormonas naturales que se producen en distintos puntos de la planta. Uno de esos puntos es la semilla, cuya producción de hormona, o auxina determina el crecimiento del grano. (Herrera, 1973).

MARCO TEORICO

El anillado es una práctica que se emplea para la producción de uva de mesa con el fin de mejorar el grosor de los racimos y su presentación (Reynier,2005). Consiste en la remoción de un anillo de la corteza, no mayor a 3 o 4 mm de espesor, en cargadores, brazos o troncos. Su objetivo es impedir el descenso hacia las raíces de los nutrientes elaborados por las hojas, con el fin de que se acumulen sobre el anillo durante el periodo que demora la cicatrización. Normalmente el anillado debe hacerse en plantas que presentan un buen vigor y un estado sanitario óptimo, ya que dicha práctica es debilitante para ella. La operación puede efectuarse todos los años siempre que se cumplan las condiciones mecanizadas. (Muñoz, 1986)

Las Citocininas estas fitohormonas están relacionadas con la división celular en distintos tipos de tejidos jóvenes. Unas de las fuentes de estas citoquininas, son las raíces, sin embargo otros tejidos como son: los meristemos apicales, el cambium, la semilla, entre otros pueden producirlas. Aplicaciones comerciales, de citoquinas naturales o sintéticas, en postcuaja, provocan un mayor desarrollo de la baya, siempre y cuando se apliquen en el momento en que las células todavía se encuentran en división. Incluso existe un claro beneficio al aplicarlas con otras fitohormonas, como es el caso de las giberelinas, donde junto con aumentar la división celular (Retamales, 1993)

Uva de mesa. Son las utilizadas para consumo fresco. Debe reunir una serie de características que las hagan aptas, para esta propuesta, así deben tener un aspecto agradable, una buena calidad gustativa y una determinada aptitud al transporte. Por otra parte su coste de producción y su precio de venta deberán ser razonables. Entre los caracteres más importantes a considerar en las uvas de mesa destacan: aspecto del racimo, tamaño y formas y color de las bayas, y tamaño y forma de los racimos, época de maduración, aptitud al transporte, etc. (Pérez, C., 1992).

MATERIALES Y MÉTODOS

El lote donde se desarrolló el presente trabajo fue plantado en 2010, con una densidad de 2,220 plantas/ha (3.00 m entre surcos y 1.50 m entre plantas), con un sistema de espaldera en pérgola inclinada, se encuentra en el municipio de Torreón, Coahuila y en propiedad del Ing. J. Francisco Aranzábal. Las plantas están conducidas en doble cordón bilateral con poda corta. En el ciclo 2016 se evaluaron los siguientes tratamientos

TRATAMIENTO	DESCRIPCION
T1	Testigo (T)
T2	Anillado(A)
T3	Anillado + citocininas*(A+CNN)
T4	Sin anillado + (2x) citocininas **(SA+2CNN)
T5	Sin anillado + citocininas (SA+CNN)

Figura 1. Tabla de los tratamientos realizados. *la primera aplicación se realizó al tener las bayas 5 mm. de diámetro aproximadamente. **la segunda aplicación se realizó 6 días después de la primera aplicación

Con un diseño de bloques al azar con cinco repeticiones (cada planta es una repetición), al momento de cosecha se tomaron 10 bayas al azar en cada repetición, para evaluar los siguientes parámetros en el laboratorio:

- **Peso de la baya (gr.):** se pesaron las 10 bayas en una balanza digital y el peso total se promedió.
- **Diámetro y longitud (cm),** con ayuda de un vernier se midió el largo y diámetro de las 10 bayas y se sacó el promedio.
- **Volumen de la baya (cc).** Esta se realizó con la ayuda de una probeta de 100 ml. agregando agua hasta la marca de los 50 ml. y posteriormente colocando las 10 bayas en la probeta con el líquido, se calculó por desplazamiento de volumen del agua, dividiendo el total entre 10 para obtener el volumen de la baya
- **Acumulación de sólidos solubles (Grados Brix).** Se depositaron las 10 bayas dentro de una bolsa plástica, allí, se trituraron, y el jugo de éstas se colocó en un refractómetro de mano midiendo los °Bx.

Para la aplicación de las hormonas se utilizó un producto comercial cuya composición es la siguiente: Citocininas 7.5% del peso, giberelinas 30.0%, producto inerte y acondicionantes 62.5%, para la aspersión el producto comercial se usó a razón 1g./ lt de agua, en este caso se usaron 10 g/ 10 lts. de agua para alcanzar a cubrir por completo los racimos de las 5 plantas de cada tratamiento.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

TRATAMIENTO	PESO	DIAMETRO	LONGITUD	VOLUMEN	° Bx 17
1 TESTIGO	2.1 b	1.4 b	1.7 a	2.0 b	17.4 bc
2 (A)	2.9 ab	1.6 a	1.8 a	2.6 ab	20.8 a
3(A+CCN)	3.7 a	1.6 a	1.6 a	3.3 a	18.5 b
4(SA+2CCN)	2.4 b	1.5 ab	1.7 a	2.3 b	16.8 c
5(SA+ CCN)	2.7 b	1.6 a	1.8 a	2.6 ab	18 bc

Figura 2. Tabla de resultados,(LSD). Que muestra la diferencia entre medias de cada tratamiento con su respectiva variable cualitativa, los mejores tratamientos fueron anillado y anillado mas una aplicación de citocininas

Los mejores tratamientos en la calidad de la uva fueron el manejo con anillado Se logró aumentar el peso en un 37% y el volumen en 29% y anillado con una aplicación de citocininas, se incrementó el peso en un 76% y el volumen en un 63% en comparación con el testigo, incrementando también los sólidos solubles. Weaver, 1976, infiere que un crecimiento de enzimas aumenta el potencial osmótico, ocurriendo entonces un flujo de agua hacia el interior de la célula, el cual a su vez produce un aumento

de tamaño. No se presenta retraso de la maduración, alcanzando 20.8º y 18.5º Bx para los mejores tratamientos, resultando óptimo para su comercialización, (17º mínimo)

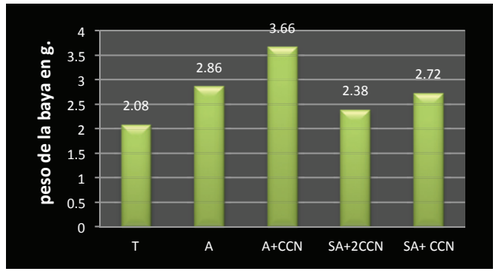


Figura 1. Efecto del anillado y las CNN sobre el peso de la baya (gr).

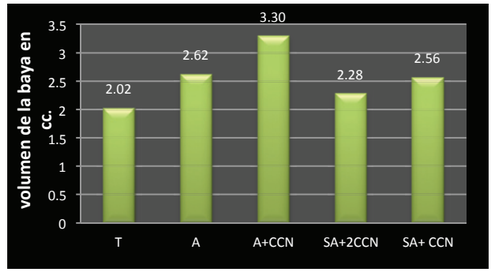


Figura 2. Efecto del anillado y las CNN sobre el volumen de la baya (cc).

b)

c)

d)

e)

c)

Figura 3. Fuente propia a) Viñedo en el que se realizó el experimento, Torreón, Coah. b) y c) cosecha de la uva variedad Emerald Seedless d) Colección nacional de variedades de vid más grande, CELLA-INIFAP Matamoros, Coah.

CONCLUSIÓN

En uva de mesa variedad Emerald Seedless si bien el manejo de anillado más una aplicación de citocininas, es igual estadísticamente, es superior al incrementar en un 76% el peso y en un 65% el volumen de la baya. En cambio al realizar solo el anillado se obtienen incrementos de 38% el peso y 30% el volumen: En los dos casos se adelanta la maduración de la uva.

BIBLIOGRAFIA

1. Herrera, E. J. Moisés, L. Nazrala y H. Martínez. 1973. Uvas de mesa. Guía para obtener alta calidad comercial. Mendoza, República Argentina
2. Márquez C. J. A. 2004. Diagnóstico de necesidades de investigación y transferencia de tecnología en la cadena Vid de mesa. INIFAP, Fundación Produce Sonora. México.
3. Muñoz H. 1986. El cultivo de la uva de mesa en Chile, IPA. La Platina. No 41. Chile.
4. Retamales J., Cooper T., Bangerth F. y Callejas, R. 1993. Efecto de aplicaciones de
5. CPPU y GA3 en el crecimiento y calidad de uva de mesa cv. Sultanina. Rev. Frutícola
6. Reynier, A. 2005. Razonar y Realizar las Operaciones en Verde. Manual de Viticultura. Sexta edición. Mundi-Prensa, Madrid, España.
7. Sagarpa. 2005. Alimentaria online. México. DF. http://www.alimentaria online.com/desplegar nota. Asp?did=945.
8. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), 2014. Producción de uva,
9. Weaver R. 1976, Reguladores de crecimiento de las plantas en la agricultura. Trillas México.
10. Winkler J. A. 1970. Viticultura. CECSA. México.

DETERMINACIÓN DE LA BIOMASA MICROBIANA DE SUELOS SÓDICOS DEL BAJÍO

Verónica Espinosa Valladares[1] y Eloy Conde Barajas[2]

RESUMEN

Dentro del Bajío, el problema de suelos sódicos se ha incrementado en los últimos años debido a las malas prácticas agrícolas, dejando éstos suelos inservibles e ineficientes para su uso por lo que cada vez es más evidente que se tiene que trabajar en su estudio para encontrar prácticas sustentables. En ese contexto, en esta investigación se trabajaron dos parcelas agrícolas diferentes con tres secciones por cada suelo, ubicados en los municipios de Cuerámaro y Celaya, respectivamente. El suelo de Cuerámaro (CRM) presentó problemas de sodicidad y el suelo de Celaya (CYI) no presentó ésta característica por lo que se trabajó como control. Principalmente se determinó la capacidad de intercambio catiónico (CIC) obteniendo valores de 33.30 y 23.2 meq/100 g suelo seco, porcentaje de sodio intercambiable (PSI) 16.70 y 4.70%, contenido de sodio 1279 y 250 mg kg^{-1} suelo seco, calcio 3531 y 3059 mg kg^{-1} suelo seco y magnesio 1029 y 538 mg kg^{-1} suelo seco, respectivamente, para su diagnóstico, posteriormente se determinó el C de la biomasa microbiana, es decir, la cantidad de microorganismos presentes por el método de respiración inducida por sustrato (siglas en ingles: SIR) método estático, obteniéndose valores de 355.10 y 358.05 mg C_{mic} kg^{-1} suelo seco, respectivamente.

La actividad microbiana se determinó mediante el método de hidrolisis de la fluoresceína diacetato (FDA) obteniendo 15.33 y 9.02 mg Fluoresceína h^{-1} kg^{-1} suelo seco, respectivamente, relacionándose con las características fisicoquímicas y biológicas, para lo que también se evaluó el porcentaje de carbono orgánico total (%COT), pH, porcentaje de humedad (%H), capacidad de retención de agua (CRA), textura, conductividad eléctrica (C.E.), materia orgánica (M.O) y nitrógeno inorgánico ($N\text{-}NO_3^-$). Arrojando como resultado que la actividad microbiana (FDA) se incrementa en el suelo que presenta mayor cantidad de sodio (CRM) a pesar de que no hay diferencia significativa en la biomasa microbiana entre ambos suelos, con lo cual se puede concluir que el sodio afecta la actividad microbiana, ya que es una perturbación y los microorganismos presentes aumentan su actividad como respuesta de resistencia, sin que sea afectada la cantidad de microorganismos presentes.

ABSTRACT

In the Bajio, the problem of sodic soils has been increased in the last years due to wrong agricultural practices, leaving the soils unusable and inefficient for the use so every time it's more plains to see that have to work in this study to find practical sustainable. In this context were worked two different agricultural plots with three sections per soil. The soils are located in the towns of Cuerámaro and Celaya, respectively. The Cueramaro´s soil (CRM) presented problems of sodicity and the Celaya´s soil (CYI) didn't have these characteristics so it worked as witness. Mainly was determined the cation exchange capacity (CEC) where values of 33.10 and 23.2 meq/ 100 g dry soil were obtained, the exchangeable sodium percentage (ESP) were of 16.70 and 4.70%, sodium content 1279 and 250 mg kg^{-1} dry soil, calcium 3531 y 3059 mg kg^{-1} dry soil and magnesium 1029 and 538 mg kg^{-1} dry soil, respectively, for evaluation, later were determined the C-microbial biomass content, that means the number of microorganisms in soils by SIR method, being obtained values of 355.10 and 358.05 mg C_{mic} kg^{-1} dry soil, respectively. The microbial activity was determined by the method of hydrolysis fluorescein

[1]Tecnológico Nacional de México Instituto Tecnológico de Celaya, Ingeniería Ambiental; Antonio García Cubas Pte #600 esq. Av. Tecnológico. C.P: 38010, Celaya, Guanajuato, veronicaespinosavalladares@gmail.com
[2]Tecnológico Nacional de México Instituto Tecnológico de Celaya, Ingeniería Ambiental; Antonio García Cubas Pte #600 esq. Av. Tecnológico. CP: 38010, Celaya, Guanajuato, eloy.conde@itcelaya.edu.mx

diacetate (FDA), with values of 15.33 and 9.02 mg Fluorescein h^{-1} kg^{-1} dry soil, were founded. Besides, these end parameters (FDA and microbial biomass) were related to other physicochemical and biological characteristics. We also evaluated the percentage of total organic carbon (%TOC), pH, moisture, water holding capacity (WHC), texture, electrical conductivity (EC), organic material (OM) and inorganic nitrogen ($N\text{-}NO_3^-$). The main results showed that microbial activities (FDA) were increased in soil with a smaller amounts of microbial biomass and higher sodium content (CRM), although no significant differences in the C-microbial biomass between the two soils were observed, concluded that sodium affects microbial activity as it is a disturbance and microorganisms increased its activity as resistance response without is affected the amount of microorganisms present.

Palabras Clave: Suelos sódicos, actividad microbiana FDA, Biomasa microbiana

INTRODUCCIÓN

Los suelos sódicos se producen por la acumulación de sales en condiciones específicas, en la mayoría de los casos por las aguas salobres que se utilizan para riego, afectando la calidad de éstos. Cuando hablamos de suelos salinos, la calidad de éstos se ve afectada por una mala asimilación de nutrientes por las plantas, evitando su crecimiento, así como la actividad microbiana presente. Por lo que el presente trabajo tiene el objetivo de medir la calidad de dichos suelos a través de distintos indicadores que evalúan su funcionamiento, teniendo efectos importantes en el desarrollo de los microorganismos del suelo. En el presente proyecto se trabajaron dos suelos agrícolas correspondientes a los municipios de Cuerámaro (CRM) y Celaya (CYI), como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Información geográfica de suelos

Clave del suelo	Municipio	Coordenadas geográficas	Información
CRM	Cuerámaro	20° 37´ N 101° 39´ O	Altitud a 1711 m.s.n.m. Temperatura media anual 18.9°C Precipitación pluvial promedio 724 mm
CYI	Celaya	20° 34´ N 100° 49´ O	Altitud a 1765 m.s.n.m. Temperatura media anual 19.1°C Precipitación pluvial promedio 617 mm

MARCO TEORICO

Para medir la funcionabilidad-calidad de los suelos, se estudiaron características fisicoquímicas y biológicas claves como son la ***capacidad de intercambio catiónico (*CIC**), la cual es una propiedad fisicoquímica de importancia en los suelos, ya que determina las características de las cargas dependientes del pH; por ejemplo, a mayor pH aumenta el número de cargas negativas, así con la participación de las bases Ca^{+2}, Mg^{+2}, K^+, Na^+ presentes a valores de pH altos (Fassbender, 1975; Atkinson *et al*., 2010). El ***porcentaje de sodio intercambiable* (*PSI)*** es la cantidad de sodio adsorbido por las partículas del suelo, expresado en porcentaje de capacidad de intercambio catiónico. Los suelos que tienen un valor de PSI mayor de 15 se clasifican como suelos sódicos. (USSLS, 1954).

El ***carbón orgánico total (%COT)*** determina directamente la materia orgánica presente, al medir la cantidad de dióxido de carbono producida en la mineralización total de una muestra de suelo. El ***pH*** es un parámetro fisicoquímico de gran influencia sobre la biomasa microbiana y sus actividades (Bååth *et al*., 1995; Geisseler y Scow, 2014). La ***capacidad de retención de agua (CRA)*** es la máxima capacidad de agua que puede retener un suelo, después de que el agua se haya infiltrado a través de sus poros. Importante factor para estimar la disponibilidad de agua para las plantas (Domingo *et al.,* 2006; Essington, 2015). La ***Textura*** representa el porcentaje de cada una de las fracciones minerales del suelo

(arcilla, arena y limo) y es una propiedad importante ya que influye como factor de fertilidad y en la habilidad de retener agua, aireación, drenaje, contenido de materia orgánica y otras propiedades (Fayos, 1997; Mavi *et al.*, 2012). La ***Conductividad eléctrica (CE)*** se define como la capacidad de un cuerpo de conducir la corriente eléctrica. Los suelos con bajos contenidos de materia orgánica tienen elevada resistencia eléctrica y los suelos con un contenido elevado de humedad tienen una mayor conductividad. La conductividad eléctrica también se ve afectada por la temperatura del suelo debido a la movilidad de los electrolitos disueltos (Harstock *et al*., 2000).

La conductividad eléctrica está relacionada con la condición y función del suelo ya que ésta define la actividad vegetal y microbiana (Bautista *et al*., 2004). La ***actividad microbiana*** se basa en la determinación espectrofotométrica de la hidrólisis de diacetato de fluoresceína (FDA) siendo un método eficaz para determinar la actividad microbiana en un suelo (Jiang *et al*., 2016). El FDA es hidrolizado por diferentes enzimas, como lo son las proteasas, lipasas y esterasas dando como resultado la fluoresceína (Figura 1), la cual es medida a través de un espectrofotómetro. La determinación FDA en un suelo es indicativo de como se ve afectada por problemas de contaminación siendo dicha actividad un reflejo de la posibilidad de degradación de compuestos que puedan considerarse tóxicos para el suelo (García y Hernández, 2004).

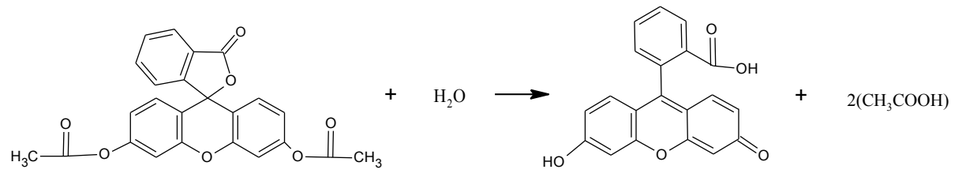


Figura 1. Reacción de la hidrólisis de FDA (Green et al., 2006)

La ***biomasa microbiana*** se define como la cantidad total de material viviente que existe en un tiempo dado dentro de un área determinada. La biomasa microbiana es muy importante en un suelo para comparar la fluctuación temporal de nutrientes en sitios naturales y perturbados (Horwath *et al*., 1994; García y Hernández, 2004). El ***N-NO_3^- (nitrógeno inorgánico)***. El exceso de nitrógeno provoca que la velocidad con que la actividad microbiana libera nitrógeno soluble, sea superior a la tasa de absorción de éste por parte del cultivo generándose grandes cantidades de nitrógeno, generalmente en forma de nitratos. Los experimentos sugieren que las plantas y los microorganismos del suelo están limitados por nitrógeno inorgánico, incluso en sitios relativamente fértiles. En consecuencia, las plantas y los microorganismos del suelo pueden competir por nitrógeno (Kaye y Hart, 1997; Estrada *et al*., 2007).

MÉTODOS Y MATERIALES

Se seleccionaron dos parcelas agrícolas de acuerdo a las características investigadas, en el caso de Cuerámaro con alto contenido de sodio (Na^+) y en el de Celaya con bajo contenido de éste para ser utilizado como control.
El muestreo de los suelos se realizó a una profundidad de 0-20 cm, por cada suelo se tomaron 3 divisiones de subparcelas y en cada una se formó un zig-zag tomando en total 10 kg de muestra perfectamente mezclada.

Las muestras se dejaron secar al aire y posteriormente se tamizaron en una malla de 3 mm de diámetro. Para la ***capacidad de intercambio catiónico***, se determinó mediante el método establecido en la NOM-021-SEMARNAT-2000, utilizando como solución saturante el acetato de amonio, una digestión y titulación del ion NH^{+4} con una solución de ácido clorhídrico 1 M. Para la obtención de ***Contenido de sodio, calcio y magnesio, (Ca^{+2} y Mg^{+2})*** se utilizó la técnica de espectrofotometría de absorción atómica a una longitud de 423 y 285 nm como se establece en la NOM-021-SEMARNAT-2000.
Para la determinación de ***porcentaje de sodio intercambiable (PSI)*** se utilizó una ecuación que relaciona el contenido de Na^+ y su capacidad de intercambio catiónico mediante la ecuación 1 establecida por (Rietz y Haynes, 2003).

$$PSI = \frac{100 * Na^+}{CIC} \quad (1)$$

El ***Porcentaje de carbono orgánico total (%COT)*** se determinó mediante el método colorimétrico de Walkey Black (1934) modificado por reducción en escala como se describe en Alef y Nannipieri (1995). El ***pH*** se determinó mediante el método potenciométrico, diluyendo el suelo en agua destilada, utilizando una relación de 1:2.5 m/m de suelo-agua (Thomas, 1996). La ***Textura*** fue determinada por el método de sedimentación diferencial y densimetría de Bouyoucos (1962). El procedimiento de la ***Actividad microbiana por FDA*** se basó en los métodos de Johan Schnürer y Thomas Rosswall (1982), Gillian Adam y Harry Duncan (2001), Green V.S. *et al*. (2006), Jaap Bloem, Microbiological Methods For Assessing Soil Quality (2006), Shan Jiang *et al.* (2016). En el caso de la ***Conductividad eléctrica***, se determinó mediante el método potenciométrico, diluyendo el suelo en agua destilada, utilizando una relación de 1:2.5 m/m de suelo-agua. La obtención de ***Materia orgánica*** se obtuvo mediante una correlación del resultado de carbono orgánico total (COT). Para la determinación de ***Biomasa microbiana*** se utilizó el método de respiración inducida por sustrato (SIR) en jarras estáticas como se describe en Alef y Nannipieri (1995). Para la ***Determinación de nitratos*** se realizó una extracción de N-NO_3, utilizando una solución de sulfato de potasio 0.5 M (Conde *et al.*, 2005). Tomando 0.1 mL de extracto se analizó por el método colorimétrico que establece Alef y Nannipieri (1995).

RESULTADOS

Los suelos trabajados se consideran medianamente alcalinos debido al rango de pH presentado, siendo mayor a 7.5 y menor a 9.0 (Ver Tabla 2). La textura de CRM es arcillosa por lo que se esperaría que presentara una elevada capacidad de retención de agua (101.27%), sin embargo debido a un alto contenido de materia orgánica ayuda a superar el problema del exceso de agua, además de que ayuda a mantener las partículas de arcilla unidad entre sí, formando agregados entre los cuales queda espacio para el aire (Thompson *et al.*, 1988).

La textura de CYI es de un suelo franco, ya que presenta valores entre 7 y 27% de arcilla. Contienen la arcilla suficiente para retener cantidades adecuadas de agua y nutrientes que aseguran un óptimo crecimiento vegetal, sin presentar dificultades de aireación o causar problemas en los cultivos. Contienen suficiente limo para formar gradualmente más arcilla y para liberar nutrientes cuando se meteoriza. Este suelo, por contener una alta cantidad de materia orgánica, es muy bueno para la mayoría de los usos. (Thompson *et al.*, 1988).

Los dos suelos presentaron valores de materia orgánica en el rango establecido de 0.1 y 10% para suelos agrícolas, siendo congruente con su uso. La actividad microbiana es mayor en el suelo que presenta una menor cantidad de biomasa microbiana (CRM), pudiendo atribuir éste fenómeno al problema de sodicidad en donde los microorganismos tratan de remediarlo, ya que de acuerdo a los valores presentados de PSI mayor a 15% se afirma que efectivamente el suelo CRM presenta éste problema.

Tabla 2. Resultados de las características fisicoquímicas y biológicas

Indicador	Unidad	Suelos	
		CRM	CYI
Capacidad de intercambio catiónico (CIC)	meq/100 g	33.30 (1.54)	23.2 (2.0)
Na^{+}	mg kg^{-1} suelo seco	1279 (22.55)	250 (23.04)
Ca^{+2}	mg kg^{-1} suelo seco	3531 (113)	3059 (120)
Mg^{+2}	mg kg^{-1} suelo seco	1029 (55)	538 (32)
PSI	%	16.70	4.70
Porcentaje de carbono total (%COT)	%	1.41 (0.09)	0.98 (0.23)
pH	N.A	7.80 (0.09)	8.57 (0.01)
Porcentaje de humedad (% H)	%	4.82 (0.04)	4.24 (0.08)
Capacidad de retención de agua (CRA)	%	101.27 (1.68)	86.56 (2.26)
Textura	N.A	Arcilloso	Franco
Arena	%	18.03 (1.10)	34.82 (0.31)
Limo	%	33.03 (1.10)	39.00 (0.53)
Arcilla	%	48.94 (2.05)	26.18 (0.18)
Actividad microbiana por FDA	mg fluoresceína kg^{-1} suelo seco h^{-1}	15.33 (8.34)	9.02 (0.76)
Conductividad eléctrica	dS m^{-1}	1.78 (0.03)	0.61 (0.02)
Materia orgánica	%	2.42 (0.16)	1.69 (0.40)
Biomasa microbiana	mg kg^{-1} suelo seco	355.10 (40.65)	358.05 (86.77)
Nitratos	mg kg^{-1} suelo seco	23.40 (2.67)	10.20 (0.96)

Los valores entre paréntesis son la desviación estándar entre las tres suparcelas con sus respectivas réplicas.

CONCLUSIONES

Las características fisicoquímicas están directamente relacionadas con la biomasa microbiana y con su actividad, la diferencia de biomasa microbiana entre los dos suelos estudiados es insignificante, sin embargo el suelo afectado por problema de sodicidad (CRM) contiene una mayor actividad que en el suelo control (CYI) debido a los factores fisicoquímicos que se encuentran involucrados, en especial la presencia del catión Na^{+}. Las características fisicoquímicas y biológicas nos dan un amplio panorama sobre como se ve afectada la calidad del suelo con problemas de sodicidad, haciendo énfasis en encontrar la mejor solución para la remediación de suelos sódicos.

BIBLIOGRAFIA

Adam, G., & Duncan, H. (2001). “Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils” en *Soil Biology & Biochemistry*, [pp.943-951].

Atkinson, C. J., Fitzgerald, J. D. & Hipps, A. N. “Potential mechanisms for achieving agricultural benefits from biochar application to temperate soils: A review” en *Plant and Soil. 337 (1),* [pp.1-18].

Bååth, E., Frostegård, Å., Pennanen, T., & Fritze, H. (1995). “Microbial community structure and pH response in relation to soil organic matter quality in wood-ash fertilized, clear-cut or burned coniferous forest soils” en *Soil Biology and Biochemistry*, *27*(2), [pp.229-240].

Bautista Cruz A., Etchevers Barra J.,del Castillo E.F., Gutiérrez C.(2004). ”La calidad del suelo y sus indicadores” en *ecosistemas revista científica y técnica de ecología y medio ambiente,* [pp 90-97].

Adam, G., & Duncan, H. (2001). “Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate

Blasco Lamenca, M. (1970). *Microbiología de suelos.* Costa Rica: IICA.

Caldwell, B. A. (2005). "Enzyme activities as a component of soil biodiversity: A review" en *Pedobiologia*, [pp. 637-644].

Conde E., Cardenas, M., ponce, M. A., Luna G. M. L., Cruz, M.C. y Dendoven, L. (2005). "The Impacts of inorganic application on mineralization of 14C-Labelled maize and glucose, and on priming effect in saline alkaline soil" en *Soil Biology and Biochemistry 37* pp. [681-691].

Essington, M. E. (2015). *Soil and water chemistry: An integrative approach*. CRC press.

Estrada Botello M.A., Nikolskii Gavrilov I., Mendoza Palacios J.D., Cristóbal Acevedo D., De la Cruz Lázaro E., Brito Manzano N.P., Gómez Vázquez A. y Bakhlaeva Egorova O. (2007) " Lixiviación de Nitrógeno Inorgánico en un Suelo Agrícola Bajo Diferentes Tipos de Drenaje en el Trópico Huúmedo" en *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco,* [pp. 1-13].

Fassbender, H. W. (1975). *Química de suelos con énfasis en suelos de América latina.* Costa Rica: IICA.

Fayos, C. B. (1997). "The roles of texture and structure in the water retention capacity of burnt Mediterranean soils with varying rainfall" en *Catena*, *31*(3), [pp. 219-236].

Freeland, R.S. (1989). "Review of soil moisture sensing using soil electrical conductivity" en *Transaction of the ASAE, 32 (6)*, [pp. 2190-2194].

García Izquierdo Carlos; Hernández Fernández Teresa. (2004). " Importancia de la medida de la actividad microbiana en suelos y materiales orgánicos". en Centrode Edafología y Biología Aplicada del Segura, [pp. 209-210].

Geisseler, D., & Scow, K. M. (2014). "Long-term effects of mineral fertilizers on soil microorganisms: A review" en *Soil Biology and Biochemistry*, 75, [pp. 54-63].

Green, V. S., Stott, D. E., & Diack, M. (2006). "Assay for fluorescein diacetate hydrolytic activity: Optimization for soil samples en *Soil Biology & Biochemistry*, [pp.693-701].

Harstock, N.J.; Mueller, T.G.; Thomas, G.W.; Barnhisel, R.I.; Wells, K.L. (2000). "Soil electrical conductivity variability (compact disc)" en *International Ceonference on Precision Agriculture, 5.,* Bloomington, Proceedings, Bloomington: ASA-CSSA-SSSA.

Horwath W.R. y Paul E.A. (1994). "Microbial Biomass. En: Methods of soil analysis. Part 2 Microbiological and Biochemical Properties". SSSA. Wisconsin, USA.

Kaye Jason P., Hart Stephen C. (1997). "Competition for nitrogen between plants and soil microorganisms" en *School of Forestry, College of Ecosystem Science and Managment, Northem Arizona University*, [pp. 139-143].

Mavi, M. S., Sanderman, J., Chittleborough, D. J., Cox, J. W., & Marschner, P. (2012). "Sorption of dissolved organic matter in salt-affected soils: Effect of salinity, sodicity and texture" en *Science of the Total Environment*, *435*, [pp. 337-344].

Ramírez Fuentes, E., & Trujillo Tapia, M. N. (2012). " La hidrólisis de diacetato de fluoresceína 3',6'-diacetilfluoresceína: un método rápido y eficaz para determinar la actividad microbiana en muestras de suelo contaminado por pesticidas" en *Ciencia y Mar*, [pp.31-36].

Rietz, D.N y Haynes, R.J. (2003). "Effects of irrigation-induced salinity and sodicity on soil microbial activity" en *Soil Biology & Biochemistry*, [pp. 846-854].

Sánchez Monedero, M. A., Mondini, C., Cayuela, M., Roig, A., Contin, M., & De Nobili, N. (2008). "Fluorescein diacetate hydrolysis, respiration and microbial biomass in freshly amended soils" en *Biol Fertil Soils*, [pp.885-890].

Shan Jiang; Jing Huang; Haoliang Lu; Jing Chun Liu; Chongling Yan. (2016). "Optimisation for assay of fluorescein diacetate hydrolytic activity as a sensitive tool to evaluate impacts of pollutants and nutients on microbial activity in coastal sediments" en *Elsevier* [pp. 1-8].

United States Soil Conservation Service (USSLS). 1954. Diagnosis and improvement of saline and alkaly soils. United States Department of Agriculture. Handbook 60. Washington D. C., USA. 160 p.

DIAGNÓSTICO MOLECULAR Y CARACTERIZACIÓN GENÓMICA PARCIAL DE BEGOMOVIRUS QUE INFECTAN CULTIVOS Y MALEZAS EN SAN LUIS POTOSÍ

Liliana Gómez Pacheco[1] y Gerardo Rafael Argüello Astorga[2]

RESUMEN

Los Geminivirus se han convertido en un patógeno de importancia mundial ya que afectan una cantidad considerable de cultivos de tomate, chile, frijol, yuca y algodón, en países ubicados en regiones tropicales. En México, los Geminivirus se han hecho presentes en las últimas décadas, provocando grandes pérdidas económicas. La familia Geminiviridae está conformada por cuatro géneros, los *Begomovirus* es el género más abundante, ya que se han encontrado por el momento más de 200 especies, sin embargo aún hay begomovirus que no se han reportado. En este trabajo se buscó identificar varias especies de *Begomovirus* realizando distintas técnicas de biología molecular; se lograron diagnosticar 6 especies de *Begomovirus* distintas en muestras de chile y tomate.

Palabras Clave: *Begomovirus,* diagnóstico molecular, *Capsicum annuum, Solanum lycopersicum*

ABSTRACT

The Geminiviruses have become pathogens of global importance due to they affect a considerable amount of cultivated crops, including tomato, pepper, beans, cassava and cotton; in countries located in tropical regions. In México, the Geminiviruses have been noticed in the last decades, causing large economic losses. The family Geminiviridae is divided intro four different genera, the *Begomovirus* genre is the most abundant, since it has been found more tan 200 species so far, however there are begomoviruses that haven't been reported yet. In this project we look for identifiyng several species of *Begomovirus*, perfoming several molecular biology techniques; 6 different species of *Begomovirus* were identified in samples of pepper and tomato.

Keywords: *Begomovirus,* molecular diagnostic, *Capsicum annuum, Solanum lycopersicum*

INTRODUCCIÓN

Los Geminivirus han afectado una gran cantidad de plantas y cultivos en los últimos 50 años, sobre todo en regiones tropicales y subtropicales, ubicadas en países de África, Asia y Latinoamérica (Rey *et al*., 2012; Zuñiga *et al*, 2002). Han afectado cultivos de frijol, jitomate, chile, yuca y algodón, se estima que en México, los daños ocasionados en cultivos por Geminivirus superan las pérdidas de 100 millones de dólares anuales.

Esta familia de virus posee un genoma de DNA de cadena sencilla, de aproximadamente 2.6-3 kb. Los viriones están compuestos por un par de icosaedros y cada uno consta de 110 subunidades de proteína de cubierta de 29-30 kD cada una. La familia Gemiviridae se compone de cuatro géneros de acuerdo al tipo de insecto vector, plantas hospedantes y la estructura del genoma que poseen: *Mastrevirus*, poseen un genoma monopartita, son trasmitidos a través de saltahojas a pantas monocotiledóneas; *Curtovirus*, poseen un genoma monopartita, son trasmitidos por saltahojas a plantas dicotiledóneas; *Begomovirus*:

[1] Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química; Cerro de Las Campanas, s/n, Las Campanas, 76010 Santiago de Querétaro, QRO, liligompac@gmail.com
[2] Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., División de Biología Molecular;
[2] Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., División de Biología Molecular; Camino a la Presa de San José No.2055 Lomas 4ª Sección, 78216, San Luis Potosí, S.L.P, grarguel@ipicyt.edu.mx

tienen un genoma bipartita DNA A y DNA B, son transmitidos por la mosca blanca *B.tabaci* a plantas dicotiledóneas, es el género más abundante de Geminivirus ya que se han encontrado más de 200 especies; y *Topocuvirus,* tienen un genoma monopartita, es trasmitido a través de los insectos treehopper e infecta plantas dicotiledóneas, solamente se ha encontrado una especie de este género (Gaur *et al*., 2014). Los *Begomovirus* poseen cinco genes en su componente A, uno de ellos es el gen de la proteína de la cápside (cp), la transcripción de este gen es en sentido viral, es decir siguiendo las manecillas del reloj. Los otros cuatro genes se transcriben en sentido complementario al virus, es decir en contra de las manecillas del reloj, estos genes codifican a la proteína asociada a la replicación (Rep), a la proteína activadora de la transcripción (trap), a la proteína reforzadora de la replicación (ren) y a la proteína AC4 de función desconocida aún. En el componente B, los *Begomovirus,* tiene dos genes, el gen del movimiento del virus hacia afuera del núcleo, el cual se transcribe en el sentido viral (nsp) y el gen de la proteína de movimiento (mp) el cual se transcribe en el sentido complementario (Faría *et al.* 2009). Como principal objetivo en este proyecto se busca detectar y caracterizar virus que infectaron plantas provenientes de un invernadero en el estado de Durango, México; las cuales presentaban síntomas característicos de Geminivirus, así como desarrollar un método de diagnóstico molecular para identificar distintas especies de *Begomovirus*.

MÉTODOS Y MATERIALES

Colecta de muestras y extracción de DNA. Se obtuvieron muestras de chile (*Capsicum annuum*, muestras Dur1, Nueva, Chile-Dur1, Chile-Dur2), tomate (*Solanum lycopersicum*, muestras Jit-LANBAMA, Jitomate-Dur1, Jitomate-Dur2) y mala mujer (*Urera baccifera*, muestra MM) provenientes de un invernadero ubicado en el estado de Durango, además de dos muestras de tomate de dos regiones de San Luis Potosí (Rioverde y Aquismón, muestra Nueva) las cuáles mostraron síntomas de infección viral como: mosaico, color amarillento y reducción del tamaño de las hojas. Una muestra de chile y mala mujer fueron almacenadas en ultra congelador a -80°C, las otras muestras de chile y tomate se almacenaron en temperatura ambiente. El proceso de extracción de DNA vegetal se realizó en un método modificado basado en el reportado por Dellaporta *et al.* (1983).

Amplificación de DNA viral por medio de PCR. Antes de amplificar las muestras por medio de PCR, éstas se sometieron a una reacción de amplificación de círculo rodante utilizando el kit TempliPhi (GE Healthcare Life Science). La amplificación del DNA viral por PCR se llevó a cabo utilizando dos parejas de oligonucleótidos, la pareja A consta de los oligonucleótidos Rep DGR-N (forward) y YMAC-N (reverse), amplifican un fragmento de 1395 pb, que corresponde al componente A del Begomovirus; la pareja B consta de los oligonucleótidos Rep N-SL-2150 (forward) y YMAC-N (reverse), amplifican un fragmento de 1323 pb, corresponde al componente A del Begomovirus. La mezcla final de reacción del PCR (50 µl volumen total) consistió en 1.5 mM $MgCl_2$, buffer Taq 1x, 0.2 mM de dNTP's, 0.3 pM/µl de cada oligonucleótido, 0.4 U/ml de Taq polimerasa y 1 µl de DNA (100 ng/µl). La mezcla de reacción fue introducida en un termociclador con el programa Gemini Mot, las condiciones fueron: una desnaturalización inicial a 94°C por 5 min, seguido de 35 ciclos a 94°C por 1 min, 55°C por 1 min, 72° C por 1 min y una extensión final a 72°C por 5 min.

Clonación de producto de PCR. El producto de PCR obtenido de las muestras analizadas se sometió a una reacción de ligación. La mezcla de ligación (10 µl volumen total) utilizando el vector pGEM. Se utilizaron las bacterias *E.coli* de la cepa de células competentes Top10, para ser transformadas con el producto de ligación. Mediante choque térmico el DNA fue introducido a las bacterias, se prepararon placas con medio agar LB, que también contenían carbenicilina (por 1 ml de LB/ 1 µl de Cb), una vez solidificadas las placas, se añadieron IPTG y X-gal. Se sembraron las células transformadas en las placas, finalmente se incubó a 37 °C durante toda la noche, aproximadamente 18 horas.

Extracción de DNA plasmídico. Después se realizó una extracción de DNA plasmídico de las colonias transformadas siguiendo el método reportado por Birnboim *et al.* (1979). al finalizar, el DNA compactado en forma de pastilla se resuspendió en 50 µl de TE (Tris 1 M pH 8, EDTA 0.5 M pH 8).

Análisis de las clonas obtenidas por medio de digestiones. Se realizó una digestión con la enzima EcoRI para verificar si el vector tenía el inserto. Se realizó una doble digestión utilizando las enzimas EcoRI y HinfI; se analizó por medio de RFLP.

Purificación y cuantificación de DNA. Se utilizó un kit comercial (Jena Biosciense) para purificar el DNA plasmídico extraído previamente, se seleccionaron las clonas con patrones distintos en la doble digestión. Una vez purificado el DNA, éste se cuantificó utilizando un espectrofotómetro UV-Vis (NanoDrop 2000 Thermo Scientific) para evaluar su pureza y concentración. El DNA fue diluido a una concentración de 50 ng/µl en un volumen de 50 µl para que posteriormente fuera secuenciado.

Secuenciación de DNA. Se mandaron secuenciar 10 clonas distintas, la secuenciación fue realizada por el LANBAMA-IPICYT (San Luis Potosí, México) utilizando el secuenciador 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems). Las secuencias obtenidas fueron comparadas en la base de datos de Blast, NCBI.

RESULTADOS

A partir del DNA vegetal extraído de las muestras previamente mencionadas, se analizó su calidad realizando una electroforesis en gel de agarosa (Figura 1), en ambos geles (Figura 1A y 1B) se observa que se obtuvo el DNA vegetal.

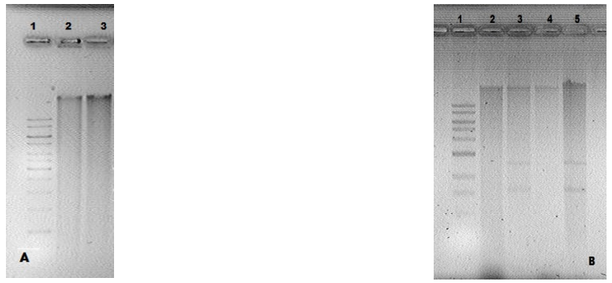


Figura 1. Análisis de extracción de DNA vegetal. (A) Electroforesis en gel de agarosa al 1%, 74V/1 hr y 20 min: carril 1) GeneRuler 1 kb DNA Ladder; 2) Dur-1; 3) MM. (B) Electroforesis de agarosa al 1%, 74V/1 hr y 20 min: carril 1) 1 kb DNA Ladder NEB;2) Chile-Dur1; 3) Jitomate-Dur1; 4) Chile-Dur2; 5) Jitomate-Dur.

Posteriormente se realizó una amplificación por medio de PCR, empleando dos parejas de oligonucleótidos distintas, el producto de PCR obtenido se analizó en electroforesis en gel de agarosa (Figura 2), se observó que las muestras que dieron positivo (amplificaron DNA viral) fueron Dur1A y Dur1B y NueA y NueB (Figura 2A); también las muestras Jitomate-Dur2A y Jitomate-Dur2B (Figura 2B), estas muestras fueron seleccionadas para ser ligadas y transformadas.

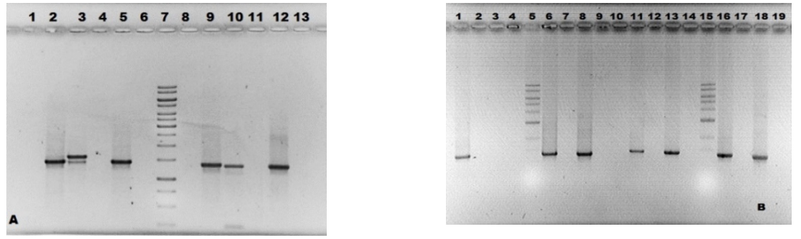


Figura 2. Análisis de PCR. (A) Electroforesis en gel de agarosa al 1%, 74 V/1 hr y 20 min, PCR con la pareja de oligonucleótidos A: carril 1) MM; 2) Dur1; 3) Nueva; 4) Jit-LABAMA; 5) control positivo; 6) control negativo; 7) GeneRuler 1 kb DNA Ladder; PCR con la pareja de oligonucleótidos B: carril 8) MM; 9) Dur1; 10) Nueva; 11) Jit-LANBAMA;12) control positivo;13) control negativo. (B) Electroforesis en gel de agarosa al 1%, 74 V/1 hr y 20 min, PCR con la pareja de oligonucleótidos A: carril 1) Jitomate-Dur2; 2) Chile-Dur1; 3) control positivo; 4) control negativo; 5) 1 kb DNA Ladder NEB; pareja de oligonucleótidos B: 6) Jitomate-Dur2; 7) Chile-Dur1; 8) control positivo; 9) control negativo; 10) Espacio ; pareja de oligonucleótidos A: 11) Jitomate-Dur2; 12) Chile-Dur1; 13) control positivo; 14) control negativo; 15) 1 kb DNA Ladder NEB; pareja de oligonucleótidos B: carril 16) Jitomate-Dur2; 17) Chile-Dur1;18) control positivo;19) control negativo.

Los productos de PCR se sometieron a una reacción de ligación y a una transformación, una vez obtenidas las colonias, estas se inocularon para posteriormente realizar una extracción de DNA plasmídico y así poder analizar a través de una electroforesis en gel de agarosa, si el vector pGEM T-Easy tenía el inserto (producto de PCR), se observa en el gel que hubieron dos bandas cerca una de otra, de peso molecular alrededor de los 3000 pb y 2000 pb, se descartaron 5 muestras, ya que no tenían el inserto (Figura 3A), en las otras muestras (Figura 3B) se observa que todas las muestras poseen el inserto, aunque las muestras de los carriles) 10,12,13,15 y 17 se mostraron tenues, sin embargo no se descartó ninguna muestra.

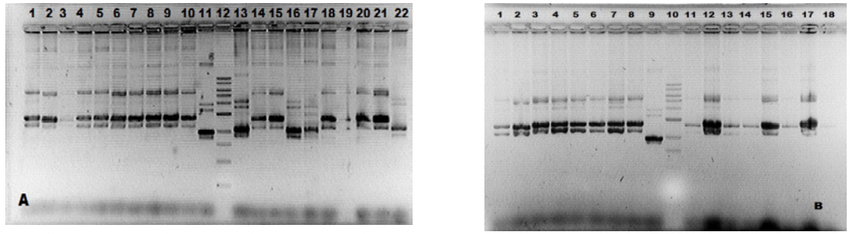


Figura 3. Análisis de DNA plasmídico. (A) Electroforesis en gel de agarosa al 1% , 74 V/1 hr y 20 min: carril 1-5) Nueva A clonas 1-5; carril 6-10) Dur1A clonas 1-5; carril 11) pGEM; carril 12) 1 kb DNA Ladder NEB; carril 13-17) NuevaB clonas 1-5; carril 18-22) Dur1B clonas 1-5. (B) Electroforesis en gel de agarosa al 1%, 74 V/1 hr y 20 min: carril 1-8) Jitomate-Dura-A clonas 1-8; carril 9) pGEM; carril 10) 1 kb DNA Ladder NEB; carril 11-18) Jitomate-Dura-B clonas 1-8.

Una vez seleccionadas las clonas que se obtuvieron a partir de la extracción de DNA plasmídico, se prosiguió a la digestión, primero fue con EcoRI, para comprobar si el vector tenía el inserto, se utilizó esta enzima para poder liberar el inserto debido a que el vector pGEM-T Easy contiene en el polylinker EcoRI, en el gel de la Figura 4A se observó que todas las clonas poseían el inserto, debido a la presencia de la banda del vector (3015 pb) y también la banda del inserto (1395 pb); en la Figura 4B también se observó el patrón mencionado, aunque unas muestras fueron más tenues. En la doble digestión, se observaron distintos patrones en ambos geles (Figura 4C y 4D) lo que lleva a deducir que diferentes patrones indican distintas especies de *Begomovirus*, esta deducción se basó en la técnica de RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), al utilizar dos enzimas en secuencias de DNA distintas, estas se fragmentaran en tamaños variados, no serán iguales los fragmentos (Pereira *et al.* 2008).

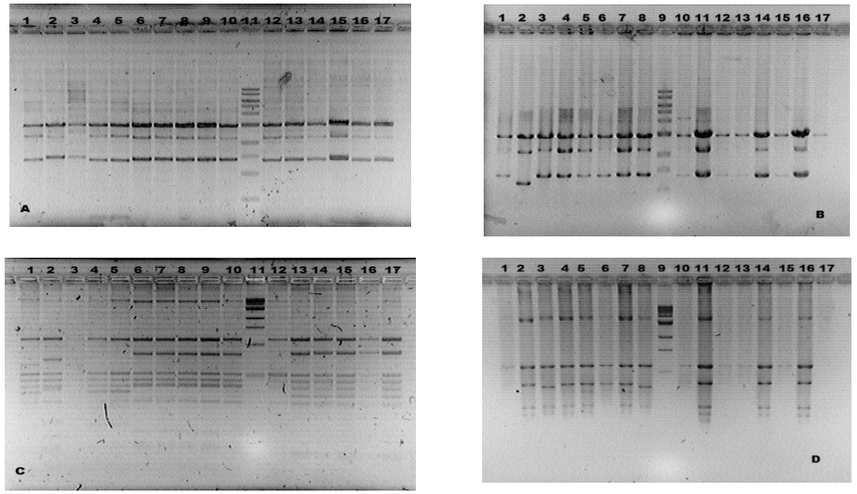


Figura 4. Análisis por medio de digestiones. (A) Digestión con EcoRI, Electroforesis en gel de agarosa 1% 74V/1 hr y 20 min, carril 1-5) NuevaA clonas 1-5; carril 6-10) Dur1A clonas 7-10; carril 11) 1 kb DNA NEB; carril 12-15) Dur1B clonas 1-4; carril 16-17) NuevaB Clona 2-3. (B) Digestión con EcoRI, Electroforesis en gel de agarosa 1% 74V/1hr y 20 min, carril 1-8) Jitomate-Dura-A Clonas 1-8; carril 9) 1 kb DNA Ladder NEB; carril 10-17) Jitomate-Dura-B Clonas 1-8. (C) Digestión con EcoRI y HinfI, Electroforesis en gel de agarosa 2.5% 84/1 hr y 30 min, carril 1-5) NuevaA clonas 1-5; carril 6-10) Dur1A clonas 1-5; carril 11) 1 kb DNA NEB; carril 12-13) NuevaB clonas 2-3; carril 14-17) Dur1B clonas 1-4. (D) Digestión con EcoRI y HinfI, Electroforesis en gel de agarosa 2.5% 84/1 hr y 30 min, carril 1-8) Jitomate-Dura-A Clonas 1-8; carril 9) 1 kb DNA Ladder NEB; carril 10-17) Jitomate-Dura-B Clonas 1-8.

Se seleccionaron los distintos patrones que se observaron en los geles de agarosa, para posteriormente preparar las muestras escogidas para mandar a secuenciar, las cuales fueron diez muestras diferentes.

Las secuencias obtenidas fueron analizadas mediante BLAST en NBCI para comparar las secuencias problema con las que se encuentran reportadas actualmente. Se identificaron seis especies de *Begomovirus* distintas (Tabla 1); en las muestras analizadas se presentaron infecciones mixtas.

Muestra	Virus identificado	Porcentaje de identidad comparado en NCBI
Dur1A clona 4	PHYVV (Pepper huesteco yellow vein virus)	98%
NueA clona 2	ToMoV (Tomato mottle virus)	96%
NueA clona 5	EuMV (Euphorbia mosaic virus)	96%
NueB clona 2	ToSLCV (Tomato severe leaf curl virus)	93 %
NueB clona 3	TYLCV (Tomato yellow leaf curl virus)	97%
Dur1B clona 2	PepGMV (Pepper golden mosaic virus)	96%
JitoA clona 4	PHYVV (Pepper huesteco yellow vein virus)	99%
JitoA clona 8	PHYVV (Pepper huesteco yellow vein virus)	98%
JitoB clona 2	PepGMV (Pepper golden mosaic virus)	93%
JitoB clona 7	PepGMV (Pepper golden mosaic virus)	93%

Tabla 1. Virus identificados de muestras secuenciadas.

CONCLUSIONES

Los *Begomovirus* siguen siendo un problema actual que afecta especialmente a la agricultura, en México afecta cultivos de jitomate y chile principalmente. En el presente trabajo se lograron diagnosticar seis especies distintas de *Begomovirus,* realizando técnicas de biología molecular, la técnica de RFPL fue decisiva para identificar secuencias diferentes. El método empleado permite identificar con éxito varias especies a la vez en una muestra. Se encontraron de dos a cuatro virus por muestra analizada, generalmente los Geminivirus actúan de manera sinérgica, potenciando la infección.

BIBLIOGRAFIA

Birnboim, H.C., & Doly, J. (1979). A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant plasmid DNA. *Nucleic Acids Research*., 7: 1513-1523.

Dellaporta, S.J., Wood, J., & Hicks, J.B. (1983). A plant DNA minipreparation: version II. *Plant Molecular Biology* 1:19- 21

Faría, A.E., & Nava, A. (2009). Detección por PCR de Begomovirus en el cultivo del tomate en las áreas productoras de los Andes venezolanos. *Rev. Fac. Agron.,* 26:179-195

Gaur, R.L., Hohn, T., & Sharma, P. (2014). Transmission and Host Interaction of *Geminivirus* in Weeds, *Plant Virus-Host Interaction Molecular Approaches and Viral Evolution* (pp. 145-146).Estado Unidos: Elsevier.

Pererira, F., Carneriro, J., &Amorim, A. (2008). Identification of Species with DNA-bases Technology: Current Progress and Challenges. *Recent Patents on DNA & Gene Sequences.,* 2: 187-200

Rey, M.E.C., Ndunguru, J., Berrie, L.C., Paximadis, M., Berry, S., Cossa, N., Nuaila, V.N., Mabasa, K.G., Abraham, N., Rybicki, E.P., Martin, D., Pietersen, G., Esterhuizen, L.L., (2012). Diversity of dicotyledenous-infecting geminiviruses and their associated DNA molecules in southern Africa, including the South-west Indian ocean islands. *Viruses* 4 (9), 1753–1791.

Zuñiga-Vega, C., & Ramírez, P. (2002). Los Geminivirus, patógenos de importancia mundial. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*., 64: 25-33

INVESTIGACIÓN EN NUTRIENTES ORGÁNICOS PARA LA ELABORACIÓN DE BIOFERTILIZANTES

María Rosalba Gómez Pedro[1] y Raúl Armenta Villanueva[2]

RESUMEN

Ante la gran problemática presentada en el sector agropecuario como resultado de la actividad humana, se deberán adoptar políticas encaminadas a impulsar el desarrollo sustentable y garantizar que la superficie agrícola sea más productiva para satisfacer la demanda de alimentos, lo cual se lograra utilizando insumos altamente eficientes diferentes a los agroquímicos.
Los fertilizantes orgánicos son productos de origen vegetal o animal que, por efecto de la descomposición microbiana e incorporación al suelo, suministran elementos útiles para el crecimiento de las plantas con un impacto mínimo para el medio ambiente.
Estas tecnologías son el complemento perfecto para los insumos químicos aplicados en la agricultura convencional de manera que pueda brindar nutrición y protección vegetal a los cultivos con los cuales, se logra reducir el uso de fertilizantes químicos para enfrentar el principal reto actual de la agricultura y producir cada vez más alimentos de manera sustentable.

ABSTRACT

Given the great problems presented in the agricultural sector as a result of human activity, they should adopt policies to promote sustainable development and ensuring that agricultural land is more productive to meet the demand for food, which was achieved using highly efficient inputs different agrochemicals. Organic fertilizers are products of vegetable or animal origin, as a result of microbial decomposition and incorporation into the soil, provide useful elements for plant growth with minimal impact to the environment. These technologies are the perfect complement for chemical inputs applied in conventional agriculture so that it can provide nutrition and plant protection of crops which are able to reduce the use of chemical fertilizers to address the main challenge of agriculture and produce growing food sustainably.

Palabras clave: Biofertilizantes, microorganismos,

INTRODUCCION

De acuerdo a la Organización para las Naciones Unidas para la Alimentación y laAgricultura (FAO) los dos principales retos a cumplir en el futuro son: eliminar el hambre y la pobreza del mundo[1]. La Agricultura tiene un papel muy importante para que se cumplan estos objetivos. Sin embargo, la demanda de alimentos en el mundo aumenta, mientras que los dos recursos primordiales en Agricultura, el suelo y el agua se pierden rápidamente. Por ello, la Agricultura debe ser una actividad que conserve el suelo y mejore las condiciones de aquellos que ya se han degradado y evitar que se desmonten los sistemas vegetales para generar más tierra cultivable, pues son estos los que permiten captar el agua.

Las condiciones ecológicas bajo a las cuales se practica la agricultura imponen un reto para los agricultores, particularmente para aquellos que desarrollan su actividad y que enfrentan limitaciones como una alta incidencia de enfermedades en el suelo o la presencia de concentraciones perjudiciales de sodio, carbonato o compuestos xenobióticos (sintéticos).

Las limitaciones de estas zonas constituyen un área de oportunidad para la utilización de biofertilizantes que puedan mejorar la disponibilidad de nutrientes y agua, disminuir la carga de agentes contaminantes o controlar la incidencia de enfermedades en los cultivos.

En el estado de Guanajuato cada vez tenemos menos extensión de tierras cultivables debido al aumento demográfico y de la actividad industrial, la reducción en la superficie agrícola reportada en los estudios realizados en 1993 y 2009 indica un crecimiento de las áreas urbanas, la construcción de nuevas vías de comunicación y el abandono de tierras. Esto representa aproximadamente 14 658 hectáreas menos por año de la superficie agrícola[2].

La degradación de tierras es otra causa importante en el abandono de tierras, debido a los bajos rendimientos y producción de las parcelas, el costo elevado de los insumos de producción (semilla, fertilizante, agroquímicos, etc.).

El coste de la restauración de la tierra oscila de forma global entre 33 y 227 euros por hectárea según estimaciones de (Mc Kinsey and Company)[1]. Los terrenos agrícolas son dependientes de la aplicación de fertilizantes, herbicidas e insecticidas. En este sentido, de acuerdo con los resultados del Censo Agropecuario 2007, de la superficie agrícola total en Guanajuato se aplicaron fertilizantes químicos en 559 mil 363 hectáreas.

Una estrategia para aumentar el rendimiento de los cultivos y mejorar el suelo es el uso de microorganismos que se asocian a las plantas y son capaces de promover su crecimiento, denominados Biofertilizantes o Inoculantes. Los Biofertilizantes pueden definirse como: “Productos tecnológicos elaborados con microorganismos benéficos que promueven el crecimiento de las plantas y les pueden proporcionar nutrientes”.

El uso de Biofertilizantes en Agricultura tiene dos ventajas principales, una ecológica y otra económica. Como ya se mencionó antes, los fertilizantes químicos se usan en

[1] Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Departamento de Sociología, Calzada Antonio Narro #1923 col. Buenavista, C.P: 25315, Saltillo, Coahuila, México. mariarosalbagomezpedro@gmail.com
[2] Instituto Tecnológico Superior de Irapuato. Carretera Irapuato - Silao Km. 12.5, Col. El Copal, C.P: 36821. Irapuato, Guanajuato, México. Teléfono: (462) 6-06-79-00 Ext. 175; raul.armenta@itesi.edu.mx

muchos casos en forma excesiva de modo que la parte no aprovechada por las plantas termina contaminando aguas subterráneas, ríos, lagos y océanos. Aun cuando se apliquen en forma moderada, solamente un porcentaje de los fertilizantes químicos será absorbido.

METODOLOGIA

El diseño de la investigación es documental no experimental con un enfoque exploratorio puesto que solo se realizaron consultas de material bibliográfico para elaborar la propuesta final, la cual se plantea tendrá beneficios tanto a los cultivos y su producción como al suelo disminuyendo su desgaste.

RESULTADOS

En esta investigación se buscó componentes de diferentes biofertilizantes y los beneficios que aportan al cultivo y el suelo, partiendo de lo investigado proponer un biofertilizante que ayude a mejorar las condiciones de la producción agrícola permitiendo que se aprovechen mejor los nutrientes con el menor desgaste posible en el suelo y sus consecuentes beneficios.

En base a lo investigado se propone los siguientes componentes para la creación de un nuevo biofertilizante que cumple con los objetivos planteados en la investigación

Componente	Melaza	Suero de leche (g/L)		Sustancias húmicas		Liquido o exudado de lombriz
		Suero dulce	Suero acido	AH	AF	
N	1.3 %			0.8-4.3 %	0.9-3.3%	0.65 %
P	0.5 %	0.4-0.7	0.5-0.8			0.01 %
K	4.0 %	1.4-1.6	1.4-1.6			1.21 %
Ca		0.4-0.6	1.2-1.6			1.87 %
Mg						1.06 %
Na						1.51 %
AH						5.01 %
AF						1.48 %
Fe						14 Mg kg
Zn						2.3 Mg kg
Mn						3.1 Mg kg
Cu						3.1 Mg kg
S				0.1-1.5 %	0.1-3.6 %	

B						27 Mg kg
PROTEINA		6.0-10.0	6.0-8.0			
Flora microbiana benéfica						$1.1x10^6$

CONCLUSION

Los biofertilizantes son más baratos de producir que los fertilizantes químicos y eso permite que su precio sea más bajo que el de los fertilizantes químicos y por tanto se reducen los costos de producción.

Por ello, es importante explorar alternativas que detengan el deterioro del suelo como el uso de Biofertilizantes. Estos son una opción para el agricultor que le permite enfrentar los altos costos de la fertilización química y disminuir los efectos contaminantes al ambiente que éstos tienen y a su vez mejorar las condiciones del suelo.

El uso de biofertilizantes tendrá un impacto positivo en el suelo con problemas de fertilidad, pérdida de materia orgánica y disminución de la actividad biológica y además actuaría como un complemento a la fertilización química lo que permite aumentar en la mayoría de los casos el rendimiento.

Esta investigación es el punto de partida para un estudio posterior de mayor profundidad.

BIBLIOGRAFIA

1. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO).2011. Current world fertilizers trends and outlook to 2015. Roma
2. Unidad de Desarrollo Agrícola CEPAL. 2005. "México desempeño agropecuario y mercado laboral. 1994-2004". 2004.
3. (Mc Kinsey and Company: Pathways to a low carbon economy, Version 2 of the global greenhouse gas abatement cost curve, 2009, p. 16/ 125/ 189)
4. *FINCK, Arnold (1988), Fertilizantes y fertilización, traducido del alemán por V. H. Fernández y M. T. Pardo Fernández, Barcelona, Reverté.*
5. Duxbury, J. M. 1994. The significance of agricultural sources of greenhouse gases. Fert. Res. 38: 151-163
6. (Voet, 1996: 8
7. Vessey, J. K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant Soil. 255:571-586.
8. (Caballero-Mellado *et al*., 1992; Grageda-Cabrera *et al*., 2003).

9. (Vessey, 2003).
10. (Bashan, 2008).
11. (Elliott y Lynch, 1995)
12. Manual teórico-práctico Los Biofertilizantes y su uso en la Agricultura SAGARPA-COFUPRO-UNAM.
13. (Grageda-Cabrera .2008)
14. (Sampieri, Fernández, Metodología de la investigación 5a edición .Mc Graw Hill)
15. Sánchez et al. (2005)
16. (Jairo Restrepo Rivera Cali, 2007 Biofertilizantes preparados y fermentados a base de mierda de vaca)
17. (Restrepo, 2001)
18. http://www.humicsubstances.org/
19. (Piccolo et al., 1997).
20. (Ocio et al., 1990)
21. (Fernández et al., 2003)

ESTUDIO DE LA DIGESTIBILIDAD DE HARINAS DE FRUTAS DE LA REGIÓN HUASTECA SUR (PLÁTANO, MANGO Y JACA)

Hernández Hernández Francisco Manuel[1] y Espinosa Solís Vicente[1]

RESUMEN

Se analizó 3 fuentes no convencionales para la obtención de almidón, se aislaron almidones de plátano morado, mango Tommy en estado inmaduro y almidón de semillas de jaca, utilizando una molienda humedad. El proceso de aislamiento de almidón preservó la estructura granular, el almidón de plátano presentó el mayor porcentaje de recuperación. El almidón de plátano morado presentó el menor contenido de almidón total (87.49%). Los almidones de mango y plátano gelatinizados no presentaron niveles significativos de ADL y AR. El almidón de semillas de jaca gelatinizado presentó un 43.27% de AR, mucho mayor al encontrado en una muestra comercial de almidón de maíz. El consumo de almidón de jaca podría tener efectos benéficos por su alto contenido de AR.

ABSTRACT

Was analyzed three unconventional sources for obtaining starch, starch was isolated from unripe purple banana and mango (Tommy Atkins), and jackfruit seed starch was obtained using wet milling. Isolation process preserved the granular structure of starch, banana starch had the highest percentage of recovery. Purple banana starch had the lowest total starch content (87.49 %). The gelatinized starches from mango and banana showed no significant levels of slowly digestible starch (SDS) and resistant starch (RS). On the other hand, the gelatinized starch from jackfruit seeds showed a 43.27 % RS content, much higher than the one found in a commercial sample of corn starch. The jackfruit starch consumption may have beneficial effects due to its high content of RS.

Palabras clave: almidón de frutos inmaduros, almidón resistente, almidón de jaca

INTRODUCCIÓN

La huasteca sur del estado de San Luis Potosí es reconocida por su diversidad de frutas tropicales. La mayor parte de estas frutas son cosechadas en zonas rurales en donde se asientan comunidades indígenas, en cada uno de los municipios (Tamazunchale, Matlapa, Tampacan, San Martin Chalchicuautla, Xilitla, Axtla de Terrazas y Coxcatlàn) se comercializan estos mismos de manera local y regional. Sin embargo, mucha de estas frutas de temporal son desperdiciadas ya que se quedan en los arboles sin darles un uso convencional para el consumo o en el mejor de los casos un uso alternativo, en ese sentido, el aprovechamiento de las materias primas en esta región ha despertado un gran interés para la agroindustria. En específico frutas como el mango, plátano y jaca han sido utilizadas en otras investigaciones por su alto contenido de carbohidratos digeribles como el almidón (Tran *et al.,* 2015; Zhang & Hamaker, 2012; Sandhu & Lim, 2008) motivo por el cual se planteó el aislar estos almidones de dichos frutales para darle un uso alternativo a la fruta no utilizada.

El almidón es una fracción importante de un gran número de productos agrícolas: maíz, trigo, arroz (30 a 80% de almidón); frijol, chícharo y haba (25 a 50%); papa, yuca (entre 60 y 90%), y algunas frutas, como el plátano y el mango, que en su estado verde o inmaduro alcanzan contenidos de almidón de hasta 70% en base seca (Bello-Pérez *et al*., 1999). Por otra parte, la fruta de la jaca (*Artocarpus heterophyllus* L) en su madurez fisiológica, ha sido objeto de estudio, y se ha reportado un contenido en almidón elevado en

[1] Coordinación Académica Región Huasteca Sur, Universidad Autónoma de San Luis Potosí; Carretera: Tamazunchale-San Martin Km. 5, C.P 79960, Tamazunchale, San Luis Potosí., México. franmanuel1308@gmail.com; vicente.espinosa@uaslp.mx

las semillas de alrededor de un 14 % (Madrigal-Aldana *et al.,* 2011) aunque estos valores son variadas (Tulyathan *et al*., 2002; Ajayi, 2008).

Por sus propiedades fisicoquímicas y funcionales el almidón se ha usado en diferentes industrias como la de alimentos, farmacéutica, petrolera y textil. La función energética del almidón está determinada por la cantidad de glucosa liberada y por la velocidad de hidrólisis durante el proceso de digestión. De acuerdo con esto, se han descrito tres fracciones de almidón (Englyst *et al*., 1992): almidón de digestión rápida (ADR), que es la fracción digerida dentro de los primeros 20 minutos; almidón de digestión lenta (ADL), fracción digerida entre 20 y 120 minutos; y almidón resistente (AR) el cual no se digiere ni absorbe en el intestino delgado, ya que resiste el ataque de las enzimas amilolíticas, en lugar de ello, este es fermentado en el colon, los productos de dicha fermentación (ácidos grasos de cadena corta) se les atribuye efectos benéficos similares a los de la fibra dietética soluble (Tovar *et al*., 2006). El objetivo del presente trabajo fue aislar los almidones de las frutas desaprovechadas en la huasteca potosina para poderles dar un uso alternativo, así como también determinar las características de digestibilidad presentes en dichos almidones para sugerir posibles aplicaciones.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia Prima. Se utilizó frutos inmaduros de mango (*Mangifera indica* L.) variedad Tommy Atkins (Figura 1A) y plátano (*Musa paradisiaca* L) variedad morado (Figura 1B), mientras que la fruta jaca (*Artocarpus heterophyllus* L) fue utilizada en estado maduro (Figura 1C) de la cual solo fue utilizada las semillas (Figura 1D). Esta materia prima fue obtenida en la comunidad Mahuajco, Coxcatlán, S.L.P., México.

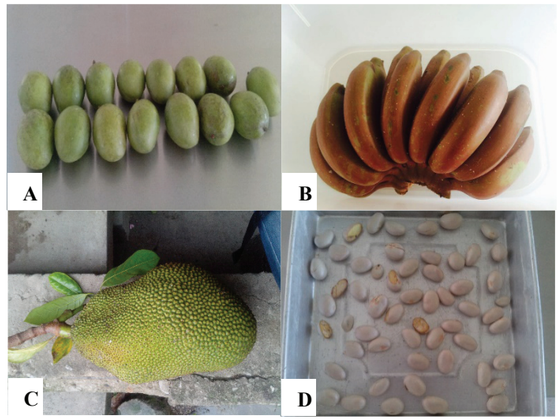


Figura 1. Fotografías de los frutos: A) Mango Tommy Atkins, B) Plátano Morado, C) Jaca, D) Semillas de jaca.

Aislamiento de almidón de plátano morado y mango. Para el aislamiento del almidón de los frutos inmaduros, se utilizó una moliendo húmeda siguiendo la metodología propuesta por Whistler (1998) con algunas modificaciones. La fruta se lavó y se retiró la cascara, para después obtener pedazos de fruta de 5 cm de diámetro, los trozos del material biológico fueron sumergidos inmediatamente en una solución de bisulfito de sodio (1%, p/p, pH 4.5) en una relación 1:2 material biológico/solución. A continuación la mezcla fue molida en una licuadora industrial (International, modelo L1-5, México) dejando reposar esta solución por 4 horas, posteriormente se tamizó dicha mezcla, utilizando tamices de 50, 100 y 200 mesh. La solución tamizada se guardó por 12 horas a 4°C y posteriormente se decantó. La solución final fue

centrifugada (Centrifuge 5810R, Eppendorf, Germany) a 4000 rpm por 10 min y se eliminó el sobrenadante, se procedió a enjuagar el residuo con agua destilada y fue nuevamente centrifugado bajo las condiciones antes descritas, este proceso fue repetido 2 veces más. El precipitado final fue secado en un horno a 45 °C durante 16 horas. La muestra fue tamizada a través de una malla de 50 mesh y almacenada en bolsa de plástico hasta su posterior uso. El rendimiento del almidón obtenido fue calculado con la ecuación (1):

$$\%\ Rendimiento = \frac{(Peso\ del\ almidón\ obtenido)}{(Peso\ de\ la\ fruta\ utilizada)} X100 \qquad (1)$$

Aislamiento del almidón de Jaca. Para la obtención del almidón de jaca, las semillas de jaca fueron pre-tratados siguiendo la metodología propuesta por Tulyathan *et al*. (2002) con algunas modificaciones. La fruta fue pesada y lavada, se le realizo un corte longitudinal y transversal, enseguida se extrajeron las semillas manualmente las cuales se pesaron, para remover la lejilla y endospermo de las semillas, se sumergieron en una solución de hidróxido de sodio (5%, p/p) dejando en reposo por 30 min, al final se enjuago con abundante agua purificada para eliminar completamente cualquier traza de álcali. Para seguir el aislamiento del almidón se utilizó una moliendo húmeda siguiendo la metodología utilizada para el aislamiento de almidón de mango y plátano.

Micrografía de campo claro 100 X. Las muestras de almidón nativo se hidrataron al 10% (p/p) con agua destilada, de la cual se tomó una alícuota para la observación de los gránulos por medio de un microscopio óptico (Leica, modelo DM750) con una aproximación de 100X.

Determinación de humedad. Se utilizó el método 44-19 (AACC, 2000) El análisis se hizo por triplicado.

Determinación de Almidón Total. Para conocer la pureza de los almidones obtenidos y poder cuantificar el contenido de almidón resistente, se determinó el contenido de almidón total siguiendo la método 76.13 de la AACC. (2000). Para lo cual se utilizó el kit de la empresa Megazyme International (Ireland Ltd). Este método gelatiniza el almidón con una solución de KOH para posteriormente hidrolizar las muestras con las enzimas α-amilasa y amiloglucosidasa. La cantidad de glucosa liberada es cuantificada mediante el reactivo Glucosa Oxidasa-Peroxidasa (GOPOD).

Digestibilidad *in vitro* de los almidones gelatinizados. La digestibilidad de los almidones nativo se analizó utilizando la técnica propuesta por Englyst *et al.,* (1992). Con la cual se determinó las fracciones ADR, ADL y AR. En esta técnica los almidones fueron gelatinizados durante 20 min en agua a ebullición para posteriormente utilizar un coctel enzimático de α-amilasa, pancreatina, invertasa, peptidasa, la reacción fue evaluada tras haber transcurrido 20 y 120 min de reacción utilizando el reactivo GOPOD.

Análisis estadístico. Se aplicó un análisis de varianza (ANDEVA) de una vía con un nivel de significancia del 5% (α=0.05); para obtener los resultados, se utilizó el programa estadístico PASW Statistics, versión 18.0.0. Cuando se encontraron diferencias estadísticas significativas se utilizó la prueba de Tukey.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

En la Tabla 1 se muestran los rendimientos del aislamiento del almidón obtenidos para cada fuente botánica. En el plátano morado el porcentaje obtenido se le considera bajo en comparación al valor reportado por Whistler, (1998) quien obtuvo un 20.1% para plátano verde, estas diferencias puede deberse al tipo o variedad de plátano utilizado, ya que el plátano morado a diferencia de otras especies es de dimensiones más pequeñas y tiene mayor cantidad de cascara. Otro de los factores que pude haber afectado el % de recuperación de almidón es el estado fisiológico de la fruta, la cual pudo haber sido cortada antes de haber alcanzado la madurez fisiológica.

Tabla 1. Rendimiento del aislamiento de almidón de frutas inmaduras.

Fuente botánica	fruta utilizada (Kg)	almidón recuperado (Kg)	Rendimiento (%)
Plátano morado	7.978	0.659	8.260
Semilla de Jaca	0.265	0.052	19.622
Mango Tommy	12.31	0.285	2.315

En la figura 2 se observan que las características morfológicas de los gránulos de almidón de frutos inmaduros y jaca. Se puede apreciar que tras el proceso de secado, se mantienen intactas las estructuras granulares.

La estructura granular tiene impacto sobre las propiedades fisicoquímicas como: de formación de pasta de dichos almidones y confirma que nuestro método de aislamiento puede ser utilizado sin que este disminuya las propiedades fisicoquímicas del almidón. La forma de los gránulo de almidón de plátano morado son alargadas y curvadas (Figura 2A); los gránulos de almidón de maíz presentan formas poligonales (Figura 2D); en el caso del almidón de mango posee formas esféricas y en forma de campana (Figura 2C); por su parte los gránulos de las semillas jaca tienen forma ovalada y/o lenticular (Figura 2B) y se puede observar que son de menor tamaño en comparación con las demás muestras. Estas morfologías son similares con la reportadas por microscopia electrónica de barrido (Casarrubias-Castillo *et al.,* 2012; Kittipongpatana & Kittipongpatana, 2011).

En la Tabla 2 se presentan los resultados de la pureza de los almidones medida a través de la determinación de almidón total. Se muestran diferencias estadísticas significativas (p=0.05) entre el almidón de plátano y los demás almidones, siendo este último de menor valor. Sin embargo, estos resultados de almidón de plátano son mayores a los reportados por Rosales-Reynoso *et al. (*2014), quien reporto un contenido de AT de 66.27%. Por otro lado Noor *et al.* (2014) reportó un 86.71% de AT para las semillas de Jaca.

En la misma tabla 2 se aprecian los resultados de la digestibilidad *in vitro* de los almidones frutos gelatinizados durante 20 min. Tras el proceso térmico en exceso de agua los gránulos de almidón tienden a gelatinizar y la estructura y forma de los gránulos se pierde, en este estado de desorden los polímeros que integran al almidón: la amilosa y la amilopectina son los principales responsables de los resultados de digestibilidad (Zhang *et al.,* 2006).

En general podemos observar que el almidón de jaca posee el valor más bajo de ADR en comparación son la muestra comercial de maíz y los almidones de fuentes no convencionales (mango y plátano). Así también presenta el mayor contenido de AR (43.67%).

Estos resultados sugieren que la estructura fina de la molécula de amilopectina presente en el almidón de jaca posee un mayor contenido de cadena largas en comparación con los demás almidones analizados, estas cadenas largas crean interacciones con enlaces de puentes de hidrogeno la cual la hace que la molécula de amilopectina sea menos susceptible al hidrolisis enzimático (Zhang *et al*., 2008).

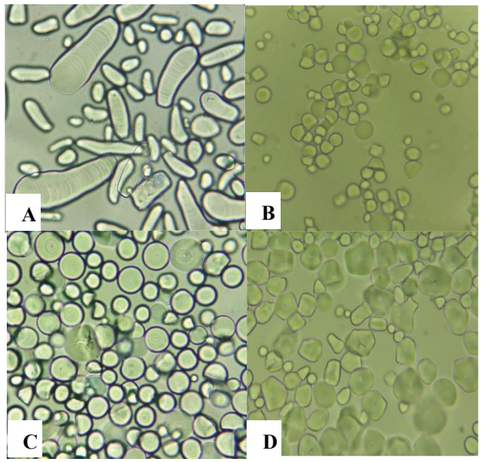


Figura 2. Micrografía de gránulos de almidón nativo. A) Plátano morado, B) Jaca, C) Mango Tommy, D) Maíz.

Tabla 2. Resultados de la* digestibilidad *in vitro y almidón total de los almidones nativos de frutos.

Muestra	ADR (%)	ADL (%)	AR (%)	AT (%)
Plátano morado	79.25±0.45 [a]	5.85±0.83 [a]	2.39±1.00 [a]	87.49 ± 2.95 [a]
Semilla de Jaca	42.95±1.31 [b]	9.19±0.56 [b, c]	43.67±1.06 [b]	95.81 ± 1.71 [b]
Mango Tommy	77.32±3.38 [a, c]	9.32±1.70 [c]	9.79±1.68 [c]	96.85 ± 1.44 [b]
Maíz	76.74±0.36 [c]	6.41±0.90 [a, b]	9.85±0.94 [c]	93.0 ± 1.0 [b]

Los resultados son medias ± desviación estándar de 3 réplicas. Las diferencias estadísticas significativas en cada columna son expresadas con diferente letra (p = 0.05).
ADR=almidón de digestión rápida, ADL= almidón de digestión lenta, AR=almidón resistente

CONCLUSIONES

El almidón gelatinizado de las semillas de jaca presenta alto contenido de AR, lo cual lo hace atractivo para su aprovechamiento agroindustrial, para elaborar alimentos que requieran un tratamiento térmico y así puedan preservar la característica de baja digestibilidad. La obtención de almidones de fuentes no convencionales como es el caso del plátano y mango presentan propiedades de digestión similares a las del maíz. Sería deseable estudiar las propiedades fisicoquímicas de los almidones de este estudio para ampliar las aplicaciones de los mismos.

BIBLIOGRAFIA

AJAYI, I. A. (2008). “Comparative study of the chemical composition and mineral element content of *Artocarpus heterophyllus* and *Treculia africana* seeds and seed oils”, Bioresour, en *Technol*, Núm. 99, [pp.5125–5129].

AACC. (2000). Approved methods of the American association of cereal chemist, 10th Vol II. St. Paul, M. N.
BELLO-PÉREZ, L. A., & O. PAREDES-LÓPEZ. (1999). "El almidón: lo comemos pero no lo conocemos" en *Ciencia*, Núm. 50, [pp. 29-33].
CASARRUBIAS-CASTILLO, M.G., MÉNDEZ-MONTEALVO, G., RODRÍGUEZ-AMBRIZ, S.L., SÁNCHEZ-RIVERA, M.M. & BELLO-PÉREZ, L.A. (2012). "Structural and rheological differences between fruit and cereal starches" en *Agrociencia*, Núm. 46, [pp. 455-466].
ENGLYST H.N., KINGMAN S.M. & CUMMINGS J.H. (1992). "Classification and measurement of nutritionally important starch fractions" en *Journal of Clinical Nutrition*, Núm.46, [pp. 33–50].
KITTIPONGPATANA, O. S. & KITTIPONGPATANA, N. (2011). "Preparation and physicochemical properties of modified jackfruit starches" en *Food Science and Technology*, Núm. 44, [pp. 1766-1773].
MADRIGAL-ALDANA, D.L., TOVAR-GOMEZ, B., MATA-MONTES DE OCA, M., SAYAGO-AYERDI, S.G., GUTIERREZ-MERAZ, F. & BELLO-PEREZ, L.A. (2011). "Isolation and characterization of Mexican jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* L) seeds starch in two mature stages" en *Starch/Starke*, Núm. 63, [pp. 364–372].
NOOR, F., RAHMAN, M.J., MAHOMUD, M.S., AKTER, M.S., TALUKDER, M.A.I. & AHMED, M. (2014). "Physicochemical Properties of Flour and Extraction of Starch from Jackfruit Seed" en *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, Núm. 3, [pp. 347-354].
ROSALES-REYNOSO, O.L., AGAMA-ACEVEDO, E., AGUIRRE-CRUZ, A., BELLO-PEREZ, L.A., DUFOUR, D. & GIBERT, O. (2014). "Evaluación fisicoquímica de variedades de plátanos (musa sp.) de cocción y postre" en *Agrociencia*, Nùm. 48, [pp. 387-401].
SANDHU, K.S., & LIM, S-T.(2008). "Structural characteristics and in vitro digestibility of mango kernel starches (*Mangifera indica* L.)" en *Food chemistry*, Núm. 107, [pp. 92-97].
TOVAR, J., L. A. BELLO-PÉREZ, P. OSORIO-DÍAZ, & R. RENDÓN-VILLALOBOS. (2006). "Almidón resistente: caracterización y análisis" en *Carbohidratos en alimentos regionales iberoamericanos*. Lajolo, F. M., y E. Wenzel de Menezes (eds). USP Sao Paulo, Brasil, [pp. 63-64].
TRAN, P.L., DANG-NGUYEN, D.H., DO, V.H., KIM, Y.L., PARK, S., YOO, S-H., LEE, S., & KIM, Y-R. (2015). "Physicochemical properties of native and partially gelatinized high-amylose jackfruit (Artocarpus heterophyllus Lam) seed starch" en *LWT-Food Science and Technology*, Nùm. 62, [pp. 1091-1098].
TULYATHAN, V., TANANUWONG, K., SONGJINDA, P., & JAIBOON, N. (2002). "Some physicochemical properties of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam) seed flour and starch" en *Sci. Asia*, Nùm. 28, [pp. 37–41].
WHISTLER, R. L. (1998). "Banana starch production". *US Patent 5797985*.
ZHANG, G., AO, Z., & HAMAKER, B.R. (2006). "Slowly digestion property of native cereal starches" en *Biomacromolecules*, Nùm. 7, [pp. 3252-3258].
ZHANG, G., SOFYAN, M. & HAMAKER, B.R. (2008). "Slowly Digestible State of Starch: Mechanism of Slow Digestion Property of Gelatinized Maize Starch" en *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Nùm. 56, [pp. 4695–4702].
ZHANG, P., AND HAMAKER, B.R. (2012). "Banana Starch structure and digestibility" en *Carbohydrate polymers*, Nùm. 87, [pp.1552-1558].

CARACTERIZACION DEL POTENCIAL AGRONOMICO, CALIDAD FORRAJERA Y DE GRANO DE COLECTAS DE MAIZ DEL BANCO DE GERMOPLASMA DE CIMMYT

Normayda Hernández Juárez[1] y Oralia Antuna Grijalva[2]

RESUMEN

El maíz es la principal especie cultivada en México, al ocupar anualmente alrededor de 8 millones de hectáreas. En más del 75% de esta superficie se utiliza semilla de variedades criollas, las cuales además de estar adaptadas a las condiciones climáticas de los productores, poseen características que satisfacen las necesidades del agricultor. Es por ello que se evaluaron 6 variedades de maíz del CIMMYT, llevando el proceso de caracterización y potencial agronómica y calidad de forraje. Con esta actividad se lograron caracterizar las líneas que se evaluaron esto para conocer su comportamiento y su expresión fenotípica de la planta y cuales variedades presentan mejor calidad para forraje.

ABSTRACT

Corn is the main species cultivated in Mexico, occupying about 8 million hectares annually. Over 75 % of this area landrace seed is used, which besides being adapted to the climatic conditions of the producers, have characteristics that meet the needs of the farmer. That is why 6 varieties CIMMYT maize were evaluated, leading the process of characterization and agronomic potential and forage quality. With this activity were able to characterize the lines that were evaluated to know their behavior and phenotypic expression of the plant varieties which have better quality forage.

Palabras Clave: *Zea mays, criollas, variables cuantitativas.*

INTRODUCCIÓN

El maíz (Zea mays L.) es una especie única, por la gran diversidad genética de la planta, de la mazorca y del grano, por la adaptación a diferentes ambientes, por su resistencia a enfermedades e insectos, por su tolerancia a distintos estreses ambientales, por sus múltiples usos como alimento humano o animal y por la gran variedad de productos que se obtienen de esta especie (www.fao.org)

En México, centro de origen, domesticación y diversificación del maíz (Zea mays L.), existen 59 razas. Esta diversidad es producto de milenarias prácticas agrícolas vinculadas al conocimiento tradicional de los pueblos indígenas de México, principales herederos, custodios y mejoradores del germoplasma nativo (Fernández, 2013).

El maíz es una excelente opción forrajera que por sus características productivas maximizan la capacidad de carga por hectárea, también porque ha mostrado excelentes características de palatabilidad y en consecuencia un alto consumo por el ganado. Es uno de los mejores cultivos para ensilar, ya que reúne muy buenas condiciones de valor nutritivo, alto contenido en azúcares y alto rendimiento por unidad de área. Los rendimientos que se puedan obtener varían según la variedad, la fertilidad del suelo, la edad de corte y la densidad de siembra entre otros factores. (Elizondo,2002)

[1] Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna, Departamento de Fitomejoramiento Periférico Raúl López Sánchez s/n Col. Valle Verde. CP 27059, Torreón, Coahuila. normaydajuarez_89@hotmail.com
[2] Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna, Departamento de Fitomejoramiento Periférico Raúl López Sánchez s/n Col. Valle Verde. CP 27059, Torreón, Coahuila. oatuna_77@hotmail.com

Comúnmente cada grupo de maíz se diferencia de otro en precocidad, color de grano y usos. El patrón varietal se puede describir con base en tres características básicas: color del grano, precocidad y el rendimiento de grano. Se pueden tomar otras características, caracteres vegetativos (altura de planta, altura de mazorca, número de hojas arriba de la mazorca, número de hojas abajo de la mazorca, largo de hoja de la mazorca, ancho de hoja de la mazorca, diámetro de tallo, total de hojas, índice de altura de mazorca/altura de planta, y área de la hoja de la mazorca), caracteres agronómicos (rendimiento de grano, días a floración masculina y femenina, sincronía floral, cuateo, peso de olote, calificación de mazorca con una escala de 1 a 5, donde 1 correspondió a un buen aspecto de mazorca y 5 al peor, calificación de planta con una escala de 1 a 5, donde 1 correspondió a un buen aspecto de planta y 5 al peor, número de mazorcas por planta y factor de desgrane), caracteres de la espiga (longitud del pedúnculo, longitud del tramo ramificado, longitud de la rama central, longitud de la espiga, y número total de ramas), caracteres de la mazorca (longitud de mazorca, diámetros de mazorca, de olote, de raquis, de médula, número de hileras por mazorca y número de granos por hilera), caracteres de grano (medidos en una muestra de 10 granos por parcela, longitud de grano, ancho de grano, grosor de grano y peso de 100 granos) (Ángeles *et al,* 2010).

METODOLOGIA

Al llevar a cabo esta investigación, se establecieron 6 variedades de maíz del Cimmyt, el trabajo que se realizaron durante la temporada de verano es que se caracterizaron las plantas durante la etapa vegetativa y reproductiva, se tomaron datos cuantitativos, entre los cuales altura de planta, altura de mazorca, la posición de ramas laterales de la espiga, largo y ancho de hoja, color por antocianinas en las anteras, color de estigmas, color de vaina, días a floración masculina y femenina, ángulo de la hoja superior e inferior en donde se encuentra la mazorca, grosor del tallo donde se encuentra la mazorca y los filodios que se presentaron en la mazorca. El primero dato que fue tomada fue de largo y ancho de la primera hoja verdadera con la ayuda de una regla métrica.

Después se tomaron los datos de la coloración de la vaina por antocianinas usando una escala de 1(ausente o muy débil), 3 (débil), 5 (media), 7 (fuerte), 9 (muy fuerte). Posteriormente los días a floración masculina, estas se tomaron cuando el 50% de las espigas ya soltaban el polen, enseguida los datos de floración femenina estas se tomaron cuando el 50% de las plantas presentaron los estigmas fuera del jilote. La posición de ramas laterales de la espiga se evaluó a una escala de 1 (rectilíneas),3 (ligeramente curvadas),5 (curvadas),7 (fuertemente curvadas),9 (muy fuertemente curvada), la medida del ángulo de la hoja donde se encuentra la mazorca se midió con un transportador geométrico. Las coloraciones de las anteras se evaluaron con una escala de 1 (ausente o muy débil), 3 (débil), 5 (media), 7 (fuerte), 9 (muy fuerte). El color de los estigmas por antocianinas también se manejaron escalas, 1 (las que no presentan coloración por antocianinas) y 9 (presencia de antocianinas). Para sacar la altura de la planta fue tomada con un estadal se mide desde la superficie del suelo hasta el ápice de la espiga. Y la altura de mazorca se tomaron desde la superficie del suelo hasta el nudo de inserción de la mazorca superior. Para evaluar los filodios que se encuentran en la mazorca superior también se usaron escala de 1 (ausente o muy poco), 3 (poco), 5 (moderado), 7(mucho), 9 (abundante).

RESULTADOS Y DISCUSION

Durante el curso del verano de la ciencia y tecnología, las actividades realizadas tuvieron una mayor importancia, porque a través de ello, aprendí como se caracteriza el maíz, tomar la medida de largo y ancho de la primera hoja (fig. 1 y 2), tomar los ángulos de la hoja superior e inferior en donde se encuentra la primera mazorca (fig. 3 y 4), también se evaluó la coloración de la vaina por las antocianinas (fig. 5), posición de las ramas laterales de la espiga (fig. 6), mazorca de las cuales son datos muy importantes en un proceso de investigación, las cuales nos ayudan a conocer si son aptos en una

determinada región, como influye en el rendimiento y estas son dadas por diferentes factores. Al caracterizar las plantas nos permite conocer la precocidad, el rendimiento entre otros como lo afirma ((Ángeles *et al,* 2010)), y esto es indispensable porque la precocidad es un punto muy importante para el agricultor, ya que le ahorra tiempo y costo.

Fig. 1

fig. 2

Fig. 1 y 2. Tomando datos de longitud y ancho de la hoja.

fig. 3

fig. 4

Fig. 3. Evaluando la coloración de la vaina.

Fig. 4. Evaluación de la ramas laterales de la espiga.

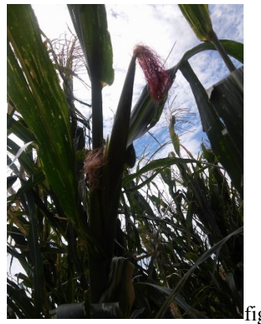


fig. 5

fig. 6

Fig. 6 y 7. Datos de días a floración masculina y femenina

fig. 7

fig. 8

Fig. 7 y 8. Tomando datos de ángulo de la hoja superior e inferior donde se encuentra la mazorca superior.

CONCLUSIONES

Con el trabajo realizado se lograron los objetivos planeados, entre uno de ellos era medir el potencial de la planta, esto a través de la caracterización agronómica la cual nos da cual es la potencial de la semilla que se está evaluando al expresarse en planta, que fue la actividad que realicé durante este curso del verano de la ciencia.

BIBLIOGRAFIA

Ángeles–Gaspar, E., E. Ortiz–Torres, P. López[1]y G. López–Romero (2010), "Caracterización y rendimiento de poblaciones de maíz nativas de Molcaxac, Puebla", núm. (4), vol. (33). Octubre, Diciembre (pp. 287-296).

Elizondo, J. (2002)13(1): 13-17. 2002 "Producción de forraje con maíz criollo y maíz híbrido". Núm. (1), vol. (13), (pp. 13-17).

"El maíz en los trópicos" depósito de documentos de la FAO, consultado en http://www.fao.org/docrep/003/X7650S/x7650s13.htm (fecha de consulta 18-08-2016)

Fernández-Suárez, R. (2013) "Importancia de los maíces nativos de México en la dieta nacional. una revisión indispensable". Núm. (3), vol.36, mese (pp. 275-283).

RESPUESTA FISIOLÓGICA DE LAS PLANTAS A CONDICIONES ADVERSAS RELACIONADAS CON EL CAMBIO CLIMÁTICO (ZEA MAYS)

Omar Hernández Mendoza[1] y José Luis Cayac Rodríguez[2]

RESUMEN

El curso tuvo como objetivo conocer cómo afecta el cambio climático a las plantas, el funcionamiento ecológico, fisiológico, trata del funcionamiento de los vegetales (del porqué y el cómo) de esta unidad de estudio es conocer que mecanismos desarrollan las plantas para soportar estas condiciones transitoriamente adversas y estudiar cómo esas condiciones provocan alteraciones funcionales, e incluso la muerte a la planta.

ABSTRACT

The course had as objective to know how it affects the climate change to plants, the ecological functioning, physiological, deals with the operation of the plants (the why and the how) of this unit of study is to know what mechanisms develop plants to withstand these conditions adverse and consider how to temporarily these conditions cause functional alterations, and even the death of the plant.

Palabras Claves: Ecológico, vegetales, fisiológico, planta, estudio,

INTRODUCCIÓN

El clima como factor importante para las plantas que crecen en condiciones óptimas se encuentra en estado de estrés. Este estado hace que todos los factores (agua, luz, temperatura, nutrientes oxígeno,) están en un punto óptimo que regulan la distribución de las especies de plantas directamente o indirectamente, directamente seria a través del crecimiento y la reproducción, indirectamente por medio de factores ecológicos. Para probar los efectos del cambio climático en las plantas es necesario conocer factores ambientales. Se analizaran los efectos de las variaciones ambientales relacionadas con los cambios en los niveles de CO2, agua ozono temperatura como es la forma que actúa en el crecimiento y desarrollo de las plantas. El crecimiento en las plantas está íntimamente ligado con el balance en las rutas metabólicas que controlan, por ejemplo, la producción de sacarosa (transporte para crecimiento) o la producción de almidón (reserva), sincronizadas entre sí y con su ritmo circadiano. Así, alteraciones en las condiciones ambientales suelen producir cambios en los modelos de crecimiento de las plantas.

MÉTODOS Y MATERIALES

En el campo experimental de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro se sembró parcelas de maíz en el cual estuve viendo los cambios de temperatura durante el trascurso de los días su interacción fisiológica con las plantas. Esto con el fin de ver las horas luz que las plantas asimilaban y la relación con su crecimiento.

[1] Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna, Departamento de Fitomejoremiento; periférico y carretera a santa fe s/n, colonia valle verde, C.P:27059, torreón, Coahuila, hernandezmendozaomar@gmail.com
[2] Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna, Departamento de Fitomejoremiento; periférico y carretera a santa fe s/n, colonia valle verde, C.P:27059, torreón, Coahuila

Figura1emergencia de maíz

figura 2 cinco días después de la emergencia

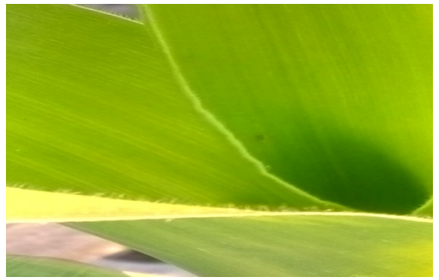


Figura3.Hojas de maíz con buena circulación de clorofila

figura 4. Planta de maíz con muy buenas posturas

La floración de las plantas es muy importante con relación a señales ambientales como la longitud de los días y la temperatura) y por factores endógenos (como el estado nutricional y ciertas hormonas). Cada uno de los factores se da la tarea por medio de la iluminación solar y el tipo de hojas igual ya que son las partes más importantes y las que se encargan ah asimilar la luz solar.

Figuran 3 floraciones de maíz

figura 4 plantas preparándose para la floración

RESULTADOS

Durante la toma de datos del cultivo desde la siembra hasta los días de floración se dio la tarea de hacer una comparación de los días quemas calor hubo con relación al crecimiento cuales eran los factores que intervenían en y lo que sucedían los cambios fisiológicos de la planta desde su crecimiento hasta la floración.

Estos datos son importantes durante los años se ha estado presentando varios cambios climáticos por consecuencia del calentamiento global y cómo afecta a los cultivos de producción se han detectado bajos rendimientos de producción por las altas temperaturas. Las altas temperaturas afectan a las plantas a que no haiga coincidencia en la etapa de reproducción ya sea que la polinización se adelante o retrase, o pueden aver plantas mal formadas. Y todo esto afecta en el llenado de grano de la mazorca que se tiene como objetivo par cultivo de maíz.

CONCLUSIONES

Las altas temperaturas es un tema muy importante para la producción agrícola con este curso se dio ah conocer cómo afectan las altas temperaturas en los cultivo de producción maíz en la comarca lagunera ya no hay una buena producción por las altas temperaturas, en planta pueden a ver varias varios diferencias como llenado de granos, no hay buena coincidencia en la etapa reproductiva o pueden existir mal formaciones.

BIBLIOGRAFÍA

Jarma Orozco A; Cardona Ayala C; Araméndiz Tatis h. Efecto del cambio climático sobre la fisiología de las plantas cultivadas I.A. Ph. D., Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Córdoba, 15(1): 63 - 76, 2012

ANÁLISIS DE IMAGEN DIGITAL: UNA PODEROSA HERRAMIENTA PARA EL MUESTREO Y ANÁLISIS FÍSICO DE SEMILLAS Y PRODUCTIVIDAD VEGETAL

José Antonio López Murillo[1] y José Luis Coyac Rodriguez[2]

RESUMEN

Este proyecto fue realizado con el objetivo de conocer la utilización de los drones en la agricultura, así como también de conocer las deficiencias de un cultivo de acuerdo a la imagen digital del dron, en este caso se tomaron las imágenes en un pequeño predio de la UAAAN-UL en el cual se implementó el cultivo de maíz y de este mismo se tomaron las fotos para observar las diferencias de color entre las dos pequeñas melgas con el cultivo de maíz que está establecido, cabe mencionar que el dron es muy pequeño y de baja calidad, pero de acuerdo con las diferencias de color se pudo identificar un poco más algunos problemas que tiene el cultivo.

ABSTRACT

This project was carried out with the objective of understanding the use of the drones in agricultura, As well as to know the shortcomings of a crop according to the digital image of the drone, in this case the images were taken in a small farm in the UAAAN-UL which implemented the cultivation of maize and this same the photos were taken to observe the color differences between the two small surfaces with the cultivation of corn that was established, it's worth mentioning that the drone is very small and low-quality, but in accordance with the color differences could be identified a little more some problems that have the crop.

Palabras clave: Agricultura, imagen digital, deficiencias, precisión, sustentabilidad, tecnología, digital.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad se está hablando mucho de la agricultura de precisión, y del impacto que han tenido los drones en esto, ya que gracias a ellos se pueden tomar imágenes aéreas de calidad que ayudan y benefician a la agronomía mundial, en países más desarrollados ya se están usando para tener más precisión en los cultivos.

La Agricultura de Precisión es el motor de desarrollo de estas innovaciones que no se detienen en la búsqueda de mayor eficiencia y sustentabilidad. La tecnología de los drones es una de esas tecnologías de vanguardia que llegaron para sumar importantes beneficios a la hora de trabajar el campo con manejo variable, mayor control, trazabilidad y certificación de procesos. Y es que los drones ofrecen múltiples posibilidades para la agricultura. Pueden sobrevolar los campos de una forma rápida y captar información diversa gracias a sus sensores. Esto permite que aquellos que gestionan los cultivos tengan a su disposición una herramienta para controlar e incrementar la productividad.

Un solo dron puede monitorizar cientos de hectáreas de forma precisa, evaluando las condiciones del terreno, con el fin de recoger información sobre la hidratación, la temperatura o el ritmo de crecimiento de los cultivos. Una de las funciones más importantes que se atribuyen a estos dispositivos es la localización prematura de enfermedades. De esta forma se pueden evitar plagas que arruinen parte de la

[1] Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna, Departamento de Fitomejoramiento, Raúl López Sánchez, Col. Valle Verde, C.P: 27054, Torreón Coahuila, ranxo3palmas@hotmail.com.
[2] José Luis Coyac Rodríguez, Profesor Investigador, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna, Departamento de Fitomejoramiento, Raúl López Sánchez, Col. Valle Verde, C.P: 27054, Torreón, Coahuila

cosecha. Toda esta información proporciona un ahorro de costes significativo para los agricultores. Evitar las plagas también contribuye a reducir la cantidad de productos químicos que se emplean en los cultivos. No solo las cosechas crecen de forma menos artificial sino que no es necesario comprar tantos herbicidas y pesticidas como hasta ahora.

Cuando haya que utilizarlos, los propios drones los pueden arrojar, al igual que los fertilizantes. Los dispositivos pueden controlar cómo funciona el riego y también sirven de improvisados espantapájaros, al mantener alejadas a las aves. Son capaces de enviar fotografías e incluso vídeo en tiempo real a un centro donde se observe el estado de los cultivos. Este tipo de operaciones ya se han puesto en práctica en algunos lugares. Uno de los países más avanzados en este sentido es Japón.

Los drones para la agricultura son una tecnología rompedora que permite aumentar la producción de las cosechas sin provocar daños, hacer un seguimiento del cultivo, mejorar el consumo de agua y gestionar las plagas gracias a las cámaras incorporadas. Para estos agricultores "dron" significa una plataforma aérea de bajo costo; ya sea aeroplanos diminutos con alas fijas o, más frecuentemente, helicópteros pequeños con hélices. En tierra firme, un software controla la toma área y convierte en un mapa de alta resolución. Un dron puede vigilar un cultivo de todas las semanas, todas los días y hasta cada hora. Si se las combina para crear una animación, esas imágenes pueden revelar lugares problemáticos u oportunidades para manejar mejor el cultivo.

La agricultura de precisión, en síntesis, consiste en el empleo de nuevas tecnologías para un estudio detallado de la parcela de manera que puede aplicarse cada tratamiento de manera localizada. También comporta un uso selectivo de los nutrientes y los pesticidas que cada planta requiere, reduciendo así el coste y el impacto social. Los drones podrían ser también la respuesta a la falta de obra en el campo. Los beneficios de la agricultura de precisión son triples, permite reducir costes, mejora la rentabilidad de los cultivos y disminuye el impacto ambiental, ya que la aplicación de agroquímicos es dirigida y ajustada a los requerimientos reales de cultivo. Las funciones que tienen estos vehículos aéreos no tripulados en el área de la agricultura son:

- Controles en cultivos
- Detección de stress hídrico en cultivos apostando por el manejo eficiente del agua.
- Detección de stress nutricional en cultivos Detección temprana de enfermedades y plagas en cultivos.
- Índices relativos a calidad en cultivos.
- Generación de inventarios de áreas de cultivos.
- Supervisión de áreas fumigadas.

MÉTODOS Y MATERIALES

En este proyecto se trabajó con el cultivo de maíz, el cual se tuvo que implementar desde el día 9 de abril del año en curso para poder realizar las actividades del proyecto, como ya se sabe se tuvo que labrar el suelo hasta realizar la siembra y después de eso darle el manejo adecuado al cultivo hasta obtener la cosecha, sin embargo durante este proceso se tuvieron problemas con plagas y otros problemas de maquinaria, riego etc., sin embargo se pudo desarrollar el cultivo satisfactoriamente como se muestra a continuación:

Figura 1. Cultivo de maíz ya establecido en el predio.

Teniendo ya establecido el cultivo se procedió a conseguir el dron, ya que la universidad no cuenta con uno de calidad y de buen tamaño, ya que esto es de gran importancia al momento de tomar las imágenes porque a mayor tamaño y mayor peso hay más equilibrio, además de que hay mejor resolución en las fotos.

El dron que se utilizó en este proyecto es de baja calidad y sobretodo la cámara que trae integrada no tiene buena resolución, por lo tanto es muy difícil mantenerlo estable en el viento y el problema se vuelve más grande cuando está más elevado, el dron utilizado es el siguiente:

Figura 2. Dron utilizado en el proyecto.

Teniendo ya el cultivo establecido y en desarrollo así como también el dron a utilizar se comenzaron a observar algunas deficiencias o problemas con plagas en el maíz, esto se podía observar a simple vista ya que el cultivo aun no llegaba a los 50cm. de estatura, conforme fue creciendo se volvió más difícil observar las diferencias de color asi como las deficiencias del cultivo y aquí es donde entra el dron. A continuación se presentan dos imágenes donde se observa el avance y el desarrollo del cultivo.

Figuras 3 y 4. Desarrollo del cultivo y las primeras diferenciaciones de colores en él.

Durante el mes de abril, mayo y junio se llevó a cabo el desarrollo vegetativo en el cultivo y después de eso fue el desarrollo reproductivo, sin embargo fue en estas etapas cuando se comenzó a trabajar en lo que realmente importaba, que eran las imágenes digitales y la utilización de un dron en el campo, así como seguir dándole seguimiento al cultivo de maíz que se tenía establecido.

RESULTADOS

En el trabajo realizado se obtuvieron pocas fotos de la superficie donde se tenía establecido el cultivo de maíz, ya que como se comentó al principio el dron era de muy poca calidad y fue muy difícil mantenerlo estable cuando este estaba elevado, sin embargo se le pudo explicar algunos productores los beneficios que aporta la utilización de un dron a la agricultura en el país, ya que en la comarca lagunera se cuenta con poca cantidad de agua como en otros estados de la República Mexicana es buena opción desarrollar la agricultura de precisión y que mejor que con ayuda de un dron, ya que aunque es un poco costoso es muy rentable porque los ahorros de dinero en fertilizantes, agua, herbicidas, insecticidas y mano de obra se verán reflejadas en el bolsillo, además que se cuidara el recurso agua, a continuación se presentan una imagen que se tomó donde se muestra un daño en el interior del maíz debido a los perros que hay dentro de la universidad y de otros factores.

Figura 5. Imagen tomada con el dron mostrando el daño en el interior del cultivo.

Como se observa en la imagen el daño está casi en el centro y a simple vista no se hubiera podido observarlo, sin embargo por la mala calidad del dron y por no contar con un software o un sistema más exacto pues no se pudo tomar más fotos de mejor calidad, sin embargo se trabajó de la mejor manera en el proyecto.

Figuras 6 y 7. Practicando con el dron en el campo experimental de la UAAAN_UL.

Sin embargo los resultados no se obtuvieron del todo, ya que con la baja resolución de la cámara instalada en el dron y por la falta de un software no se pudieron identificar bien las deficiencias o los problemas en el cultivo como se mencionaba en los artículos o en otros trabajos ya realizados, sin embargo fue buen comienzo y se espera seguir mejorando ya que se pretende obtener resultados como los siguientes.

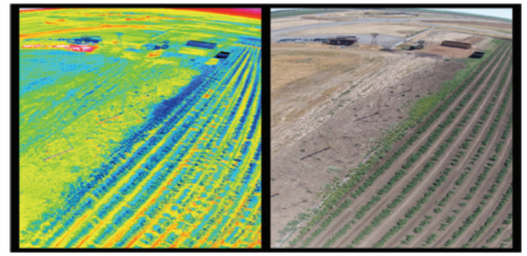


Figura 8. Comparación de una imagen con un dron sofisticado contra una imagen normal.

Como se observa en la imagen anterior es increíble todas las ventajas que puede tener la agricultura de presicion y el uso de los drones en la misma, aunque no se pudieron tomar imágenes como las anteriores fue satisfactorio poder brindarle un poco de esta información a los productores de la región y conocer tecnologías nuevas.

CONCLUSIONES

El objetivo planteado fue concluido y satisfactorio, ya que se conocieron las diferentes aplicaciones de los drones en la agricultura y de las ventajas que nos brindan las imágenes de buena calidad en la misma actividad, sin embargo falto por conocer más y tener mejores resultados, pero eso no fue posible debido a la falta de equipo de mejor precisión y mayor calidad, así como de un software moderno que nos indique todo lo que se necesita saber en un cultivo.

AGRADECIMIENTOS

Damos el agradecimiento a la institución por haber apoyado con el campo experimental y al profesor investigador asignado por compartir un poco de sus conocimientos en proyectos innovadores y de gran importancia para el sector agricola.

BIBLIOGRAFIA

TR10: Drones agricultores http://www.technologyreview.es/read_article.aspx?id=45180 Consulta: 13 de julio de 2016

Drones y su uso en la agricultura http://www.elika.net/datos/articulos/Archivo1388/Berezi%2035%20drones%20y%20sus%20usos%20en%20agricultura.pdf Consulta: 16 de agosto del 2016

MÉTODOS DE CONSERVACIÓN POR TEMPERATURA DEL MUCÍLAGO DEL NOPAL (*Opuntia ficus-indica* variedad Atlixco)

Miriam Guadalupe Lozano García[1] y Lorena Vargas Rodríguez[2]

RESUMEN

Se aplicaron distintos métodos de conservación por calor para el mucílago de cladodio de 2 años de edad de *Opuntia ficus-indica* variedad Atlixco. La viscosidad (η), al ser la característica más representativa del mucílago se utilizó para evidenciar el estado de conservación durante la experimentación; además de algunos otros parámetros como la densidad, °Bx, y pH. Los resultados de pasteurización del mucílago ($\eta_{k25°C}$=127.428 cst; $\eta_{D25°C}$=7.1)(50rpm) con calor a 85°C y enfriamiento súbito hasta 5°C, al término de una semana en refrigeración (10°C), mostraron que la viscosidad disminuyó en un 11.49% de su valor inicial ($\eta_{k25°C}$=142.080 cSt), de igual manera ocurrió para el control (sin pasteurizar y en refrigeración). Otro método ensayado implicó la congelación (-7°C) del mucílago asistida con NaCl al 3.5% de concentración. Esto no cambió significativamente los valores de la η_k. Posterior a una semana, el producto mostró una pérdida de viscosidad en un 13.97% respecto al control. En todos los ensayos, el mucílago se observó sin contaminación microbiana durante el periodo investigado.

ABSTRACT

Different methods of heat conservation for the mucilage of cladode two years of age *Opuntia ficus-indica* variety Atlixco applied. The viscosity (η), being more representative characteristics of mucilage was used to show the condition during experimentation; plus some other parameters such as density, °Bx an pH. The results of mucilage ($\eta_{k25°C}$=127.428 cst; $\eta_{D25°C}$=7.1) (50rpm) heat pasteurization to 85°C and sudden cooling to 5°C, at the end of a week of cooling (10°C), showed that the viscosity decreased in value 11.49% of initial value ($\eta_{k25°C}$=142.080 cSt) as control (unpasteurized and cooling). Tried another method applied freezing (-7°C) mucilage accompanied adition 3.5% NaCl concentration. This did not significantly change the values of the η_k. After one week, the product showed a loss of viscisity 13.97% relative to control). In all trialls, mucilage remained microbial contamination during the investigation period.

Palabras clave: Mucílago, Nopal, Viscosidad.

INTRODUCCIÓN

Los cladodios de nopal excretan una sustancia viscosa llamada "mucílago", este es de suma importancia, debido a que es componente de la fibra dietética. El mucílago de nopal es un polisacárido y altamente ramificado, con un peso molecular (PM) elevado de aproximadamente $3x10^6$ g/mol (Rodríguez-Gonzáles *et. al* S-F). Contiene de 35 a 40% de arabinosa, 20 a 25% de galactosa, 20 a 25% xilosa, de un 7 a 8% de ramnosa e igual con un 7 a un 8% de ácido galacturónico. El mucílago de nopal es una parte importante dentro de la industria alimenticia por su propiedad de viscosidad. Tiene la capacidad de formar redes moleculares, debido a que retiene grandes cantidades de agua y alta capacidad de elasticidad, además de ser un buen espesante y emulsificante (Rodríguez-Gonzáles *et. al* S-F). Estas propiedades son aprovechadas en múltiples aplicaciones en la industria, tales como alimentos, cosméticos, farmacéuticos, construcción ambiental, entre otros. (Rodríguez-Gonzáles *et. al* S-F)

[1] Instituto Tecnológico Superior de Purísima del Rincón, Departamento de Ingeniería Bioquímica, Blvd. Del Valle #2301, C.P. 36413, Purísima del Rincón, Guanajuato, miriamlozanog@outlook.es
[2] Universidad de Guanajuato Campus Celaya-Salvatierra, Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Priv. De Arteaga s/n, C.P. 38900, Salvatierra, Guanajuato, vargaslorena2016@outlook.com

Actualmente, se presentan dos limitantes al tratar de aplicar bastamente este material en la industria. La primera se refiere a la ineficiencia de los métodos de extracción y la segunda relacionada con la vida de anaquel. En esto último, diversos factores provocan la contaminación por microorganismos desde el medio ambiente, reduciendo su vida útil en pocos días. Por lo tanto, el objetivo de éste proyecto fue ensayar algunos métodos de conservación por temperatura podrían ser los apropiados para preservar la viscosidad del mucílago. Estas metodologías antes mencionadas, son sencillas y accesibles en su operación, por lo que son frecuentadas en diversas áreas de la industria.

METODOLOGÍA

Recolección de material.
Los cladodios de *Opuntia ficus-indica* perteneciente a la familia Cactácea, es una especie endémica del continente americano que crece especialmente en regiones áridas y semiáridas. Los cladodios de *Opuntia ficus-indica* variedad Atlixco con edad de 2 años, fueron cortados de una plantación destinada para sostener el cultivo de la grana cochinilla en invernadero de la comunidad llamada Urireo, Municipio de Salvatierra, Guanajuato, México, durante el comienzo de la estancia de verano (Junio, 2016). Al material vegetal se le realizó una limpieza con cepillos y franelas para posteriormente ser lavados con agua; luego se retiró manualmente el tejido del parénquima (fracción enriquecida de mucílago). La caracterización del lote de cladodios ensayados respecto a propiedades físicas se representan en la tabla1, en ella se observa el peso total de los cladodios que osciló en 12.87 ± 0.15 kg, en tanto las dimensiones fueron de (43.083 ± 2.76 cm, 27 ± 0.91cm, 3.233 ± 0.29 cm) para ejemplares de aproximadamente 2 años, caracterizados por un contenido del 32 ± 6.27 % de parénquima.

Tabla. 1. Propiedades físicas de cladodios (Opuntia ficus-indica variedad Atlixco)

PESO DE CLADODIO (Kg)	LONGITUD (cm)	ANCHURA (cm)	ESPESOR (cm)	PESO PARÉNQUIMA (cm)	RENDIMIENTO DE PARÉNQUIMA (%)
2.145 ± 0.15	43.083 ± 2.76	27 ± 0.91	3.233 ± 0.29	0.684 ± 0.13	32 ± 6.27

Extracción de mucílago.
Para la obtención de mucílago se retiró el parénquima del cladodio del nopal con un cuchillo (Vargas-Rodríguez *et al.*, 2016).
El material (parénquima) obtenido se dejó reposando en agua destilada (1:1.5) durante un periodo de tiempo de 12 horas, para después hacer un filtrado (Vargas-Rodríguez *et al.,* 2016).
Rendimiento de mucílago.
Posteriormente, se realizó el ensayo para calcular el rendimiento de mucílago en base seca de mucílago por peso fresco de acuerdo a (Vargas-Rodríguez, 2016); además de presentarlo también respecto a base de 100g de parénquima fresco.

Pasteurización.
La pasteurización de 600mL de mucílago ocurrió a través de calentamiento en una placa térmica hasta alcanzar una temperatura de 85°C, la cual se mantuvo así durante dos minutos. Inmediatamente después, se llevó a cabo un enfriamiento a temperatura de 5°C (eso se realizó colocando el mucílago en un recipiente metálico con hielos). Posteriormente, el material se introdujo en el refrigerador (10°C). Se determinaron al tiempo inicial y luego cada dos días, diversos parámetros como la viscosidad a través de una copa zahn para líquidos viscosos (N°4 ASTM) y viscosímetro brookfield (modelo DV-E). Adicionalmente, el pH, densidad utilizando un picnómetro (25 ml marca pyrex), y los °Bx con un refractómetro digital (marca Hanna y mod. Hl 96801). Todas las determinaciones se realizaron a temperatura de 25°C. Las determinaciones en el mucílago fueron cada dos días durante 1 semana.

Congelación del mucílago adicionado de NaCl.
La congelación del mucílago a temperatura de -7°C con previa disolución de NaCl al 3.5 % fue realizada como método de conservación. La evaluación de los parámetros físicos establecidos (viscosidad, densidad, °Bx y pH) se realizó al tiempo cero, posterior a la adición de la sal; así como cada dos días durante el almacenamiento en congelador.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El método de conservación por temperatura del mucílago del nopal se llevó a cabo con una copa zahn para líquidos viscosos (N°4 ASTM) y viscosímetro brookfield (modelo DV-E) utilizando una aguja número 61 y una velocidad de 50 rpm, pH, densidad utilizando picnómetro (25 ml pyrex), y °Bx con refractómetro digital marca Hanna (mod. Hl 96801). En el transcurso del tiempo que se estuvieron midiendo los parámetros hubo una persistencia en el valor de los °Bx en un margen de 0.6 % sin algún tipo de variación abrupta. En la figura 1, se presentan algunas fotografías correspondientes a las determinaciones de parámetros físicos del mucílago de nopal realizadas en este trabajo.

Figura 1. Izquierda a derecha. Aguja No. 61 para viscosímetro brookfield. Determinación de viscosidad del mucílago con un viscosímetro brookfield DV-E. Determinación de viscosidad con copa zahn No. 4. Determinación de °Bx del mucílago utilizando un refractómetro digital (marca Hanna).

Los resultados obtenidos para la viscosidad, fueron comparados con un control existente almacenado en refrigeración simple y se muestran en la tabla 2. En ella, se puede apreciar que la η_k se incrementó del tiempo cero (169.46 ± 25.02 cSt) al tiempo 5 (240hr). No se tiene una explicación al comportamiento de incrementar, bajar y volver a subir el valor de este parámetro en el tiempo evaluado. En este aspecto, solo enfatizar que la temperatura de medición de todos los parámetros y el caso particular siempre se realizó a 25 °C. Resultados más contundentes deberán presentarse para futuras investigaciones.

Tabla. 2. Conservación de la viscosidad del mucílago de Opuntia ficus-indica por refrigeración a 10°C

PARAMÉTROS	T_0 (0 h)	Tiempo 1 (48h)	Tiempo 2 (96h)	Tiempo 3 (144h)	Tiempo 4 (192)	Tiempo 5 (240h)
Viscosidad cinemática ($\eta_{k25°C}$) [cSt]	169.46 ± 25.02	206.6	206.7	197.33	224.96	243.21
Viscosidad dinámica ($\eta_{D25°C, 50\ rpm}$) (Aguja 61) [cP]	8.4 ± 0.39	8.1	7.4	8	8.3	8.5

Respecto al método de conservación por temperatura del mucílago del nopal por pasteurización, fue propuesto con la finalidad de eliminar todo microorganismo que se encuentra en el medio ambiente y que pueda dañar las propiedades únicas del mucílago del nopal, en este caso, la viscosidad. En este tratamiento, pudo observar que del tiempo 0 ($\eta_{k25°C}$=127.42 ± 7.62 cSt, $\eta_{D25°C}$=7.1 ± 0.31 cP) al tiempo 5, ($\eta_{k25°C}$=122.84 ± 7.62 cSt, $\eta_{D25°C}$=7.1 ± 0.31 cP), fue insignificante la pérdida de viscosidad con tan solo

el 3.59%, esto se presenta en la tabla 3. Se considera qué en una investigación ampliada respecto a esta metodología de conservación del mucílago, la pasteurización (a estas condiciones de temperaturas y tiempos) podría tener garantías de éxito.

***Tabla. 3.* Conservación de la viscosidad del mucílago de *Opuntia ficus-indica* por pasteurización**

PARAMÉTROS FÍSICOS	T_0 (0 h)	Tiempo 1 (48h)	Tiempo 2 (96h)	Tiempo 3 (144h)	Tiempo 4 (192)	Tiempo 5 (240h)
Viscosidad cinemática ($\eta_{k25°C}$) [cSt]	127.42 ± 7.62	139.12	142.08	133.2	126.29	122.84
Viscosidad dinámica ($\eta_{D25°C, 50\ rpm}$) (Aguja 61) [cP]	7.1 ± 0.31	6.9	7.4	7.3	7.8	7.1

La adición de la sal NaCl al mucílago y posterior congelación, fue una propuesta que tuvo por finalidad provocar que el punto de congelación de la suspensión mucilaginosa descendiera argumentado por el efecto que produce en sustancias como el agua; sospechando que ese decremento en temperatura pudiera mejorar la vida de anaquel del mucílago. En la tabla 4, se muestra que la viscosidad tuvo un decremento en su valor del 15%; esta diferencia puede estar sobre estimada. Debido a que, el sistema mucilaginoso disperso es muy complicado para las mediciones producto de su alta viscosidad, que de no homogeneizarse correctamente (eliminar coágulos, espacios de mayor densidad) y realizar la determinación instantáneamente (antes que el material más denso pierda la capacidad de estar suspendido), presentará falsos que pueden escapar al margen de error permitido. La temperatura alcanzada por congelación fue de -7°C.

***Tabla. 4.* Conservación de la viscosidad del mucílago de *Opuntia ficus-indica* por congelación asistida con la sal NaCl**

PARAMÉTROS	T_0 (0 h) S/ NaCl	Tiempo 1 (al añadir NaCl)	Tiempo 2 (48h)	Tiempo 3 (96h)	Tiempo 4 (144h)
Viscosidad cinemática ($\eta_{k25°C}$) [cSt]	229.4 ± 28.12	238.77	179.08	197.33	178.58
Viscosidad dinámica ($\eta_{D25°C, 50\ rpm}$) Aguja 61) [cP]	8.2 ± 1.08	7.9	10.2	8.4	7.3

CONCLUSIONES

De acuerdo a las propiedades del mucílago del cladodio del nopal *Opuntia ficus-indica* variedad Atlixco, es necesario cuidar ciertos parámetros, como la temperatura y el ambiente donde se conserva el mucílago; esto con la finalidad de no afectar su viscosidad. La conservación de la viscosidad no se ve afectada en gran medida, sino es sometida a procesos donde su temperatura sea alterada abruptamente, pues de lo contrario, su estructura molecular cambia y tiene pérdidas de viscosidad.

BIBLIOGRAFÍA

Vargas-Rodríguez Arroyo Figueroa, G., Herrera Méndez, C. H., Pérez Nieto, A., García Vieyra, M. I., & Rodríguez Núñez, J. R. (2016). Propiedades físicas del mucílago de nopal. Acta Universitaria, 26(NE-1), 8-11. Doi: 10.15174/au.2016.839.
Agrociencia vol. 49 No. 1 México ene/feb.2015, "Características físicas y químicas de nopal verdura (opuntia ficus-indica) para exportación y consumo nacional, Pp 5-8 consultada en

https://scholar.google.com.mx/scholar?hl=es&q=opuntia+ficus-indica&btnG=&lr (fecha de consulta 09-07-2016)
García, F. (2013). Mucílago de nopal (*Opuntia spp*.) sobre propiedades micromorfológicas y estructurales del suelo en trigo. Pp 3-15. Montecillo, Texcoco, Edo. De México. Consultada en http://www.biblio.colpos.mx:8080/xmlui/bitstream/10521/1969/3/Garcia_Favela_B_DC_Edafologia_2013.pdf (fecha consultada 09-07-2016)
Griselda Maki-Díaz, Cecilia B. Peña-Valdivia, Rodolfo García-Nava, M. Lourdes Arévalo-Galarza, Guillermo Calderón-Zavala, Socorro Anaya-Rosales. Agrociencia vol. 49 No. 1 México ene/feb.2015, "Características físicas y químicas de nopal verdura (opuntia ficus-indica) para exportación y consumo nacional. Pp 5-8 consultada en https://scholar.google.com.mx/scholar?hl=es&q=opuntia+ficus-indica&btnG=&lr (fecha de consulta 15-07-2016)
Vargas Rodríguez, L. (2012). Extracción y caracterización química y reológica de hidrocoloide de *Opuntia spinulifera* con perspectivas de aditivo en la industria de alimentos. Pp 10-30 Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú.
Vargas R. L., Arroyo F. G., Jiménez A. D., Hernández M. A., López G. Ol., Herrera M. C. H., Gómez L. B. E., González V. F., Aguilar L. J. Adhesivo de nopal en pinturas a la cal. (2012). Pp 2-10 RESPyN(04): 165-174. ISSN 1870-0160

IDENTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS DE ORIGEN ANIMAL PARA SU APLICACIÓN EN ALIMENTOS FORTIFICADOS

Angélica Elizabeth Luna Hernández[1] y Carlos Hernán Herrera Méndez[2]

RESUMEN

A medida que la población humana se incremente, aumenta la demanda de proteínas lo que hace que surja la necesidad de explorar diversas fuentes de proteínas más allá de las convencionales para satisfacer tal necesidad. Una manera de proveer de nutrientes, incluyendo las proteínas, a la población es la fortificación de alimentos. El presente estudio se llevó a cabo la extracción y caracterización proteínas procedentes de carne de bovino con el objetivo de estandarizar este proceso en carne y adaptarlo a otras partes de la canal que no son tan populares en el consumo humano para considerar en un futuro destinarlas a la fortificación de alimentos.

ABSTRACT

As the human population increases, the demand of proteins increases as well, which arises the need to explore various protein sources beyond conventional sources to supply this need. One way to provide nutrients, including proteins, to the population is food fortification. This study was focused on the extraction and characterization of proteins from beef in order to standardize this process in meat and adapt it to other parts of the carcass that are not so popular in human consumption, to consider, in the future for food fortification

Palabras Clave: proteínas, extracción, caracterización, fortificación

INTRODUCCIÓN

Las deficiencias de nutrientes, a menudo, son responsables de los daños funcionales en más de un tercio de la población, entre estos daños se encuentran; retraso en el desarrollo mental, disminución de la capacidad para el trabajo físico y mayor susceptibilidad a las infecciones. Por ello, la fortificación de alimentos básicos que son consumidos por la mayoría de la población a la que se pretende nutrir, es una alternativa eficaz para corregir las deficiencias de nutrientes esenciales en una población. (1). Actualmente se estima que alrededor de billón de personas sufren una deficiencia de proteínas. (2).Sin embargo ante el incremento de la población, aumenta la necesidad de encontrar fuentes alternativas de proteínas para satisfacer la demanda no solo de humanos, sino también de animales destinados al consumo humano. Una de las alternativas que está tomando auge son las proteínas vegetales aunque estas no son comparables en calidad con las de origen animal pues no contienen todos los aminoácidos esenciales, también se ha presentado como opción los insectos aunque no gozan de mucha aceptación por parte del consumidor.

[1] Universidad Autónoma de Aguascalientes, Departamento de Ingeniería Bioquímica; Avenida Universidad No. 940, Ci udad Universitaria, CP:20131, Aguascalientes, Aguascalientes, lunaelizabethh95@gmail.com
[2] Universidad de Guanajuato, Campus Celaya-Salvatierra, Departamento de Ingeniería Agroindustrial; Priv. de Arteaga s/n. Salvatierra, Guanajuato, caherhe_23@hotmail.com

Aunque los productos animales, como la carne son raramente usados en la fortificación de alimentos por su alto costo, se ha documentado el empleo de pulmón bovino como fuente de hierro para la fortificación de alimentos para combatir la anemia. (3) Esto da una pauta para considerar extraer proteínas de otras partes de la canal, cuales no son tan aceptadas por el consumidor. Sin embargo, para procesar las proteínas de fuentes no convencionales es necesario conocer las propiedades fisicoquímicas y funcionales de dichas proteínas.

El presente documento pretende estandarizar un método de extracción de proteínas de la carne que sirva de base para posteriormente sea posible trasladarlo con algunas modificaciones a otros tejidos o partes de cuerpo de una canal. Así como caracterizar las proteínas presentes en la carne de res para compararlas en un momento dado con proteínas provenientes de otros tejidos.

MÉTODOS Y MATERIALES

Se empleó carne de res proveniente del musculo *longissimus dorsi* del lomo. Para obtener los extractos de las proteínas se procedió a pesar aproximadamente 10 gramos de carne, evitando tomar grasa de la misma, la carne fue homogeneizada con 300 ml de buffer de extracción (Tris-HCl 0.03 M, KCl 0.6 M, pH 7) por 3 veces cada 10 segundos, o hasta que la mezcla se viera homogénea, para esto se usó una licuadora Oster modelo BEST02-E Posteriormente, se centrifugo el homogenizado a 7000g por 15 minutos a 4°C en una centrifuga Hermle Z323. Se tomó el sobrenadante total (extracto de proteínas miofibrilares) y se dividió en dos partes. El pellet formado en la centrifugación fue resuspendido en el buffer de extracción con un volumen que conservara la relación 1:10 respecto al peso del pellet. Esta suspensión fue sometida a otra centrifugación bajo las condiciones anteriormente descritas. Se separó el sobrenadante (extracto de proteínas sarcoplasmicas) y se dividió en dos partes, una parte se mezcló con la mitad del primer extracto obtenido de la primera centrifugación. Se descartó el pellet formado. El contenido de proteínas se determinó utilizando el método de Bradford y se expresó en mg/mL. Para esto, se preparó una curva de calibración con distintas concentraciones de albumina bovina sérica (BSA, Sigma Aldrich) y el buffer de extracción descrito anteriormente, esta curva dio un coeficiente de determinación r^2= 0.9917. Se realizaron las lecturas de los extractos a diferentes concentraciones (puro, 1:2, 1:5 y 1:10) a una de absorbancia de 595 nm con un espectrofotómetro marca iMark™ Microplate Absorbance Reader modelo 1681130.

Para la caracterización de proteínas de las proteínas se hizo una electroforesis desnaturalizante SDS-PAGE usando el kit de Bio-rad (Mini-PROTEAN Tetra Vertical Electrophoresis System) con un gel concentrador (Tris-HCl 0.5 M, pH 6.8) y un gel separador (Tris-HCl 3M, pH 8.8). Finalmente los geles fueron teñidos con azul de Coomassie.

RESULTADOS

Tabla 1. Concentraciones de proteínas presentes en carne de res

Proteínas	Concentración (mg/mL)
Miofibrilares	5.59191225
Sarcoplásmicas	0.7376618
Mezcla	2.5429153

En la extracción de proteínas se encontró una mayor proporción de proteínas miofibrilares (5.59 mg/mL) como se indica en la tabla 1, esto concuerda con o descrito por Badui, D. (4), pues estas proteínas que

conforman estructuralmente el tejido muscular, representan la fracción más abundante, aproximadamente del 55% al 60% del total de las proteínas de la carne. Mientras que de las proteínas de tipo sarcoplásmicas se obtuvo una concentración menor de 0.73 mg/mL. .

Ambas proteínas se extrajeron con el mismo buffer, usar uno distinto para cada tipo de proteínas pudiera ser más conveniente, ya que estas se diferencian según su solubilidad, las proteínas sarcoplásmicas son solubles en disoluciones salinas de baja fuerza iónica, mientras que las miofibrilares lo son en disoluciones de alta fuerza iónica (6). Cori M. reporta la extracción exitosa de proteínas en pollo, gallina y codorniz empleando un buffer de extracción distinto para cada tipo de proteína (7).

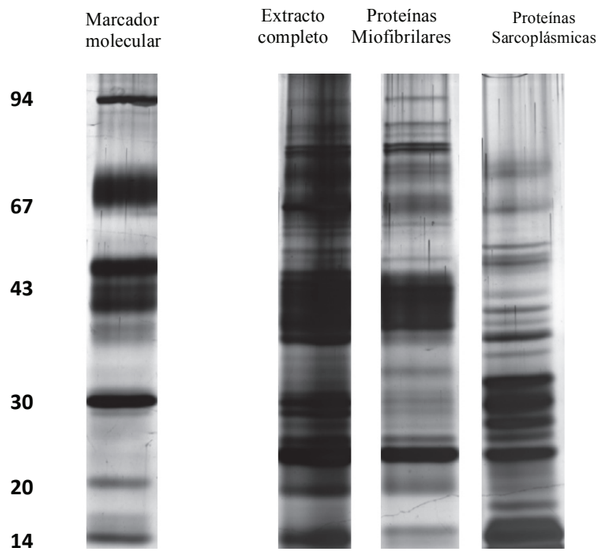


Figura 1. Revelado del gel de electroforesis

Una vez obtenido el revelado de la electroforesis, (Fig. 1) se construyó una curva de calibración con el marcador molecular tomando la distancia de las bandas de las cuales ya se conocía el peso molecular. Para estimar el peso molecular de las muestras se interpolo las distancias medias de las bandas a su respectivo pozo con la ecuación de la recta obtenida con el marcador molecular.

Los resultados se muestran en la tabla 2. En el extracto completo se puede observar varias bandas con un notable barrido a lo largo de todo el pozo esto puede explicarse debido a que la muestra estaba más concentrada y los poros del gel resultaban demasiado pequeños.

En cuanto al pozo cargado con el extracto de proteínas miofibrilares, se aprecian menos bandas pero con mayor resolución, estas bandas corresponden a pesos moleculares de entre 85 a 90 kD. Estos valores se encuentran por debajo del peso molecular estimado para algunas de las proteínas contráctiles: miosina 480 kD; tropomiosina 130 kD; la actomiosina, que se obtiene al extraer con una disolución salina de alta fuerza iónica como el buffer empleado también reporta un peso molecular elevado (6). En cuanto a la

troponina, proteína reguladora y globular su peso molecular de 80 kD está más cercano a los valores arrojados por la electroforesis de proteínas miofibrilares. (5).

Como se aprecia en la Fig. 1, las proteínas sarcoplásmicas migraron más con respecto a las miofibrilares, lo que indica que sus pesos moleculares son más pequeños y corresponden a pesos moleculares de entre 10 a 74 kD estos pesos moleculares corresponden a las numerosas enzimas que pertenecen a este grupo de proteínas (Tabla 2). Una de las proteínas sarcoplásmicas de mayor relevancia se encuentra la mioglobina, responsable de color rojo de la carne, tiene un peso molecular de 66 kD según Bolaños N. (5) esto concuerda con el peso molecular obtenido en la segunda banda del pocillo correspondiente a las proteínas sarcoplásmicas.

Tabla 2. Peso molecular de proteínas extraídas de la carne de res (kD)

Banda	Extracto completo	Miofibrilares	Sarcoplásmicas
1	89.3975	89.3975	73.61
2	88.345	88.345	66.76875
3	87.2925	87.2925	59.9275
4	86.24	86.24	57.8225
5	85.1875	85.1875	48.35
6	84.135		44.14
7			36.24625
8			33.08875
9			28.87875
10			26.2475
11			23.09
12			14.67
13			10.46

CONCLUSIONES

Se extrajo y se caracterizó proteínas miofibrilares y sarcoplásmicas de carne de res, aunque se vio una posible ventaja al emplear distintas soluciones buffer de extracción para cada tipo de proteínas, aprovechando su distinta solubilidad esta recomendación puede ser considerada para la extracción de proteínas de otros tejidos.

BIBLIOGRAFIA

1. SCRIMSHAW, N. (2005). “La fortificación de Alimentos: Una Estrategia Nutricional Indispensable” en *Anales Venezolanos de Nutrición,* No. 18, pp. 64-68.Consultada en http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-07522005000100012&lng=pt&tlng=es.
(Fecha de consulta 06-07-2016).

2. AZAGOH, C., et al. (2016).”Extraction and physicochemical characterization of *Tenebrio molitor* proteins” en *Food Research International,* http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2016.06.010
(Fecha de consulta 12-08-2016).

3. PREEDY V. (2013). *Handbook of Food Fortification and Health*, Londres: Humana Press,

4. BADUI, D. (2006). *Química de los alimentos*, México: Pearson Education Editorial.

5. ANDÚJAR, G. (2009). *Química y bioquímica de la carne y los productos cárnicos*. La Habana, CU: D - Instituto de Investigaciones para la Industria Alimentaria. ProQuest ebrary. (Fecha de consulta 15-08-2016).

6. BOLAÑOS, N. (2003). *Química de alimentos: Manual de laboratorio*, Costa Rica: Editorial Universidad de Costa Rica.

7. CORI, M. (2014). “Solubilidad proteica, contenido de mioglobina, color y pH de la carne de pollo, gallina y codorniz” en *Archivos de zootecnia*, Núm. 37 Vol. 63 [pp. 133-143].

MÉTODOS DE CONSERVACIÓN POR TEMPERATURA DEL MUCILAGO DE NOPAL (*Opuntia spinulifera*)

Mariana Yazmin Medina Pizaño[1] y Lorena Vargas Rodriguez[2]

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue implementar métodos de conservación por temperatura para la viscosidad del mucilago de cladodio de *Opuntia spinulifera*, como la pasteurización a 60°C por 30 min seguida de un enfriamiento súbito a 5°C, congelación a -7°C y refrigeración a 10°C. Se comprobó la conservación de su principal característica que es la viscosidad; además de diferentes parámetros que dictan su calidad, como grados brix, densidad, y pH. Los resultados muestran que el tratamiento más eficaz durante el tiempo de la experimentación fue la congelación con una pérdida del 7.98% de la viscosidad, seguido de la refrigeración (40.01%) y por último la pasteurización (47.36%).

ABSTRACT

The objective of this research was to implement conservation methods of temperature of mucilage of prickly pear stem at *Opuntia spinulifera* as pasteurization at 60 ° C for 30 min followed by sudden cooling at 5 ° C, freezing and cooling -7 ° C to 10 ° C. the conservation of its main feature is the viscosity was checked and different parameters that dictate their quality, as brix, density, and pH. The results show that the viscosity was best preserved in the freezing treatments with a loss of 7.98% viscosity during the stay, followed by cooling with a lost of viscosity of 40.01% and finally pasteurization with a loss of 47.36 % viscosity.

Palabras Clave: Métodos de conservación, Temperatura, Mucilago, *Opuntia spinulifera*

INTRODUCCIÓN

El mucilago del cladodio de nopal es un heteropolisacárido con un peso molecular del orden $3x10^6$ a $4.3x10^6$ Da (Espino-Díaz, 2010). Contiene D-galactosa, L-arabinosa, D-xilosa y L-ramnosa como principales unidades de azucares neutros, adicional al azúcar ácido D-galacturónico. El mucilago presenta una cadena principal lineal con repeticiones de β (1-4) D-ácido galacturonico y α (1-2) (Espino-Díaz, 2010). La viscosidad es la principal característica del mucilago, sobre la que se proyecta una gran cantidad de aplicaciones en diferentes industrias, principalmente como aditivo en alimentos. El objetivo de esta investigación fue implementar métodos de conservación por temperatura como la pasteurización a 60°C por 30 minutos seguida de un enfriamiento súbito a 5°C, refrigeración a 10°C y congelación a -7°C del mucilago de nopal (*Opuntia spinulifera*) con el fin de evaluar los cambios en algunas de sus propiedades físicas como lo son viscosidad cinemática y dinámica, grados brix, densidad y pH y además evitar contaminación por diferentes microorganismos para así contribuir hacia la mejora de calidad tanto del mucílago, como de los productos industriales que lo contengan.

METODOLOGIA

1.1 Extracción de mucilago.
Los cladodios de *Opuntia spinulifera* con dos años de edad, fueron recolectados en huerto ubicado en las localidades de Salvatierra y Cortazar, ambas del estado de Guanajuato, esto durante la estación de verano del 2016.
Los cladodios fueron limpiados para la extracción de mucilago, fueron pesados y medidos en sus dimensiones de volumen. El parénquima fue retirado de éstos con ayuda de un cuchillo, para posteriormente tomar su peso, empleando una báscula electrónica Torrey modelo L-EQ. Así, por cada

[1] Universidad Autónoma de Aguascalientes, Departamento de Química, Avenida Universidad No. 940, Ciudad Universitaria, C.P. 20131, Aguascalientes, Aguascalientes, mariana_mp32@hotmail.com,
[2] Universidad de Guanajuato Campus Celaya-Salvatierra, Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Priv. De Arteaga s/n, Centro, C.P. 38900, Salvatierra, Guanajuato, vargasrlorena2016@outlook.com

100 g de parénquima se adicionaron 250 ml de agua destilada. Después se agitó el material y se dejó a temperatura ambiente por 24 h, luego se filtró con ayuda de un tamiz domestico dando como resultado el primer filtrado (Vargas-Rodríguez *et al*., 2016).

1.3 Rendimiento del mucilago.
El rendimiento del mucilago fue determinado por la precipitación de 100 ml de filtrado con tres volúmenes de etanol 96° por triplicado, llevado a deshidratación a 50° C por 12 h (Vargas-Rodríguez *et al*., 2016).

1.4 Determinación de viscosidad y otros parámetros que refieren la calidad del mucilago
La determinación de estos parámetros se realizó previamente a cualquiera de las metodologías de conservación del mucílago (tiempo cero), para poder referir la efectividad o afectación del método ensayado. La determinación de la viscosidad cinemática se realizó con la copa Zahn de acero inoxidable del número 4 con capacidad para 44 ml, cronometrando el flujo ininterrumpido del mucilago y registrado en segundos. La viscosidad dinámica se determinó a 25 °C invariablemente utilizando un viscosímetro brookfield modelo dv-e, a diferentes rpm (20, 30, 50, 60 y 100) y aguja 61; sin embargo, solo se reportan las velocidades de 50 rpm. El potenciómetro fue usado para la medición del pH y la determinación de los grados Brix se realizó con un refractómetro digital marca Hanna con registro de temperatura. En tanto, a densidad fue medida con un picnómetro Gay Lussac calibrado con capacidad de 25 ml.

1.5 Pasteurización
Se colocaron 600 ml de mucilago de *Opuntia spinulifera* en la estufa y se calentaron a 60°C por 30 minutos; posteriormente, se enfrió rápidamente con ayuda de baño de hielo hasta que la temperatura fue de 5°C. Se llevó a temperatura ambiente para refrigerarse a 10°C. Se analizaron los parámetros de calidad como viscosidad, pH, ° Brix, densidad y temperatura por un periodo de una semana.

1.6 Método de congelación
Se colocaron 600 ml de mucilago de *Opuntia spinulifera* a -7°C y se evaluó su viscosidad y los otros parámetros de calidad a intervalos de dos días en un periodo de una semana.

1.7 Método de refrigeración
Se colocaron 600 ml de mucilago de *Opuntia spinulifera* a 10°C y se evaluó su viscosidad y los otros parámetros de calidad a intervalos de dos días en un periodo de una semana.

1.8 Método de refrigeración con parafina y cera microcristalina
Se colocaron 600 ml de mucilago de *Opuntia spinulifera* a los cuales se les agrego una capa de parafina de 5 mm de ancho; posteriormente, se llevó a refrigeración a 10°C para así evaluar su viscosidad y los otros parámetros de calidad establecidos. Estas determinaciones ocurrieron a intervalos de dos días. De la misma manera en 100 ml del mismo mucilago se colocó una capa de 5 mm de espesor de cera microcristalina para después ser llevado a refrigeración a 10°C y efectuar las mismas mediciones, por un periodo de una semana.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.1 Extracción de mucilago
La obtención de mucilago del nopal *Opuntia spinulifera* requirió considerar la edad de los cladodios, esto debido a que diferentes estudios han demostrado que la edad idónea para la extracción de mucilago es la de dos años (Vargas-Rodríguez *et al*., 2012). La caracterización de la materia prima para la experimentación: lote de cladodios de la *Opuntia spinulifera* y su fracción de contenido de parénquima es presentada en la tabla 1. Así, los cladodios quedaron representados por un peso típico de 1.3825 ± 0.0856 kg rindiendo un promedio de 21.17 ±0.0413 % de tejido de parénquima. El proceso completo de extracción del mucilago se ve representado en la figura 1, en diferentes etapas, desde la caracterización de cladodios de *Opuntia spinulifera*, la obtención del parénquima correspondiente y la extracción acuosa del mismo para la obtención del mucilago el principal material de estudio de la viscosidad así como otros parámetros de importancia.

Tabla 1. Medidas de cladodios de Opuntia spinulifera

	PESO (Kg)	LARGO (cm)	ANCHO (cm)	GROSOR (cm)	PESO-PARENQUIMA (Kg)	RENDIMIENTO DEL PARENQUIMA (Base nopal fresco)
PROMEDIO	1.3825 ± 0.0856	38.25 ± 2.872	26.00 ± 1.632	2.25 ± 0.288	0.294 ± 0.069	21.17 ± 0.0413%

Figura 1. A) Cladodio de Opuntia spinulifera. B) Parénquima de Opuntia spinulifera C) Parénquima durante la extracción acuosa. D) Mucilago obtenido.

2.2 Rendimiento del mucilago

El rendimiento del mucilago extraído, se calculó con el producto precipitado por triplicado de 100 ml de mucilago con 300 ml de etanol 96°, después del secado en el horno a 50°C se pulverizó y obtuvo el rendimiento del mucilago que fue de 0.0138 ± 0.00797 %. La figura 2 presenta las fibras de mucilago durante la precipitación en alcohol y el polvo envasado.

Figura 2. A) Precipitación de mucilago de cladodio de Opuntia spinulifera con etanol. B) Muestra de mucilago en polvo.

Los diferentes tratamientos de conservación del mucilago, fueron examinados durante un intervalo de 1 semana; el tiempo cero fue tomado como el control inicial para cada tratamiento (posteriormente mantenido en refrigeración). Las mediciones se realizaron cada 2 días con el fin de evaluar la viscosidad, así como otros parámetros de importancia en la calidad del producto.

La tabla 2 destaca el decremento en la viscosidad cinemática y dinámica del mucilago pasteurizado a 60°C por 30 min con enfriamiento a 5°C. El control fue medido antes de la pasteurización (día 0), contó con el valor máximo de viscosidad cinemática de 515.53 ± 125.868 cSt y una viscosidad dinámica de 28.1 ± 3.693 cP con una concentración de 0.6 °Bx y una densidad de 1.176 ± 0.00379 gr/cm^3. La viscosidad del agua es referida en un valor de 1 cSt a 25°C, por lo que el control tiene 515 veces más viscosidad.

En todas las medidas de viscosidad fue indispensable una exacta regulación de la temperatura, debido a que la mayoría de los materiales como geles (mucilago, pectinas, etc.), diferentes tipos de aceites como vegetales y sintéticos disminuyen su viscosidad con la temperatura, y puede darse el caso de variaciones de hasta un 10% por cada °C modificado (Ramírez, 2006). Por esta razón todas las mediciones se

realizaron a 25°C. En los tiempos 1 (día 2) y 2 (día 4) se obtuvieron concentraciones similares tanto de °Bx 0.6, como densidad (1.183 gr/cm^3, 1.176 ± 0.00379 gr/cm^3), en cuanto a la viscosidad cinemática hubo un incremento de 270.84 cSt a 279.86 cSt respectivamente, a lo cual no se tiene una explicación.

El mínimo valor de viscosidad de 245.68 ± 125.868 cSt fue registrado al día 6 con un decremento de los °Bx de 0.5; de acuerdo con Domínguez-Fernández *et al.* (2012), esto puede explicarse porque los tiempos largos de tratamiento a altas temperaturas pueden afectar las sustancias volátiles, la actividad biológica y en consecuencia, afectar la calidad y la vida útil del mucilago. Es por esto que este tratamiento fue el que tuvo un decremento mayor de la viscosidad de un 47.36%.

Tabla 2. Viscosidades cinemática y dinámica del mucílago pasteurizado de Opuntia spinulifera durante su almacenamiento en refrigeración

PARAMETROS	Tiempo 0 (0d)	Tiempo 1 (2d)	Tiempo 2 (4d)	Tiempo 3 (6d)
Viscosidad cinemática[1] (cSt)	515.53 ± 125.8687	270.84	279.86	245.68
Viscosidad dinámica[2] (cPoise)	28.1 ± 3.6932	20.3	20.9	19.4

[1]La medición fue realizada a 25 °C
[2]La medición fue realizada a 25 °C y 50rpm

La tabla 3 representa el comportamiento de valores en la viscosidad cinemática y dinámica del tratamiento de refrigeración a 10°C. El control (día 0), contó con el valor máximo de viscosidad cinemática de 448.44 ± 86.2792 cSt con una concentración de 0.5 °Bx y una densidad de 1.182 ± 0.00094 gr/cm^3 y 19.2 ± 3.5027 cP de viscosidad dinámica. La medición de cada parámetro se realizó a 25°C para así evitar variabilidad en el tiempo de experimentación; en los tiempos 1(día 2) y 2(día 4) se obtuvieron concentraciones de 0.6 °Bx, y ambas con densidad de 1.183 ± 0.00094 gr/cm^3, en cuanto a la viscosidad cinemática hubo un decremento de 452.38 ± 86.2792 cSt a 412.42 ± 86.2792 cSt respectivamente. El mínimo valor de viscosidad cinemática 268.98 ± 86.2792 cSt fue registrado al día 6, y valor de 19.7 ± 3.5027 cP de viscosidad dinámica.

Tabla 3. Viscosidades cinemática y dinámica del mucílago refrigerado (10 °C) de Opuntia spinulifera durante su almacenamiento

PARAMETROS	Tiempo 0 (0d)	Tiempo 1 (2d)	Tiempo 2 (4d)	Tiempo 3 (6d)
Viscosidad cinemática[1] (cSt)	448.44 ± 86.2792	452.38	412.42	268.98
Viscosidad dinámica[2] (cPoise)	19.2 ± 3.5027	26.2	24.6	19.7

[1]La medición fue realizada a 25 °C
[2]La medición fue realizada a 25 °C y 50rpm

La tabla 4 representa el comportamiento en la viscosidad cinemática y dinámica del mucilago sometido a tratamiento de congelación a -7°C. El control (día 0), contó con el valor máximo de viscosidad de 448.44 ± 92.8903 cSt con una concentración de 0.5 °Bx y una densidad de 1.182 ± 0.00194 gr/cm^3, en los tiempos 1(día 2) y 2(día 4) se obtuvieron concentraciones similares tanto de °Bx 0.4 y 0.5, como densidad (1.183 ± 0.00194 gr/cm^3, 1.181 ± 0.00194 gr/cm^3), en cuanto a la viscosidad cinemática hubo un decremento de 477.20 ± 92.8903 cSt a 358.85 ± 92.8903 cSt respectivamente. El valor de viscosidad de del ultimo día fue de 412.62 ± 92.8903 cSt, con un incremento de los °Bx de 0.7 y una densidad de 1.185 ± 0.00194 gr/cm^3 y una viscosidad dinámica de 21.8 ± 1.9715 cP. En comparación con todos los tratamientos este mostró solo un decaimiento de la viscosidad del 7.98% siendo el mejor método de conservación del mucilago de nopal (*Opuntia spinulifera*), como se puede analizar en la gráfica 1 de viscosidad.

Los mejores tratamientos fueron refrigeración (10°C) y congelación (-7°C) debido a que los diversos microorganismos, como son: hongos, levaduras y bacterias, son los que afectan en mayor medida los parámetros de importancia del mucilago como la viscosidad. Los cuales inhiben sus reacciones químicas y enzimáticas para evitar su crecimiento.

Tabla 4. Viscosidades cinemática y dinámica del mucílago congelado (-7 °C) de Opuntia spinulifera durante su almacenamiento

PARAMETROS	Tiempo 0	Tiempo 1	Tiempo 2	Tiempo 3
Viscosidad cinemática[1] (cSt)	448.44 ± 92.8903	477.20	358.85	412.62
Viscosidad dinámica[2] (cPoise)	19.2 ± 1.9715	24.4	20.5	21.8

[1]La medición fue realizada a 25 °C
[2]La medición fue realizada a 25 °C y 50rpm

Se realizó una variante del tratamiento de refrigeración a 10°C que fue sellado con una capa de 5 mm de parafina, el control mostró una viscosidad cinemática de 448.44 ± 65.490 cSt con una concentración de 0.5 °Bx y una densidad de 1.183 ± 0.0005 gr/cm^3, la viscosidad dinámica fue de medida con la aguja 61 a 50 rpm dando como resultado 19.2 ± 1.3301 cP la medición de cada parámetro se realizó a 25°C invariablemente. En los tiempos 1(día 2) y 2(día 4) se obtuvieron concentraciones de 0.6 °Bx, y densidad de 1.183 ± 0.0005 gr/cm^3, en cuanto a la viscosidad cinemática de T1 (día 2) y T2 (día 4) se obtuvieron 393.68 ± 65.490 cSt y 318.017 ± 65.490 cSt respectivamente, en la viscosidad dinámica el decremento fue de 19.9 ± 1.3301 cP a 17.3 ± 1.3301 cP. El tratamiento tuvo un decremento del 29.08% siendo el tratamiento con menor decremento después de congelación y refrigeración.

La otra variante del tratamiento de refrigeración a 10°C que fue sellada con una capa de 5 mm de cera microcristalina, el control mostró una viscosidad cinemática de 448.44 ± 71.2118 cSt con una concentración de 0.5 °Bx y una densidad de 1.183 ± 0.000654 gr/cm^3. La medición de cada parámetro se realizó a 25°C, para evitar variabilidad en el tiempo de experimentación. En los tiempos 1 (día 2) y 2 (día 4), se obtuvieron concentraciones de 0.5 °Bx, y densidad de 1.183 ± 0.000654 gr/cm^3, en cuanto a la viscosidad cinemática se obtuvieron 363.58 ± 71.2118 cSt y 306.95 ± 71.2118 cSt respectivamente. La capa de cera de parafina y microcristalina permitió tener un mucilago de mayor calidad, debido a que esta otorgó una barrera para la contaminación presente. Presentando un decremento de la viscosidad del 31.55 %.

CONCLUSIONES

El tratamiento de mejor respuesta para conservar la calidad del mucílago de nopal *Opuntia spinulifera* fue el de congelación a -7 °C para el tiempo que se investigó en almacenamiento, tan solo un 7.98% de reducción del valor de la viscosidad cinemática y 40.01% de decremento en la dinámica ocurrió.
Sin embargo, se necesita un intervalo de tiempo mayor para determinar cuál de los métodos de conservación por temperatura ensayados tienen mayor efecto en la conservación de la viscosidad y los otros parámetros establecidos que afectan la calidad del mucilago de nopal.

BIBLIOGRAFIA

- Domínguez-Fernández R.N., Arzate-Vázquez I., Chanona-Pérez J. J., Welti-Chanes J. S., Alvarado-González J. S., Calderón-Domínguez G., Garibay-Febles V. y Gutiérrez-López G. F., (2012). Aloe vera gel: structure, chemical composition, processing, biological activity and importance in pharmaceutical and food industry. Rev. Mex. Ing. Química vol.11 no.1
- Miguel Espino-Díaz, J. d. J. O.-P., Miguel A. Martínez-Téllez, Carlos Santillán, Gustavo V. Barbosa-Cánovas, Paul B. Zamudio-Flores, and Guadalupe I. Olivas. (2010). Development and Characterization of Edible Films Based on Mucilage of *Opuntia ficus-indica* (L.). *Food Science*, 75.

- Ramírez J. (2006). *Introducción a la reología de los alimentos,* Colombia: ReCiTeIA Editorial.
- Vargas Rodríguez, L. (2012). Extracción y caracterización química y reológica de hidrocoloide de *Opuntia spinulifera* con perspectivas de aditivo en la industria de alimentos. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú.
- Vargas-Rodríguez, L., Arroyo Figueroa, G., Herrera Méndez, C. H., Pérez Nieto, A., García Vieyra, M. I., & Rodríguez Núñez, J. R. (2016). Propiedades físicas del mucilago de nopal. Acta Universitaria, 26(NE-1), 8-11. doi: 10.15174/au.2016.839.

CRIOPRESERVACIÓN DE SEMEN CAPRINO CON TREHALOSA Y ORTOVANADATO DE SODIO

Mendoza Martínez Daniela[1] y Saavedra Leos María Dolores[2]

RESUMEN

La criopreservación de espermatozoides ha permitido mantener la diversidad genética de especies, y ha reducido los costos de mantenimiento de animales destinados a reproducción e investigación. El trabajo experimental pretende la criopreservación de semen caprino con congelación y uso de 2 crioprotectores **A1**; 0.375 M Trehalosa, 1mM Ortovanadato, 300mM Tri, 28mM glucosa, 95mM citrato ácido, 5% glicerol y **A2**; 0.375 M Trehalosa, 300mM Tri, 28mM glucosa, 95mM citrato ácido, 5% glicerol, manteniendo integridad del espermatozoide en el proceso,previniendo la formación de cristales y garantizar el éxito. Los resultados muestran que la presencia de Ortovanadato en el crioprotector y la presencia del plasma seminal mantienen la integridad del acrosoma tras la descongelación, sin embargo, ninguna muestra presentó porcentajes de movilidad favorables.

Palabras Clave: Criopreservación, semen caprino, Ortovanadato, Trehalosa, congelación.

ABSTRACT

Sperm cryopreservation has helped maintain the genetic diversity of species, and reduced maintenance costs of animals for breeding and research. The work it is to be achieved goat semen cryopreservation from freezing and the use of 2 cryoprotectants A1; 0.375 M Trehalose, orthovanadate 1 mM, 300 mM Tri, glucose 28mm, 95mm citrate acid, 5% glycerol and A2; 0.375 M Trehalose, 300 mM Tri, 28mm glucose, 95mm acid citrate, 5% glycerol, trying to maintain the integrity of the sperm in the process, prevent the formation of crystals and ensure project success. The results show that the presence of cryoprotectant and orthovanadate in the presence of seminal plasma remain acrosome integrity after thawing, however, no sample exhibited favorable mobility rates.

INTRODUCCIÓN

La criopreservación de espermatozoides ha permitido mantener la diversidad genética en especies domésticas y silvestres, ha facilitado la distribución de especies domésticas "genéticamente superiores" y ha reducido drásticamente los costos de mantenimiento de animales destinados a reproducción e investigación (Eric M. Walters et al., 2009). En los últimos 40 años, el desarrollo y uso de la Inseminación Artificial con semen criopreservado ha crecido de forma exponencial y global, en particular en el ganado lechero (Gil et al., 2003; Riesenbeck, 2011). Los diferentes protocolos de criopreservación buscan mantener la motilidad, la integridad de la membrana plasmática, acrosoma y ADN espermática (C.G. Gravance et al., 1997; J.E. Parks et al., 1992; C. Yildiz et al., 2007; J.F. Nunes et al., 1982). Se ha descrito que, los espermatozoides de los pequeños rumiantes son extremadamente sensibles a la crioconservación en comparación con otras especies (Purdy et al., 2006). En 1957 Roy, describió que la secreción de la glándula bulbouretrales de la cabra secretan enzimas que interactúan con los componentes más comunes de los diluyentes de crioconservación tales como la yema de huevo y leche (Nunes et al., 1982). La enzima actúa sobre el enlace éster de los fosfolípido de la yema de huevo para liberar ácidos grasos saturado (palmítico y ácidos esteárico), así como insaturados (oleico y ácidos linoleico) los cuales

[1] Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Agronomía y Veterinaria-UASLP, Km. 14.5 Carretera San Luis-Matehuala, Apdo. Postal 32, C.P 78321, Soledad de Graciano Sánchez, S.L.P. daniela.mtz@alumnos.uaslp.edu.mx
[2] Carretera San Luis-Matehuala, Apdo. Postal 32, C.P 78321, Soledad de Graciano Sánchez, S.L.P. Coordinación Académica Región Huasteca Sur, Km. 5 Carretera Tamazunchale-San Martín C.P. 79960 Tamazunchale, S.L.P. maria.saavedra@uaslp.mx

son tóxicos para el espermatozoide ya que promueven la reacción acrosomica, descondensación de la cromatina y daño a la membrana plasmática (Aamal et al., 1965).
En la criopreservación de otros mamíferos se han evaluado diferentes tipos de diluyentes y agentes crioprotectores (permeableables y no permeables) obteniéndose resultados muy variables (Molina et al., 1994; Gil et al., 2000; Salamon et al., 2000). Los crioprotectores no permeables más utilizados para la congelación de semen de diferentes especies son la sacarosa, rafinosa, trehalosa y lactosa. Estos azucares brindan una solución hipertónica causando la deshidratación celular antes de la congelación (Crowe et al., 1989; Aisen et al., 1990; Crowe et al., 2001). Este efecto osmótico disminuye el agua intracelular congelable y en relación al daño celular por la cristalización de hielo (Chen et al., 2000; Aisen et al., 2002). La adición de trehalosa y sacarosa al diluyente ha obtenido buenos resultados en la criopreservación de semen de ovino (Molina et al., 1994; Aisen et al., 2000). Además su acción deshidratante, la trehalosa confiere una protección específica sobre la bicapa lipídica (Bakas et al., 1991). Por esta razón, la trehalosa puede ser mejor crioprotector que otros disacáridos (Aisen et al., 1996). Por otra parte el Ortovanadato de Sodio, es un compuesto que contiene un oxianión de Venadio, (procedente de la oxidación del Venadio), y de la formación de una capa de óxido-metal, que estabiliza al elemento contra la oxidación, este se encuentra en muchos organismos y es utilizado como centro activo de las enzimas, por que inhibe la proteína tirosina-fosfatasa. (Crans et al., 2013). Su objetivo es preservar la fosforilación de proteínas mediante la inhibición de las fosfatasas endógenas presentes en la mezcla de células lisadas; Se ha utilizado al Ortovanadato como inhibidor efectivo de la fosfatasa acida, así como de los centros activos de la enzima utilizando el método de titulación de centros activos (Poltorak, Priakhin, 1982). Además de encontrar resultados significativos en la criopreservación de células lisadas de cultivos celulares de pulmón y células de leucemia mieloide donde se demostró la sensibilidad de las células usando Ortovanadato en el crioprotector (Roca. P, Marzo. R.I, 2015). El objetivo de este trabajo fue la crio preservación de espermatozoides caprino en crioprotectores a base de trehalosa y ortovanadato de sodio en presencia de plasma seminal y ausencia de este.

MÉTODOS Y MATERIALES

Todos los reactivos químicos empleados fueron obtenidos de Sigma-Aldrich México (107 Parque Industrial Toluca 2000, Toluca, *México)*.

ANIMALES Y OBTENCION DE MUETRA

Se usó semental caprino de 3 años de edad, raza Nubia, condición corporal 3, clínicamente sanos con un peso promedio de 70 kg de la unidad experimental “Rancho las delicias”, perteneciente a la Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Autónoma De San Luis Potosí, ubicada en la carretera 12 en el tramo Villa de Arista-Moctezuma, en el municipio de Moctezuma S.L.P. Localizado en la parte noroeste del estado, en la zona altiplano, con coordenadas: 101º05’ de longitud oeste y 22º45’ de latitud norte, con una altura de 1,720 msnm. La muestra se obtuvo mediante vagina artificial a 37ºC en tubo cónico de 14 ml. Inmediatamente después de la recolección el semen fue transportado al laboratorio y colocado en un baño de agua a 37ºC para su evaluación y congelación.

EVALUACION PRECONGELACIÓN

Inmediatamente después de la recolección el semen fue colocado en un baño de agua a 37ºC. Se determinó el volumen, concentración, pH, motilidad masal e individual, se realizaron extensiones para evaluar morfología e integridad del acrosoma. La morfología e integridad del acrosoma se evaluaron usando doble tinción Giemsa 30min (12% en PBS v/v)-Tripan Blue 3.5h (0.20% en 0.9% NaCl).

FORMULACIÓN DE CRIOPROTECTORES

Se formularon dos crioprotectore, **Crioprotector B1:** 0.375 M Trehalosa, 1mM Ortovanadato, 300mM Tri, 28mM glucosa, 95mM citrato ácido, 5% glicerol, **Crioprotector B2:** 0.375 M Trehalosa, 300mM Tri, 28mM glucosa, 95mM citrato ácido, 5% glicerol. La muestra de semen se dividió en dos, 500 µL cada una. A 500 µL de la muestra se le eliminó el plasma seminal mediante centrifugación a 2500 rpm durante 5 minutos, posteriormente el pellet se diluyó en 500µl de TGC (Tris-citrato acido-glucosa); la

segunda parte de muestra conservó el plasma seminal. La muestras se dividieron nuevamente y se congelo de la siguiente manera; **Muestras 1** (Crioprotector A1-Espermatozoides+Plasma), **Muestra 2** (Crioprotector A1- Espermatozoides), **Muestra 3** (Crioprotector A2+ Espermatozoides -Plasma) y **Muestra 4** (Crioprotector A2+ Espermatozoides)

CONGELACIÓN
En crioviales de 1.5 ml, con una concentración de $200X10^6$ espermatozoides. Congelación lenta a 5 ºC por 2h (refrigerador), pasado este tiempo las muestras se coloca a 4cm del nitrógeno por 7min (vapor de Nitrógeno Líquido), posterior mentes se sumergir en nitrógeno líquido.

DESCONGELACIÓN
Las muestras se extrae del nitrógeno líquido e inmediatamente se colocan en un baño de agua a37 Cº 4 minutos.

EVALUACIÓN SEMINAL POST-CONGELACIÓN
Inmediatamente después de la descongelación, se determinó movilidad individual, vitalidad y se realizó una extensión para evaluar integridad del acrosoma con tinción de Giemsa y Trypan Blue (utilizando la técnica descrita por (Watson P. F., 1975).

RESULTADOS

La criopreservación de semen caprino utilizando trehalosa en sustitución de la yema de huevo y ortovanadatos de sodio no mostro diferencias positivas en la motilidad en ninguno de los tratamientos (Tabla 1, Grafica 1), mientras que la integridad del acrosoma no se vio afectado en gran medida en las Muestras 1 (Espermatozoides–Plasma) y 2 (Espermatozoides) cuyos crioprotectores contenían Ortovanadato de sodio (Tabla 1, Grafica 1). Sin embargo, las muestras 3 y 4 cuyo crioprotector no contenía Ortovanadato de sodio, la integridad del acrosoma disminuyo al 66% y 25% respectivamente (Tabla 1, Grafica 1).

A pesar de que la motilidad se perdió en todas las muestras durante la criopreservación, los resultados respecto a la integridad del acrosoma en las muestras que contenían ortovanadato de sodio son un aliciente para continuar probando este inhibidor de proteasa. Actualmente, existen pocos trabajos que refieran el uso de inhibidores de proteasas, algunos autores ya usaron inhibidores de lipasa BUSgp60 con resultados modestos (Pellicer-Rubio y Combarnous, 1998). Los resultados obtenidos respecto a motilidad deberán ser reevaluados ya que el uso de trehalos en diferentes especies ha mostrado resultados favorables (Molina et al., 1994; Aisen et al., 2000).

Tabla 1. Calidad seminal post-descongelación

%	**Muestra 1** Crioprotector A1 Espermatozoides -Plasma	**Muestra 2** Crioprotector A1 Espermatozoides	**Muestra 3** Crioprotector A2 Espermatozoides -Plasma	**Muestra 4** Crioprotector A2 Espermatozoides	**Control**
Motilidad A+B	0	0	0	0	70
Motilidad C	0	0	0	0	0
Motilidad D	100	100	100	100	30
Vitalidad	0	26	0	0	80
Integridad Acrosoma	72	77	66	25	89

Crioprotector A1: 0.375 M Trehalosa, 1mM Ortovanadato de sodio, 300mM Tri, 28mM glucosa, 95mM citrato ácido, 5% glicerol. **Crioprotector A2:** 0.375 M Trehalosa, 300mM Tri, 28mM glucosa, 95mM citrato ácido, 5% glicerol.

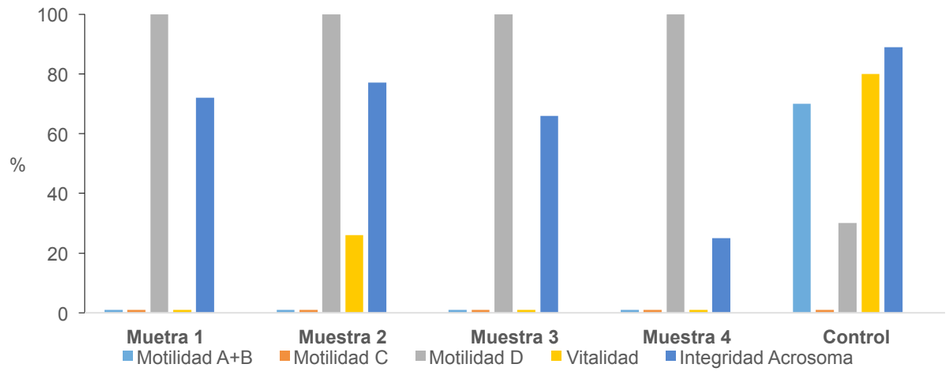


Figura 1. Calidad seminal post-descongelación
Muestras 1 (Crioprotector A1-Espermatozoides+Plasma), **Muestra 2** (Crioprotector A1-Espermatozoides), **Muestra 3** (Crioprotector A2+ Espermatozoides -Plasma) y **Muestra 4** (Crioprotector A2+ Espermatozoides)

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este trabajo no son concluyentes ya que se utilizó solo un individuo fuera de la época reproductiva. El objetivo de este proyecto es realizar la criopresrvacion a lo largo del año, los resultados de un solo individuo en la época menos favorables son parte de los datos que se podrán analizar y comprara una vez concluido el muestres.

BIBLIOGRAFIA

Aisen, E. (15 de April de 2002). *Cryopreservation and post-thawed fertility of ram semen frozen in different trehalose concentrations.* Consultado en www.ncbi.nlm.gov (Recuperado el Junio de 2016)

Amann. (1993). *Cryopreservation of Sperm Encyclopedia of Reproduction.*, Consultado en www.intechopen.com (Recuperado el junio de 2016)

Chen, T. F. (May de 2000). *Literature riew: supplemented phase diagram of the trehalose-water binary mixture.* Consultado en www.ncbi.nlm.nih.gov (Recuperado enJunio de 2016)

Crowe, J. (1990). *Are freezing and dehydration similar stress vectors.*Consultado en www.cabdirect.org (Recuperado eln Junio de 2016)

Gil, J. (Julio de 2000). *Influence of centrifugation and different extenders on post-thaw sperm quality of ram semen.*Consultado en www.ncbi.nlm.nih.gov (Recuperado en Junio de 2016)

Gravance, C. (19 de November-December de 1998). *Effects of cryopreservation on bull sperm head morphometry.* Consultado en www.ncbi.nlm.nih.gov (Recuperado en Junio de 2016)

Molina, L. (Junio de 2005). *Molecular properties and prebiotic effect of inulin obtained from artichoke (Cynara scolymus L.).*Consultado en www.ncbi.nlm.nih.gov (Recuperado en Junio de 2016)

Purdy, P. (19 de August de 2004). *A riew on goat sperm cryopreservation.*Consultado en pubag.nal.usda.gov.download.pdf (Recuperado el Junio de 2016)

Quijano, P., & Chukhrai E. y Poltorak, O. (2006). Inhibición de la fosfata ácida por el O-vanadato de sodio en termoinactivacion. *Redalyc*.Consultado en www.redalyc.org.pdf (Recuperado el Junio de 2016)

Roca. (2015). *Mecanismo de muerte inducida en células tumorales.*Consultado en www.zaguan.unizar.es (Recuperado en Junio de 2016)

Roy, A. (November de 2015). *Egg.Yolk- Coagulation Enzyme in the Semen and Cowper´s Gland of the Goat.* Consultado en www.nature.com (Recuperado en Junio de 2016)

Salamon, S. (August de 2000). *Production and storage of goat semen for artificial insemination.*Consultado en www.ncbi.nlm.nih.gov (Recuperado en Junio de 2016)

Walters E., e. a. (2009). *The history of sperm cryopreservation.* Consultado en assets.crambridge.org (Recuperado en Junio de 2016)

EVALUACIÓN DE CINCO CEPAS DE *BACILLUS THURINGIENSIS* SOBRE LA MORTALIDAD DE LARVAS DE *MUSCA DOMESTICA*

Rodrigo Morales García[1] y César Andrés Angel Sahagún[2]

RESUMEN

Una infestación de mosca doméstica genera deterioro de alimentos y enfermedades que ponen en riesgo la salud humana y animal. El principal método de control del insecto es utilizando productos químicos no obstante debido al surgimiento de resistencia y a los problemas de contaminación del ambiente se buscan métodos alternativos. *Bacillus thuringiensis* es una alternativa de control bilógico contra larvas de *Musca domestica*. Para realizar la experimentación se cultivaron las cepas de *B. thuringiensis* en medio LB, antes de realizar el experimento se identificó la lisis celular (la espora y el cristal libres) de cada cepa utilizada. Se ajustó la concentración del complejo espora-cristal a $1x10^8$ espora-cristal/ml. La cepa más sobresaliente (Bt91) provocó una mortalidad de 76.8 % y la menos eficiente fue la cepa Bt49 con 6.2 %. Se concluye que *B. thuringiensis* es patógena para *M. domestica*, además, de que cada cepa tiene diferente grado de patogenicidad para larvas de *M. domestica* y que la metodología empleada es eficiente para determinar la efectividad de la bacteria sobre larvas de mosca doméstica.

ABSTRACT

An infestation of house fly generates deterioration of food and diseases that threaten human and animal health. The main method of insect control is using chemicals however due to the emergence of resistance and to the problems of pollution in the environment are looking for alternative methods. *Bacillus thuringiensis* is an alternative of bilogical control against larvae of *Musca domestica*. To perform the experimentation were cultured strains of *B. thuringiensis* in the middle LB, before performing the experiment was identified cellular lysis (the spore and the glass-free) of each strain used. Adjusted the concentration of the complex spore-glass to $1x10^8$ spore-glass/ml. The most outstanding strain (Bt91) caused a mortality of 76.8 % and the less efficient was strain Bt49 with 6.2 %. It is concluded that *B. thuringiensis* is pathogenic to *M. domestica*, furthermore, that each strain has a different degree of pathogenicity for larvae of *M. domestica* and that the methodology used is efficient to determine the effectiveness of the bacteria on larvae of house fly.

Palabras clave: Control biológico, bacteria entomopatógena, complejo espora-cristal.

INTRODUCCIÓN

La *Musca domestica* (LINNAEUS) es un insecto cosmopolita, que con el paso del tiempo han incrementado su población debido a que las condiciones ambientales son propicias para su reproducción (Phoku *et al.*, 2014). Se sabe que en zonas rurales existe una mayor infestación de moscas debido a que se cuenta con espacios propicios para su reproducción, principalmente en zonas con actividad de ganadería, últimamente en la zona urbana también se ha registrado el aumento de la población (Phoku *et al.*, 2014; Quinceno *et al*., 2010). Una infestación de moscas genera consecuencias de las cuales se le

[1] Ingeniería en Agrobiología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro No 1923 Col. Buenavista, C.P: 25315, Coahuila, Saltillo, Teléfono (844) 411 0200.
[2] Ingeniería en Agronomía, División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato, Campus Irapuato-Salamanca, Carretera Salamanca - Valle de Santiago Km. 3.5 + 1.8, Comunidad de Palo Blanco, 36885 Salamanca, GTO. Teléfono (464) 647 9940.

asocia con el deterioro de alimentos y transmisor de patógenos que ponen en riesgo la salud humana y animal (Phoku *et al.*, 2014; Kumar *et al*., 2014; Quiceno *et al*., 2010).

Förster *et al*. (2008) realizaron un experimento para demostrar que la mosca de casa es portadora también de hongos y parásitos metazoos, de estos últimos, las moscas en su exoesqueleto y alas presentaban huevos y larvas de especies endoparasitas de cerdos como *Ascaris suum* (GOEZE)*, Strongyloides ransomi* (BAVAY)*, Metastrongylus* sp.*, Strongylida* sp.*,* y un ectoparásito el piojo del cerdo *Haematopinus suis* (LINNAEUS).

Para la mosca doméstica se ha demostrado que la bacteria *Bacillus thuringiensis* (BERLINER) ha resultado un excelente agente de control biológico, ya que esta bacteria es capaz de atacar y matar a este insecto en su fase de vida más susceptible que es en los estadios larvarios (Mahmoud *et al.,* 2012), dicha bacteria se puede suministrar mediante su dieta o alimento (Merdan, 2012).

Un estudio realizado por Mwamburi *et al.* (2011), demostró que utilizando diferentes concentraciones de *B. thuringiensis* var. israelensis a concentraciones de 10, 50 y 100 µl/ml (espora/cristal?) disminuía la población de *M. domestica* en un 50 % en 4 días, concluyendo que utilizando concentraciones elevadas la plaga de este insecto se podía erradicar o controlar más rápido que utilizando concentraciones bajas que al final del experimento en laboratorio no acabaron ni con el 50 % de las larvas utilizadas en las unidades experimentales.

Además de la evidencia de que solo el complejo espora/cristal puede disminuir la población de larvas de mosca doméstica se puede combinar con algún otro agente de biocontrol, bacterias como *Brevibacillus laterosporus* (LAUBACH), *Bacillus thuringiensis* var. israelensis, *Bacillus thuringiensis* var. kurstak o con hongos o virus benéficos (Mahmoud *et al.,* 2012) obteniendo resultados favorables con esta combinación (Zimmer *et al.,* 2013).

No obstante que se conoce que cepas de *B. thuringiensis* son patógenas sobre larvas de *M. domestica*, en la República Mexicana y particularmente en el estado de Guanajuato no se cuenta con cepas nativas que se hayan evaluado sobre larvas de *M. domestica* por lo que el objetivo del presente estudio fue evaluar el complejo espora-cristal de *B. thuringiensis* sobre larvas de mosca doméstica en condiciones de laboratorio.

MATERIALES Y MÉTODO

Cría de *M. domestica.*
El insectario pertenece al Laboratorio de Parasitología y Control Biológico de la División Ciencias de la Vida del Campus Irapuato-Salamanca de la Universidad de Guanajuato. Para la cría de larvas se suministró una mezcla de 700 gr de salvado de trigo y 800 ml de agua y para la alimentación de los adultos se añadió una dieta de leche en polvo.

Reactivación de cepas.
Se preparó agar nutritivo (9.2g) y agar bacteriológico (1g) y se esterilizó a 121±1°C por 15 minutos, posteriormente se vertió en cajas Petri estériles y una vez que solidificaron, se cultivaron las cepas de la bacteria *B. thuringiensis* (Bt49, Bt 91, Bt 110, Bt111 y Bt115) y posteriormente se incubó a 38 ±1°C durante 36 horas.

Inoculación masiva de cepas.
Se preparó medio LB en 500 ml de agua y se esterilizó, posteriormente se inoculó y se dejó en la incubando a 25±1°C a 200 rpm durante 7 días.

Experimentación.
Antes de realizar el experimento, se visualizó en el microscopio una muestra de cada cepa en un portaobjetos identificando esporas y cristales libres del complejo espora-cristal de *B. thuringiensis*.

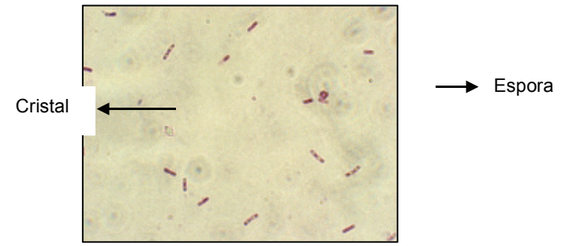


Figura 1. Espongios, espora libre y cristales de Bacillus thuringiensis (100X).

Para realizar las evaluaciones el medio LB se centrifugó a 8,972.22 rpm durante 15 min, se retiró el sobrenadante y se determinó la concentración de esporas con una cámara hematimétrica y por dilución se ajustó a $1x10^8$ complejo espora-cristal/mL, posteriormente se preparó la dieta para larvas y se sustituyó el agua por la concentración de $1x10^8$ esporas-cristal/mL, lo anterior se realizó para cada cepa y para cada cepa se utilizaron 4 repeticiones.

A un grupo se le colocó agua tal y como se realiza para el mantenimiento del insectario y se consideró como testigo. Ya que se tuvieron los dispositivos se añadieron a cada uno 30 larvas en 30g de dieta para cada unidad experimental, se incubó a 25±1°C. El experimento se terminó hasta que se observaron moscas adultas dentro de las unidades experimentales testigos.

Análisis de datos.
A los datos obtenidos en la primera evaluación se les calculó el porcentaje de mortalidad y se corrigieron con la fórmula de Abbott.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se evaluó el efecto de cepas de *B. thuringiensis* sobre larvas de *M. domestica,* la cepa Bt91 resultó la más sobresaliente con un porcentaje de mortalidad de 76.8 % y la cepa Bt46 resultó la menos sobresaliente con un porcentaje de 6.2 %.

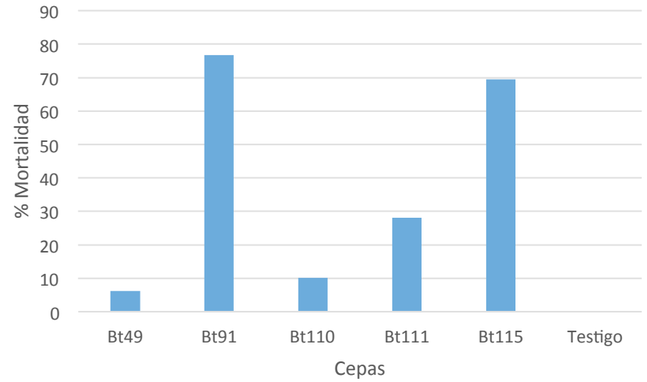
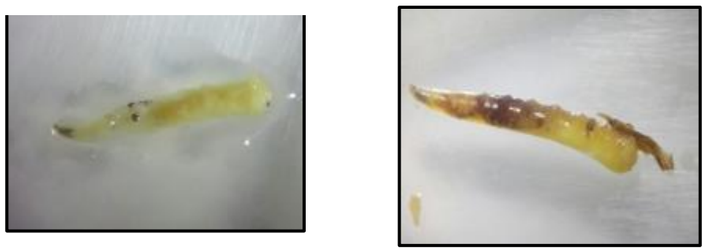


Figura 2. Porcentaje de mortalidad de larvas de M. domestica por efecto de cepas de B. thuringiensis.



(a) **(b)**

Figura 3. Larvas de M. domestica a) larva sana, b) larva inoculada con espora-cristal de B. thuringiensis.

Un estudio realizado por Mwamburi *et al.* (2011), demostraron que la bacteria *B. thuringiensis* variedad israelensis es un potencial agente de control biológico para disminuir la población de la plaga de *M. domestica*, en su experimento evaluó concentraciones de 1, 10, 50 y 100 µg/ml y obtuvieron, con la concentración más baja, un 46.7 % de control, las concentraciones de 10, 50 y 100 µg/ml obtuvieron un 66.7 %, 74.4 % y 86.7 % respectivamente. En el presente estudio no se evaluaron concentraciones en µg/ml, si se logró comprobar existe una variabilidad en el porcentaje de mortalidad provocado por el complejo espora-cristal.

Por otra parte, un estudio realizado por Merdan (2012) evaluó *B. thuringiensis* con larvas de *M. domestica*, donde se demostró que a concentración de 5.0 mg/kg presentó el mayor porcentaje de mortalidad con adultos emergidos con un 76 % durante el tercer día, posteriormente la efectividad de la concentración empezó a disminuir, al igual que Merdan (2012), en el presente trabajo se obtuvieron porcentajes de mortalidad semejantes con un 77 % con la mejor cepa a concentración de $1x10^8$ en adultos emergidos al final del experimento. Zimmer *et al.* (2013) evaluaron el efecto de *B. thuringiensis* var. israelensis (Bti) y *B. thuringiensis* var. kurstaki (Btk) sobre larvas de *M. domestica*, encontraron mortalidades con Bti de 34% a una concentración de $1x10^9$ Unidades Formadoras de Colonia por mililitro

(UFC/ml) y un 40 % para Btk, en el estudio también evaluaron la concentración de $1x10^8$ UFC/ml y obtuvieron como la cepa más sobresaliente la Bti con una mortalidad de 20%, los resultados del estudio antes mencionado concuerdan con el presente parcialmente ya que se obtuvieron mortalidades variables con cepas más y menos sobresalientes, a diferencia del estudio de Zimmer *et al.* (2013) en el presente estudio no se conoce la variedad de las cepas utilizadas, probablemente pertenecen a diferentes variedades.

CONCLUSIONES

Basado en el anterior estudio se concluyó principalmente que *B. thuringiensis* es patógena para larvas de *M. domestica*, además de que la metodología empleada si fue eficiente para sacar adelante el estudio y que existe diferencias de patogenicidad entre cepas de *B. thuringiensis* que se utilizaron siendo unas más eficientes que otras.

BIBLIOGRAFÍA

Förster, M. Klimpel, S. Siervert, K. (2009). "The house fly (*Musca domestica*) as a potential vector of metazoan parasites caught in pig-pen in Germany." Veterinary Parasitology. Vol. 160, [pp. 163-167].

Kumar, P. Mishra, S. Malik, A. Satya, S. (2014). "Biocontrol potential of essential oil monoterpenes against housefly, *Musca domestica* (Diptera: Muscidae)." Ecotoxicology and Environmental Safety. Vol. 100. [pp. 1-6].

Mahmoud, D. M. Abd El-Bar, M. M. Abdul Aziz Radi, M. H. (2012). "Combined effect of local isolate *Spodoptera littoralis* nucleopolyhedrosis virus and *Bacillus thuringiensis* on *Culex pipiens* L. larvae (Culicidae: Diptera)." The Journal of Basic & Applied Zoology. Vol. 65, [pp. 74-78].

Merdan, B. A. (2012). "*Bacillus thuringiensis* as a feed additive to control *Musca domestica* associated with poultry houses." The Journal of Basic & Applied Zoology. Vol. 65, [pp. 83-87].

Mwamburi, L. A. Laing, M. D. Miller, R. (2011).g "Laboratory and Field Evaluation of Formulated *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* as a Feed Additive and Using Topical Applications for Control of *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) Larvae in Caged-Poultry Manure." Environ, Entomol. Vol. 40 (1), [pp. 52-58].

Phoku, J.Z. Barnard, T.G. Potgieter, N. Dutton, M.F. (2014). "Fungi in housefly (*Musca domestica* L.) as a disease risk indicator-A case study in South Africa." Acta Tropica. Vol. 140, [pp. 158-165].

Quiceno, J. Bastidas, X. Rojas, D. Bayona, M. (2010). "La mosca doméstica como portador de patógenos microbianos, en cinco cafeterías del norte de Bogotá. The domestic fly as carrier of microbial pathogens in five northern bogota cafeterias." Revista UDC A Actualidad & Divulgación Científica. Vol. 13(2), [pp. 23-29].

Zimmer, C.R. Dias de Castro, L. L. Pires, S. M. Delgado Menezes, A. M. Ribeiro, P. B. Leivas Leite, F. P. (2013). "Efficacy of entomopathogenic bacteria for control of *Musca domestica*." Journal of Invertebrate Pathology. Vol. 114, [pp. 241-244].

DETERMINACIÓN DE LA BIOMASA MICROBIANA DE SUELOS SÓDIOS DEL BAJÍO

Diego Fernando Noria Balderas[1] y Eloy Conde Bajaras[2]

RESUMEN

Los suelos sódicos en el Bajío guanajuatense están incrementándose por actividades agrícolas no sustentables, dejando efectos significativos en la funcionalidad de la fase biótica y propiedades fisicoquímicas de los suelos. El análisis fisicoquímico de los suelos JRM (Juventino Rosas) y AGQ (Apaseo el Grande) fue determinado y relacionado con las actividades biológicas; por medio de la determinación de la biomasa microbiana (BM) por el método estático basado en SIR (siglas en inglés: Substrate Induced Respiration) usando el método de jarras herméticas, y la actividad microbiana presente mediante la hidrólisis de la fluoresceína diacetato (FDA), técnica que permitió determinar la viabilidad celular y su funcionalidad enzimática (esterasas-proteasas-lipasas) como indicadores entre otros de la calidad-funcionalidad de los suelos estudiados. La BM arrojo valores para los suelos de JRM y AGQ de 265.66 y 331.47 mg C_{mic} kg^{-1} suelo seco, respectivamente, siendo el suelo AGQ el de mayor biomasa microbiana. Con respecto a la actividad microbiana (FDA) los valores fueron de 19.41 y 12.04 mg Fluoresceína $h^{-1}kg^{-1}$ suelo seco, respectivamente. También se realizó una comparación entre el porcentaje de sodio intercambiable (PSI) con sus actividades biológicas y sus propiedades físicas del suelo con el objetivo de analizar cómo afecta la cantidad de sodio intercambiable a los parámetros estudiados siendo el suelo JRM el que muestra mayor PSI (17.59), concluyendo que este suelo presenta una fuerte afectación en su biomasa microbiana, siendo esta significativamente menor que en el suelo de AGQ , y su actividad microbiana (FDA), la cual es mayor a la de AGQ indicando que los microorganismos presentes se encuentran alterados debido a la perturbación de su ambiente por el elevado contenido de sodio.

ABSTRACT

Sodic soils at the Bajío Guanajuato have been seen to increase by unsustainable agricultural activities, leaving significant effects on the functionality of the biotic phase and physicochemical properties of soils. A physico-chemicals analysis of soils JRM (Juventino Rosas) and AGQ (Apaseo el Grande) were realized. These physico-chemicals analysis were related to their biological activities such as microbial biomass (BM) content using the static method based on SIR (acronym: Substrate Induced Respiration) with airtight jars, and their microbial activity by hydrolysis of the diacetate fluorescein technique (FDA), allowing into the sodic soils to determine their cell viability status and enzymatic functionality (esterases-proteases-lipases) as indicators among other soil quality-functionality. BM values for JRM and AGQ were founded to 265.66 and 331. 47 mg_{Cmic} kg^{-1}dry soil, respectively. AGQ soils with the highest microbial biomass contents were observed. Besides concerning to microbial activity (FDA) sodic soils both, values were observed to 19.41 and 12.04 mg of Fluorescein $h^{-1}kg^{-1}$ dry soil respectively. A comparison between of soil exchangeable sodium percentage (ESP) with their biological activities and physical properties in order to analyze how it affects the ESP to the studied parameters, were also conducted, being the JRM's soils which showed higher value of ESP (17.59), concluding that JRM soil conditions had a strong influence on its microbial biomass, which was lower significantly than soils AGQ. By other hand its microbial activity (FDA), was greater than AGQ indicating probably that microorganisms are altered due to the disruption of their environment and by the high ionic sodium content too.

Palabras Clave: Biomasa microbiana, actividad enzimática (FDA), sodicidad.

[1]TNM-ITCelaya, Depto. Ingeniería Ambiental; Antonio García Cubas Pte. #600 y Avenida Tecnológico, Alfredo V. Bonfil, C.P:38010, Celaya, Gto, diegofer.balderas@gmail.com
[2] TNM-ITCelaya, Depto. Ingeniería Ambiental; Antonio García Cubas Pte. #600 y Avenida Tecnológico, Alfredo V. Bonfil, C.P:38010, Celaya, Gto, eloy.conde@itcelaya.edu.mx

INTRODUCCIÓN

Algunos de los problemas de los suelos agrícolas son el resultado de prácticas no sustentables y la sobreexplotación de los mismos, como también del riego continuo con aguas salobres afectando su fertilidad y productividad. Se estima que en México solo el 3.2% de los suelos son sódicos pero que cada vez será más evidente el incremento de este porcentaje por su mal uso de ellos. En el Bajío se reconocen 10 unidades diferentes de suelos donde dominan del tipo feozem, aptos para la agricultura y ricos en materia orgánica y nutrientes (**Carranza, 2001; INAFED, 2010**). Uno de los problemas que se ha presentado como consecuencia de estas prácticas en la región del Bajío guanajuatense es la acumulación del ion monovalente sodio (Na^+) en los suelos agrícolas, limitando la actividad agrícola en grandes extensiones de tierra, causando una disminución de la capacidad productiva de los suelos y una baja en los rendimientos de los cultivos. El material del suelo está acondicionado por la actividad y residuos de los numerosos organismos microscópicos y macroscópicos acumulados en esta capa (**Hillel, 1998; Anderson y Domsch, 2010; Ferreira *et al* 2013**). El efecto de las sales en las plantas se presenta cuando son sometidas a altas concentraciones afectando su capacidad de retención de agua y además de los efectos iónicos que ocasiona a nivel enzimático en los procesos de glicolisis, ciclo de Krebs y fotofosforilación, dando como resultado una menor disponibilidad de energía, nutrientes y crecimiento de plantas, el uso de fertilizantes ha favorecido este efecto (**Mata *et al.* 2014**). Estos suelos presentan propiedades fisicoquímicas desfavorables como pH alcalino, bajo contenido de materia orgánica (%MO) y cambios en la textura del suelo (**Lakhdar *et al*., 2010; Srivastava *et al*., 2014**). La microbiota ayuda al proceso de fragmentación y transformación química de los suelos y contribuyen al desgaste de las rocas, liberan compuestos químicos al suelo (ácidos orgánicos, agentes quelatantes, fenoles, etc.) que además de contribuir a la formación del suelo fomentan la formación de estructura y promueven la circulación del aire. La actividad microbiana es la dinámica propia de los suelos y puede ser estimada por el contenido de biomasa microbiana (C-BM) y por otros parámetros biológicos. En el presente proyecto se presenta el análisis de la actividad microbiana por medio de hidrólisis del diacetato de fluoresceína y la Biomasa microbiana por respiración inducida por sustrato (SIR) en 2 suelos de la región Bajío guanajuatense (Tabla 1).

Tabla 1. Información geográfica de los sitios evaluados

Clave Suelo	Municipio	Coordenadas geográficas	Información
AGQ	Apaseo el Grande	20° 33´ N 100° 41´O	Altitud a 2100 m.s.n.m. Temperatura media anual 17.5 °C Precipitación pluvial promedio 650 mm
JRM	Santa Cruz de Juventino Rosas	20° 35´ N 101° 01´ O	Altitud a 1760 m.s.n.m. Temperatura media anual 18.8°C Precipitación pluvial promedio 628 mm

MARCO TEORICO

La caracterización fisicoquímica de los suelos es conveniente para dar un panorama de las características esenciales de cada suelo a ser analizado para distintas pruebas tanto físicas como biológicas; a los suelos JRM y AGQ se les determino su porcentaje de carbono orgánico total (%COT), materia orgánica (%MO), el porcentaje de humedad (%H) y capacidad de retención del agua (CRA), textura, conductividad eléctrica (CE), nitratos ($N\text{-}NO_3$), pH, su capacidad de intercambio catiónico (CIC), la determinación del porcentaje del Na^+ intercambiable (PSI), densidad y su cantidad de cationes disponibles en ellos (Na^+, Mag^{+2}, Ca^{+2}).

Así mismo también se analizaron parámetros biológicos como la actividad microbiana mediante la hidrólisis del diacetato de fluoresceína (FDA) y la determinación de la biomasa microbiana (BM) por respiración inducida por sustrato (SIR). La hidrólisis de diacetato de fluoresceína (FDA) es un método indirecto para medir la actividad de la biomasa microbiana de los suelos, la cual se basa en la hidrólisis del sustrato (FDA) por enzimas extracelulares como esterasas, proteasas y lipasas no especificas liberando la fluoresceína como producto, la liberación de la fluoresceína puede ser medida por espectrofotometría. La capacidad de hidrolizar éste compuesto está generalizada especialmente entre los principales descomponedores como las bacterias y los hongos en suelos (**Schnürer y Rosswall, 1982**; **Adam y Duncan, 2001**). La determinación de la biomasa microbiana (C-BM) por respiración inducida por sustrato (SIR), se basa en la adición de un sustrato como glucosa, aminoácidos, etc., esta técnica depende del estado fisiológico de las células que son influenciadas por diferentes factores del suelo, el principio es la captación del CO_2 liberado por el suelo en la solución de NaOH, la liberación de este compuesto y su captación representa la biomasa microbiana (BM), el CO_2 aparece cuando la descomposición de la materia orgánica es monitoreada (**Naklas and Klein, 1981**), la CRA es esencial para esta determinación ya que se debe tener conocimiento de la cantidad de agua que sea capaz de disolver el sustrato, si no está en su %CRA exacto afecta directamente a la respiración (**West A.W. y Sparling G.P., 1986**).

MÉTODOS Y MATERIALES

La determinación del %COT se realizó por el método establecido por **Walkley y Black (1934)** modificado por reducción de escala como se describe en **Alef y Nannipieri (1995)**, la determinación del %CRA por el método físico directo **(Alef y Nannipieri, 1995)**. El pH se determinó mediante el método potenciométrico en una suspensión de suelo:agua con una relación 1:2.5 m/m establecido por **Thomas (1996)**, la textura por el método de sedimentación diferencial y densimetría de **Bouyoucos (1962)**; el %MO se realizó con una simple correlación del resultado encontrado para el carbono orgánico total; para la CE se utilizó la misma relación que para el pH establecido por **Thomas (1996)**; la determinación de la CIC se realizó mediante el método establecido en la **NOM-021-SEMARNAT-2000** con el empleo de acetato de amonio como solución saturante, una digestión y titulación del catión índice (ion NH_4^+) con una solución de ácido clorhídrico (HCl) 1 M, a partir de la digestión mencionada se determinó Ca^{+2}, Mg^{+2}, Na^+ y K^+ por medio de espectrofotometría de absorción atómica a una longitud de onda de 423 y 285 nm; y el cálculo de porcentaje de sodio intercambiable (%PSI) se utilizó una formula la cual divide $100*Na^+/CIC$ donde Na^+ la cual debe estar en $cmol_c kg^{-1}$ mismas unidades para el CIC. Por último, para la determinación de nitratos, se realizó una extracción $N\text{-}NO_3$- presentes en los suelos con sulfato de potasio a 0.5 M, en una relación 1:10 para suelo seco (**Conde *et al.*, 2005**) tomándose una alícuota de 0.1 mL de ese extracto para ser analizado por el método colorimétrico directo establecido por **Alef y Nannipieri (1995).**

La estandarización para la hidrólisis del FDA en suelos sódicos se realizó mediante una pre-incubación aerobia para evitar variaciones de la fase biológica de los suelos debido al muestreo, posteriormente, se secó el suelo y se tamizo, pesándose 1 g de suelo seco, se agregó 15 mL de una solución buffer de fosfato (60 mM, pH 7.6 ajustado con HCl) y 0.15 mL FDA (1 mg/mL) para una concentración final de 10 µg/mL. Posteriormente se colocaron las muestras en un agitador orbital por 1 h, a 35°C y 50 rpm, al término de la incubación se agregaron 2 mL de acetona grado analítico para detener la reacción y se centrifugo a 4000 rpm y 4°C por 10 minutos para después ser filtrados con papel filtro Whatman No. 4 para eliminar las interferencias de materia orgánica que pudieran haber quedado suspendidas, después de la filtración se mide la absorbancia a 490 nm en un espectrofotómetro (**Schnürer and Rosswall, 1982; Adam y Duncan, 2001; Jiang *et al.*, 2016).** La cuantificación de la C-BM se determinó por SIR en jarras estáticas como se describe en **Alef y Nannipieri (1995)** humedeciendo cada muestra de suelo al 55% de su CRA y después 25 mL de NaOH a 0.5 M, se incuban las jarras por 2 o 3 días a 25 °C, y la solución de NaOH fue valorada con otra solución de HCl al 0.5 M y para determinar la glucosa óptima se valoró a diferentes concentraciones de este sustrato (0, 250, 1000, 1750, 2500, 3250 y 4000 mg de glucosa kg^{-1} suelo seco).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las medias y desviaciones estándar de los resultados de la caracterización fisicoquímica de los suelos se presentan en la Tabla 2. Los resultados indicaron que la textura en AGQ es Franco-Arcilloso denominado suelo de textura media y el suelo JRM es Arcilloso denominado suelo de textura fina, la estructura y textura del suelo es una característica esencial de cómo es la actividad biológica del suelo, los suelos arcillosos poseen una alta concentración de biomasa microbiana pero los suelos francos tienen mayor aireación dando lugar a la mayor disposición de nitrógeno haciendo que exista mayor biomasa en el sistema (**Lacasta *et al.*, 2006**); en comparación con el carbono orgánico total (%COT) el suelo JRM presenta una mayor concentración, dando un valor mayor de materia orgánica disponible ayudando al transporte de los nutrientes (**Martinez *et al.*, 2008**). Analizando los parámetros de la Tabla 2 podemos ver la diferencia de los valores presentados entre los dos suelos con una textura diferente, así mismo podemos notar que el valor del porcentaje de sodio intercambiable (PSI) es muy elevado en el suelo JRM dando razón a lo visto en campo que no había vegetación; los valores de pH indicaron una alcalinidad en estos suelos estando entre (8.40 – 8.85); la capacidad de retención de agua (%CRA) es superior en el suelo JRM indicando una mayor capacidad de adsorción y retención de agua dando un panorama de como este suelo trata de superar su problema de sodicidad, pero, que al tener un alto contenido de PSI el proceso se dificulta aún más. Bajo el mismo contexto, la calidad del suelo está determinada por estos factores fisicoquímicos y biológicos, una buena calidad del suelo representa el óptimo desarrollo de los procesos metabólicos de los microrganismos (**Bautista *et al.*, 2004**); en la Tabla 3 se presentan los valores de las actividades microbianas y su biomasa de los suelos estudiados. Es importante resaltar que en el suelo JRM se obtuvo un valor mayor de CE (1.22 dS m^{-1}) acorde al PSI obtenido (17.59), y analizando los valores de los cationes presentes en el suelo podemos ver que el catión sodio está más presente en comparación con el suelo AGQ, observándose un fenómeno en el que el PSI fue mayor en el suelo JRM, se podría presentar un efecto ecológico sobre la actividad microbiana (FDA), ya que su actividad fue mayor comparado con AGQ, lo anterior posiblemente como resultado de una adaptación o resilencia en la composición microbiana para compensar la cantidad de sodio y así poder encontrar un equilibrio en este suelo; aunque la biomasa microbiana de este suelo (265.66 mg C_{mic} kg^{-1} suelo seco) fue más baja comparado con AGQ (331.47 mg C_{mic} kg^{-1} suelo seco), deduciendo que la composición microbiana (bacterias y hongos), así como su cantidad en estos suelos pudiera estar relacionada inversamente con la actividad microbiana.

El porcentaje de carbono orgánico total (%COT) está directamente relacionado con las actividades biológicas y con factores fisicoquímicos de los suelos. En el suelo de AGQ se obtuvo 1.10 % COT, una actividad microbiana de 12.04 mg Fluoresceína $h^{-1} kg^{-1}$ suelo seco siendo ambos parámetros menores con respecto a los del suelo de JRM, siendo 1.35 % y 19.41 mg Fluoresceína $h^{-1} kg^{-1}$ suelo seco, respectivamente.

Tabla 2. Parámetros fisicoquímicos de los suelos evaluados en la región Bajío guanajuatense.

Suelos	*COT*	*pH*	*CE*	*Humedad*		*Textura*		*Densidad*
	%	-	dS m^{-1}	%	Arena (%)	Arcilla (%)	Limo (%)	g mL^{-1}
AGQ	1.10 (0.21)	8.40 (0.06)	0.87 (0.01)	11.03 (1.11)	34.63 (2.06)	40.24 (1.22)	62.93 (2.49)	0.94 (0.01)
JRM	1.35 (0.07)	8.85 (0.07)	1.22 (0.02)	6.63 (0.01)	17.19 (0.62)	52.27 (1.23)	30.55 (2.59)	0.94 (0.01)
	MO	**Na^+**	**Ca^{+2}**	**Mg^{+2}**	**CIC**	**PSI**	**CRA**	**N-NO3**
	%	**mg kg^{-1}**	**mg kg^{-1}**	**mg kg^{-1}**	**meq / 100 g**	**%**	**%**	**mg kg-1**

AGQ	1.89 (0.37)	640 (9.80)	4999 (89)	996 (33)	37.70 (1.23)	7.37	92.41 (1.31)	17.90 (1.50)
JRM	2.33 (0.19)	1395 (12.36)	4127 (12)	402 (12)	34.5 (1.04)	17.59	115.3 (1.69)	13.00 (2.10)

Los valores en paréntesis corresponder a la desviación estándar entre las subparcelas de cada suelo.

Tabla 3. Parámetros biológicos de los suelos evaluados de la región Bajío guanajuatense

Biomasa microbiana (SIR)			**Actividad microbiana (FDA)**		
mg C_{mic} kg^{-1*}		CV (%)	mg Fluoresceína $h^{-1}kg^{-1*}$		CV (%)
AGQ	**JRM**		**AGQ**	**JRM**	
331.47 (130.10)	265.66 (68.97)	15.59	12.04 (1.63)	19.41 (1.99)	33.18

Los valores entre paréntesis corresponden a la desviación estándar entre las subparcelas de cada suelo.
**Se refiere a kilogramos de suelo seco y tamizado.*

Al hacer un análisis estadístico ANOVA y TUKEY de la actividad microbiana en los dos suelos se encontró que sí hay diferencias significativas entre sus medias, por lo tanto, podemos establecer que la diferencia de cada suelo podría estar relacionada con sus características fisicoquímicas influenciando a su actividad microbiana; respecto a la biomasa microbiana no existen diferencias entre los suelos analizados, la biomasa es constante en las áreas analizadas. Por otro lado, se reportó que el suelo JRM es uno de los más afectados por sodio pero que se ha estado tratando con diferentes sustratos para tratar de minimizar este problema, lo cual puede indicar su alta concentración de actividad microbiana. Al hacer un análisis ANOVA a la biomasa microbiana y a la actividad microbiana, vemos que existen diferencias significativas, observamos que la cantidad de biomasa microbiana no es proporcional al valor de su actividad microbiana, pero como se comentó, la actividad microbiana podría no ser proporcional a la cantidad de microorganismos que existen en el suelo por lo que es de interés estudiar a futuro la composición microbiana a nivel biología molecular de los suelos estudiados.

CONCLUSIONES

Cada valor de las características fisicoquímicas reportadas en la Tabla 2 se relacionan directamente con la biomasa microbiana y su actividad, en los resultados se observa un incremento de biomasa microbiana en el suelo AGQ pero una menor actividad microbiana en comparación con el suelo JRM, que se encuentra afectado por una elevada concentración de iones Na^{+} por lo cual los microorganismos presentes en este suelo se encuentran más activos en un intento de controlar las condiciones ambientales para asegurar su supervivencia. La textura se relaciona directamente con el PSI y su concentración de Na^{+}, un elevado contenido de este ion en los suelos originan perdida de su estructura y disminuye la disponibilidad de los nutrientes, además provoca deficiencia en la aireación e infiltración del agua dando condiciones no óptimas para los microorganismos de estos suelos.

BIBLIOGRAFIA

Libros
DANIEL HILLEL (2004). Introduction to Environmental Soil Physics.
Artículos de revista
Alef, K., y Nannipieri, P. (1995). Methods in applied soil microbiology and biochemistry. Academic press, pp. 60 – 61.

Anderson T. H. y Domsch K. H. 2010. Soil microbial biomass: The eco-physiological approach. Soil Biology & Biochemestry. 42, 2039-2043.
Bautista Cruz A., Etchevers Barra J., del Castillo R.F, C. Gutierrez (2004). La calidad del suelo y sus indicadores. Ecosistemas 13 (2): 90-97
Bouyoucos, G. J. (1962). Hydrometer method improved for making particle size analyses of soils. Agronomy Journal, 54 (5), 464 – 465.
Conde Ea., Cardenas M., Ponce-Mendoza A., Luna-Guido M.L, Cruz-Mondragón C., Dendooven L. (2005) The Impacts of inorganic application on mineralization of 14C-Labelled maize and glucose, and on priming effect in saline alkaline soil. Soil Biology and Biochemistry 37:681-691.
Ferreira, A. S., Amelia, M., Santos, D. O. S., & Corrêa, G. F. (2013). Soil microbial response to glucose and phosphorus addition under agricultural systems in the Brazilian Cerrado. Anais da Academia Brasileira de Ciencias. 85 (1), 395–403.
Gillian A. and Duncan H., (2001). Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. Soil Biology & Biochemistry (33) 943 – 951.
Green V.S., Stott D.E., Diack M. (2006). Assay for fluorescein diacetate hydrolytic activity: Optimization for soil samples. Soil Biology & Biochemistry 38: 693 – 701.
Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal (INAFED). 2010. Guanajuato. Enciclopedia de los Municipios y Delegaciones de México. Disponible en: http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM11guanajuato/mediofisico.html. Fecha de consulta: 25 de Junio de 2016.
Jian S., Huang Jing, Lu Haoliang, Liu JingChun and Yan Changlin (2016). Optimisation for assay of fluorescein diacetate hydrolytic activity as a sensitive tool to evaluate impacts of pollutants and nutrients on microbial activity in coastal sediments.
Lacasta C., Benítez M., Maire N. y Meco R., (2006). Efecto de la textura sobre diferentes parámetros bioquímicos. Congreso SEAE Zaragoza VII.
Mata-Fernández I., Rodríguez-Gamiño ML., López-Blanco J., Vela-Correa G., (2014). Dinámica de la salinidad en los suelos. E-BIOS 1 (5): 26-35.
Sánchez-Monedero M.A., Mondini C., Cayuela M.L., Roig A., Contin M., De Nobili M. (2008). Fluorescein diacetate hydrolysis, respiration and microbial biomass in freshly amenden soils. Biol Fertil Soils 44:885 – 890.
Schnürer Johan and Rosswall Thomas, (1982). Fluorescein Diacetate Hydrolysis as a Measure of Total Microbial Activity in Soil and Litter. Applied and Environmental Microbiology 43 (6): 1256 – 1261.
Walkley, A., Black, C.A. (1934). An examination of different methods for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Sc. 37, 29-38.

SILENCIAMIENTO GÉNICO INDUCIDO POR VIRUS EN PLANTAS DE *Amaranthus caudatus*

Ayabeth Ordaz Arias[1] y Délano Frier John[2]

RESUMEN

El amaranto es un pseudocereal que ha sido identificado como un cultivo alimentario muy prometedor, debido a su excepcional valor nutritivo por su contenido de proteínas, lípidos y minerales. En la actualidad el silenciamiento génico inducido por virus es una poderosa herramienta para reprimir genes específicos, sobre todo en especies recalcitrantes a la transformación genética convencional. Para este experimento se sembraron plantas de *Amaranthus caudatus* y se inocularon a los 14 días de germinación con *Agrobacterium tumefaciens* que contenía al vector TRV2 con los genes, *CHLH* y *PDS*. Logrando observar síntomas evidentes de infección viral en plantas inoculadas con los distintos vectores a los 20 días después de la inoculación. De este modo, el objetivo de este trabajo fue caracterizar la infección viral y el silenciamiento de genes marcadores en plantas de 14 días de edad mediante la técnica de agroinoculación.

Palabras clave: *Amarathus caudatus,* silenciamiento génico pos-transcripcional (PTGS, por sus siglas en inglés; silenciamiento génico inducido por virus (VIGS, por sus siglas en inglés)

ABSTRACT

Amaranth is a pseudocereal that has been identified as a promising food crop, due to its exceptional nutritional value of protein, lipids and minerals. At present, the virus induced gene silencing is a powerful tool to suppress specific genes. In this experiment, the seeds of *Amaranthus caudatus* were sown and were inoculated at 14 days germination with *Agrobacterium tumefaciens* containing the TRV2 vector with the *CHLH* and *PDS* genes. Evident symptoms of viral infection in plants inoculated with the different vectors genes were observed at 20 days after inoculation. In this manner, the objective of this work, which was to characterize the viral infection as a tool for gene silencing plants in 14 day-old seedling by the agroinoculation technique was achieved.

Keywords: *Amarathus caudatus,* post-transcriptional gene silencing (PTGS), virus-induced gene silencing (VIGS).

INTRODUCCIÓN

Amaranthus caudatus, recibe su nombre de sus flores rojas, sin pétalos, que florecen en caída, formando así la panoja. Normalmente la panoja cuelga hacia abajo y tiene aproximadamente una longitud de 12''. Esta especie es originaria de Perú. Es una planta de aprovechamiento integral; pues sus hojas se consumen como verdura, mientras que las semillas son usadas como cereales (Villanueva y Arnao, 2007)

El silenciamiento es un término utilizado para describir el "apagado" de un determinado gen; hace uso de maquinaria específica como los micro ARN (o miRNAs, por sus siglas en inglés) y los ARN pequeños de interferencia (o siRNA, por sus siglas en inglés). Los miRNAs son ARN de cadena sencilla que varían en tamaño desde 17 hasta 25 nt, teniendo como tamaño más común 21 nt. Generalmente, son sintetizados

[1] [1]Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Ingeniería Bioquímica; Carretera Irapuato-Silao km 12.5, C.P: 36821, Irapuato, Gto., ayabeth.rdz.01@hotmail.com
[2] [2] Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, CINVESTAV, Depto. de Ingeniería Genética; Km 9.6 Libramiento Norte Carr. Irapuato-León 36821 Irapuato, Gto, jdelano@ira.cinvestav.mx

en el núcleo de la célula y madurados en el citoplasma como mecanismo de regulación génica. Una particularidad importante de los miRNAs es que todos sus precursores forman estructuras tipo tallo y asa, lo que se ha convertido en una propiedad esencial para los grupos que están interesados en su identificación (Flores *et al*. 2007). Los siRNAs son moléculas pequeñas de RNA con la capacidad de reconocer, por complementariedad de bases, ciertas regiones de un ARN mensajero blanco. Esta unión resulta en la inhibición de la expresión de dicho mensajero, es decir, su silenciamiento. Por lo tanto, el silenciamiento génico mediante ARN de interferencia, se ha convertido en una herramienta efectiva empleada para inhibir la expresión de genes específicos.

El silenciamiento génico se puede clasificar en dos grandes ramas: la primera, es el silenciamiento génico transcripcional (TGS, por sus siglas en inglés), el cual impide la trascripción del ADN, cuyo proceso implica la disminución de la síntesis de ARN, y la segunda es el silenciamiento génico post-transcripcional (PTGS, por sus siglas en inglés) que actúa directamente sobre el transcrito de ARN mensajero (ARNm). Este mecanismo consiste en la degradación de una secuencia especifica del ARNm (Sijen *et. al*. 2001).

En plantas, es más común hablar de PTGS; dentro de este mecanismo se encuentra el silenciamiento génico inducido por virus (VIGS, por sus siglas en inglés). El término VIGS describe una técnica que emplea virus recombinantes para reducir específicamente la actividad de un gen endógeno y se basa en el silenciamiento génico post-transcripcional (PTGS). Los vectores virales usados comúnmente para VIGS, se manipulan para incorporar un fragmento del gen blanco de la planta huésped. Las plantas que emplean PTGS como su línea de defensa antiviral innata para contrarrestar la proliferación viral, emplean un mecanismo de degradación del ARN muy similar a las vías del ARN de interferencia (ARNi) (Becker y Lange, 2010).

MATERIALES Y MÉTODOS

Las actividades del presente trabajo se realizaron en el laboratorio de Fisiología de la defensa de Plantas, en el departamento de Biotecnología y Bioquímica del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Unidad Irapuato.

Siembra de plantas de *Amaranthus caudatus*

Para el desarrollo del experimento se utilizaron semillas de *A. caudatus*, proporcionadas por el laboratorio de Fisiología de la defensa de Plantas a cargo del Dr. John DélanoFrier. En 70 macetas que contenían tierra húmeda hasta tres cuartas partes de su capacidad, se pusieron a germinar semillas de *A. caudatus*. Se colocaron de 3 a 4 semillas por maceta aproximadamente a 1 cm. de profundidad. Una vez que se sembraron todas las macetas, se trasladaron a un cuarto de crecimiento donde la temperatura se mantuvo de 25 a 28°C con un fotoperiodo de 16 h luz y 8 h oscuridad. Se regaron cada tercer día con aproximadamente 200 ml de agua para cada maceta. Al cumplirse los 14 días de germinación, se realizó una selección en cada maceta, para que solamente quedara una plántula en cada una de ellas.

Cultivo de *Agrobacterium tumefaciens*

Para la siembra de la bacteria *A. tumefaciens*, fueron proporcionadas cepas que contenían cada uno de los plásmidos que se querían inocular en la planta. Para ello se sembró la bacteria con cada uno de los vectores correspondientes en agar LB con kanamicina (50 µg/ ml), se dejó en incubación por 48 h a 28°C. Después, se resembro en medio LB con rifampicina (50 µg/ ml). Es importante mencionar que se adicionó kanamicina y rifampicina a los medios, dado que *A. tumefaciens* es resistente a rifampicina por lo que se empleó para evitar la contaminación del medio con otros microorganismos, Mientras que la kanamicina se empleó para inhibir el crecimiento de colonias que no poseían el vector gracias a que el vector inoculado provee a las bacterias transformadas la resistencia a este antibiótico.

Posteriormente, se dejó incubar hasta que alcanzó la densidad óptica (DO_{600}) de 1.00; se centrifugó, se desechó el sobrenadante y la pastilla se resuspendió en un medio de inducción (MES, $MgCl_2$ y acetosiringona) en suficiente volumen para conservar la DO_{600} anteriormente descrita. Se dejó en el medio de inducción durante 24 h a 28°C, en agitación (200 rpm) en la obscuridad.

Con una jeringa desechable de 1 ml (sin aguja), se infiltraron aproximadamente 30 µL de la suspensión de *A. tumefaciens* en el envés de 2 hoja por cada planta, verificando que se cubriera cerca del 70% de la hoja con el volumen inyectado. Se repitió esta misma operación con cada una de las plantas, se cambió de jeringa con cada plásmido inoculado.

La inoculación de cada uno de los vectores en las 70 plantas, se llevó a cabo mediante la infiltración de hojas con *A. tumefaciens*, que contiene los plásmidos de TRV2: vacío, TRV:*CHLH* y TRV2:*PDS*. La cantidad de plantas que se destinó para cada plásmido se presenta a continuación.

14 plantas destinadas para control (sin inocular); 6 plantas inoculadas con agua inyectable (control de daño mecánico); 10 plantas inoculados con *A. tumefaciens* cepa AGL1 (Abrv. AGL1); 13 plantas para Magnesio quelatasa sub unidad H (Abrv. CHLH); 12 plantas para Componente 2 del Virus cascabeleo del tabaco (Abrv. TRV2) y 13 plantas para Phytoenodesaturasa (Abrv. PDS)

Detección del virus en hojas de *A. caudatus*

Recolección de material vegetal: Las hojas de plantas de *A. caudatus* fueron previamente recolectadas de un experimento de silenciamiento anterior al presente.

Aislamiento del ARN total y evaluación de su integridad y calidad: La extracción de ARN total se realizó de acuerdo al protocolo establecido en el laboratorio de Fisiología de la defensa de Plantas. Para la evaluación de calidad de los ARN obtenido, se utilizó el cociente de absorbancia entre 260 y 280 nm (260/280), que es un indicio de la pureza del ADN o ARN. Para el ADN, un rango de aproximadamente 1.8 es aceptado como ADN puro, y para el ARN, el rango de pureza debe ser cercano a 2. Si los rangos obtenidos son inferiores a lo descrito, entonces significa que en las muestras aún hay presencia de contaminantes mediante el uso de un espectrofotómetro NanoDrop (Nano-Drop Products, Wilmington, DE, USA). El siguiente paso, importante para analizar la calidad de las muestras de ARN, fue observar las bandas de los ARN ribosomales 28S y 18S en un gel de agarosa. ¿Por qué analizar estos ARN? Recordemos que en las muestras de ARN, el ARNm o ARN mensajero, apenas conforma el 1-3% total, y el ARNr (o ARN ribosomal) conforma más del 80% del total. (Palmer y Prediger, 2016)

Detección del virus: Para identificar la presencia del virus, así como comprobar que el silenciamiento génico se estaba llevando a cabo, a partir del ARN extraído se realizó una síntesis de ADNc, para posteriormente amplificar los genes de interés. Como control, se amplificó el gen de la actina esto para corroborar que la síntesis del ADNc se había llevado de manera correcta. El gen de la actina forma parte de un complejo proteico que participa en la formación de microfilamentos del citoesqueleto (Blanco *et al*. 2002). Por lo tanto, el gen debe expresarse en cualquier etapa de crecimiento de la planta. Para este análisis, se siguió el protocolo de RT-PCR establecido en el laboratorio. Finalmente, la comprobación de la amplificación se realizó a través de una electroforesis de ADN amplificado en un gel de agarosa al 1%.

RESULTADOS

Resultados de la infección viral

Para reportar los resultados obtenidos, se seleccionó la planta más representativa de cada grupo correspondiente. Se encontró una gran variación de tamaño entre cada una de las plantas en comparación

con la planta control (**Figura 1**). Otra variable que se encontró fue la forma de las hojas, pudiendo observarse, en las plantas correspondientes a *CHIH* y *PDS*, hojas pequeñas y arrugadas, los cuales son síntomas de infección viral. Además, se logró observar que el color de las hojas variaba, desde verdes brillantes hasta hojas que presentaban amarillamiento. Lo anterior podría ser representativo del silenciamiento de los genes mencionados, ambos asociados con la síntesis y estabilidad de la clorofila.

Figura 1. Plantas con síntomas de infección viral. De derecha a izquierda se observa lo siguiente: la planta control (Ctrl), la planta inoculada sólo con *A. tumefaciens* (AGL1) o con el vector vacío (TRV2). Las dos últimas representan plantas inoculadas vectores construidos los genes *PDS* y *CHLH*, respectivamente.

En la **Figura 2**, se muestra una de las hojas que tiene una deformación, conocida como "escoba de bruja" que, en experimentos anteriores, se ha relacionado con la presencia del virus en la planta o con otros patógenos bacterianos conocidos como fitoplasmas.

Figura 2. Hoja de amaranto que muestra deformidades foliares similares al síntoma conocido como "escoba de bruja", posiblemente causado por la infección del TRV. La hoja de *A. caudatus* fue inoculada con TRV mediante agroinfiltración.

Resultados de la detección viral

Los resultados presentados en la **Figura 3**, derivados del análisis del título viral, se obtuvieron de un experimento anterior al presente, donde los síntomas de silenciamiento se observaron alrededor de las 9 semanas después de la infección. Para evidenciar que realmente se estaba llevando a cabo tanto la infección como el silenciamiento, en este caso del gen *CHLH*, las muestras de ADNc se corrieron en un gel de agarosa, y se obtuvo lo siguiente. En la figura se muestran, de derecha a izquierda los siguientes resultados: el carril 1, que corresponde a plantas silenciadas del gen *CHLH*; en el carril 2, plantas sin silenciamiento, y en el carril 3, resultados de plantas inoculadas con el virus TRV vacío. En la imagen, las bandas que se logran observar (marcadas con una flecha) pertenecen al gen de *CHLH* (i. e., carril 1), dónde las que corresponden a plantas con silenciamiento mostraron una intensidad menor a las bandas de los dos siguientes carriles, que fueron controles. Este patrón coincide con la esperada disminución de la expresión génica, por lo que se concluye que el silenciamiento génico ocurrió. Sin embargo, es importante mencionar que sólo algunas hojas presentaban síntomas de silenciamiento, por lo que en algunas de ellas el gen no estaba silenciado. Es por ello que aún se logra ver esa banda (recuadro rojo) a la altura de las demás; de lo contrario, si se hubiera presentado una inhibición completa del gen, esta banda no hubiera aparecido en el gel. Este ensayo fue útil para comprobar, en forma preliminar, el periodo de tiempo necesario para establecer el nivel de silenciamiento óptimo.

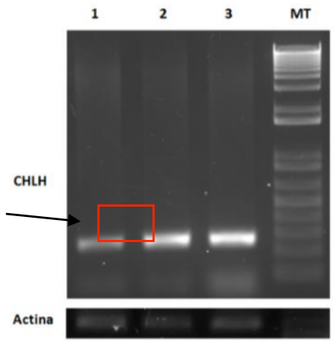


Figura 3. Análisis semicuantitativo, por RT-PCR, del gen *CHLH* en plantas de *A. caudatus* silenciadas por VIGS. En los carriles se muestra lo siguiente: 1, planta silenciada; 2, planta control, sin silenciar y 3, planta inoculada con TRV2 vacío**.**

CONCLUSIONES

El silenciamiento génico es una herramienta de gran potencial que, en principio, permite inhibir la expresión de genes específicos. En el presente experimento, se realizó un ensayo de silenciamiento génico inducido por virus, o VIGS, a partir de vectores derivados del virus del cascabeleo del tabaco (TRV), con el fin de inhibir la expresión de genes marcadores como el gen *CHLH*, que codifica a la magnesio quelatasa subunidad H, el cual está involucrado en la síntesis de clorofila. Éste, al ser silenciado derivará en una coloración amarilla debido a la falta de clorofila en la planta. También se utilizó el gen *PDS*, codificante de una fitoenodesaturasa, que participa en un paso clave de la ruta de los carotenoides. Éstos actúan como fotoprotectores de la clorofila, por lo cual el silenciamiento de este gen

usualmente resulta en la pérdida de la coloración de las hojas, que se observan blancas, debido a la foto oxidación de las mismas. En estos ensayos, se pudo determinar que la planta puede ser infectada desde los 14 días de germinación con TRV. Por otro lado, uno de los objetivos de este ensayo de silenciamiento génico, era determinar si los síntomas de silenciamiento se observan en periodos más cortos, después de ser inoculadas, cuando la inoculación se lleva a cabo en plantas de menor edad (14 días). Sin embargo, no fue posible observar señales de silenciamiento génico de los distintos genes. Este resultado podría haberse debido a que, en experimentos previos, se ha observado que los síntomas de silenciamiento se presentan más tarde, alrededor de las 6 semanas después de la inoculación, mientras que las plantas utilizadas en este ensayo sólo fueron observadas hasta las 4 semanas después de haber sido inoculadas. Por lo tanto, estas plantas deberán seguir en observación para determinar el tiempo en el cual podrían presentar los esperados síntomas de silenciamiento.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. John Paul Délano Frier, a la M.C. Claudia Portillo Nava, de quién estoy muy agradecida por su infinita paciencia y conocimiento, y en general, a todo el equipo de trabajo del laboratorio de Fisiología de la Defensa de Plantas del Cinvestav, Unidad Irapuato, por su recibimiento y enriquecedora estancia de investigación. Agradezco, además, al programa de Verano de la Ciencia 2016, Región Centro, por brindarme el privilegio de formar parte de esta gran experiencia.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ✓ Becker A. y Lange M. 2010, “VIGS- genomics goes functional”. Cell 15 No.1. pp. 1-4.
- ✓ Guirado O., Solanas M., Costa I., Escrich E., 2002. “El citoesqueleto de actina: una perspectiva desde la biología molecular del cáncer”. Revista Cubana de Investigación Biomédica. No. 21. Pp. 115-122
- ✓ Flores F., Martínez M., Arenas C., Covarrubias C., Reyes J., 2007. “¡Silencio mensajeros! Qué son y cómo actúan los microRNAs”. REB No. 26. Pp 135-141.
- ✓ Nanodrop Technologies, Inc. 2007. “260/280 and 260/230 Ratios NanoDrop® ND-1000 and ND8000 8-Sample Spectrophotometers”. Technical support bulletin. 5, pp. 1-2.
- ✓ Palmer, M., Prediger, E. 2016. “Assessing RNA Quality”. Thermo Fisher Scientific Inc.
- ✓ Titia S., Irma V., Alexandra R., Rik V., Dick R., Joseph N.M. Mol and Jan M. Kooter. 2001. “Transcriptional and posttranscriptional gene silencing are mechanistically related”. Current Biology No. 11. pp. 436–440.
- ✓ Villanueva O. y Arnao I. 2007. “Purificación de una proteína de 35 kDa rica en lisina, de la fracción albúmina de *Amaranthus caudatus* (kiwicha)”. Anales de la Facultad de Medicina. Lima. No. 68. Pp. 344-350.

EFICIENCIA DE DOS BIOFERTILIZANTES BACTERIANOS PARA SUSTITUCIÓN DE FERTILIZANTES SINTÉTICOS DE N EN TRIGO

Mónica Vanessa Oviedo Olvera[1] y Antonio Cárdenas Flores[2]

RESUMEN

Los biofertilizantes son productos biológicos que contienen células vivas de diferentes tipos de microorganismos, los cuales tienen la capacidad de convertir los elementos esenciales de no disponibles a disponibles para las plantas. El objetivo de esta investigación fue determinar la concentración bacteriana óptima de dos biofertilizantes a base de *Azotobacter sp*. inoculados al cultivo de trigo. Se prepararon macetas con sustrato de turba y perlita, acomodadas aleatoriamente y se inocularon las semillas con solución biofertilizante a distintas concentraciones. Se estableció correctamente el diseño experimental y se lograron obtener algunos datos de caracterización del trigo.

ABSTRACT

Biofertilizers are biological products which contain living cells from different types of microorganisms; these cells can transform the essential elements from unavailable to available for the plants. This project intended to determine the optimal bacterial cell concentration of two biofertilizers made from *Azotobacter sp.*, in wheat crop. Pots were prepared with peat moss:perlite substrate and arrangeded in randomized conditions; seeds were inoculated with biofertilizer solution in different concentrations. The experiment was successfully established and we obtained some data for wheat characterization.

Palabras Clave: *Azotobacter*, fertilizante biológico, solución *Steiner*, sustrato.

INTRODUCCIÓN

La aplicación de fertilizantes químicos ha permitido incrementar el rendimiento de las cosechas, sin embargo, el costo de los fertilizantes con frecuencia excede el beneficio que se le pueda sacar al cultivo, además el uso desmedido de estos productos ha provocado daños en el ambiente difíciles de eliminar, tanto en el suelo como en los mantos freáticos. Las características anteriores y principalmente las demandas del mercado que giran en torno a productos orgánicos, han hecho que muchos productores y agricultores cambien sus estrategias de fertilización y control de plagas. En este contexto, se ha hecho el uso de la biotecnología para proveer productos que contengan componentes orgánicos y/o biológicos (principalmente microorganismos) como una medida de fertilización y control de plagas eficiente que no genere efectos dañinos al medio ambiente y que además produzca rendimientos iguales o superiores comparados con los agroquímicos sintéticos (Vessey, 2003).

Los biofertilizantes son productos biológicos que contienen células vivas de diferentes tipos de microorganismos, los cuales tienen la capacidad de convertir los elementos esenciales (N, P y otros) de no disponibles a disponibles a través de procesos biológicos tales como la fijación del nitrógeno, la solubilización de la roca fosfórica, la quelatización de iones y otros (Vessey, 2003; Terry *et al*., 2012)

[1]Universidad Autónoma de Querétaro, Cerro de Las Campanas, s/n, Las Campanas, 76010, Santiago de Querétaro, Querétaro, monica_oviedoo@hotmail.com
[2]Centro de Investigación en Química Aplicada, Departamento de agroplasticultura; Blvd. Enrique Reyna Hermosillo #140, Col. San José de los Cerritos, C.P: 25294, Saltillo, Coahuila, antonio.cardenas@ciqa.edu.mx

bioproductos a base de microorganismos son empleados como agentes de control de plagas en plantas, contra microorganismos dañinos a las plantas, como agentes que favorecen sus desarrollos (microorganismos promotores de crecimiento), como fijadores de nitrógeno, solubilizadores de fósforo, potasio y otros nutrientes para hacerlos disponibles a las plantas. Estos productos pueden ser aplicados a los cultivos de una manera segura y con muchísimo menos riesgos al ambiente, llegando a sustituir en gran medida a los productos netamente químicos que no son degradados en el ambiente.

Este proyecto pretende investigar a nivel de invernadero utilizando sustrato artificial, la concentración óptima de unidades formadoras de colonia de dos cepas de *Azotobacter sp* en combinación con diferentes dosis de N (NO_3^-) en trigo, para obtener un efecto de sustitución de fertilización nítrica sintética.

MARCO TEORICO

La fijación biológica de nitrógeno implica que la mayor parte del N_2 atmosférico es fijado a amonio, representando un punto clave de la entrada del N_2 molecular en el ciclo biogeoquímico del nitrógeno (Taiz, 2006).

La mayoría de los procariotas capaces de convertir el nitrógeno atmosférico en amonio viven libremente en el suelo; unos pocos forman asociaciones simbióticas con plantas superiores en la que el procariota aporta a la planta hospedadora nitrógeno fijado y lo intercambia por otros nutrientes y carbohidratos. Dicha simbiosis tienen lugar en los nódulos que se forman en la planta y que contienen las bacterias fijadoras de nitrógeno (Taiz, 2006).

Se ha demostrado que el uso de bacterias fijadoras de nitrógeno con una capacidad efectiva para solubilizar fosfatos orgánicos e inorgánicos es una de las estrategias más viables para el desarrollo de la agricultura sustentable. *Azotobacter* es una proteobacteria gamma perteneciente a la familia *Pseudomonadaceae.* Es una bacteria gram negativa, aeróbica obligada que se encuentra dispersa en distintos ambientes como el suelo, agua y sedimentos. *Azotobacter* proporciona grandes beneficios para el rendimiento de plantas, debido a su habilidad para fijar nitrógeno, solubilizar fosfatos y a la secreción de fitohormonas estimulantes. Finalmente esta bacteria al tener adaptabilidad a diferentes climas y condiciones de ambientes es bien utilizada como biofertilizante (Rahim *et al.* 2014).

MÉTODOS Y MATERIALES

El trabajo de investigación se realizó en el Departamento de Plásticos en la Agricultura del Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA) (25° 27'N, 101° 02'O) con una altitud de 1520 msnm.

Para llevar a cabo el proyecto fue necesario comenzar con el diseño experimental el cuál fue de bloques al azar para garantizar la igualdad de condiciones de los tratamientos. Para evitar favorecer más un tratamiento que otro fue la razón de este acomodo, ya que así todos los tratamientos tendrán condiciones similares y al mismo tiempo variadas. En la tabla 1 se muestran las especificaciones de cada tratamiento que se utilizó en la inoculación del trigo, en los cuales se varía las concentraciones de bacteria con la solución de Steiner. En total se elaboraron 6 tratamientos con la cepa A de *Azotobacter*, 6 tratamientos con la cepa B, y 3 tratamientos a los que se les dosificó diferencialmente (6, 9 y 12 meq/L) de N (NO_3) mediante la solución de Steiner pero no se les aplicó la bacteria; de todos los tratamientos la solución con 12 meq/L de N (NO_3) se consideró como el testigo con fertilización 100% sintética.

Primeramente se verificaron las condiciones del invernadero en el cuál se evaluarían las formulaciones biofertilizantes. El diseño del invernadero fue de 10×18m tipo túnel con ventilaciones

lateral-cenital, contando con un extractor y pared húmeda para la regulación de la temperatura, posteriormente se le colocó una malla sombra para reducirla más.

Para el cultivo de plantas se prepararon 672 macetas con sustrato a base de peat moss y perlita, a una proporción de 70:30 respectivamente.
Como se mencionó, se probó la eficiencia de los biofertilizantes de ambas formulaciones mediante el establecimiento de tratamientos donde se utilizó la solución nutritiva de Steiner al 50 y 75% de N (NO_3), a las cuales se les aplicó la formulación biofertilizante en dos ocasiones, una al momento de la siembra y otra 15 días después de siembra, como sustituto de N. De este modo se tienen 15 tratamientos en total (Tabla 1). Para cada tratamiento se establecieron con 4 repeticiones en cada muestreo. Dada la limitación del tiempo por la estancia de verano, solo se recabaron datos de altura de planta y de unidades SPAD (indicador de concentración de clorofila) en un muestreo a 1 mes después de siembra.

Tabla 1.Tratamientos de fertilización a trigo.

Tratamiento	Solución nutritiva Steiner (N-NO_3 meq/L)	Exponente X de en la concentración de *Azotobacter* cepas A y B aplicada (1×10^X UFC/mL)

Se ha demostrado científicamente que el empleo de estos productos biológicos abarata la producción agropecuaria, reduce los riesgos de contaminación ambiental, mejora las propiedades físico-químicas y biológicas de los suelos y por consiguiente su nivel de fertilidad y sanidad; y finalmente incrementa la productividad de los cultivos en calidad y cantidad (Adesemoye y Kloepper, 2009; Terry *et al*., 2012).

bioproductos a base de microorganismos son empleados como agentes de control de plagas en plantas, contra microorganismos dañinos a las plantas, como agentes que favorecen sus desarrollos (microorganismos promotores de crecimiento), como fijadores de nitrógeno, solubilizadores de fósforo, potasio y otros nutrientes para hacerlos disponibles a las plantas. Estos productos pueden ser aplicados a los cultivos de una manera segura y con muchísimo menos riesgos al ambiente, llegando a sustituir en gran medida a los productos netamente químicos que no son degradados en el ambiente.

Este proyecto pretende investigar a nivel de invernadero utilizando sustrato artificial, la concentración óptima de unidades formadoras de colonia de dos cepas de *Azotobacter sp* en combinación con diferentes dosis de N (NO_3^-) en trigo, para obtener un efecto de sustitución de fertilización nítrica sintética.

MARCO TEORICO

La fijación biológica de nitrógeno implica que la mayor parte del N_2 atmosférico es fijado a amonio, representando un punto clave de la entrada del N_2 molecular en el ciclo biogeoquímico del nitrógeno (Taiz, 2006).
La mayoría de los procariotas capaces de convertir el nitrógeno atmosférico en amonio viven libremente en el suelo; unos pocos forman asociaciones simbióticas con plantas superiores en la que el procariota aporta a la planta hospedadora nitrógeno fijado y lo intercambia por otros nutrientes y carbohidratos. Dicha simbiosis tienen lugar en los nódulos que se forman en la planta y que contienen las bacterias fijadoras de nitrógeno (Taiz, 2006).
Se ha demostrado que el uso de bacterias fijadoras de nitrógeno con una capacidad efectiva para solubilizar fosfatos orgánicos e inorgánicos es una de las estrategias más viables para el desarrollo de la agricultura sustentable. *Azotobacter* es una proteobacteria gamma perteneciente a la familia *Pseudomonadaceae.* Es una bacteria gram negativa, aeróbica obligada que se encuentra dispersa en distintos ambientes como el suelo, agua y sedimentos. *Azotobacter* proporciona grandes beneficios para el rendimiento de plantas, debido a su habilidad para fijar nitrógeno, solubilizar fosfatos y a la secreción de fitohormonas estimulantes. Finalmente esta bacteria al tener adaptabilidad a diferentes climas y condiciones de ambientes es bien utilizada como biofertilizante (Rahim *et al.* 2014).

MÉTODOS Y MATERIALES

El trabajo de investigación se realizó en el Departamento de Plásticos en la Agricultura del Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA) (25° 27'N, 101° 02'O) con una altitud de 1520 msnm.
Para llevar a cabo el proyecto fue necesario comenzar con el diseño experimental el cuál fue de bloques al azar para garantizar la igualdad de condiciones de los tratamientos. Para evitar favorecer más un tratamiento que otro fue la razón de este acomodo, ya que así todos los tratamientos tendrán condiciones similares y al mismo tiempo variadas. En la tabla 1 se muestran las especificaciones de cada tratamiento que se utilizó en la inoculación del trigo, en los cuales se varía las concentraciones de bacteria con la solución de Steiner. En total se elaboraron 6 tratamientos con la cepa A de *Azotobacter*, 6 tratamientos con la cepa B, y 3 tratamientos a los que se les dosificó diferencialmente (6, 9 y 12 meq/L) de N (NO_3) mediante la solución de Steiner pero no se les aplicó la bacteria; de todos los tratamientos la solución con 12 meq/L de N (NO_3) se consideró como el testigo con fertilización 100% sintética.
Primeramente se verificaron las condiciones del invernadero en el cuál se evaluarían las formulaciones
biofertilizantes. El diseño del invernadero fue de 10×18m tipo túnel con ventilaciones lateral-cenital, contando con un extractor y pared húmeda para la regulación de la temperatura, posteriormente se le colocó una malla sombra para reducirla más.
Para el cultivo de plantas se prepararon 672 macetas con sustrato a base de peat moss y perlita, a una

proporción de 70:30 respectivamente.
Como se mencionó, se probó la eficiencia de los biofertilizantes de ambas formulaciones mediante el establecimiento
de tratamientos donde se utilizó la solución nutritiva de Steiner al 50 y 75% de N (NO_3^-), a las cuales se les aplicó la
formulación biofertilizante en dos ocasiones, una al momento de la siembra y otra 15 días después de siembra, como sustituto de N. De este modo se tienen 15 tratamientos en total (Tabla 1). Para cada tratamiento se establecieron con 4 repeticiones en cada muestreo. Dada la limitación del tiempo por la estancia de verano, solo se recabaron datos de altura de planta y de unidades SPAD (indicador de concentración de clorofila) en un muestreo a 1 mes después de siembra.

Tabla 1.Tratamientos de fertilización a trigo.

Tratamiento	Solución nutritiva Steiner ($N\text{-}NO_3^-$ meq/L)	Exponente X de en la concentración de *Azotobacter* cepas A y B aplicada (1×10^x UFC/mL)
1A[z] Y 1B	12	6
2A Y 2B	9	6
3A Y 3B	6	6
4A Y 4B	12	7
5A Y 5B	9	7
6A Y 6B	6	7
7	12	0
8	9	0
9	6	0

[z]= tipo de cepa inoculada al trigo (Cepa A y cepa B)

En México, empresas agroformuladoras como LIDAG S.A. de C.V., han incursionado en el diseño y la fabricación de productos biológicos para la industria agrícola a partir de microorganismos. Esta empresa ha generado productos ecorracionales a partir de microorganismos benéficos, los cuales dan excelentes resultados en cultivos específicos y han permitido el desarrollo sustentable de la biotecnología aplicada al sector agropecuario mexicano. Sus

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente con ayuda del programa Infostat 2016e. En la Tabla 2 se pueden observar los promedios de altura de plantas así como de concentración de clorofila (SPAD) del trigo que fue inoculado con la cepa A y con la cepa B de *Azotobacter*. En ninguno de los casos se observaron diferencias significativas ni por efecto del fraccionamiento de la dosis de N ni por la incorporación de las cepas bacterianas. Esto se pudo deber al hecho de que se trata de un muestreo inicial y por lo tanto las plantas de trigo no han demandado una cantidad tal de N que pudiera representar una diferencia entre los tratamientos, es decir que sería necesario esperar a que el cultivo continúe su desarrollo para que las diferencias entre dosis de fertilización y la complementación con *Azotobacter* se manifiesten.

Tabla 2. Altura y concentración de clorofila de plantas de trigo fertilizadas con diferentes dosis de $N\text{-}NO_3^-$ y de concentración de dos cepas de Azotobacter inoculado.

	Cepa A		Cepa B	
Tratamiento	Altura (cm)	Concentración de clorofila (SPAD)	Altura (cm)	Concentración de clorofila (SPAD)
1	47.1	36.9	46.8	38.2
2	46.4	37.8	45.3	38.0
3	47.7	36.9	45.1	37.8
4	47.4	38.2	48.0	36.6
5	47.7	38.2	46.6	35.5
6	47.7	37.0	45.7	37.5
7	46.1	36.8	46.1	36.8
8	47.5	37.1	47.5	37.1
9	47.4	36.9	47.4	36.9
p	0.20	0.55	0.54	0.24

Por otro lado, cabe destacar que a la fecha y por cuestiones ajenas al establecimiento de los bioensayos pero sí propias del proyecto de investigación aún quedan pendientes de evaluar muchas variables tanto agronómicas como fisiológicas las cuales una vez analizadas estadísticamente podrían arrojar resultados que permitan observar diferencias entre tratamientos debidas al fraccionamiento de la fertilización de N y/o a la biofertilización con las cepas de *Azotobacter.*

CONCLUSIONES

Se logró establecer el diseño del experimento correctamente en el invernadero y se lograron registrar los primeros datos de caracterización de las plantas de trigo. Es necesario esperar el desarrollo de las plantas de trigo para poder concluir si efectivamente las cepas biofertilizantes de *Azotobacter* y el fraccionamiento de la fertilización de N tienen alguna repercusión en el crecimiento del cultivo.

BIBLIOGRAFIA

ADESEMOYE, A.O., Kloepper, J.W. (2009). “Plant-microbes interactions in enhanced fertilizer use efficiency” en *Applied Microb.Biotechnol.* Vol.85, [pp. 1-12].

RAHIM, N., Parviz, O., Horieh, S., Iraj, R., Mohammad, A. (2014). “Phosphate solubilization characteristics of efficient nitrogen fixing soil Azotobacter strains” en *Iranian Journal of Microbiology,* No. 4, pp. 285-295. Consultada en http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4367947/ (fecha de consulta 08-07-2016).

TAIZ, L., Zeiger, E. (2006). *Fisiología vegetal,* Estados Unidos: Universitat Jaume I

TERRY, E., Díaz de Armas, M.M., Padrón, J.P., Tejeda, T., Zea, M.E., Camacho-Ferré, F. (2012). “Effects of different bioactive products used as growth stimulators in lettuce crops (*Lactuca sativa* L.)” en *Journal of Food, Agric. Environ.*, Vol.10, [pp. 386-389].

VESSEY, J. K. (2003). “Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers” en *Plant and soil*, Núm. 2, Vol. 255, [pp. 571-586].

CARACTERIZACIÓN FÍSICA Y DE CAPACIDAD GERMINATIVA DE CULTIVARES TRADICIONALES DE CHILE

Nelvi Pérez Gálvez[1] y Gisela Aguilar Benítez[2]

RESUMEN

El proyecto de investigación tiene el objetivo de describir la variabilidad de las características físicas, sanitarias y de capacidad germinativa de los cultivares tradicionales de chile (*Capsicum annuum spp*.). En las instalaciones del Instituto de Investigación de Zonas Desérticas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí se analizó la recolecta de 13 muestras de semillas donadas en 2015 por 13 productores de la zona del acuífero Calera del estado de Zacatecas. Se registró el peso de 100 semillas como medida indirecta de tamaño y pruebas de germinación en condiciones controladas. Los resultados evidencian que sí hay variabilidad física y germinativa en los cultivares evaluados.

Palabras claves: calidad de semilla, germoplasma, sanidad.

ABSTRACT

The research project aims to describe the variability of the physical, health and germination capacity of traditional cultivars of pepper (*Capsicum annuum spp*.). In the facilities of the Research Institute of Desert Zones of the Autonomous University of San Luis Potosi the collection of 13 samples of seeds donated in 2015 by 13 producers in the area of Calera aquifer state of Zacatecas was analyzed. The weight of 100 seeds as an indirect measure of size and germination tests under controlled conditions was recorded. The results show that there is physics and germination variability on cultivars evaluated.
Keywords : seed quality, germplasm , health.

INTRODUCCION

El chile es uno de los principales cultivos en México y existe una gran variedad de chiles *(Capsicum spp.)*. México es el principal exportador a nivel mundial de chile verde y el sexto en exportación de chile seco (SIAP 2013).

La falta de conocimiento de la diversidad genética que conservan los productores en sus parcelas de cultivo, conlleva a un limitado conocimiento sobre la distribución geográfica del género *Capsicum* en México y de la variabilidad de las especies silvestres cultivadas (Latournerie *et al.,* 2002). Es poco el trabajo que se ha hecho en la protección de las especies silvestres, o domesticadas en sus hábitats naturales. Algo muy importante en los procesos de conservación *in situ* es conocer y comprender los factores que influyen en la toma de decisiones de los campesinos para seguir conservando sus recursos genéticos (Latournerie *et al.,* 2002).

El chile es uno de los cultivos agrícolas más importantes en México y el mundo, porque sus frutos se consumen tanto en fresco como seco para proporcionar color, sabor y aroma a infinidad de platillos, lo que lo sitúa entre las principales especias. México es el país con la mayor diversidad de *Capsicum*

[1] Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro #1923 Col. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, C.P. 25315. Saltillo, Coahuila, México. nelviperezgalvez@gmail.com
[2] Instituto de Investigación de Zonas Desérticas/Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Autónoma de San Luis Potosí Calle Altair Nº 200, Colonia del Llano, San Luis Potosí, México. C. P 504. San Luís Potosí, México. Tel. +52 (444) 8422359 Ext. 107. fax: 842-2359 ext. 106. gisela.aguilar@uaslp.mx

annuum, donde se cultiva prácticamente en todo el territorio, con sistemas de producción y problemáticas muy diversos. **(Dr. Aguilar Víctor H. 2012)**

A través del esfuerzo compartido entre productores y autoridades, México se mantiene como el principal exportador de chile verde en el mundo, de acuerdo a la información del Secretario de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, Enrique Martínez y Martínez. (SAGARPA 2014).

La producción de chile seco en México, corresponde aproximadamente al 40% del total de los chiles que se cultivan predominando los siguientes: ancho, Mulato, Mirasol, Pasilla, de Árbol y otros de menor importancia (ITESM 1995). En México son 5 las entidades que concentran más del 50% de la superficie de chile plantada, así como 60% de la producción, estas son: Sinaloa, Chihuahua, Guanajuato, Sonora y Zacatecas (Olvera *et al* .,1998). Zacatecas es el líder en la producción de chile seco (*Capsicum annuumL.)* en México este cultivo es el más importante en el estado, debido a su gran derrama económica ya que aporta el 35% del valor total generado en el sector agrícola. Específicamente en el ciclo agrícola primavera- verano/2001 se cultivó una superficie de 32 032 ha, de las cuales se obtuvo una producción de 284, 187 toneladas de chile verde, equivalente a 56837.4 toneladas de chile seco en promedio, con un valor aproximado de 1,109, 396.000 (INIFAP, 2006).

Algunos de los principales problemas que enfrentan los productores son: sequía, enfermedades, maleza, bajo precio de la cosecha ataque de plagas, alto costo de los insumos, heladas, granizo, falta de recursos para invertir al campo y deficiente comercialización de su cosecha (Galindo *et al., 2000b;* Pérez Galindo, 2003). Lo anterior hace que el cultivo sea económicamente muy riesgoso, y por ello los pequeños productores toman decisiones estratégicas para reducir riesgos y costos. El uso de semillas criollas o cultivares tradicionales es una de las decisiones que los productores toman como medida precautoria para reducción de riesgos y pérdidas económicas.

Los sistemas informales de abasto de semillas (autoabasto, intercambio, préstamo), hacen posible que los agricultores mantengan una gran diversidad de cultivares que les permite adaptarse a los requerimientos particulares del ambiente, minimizar riesgos, satisfacer preferencias culinarias y estéticas, reducir costos de producción y participar en los mercados locales (*Badstue et al., 2006*). Sin embargo, a pesar de sus grandes ventajas, la selección tradicional de semilla, en algunos sistemas informales puede no contar con un control de calidad adecuado, ya que el principal factor de selección es la apariencia física de la semilla (*López et al., 2010*). De esta forma, el objetivo de la investigación fue analizar la variabilidad de las características físicas y sanitarias de cultivares tradicionales de chile del acuífero Calera del estado de Zacatecas. Se entiende por variabilidad al conjunto de diferencias que existen entre los miembros dentro de la misma especie, en cuanto a tamaño, forma y color; gracias a que existe la variabilidad se posibilita a que cada organismo de la misma especie responda de manera diferente a cambios en el medio que se desarrolla.

MARCO TEÓRICO

El chile es un cultivo que en su proceso de producción se utilizan pocas tecnologías actualizadas, con excepción de la fertilización, labores de cultivo y control de plagas, aunque existen productores que utilizan innovaciones.

Existen limitantes en el cultivo como son la secadera del chile, aunque algunos productores siguen utilizando prácticas que favorecen, como el uso de semillas con alto riesgo de estar infectada con enfermedad, trasplantar a raíz desnuda, y el uso de surcos de más de 100m de longitud que favorecen el exceso de humedad. (INIFAP 2006).

Otros autores también mencionan sobre la problemática: la mayoría de los productores de chile es que lo cultivan en pequeñas áreas lo que dificulta su mecanización e incrementa su costo de producción: es común la producción de plántulas en almácigos, lo cual lo establecen en el mismo lugar, sin desinfección

de la cama de siembra, ni de la semilla: aunque los productores realizan rotación de cultivos en sus terrenos, esta se hace inadecuada con cultivos que son atacados por hongos que atacan al chile, propiciando el desarrollo de enfermedades. (Cabañas y Galindo 2004).

Como menciona el autor Hernández-Verdugo *et al,* 1999, en el sureste mexicano es posible encontrar poblaciones silvestres de *C. annuum* L. y *C. frutescens* L., que presentan variabilidad morfológica y genética. Tales poblaciones de chiles silvestres no han sido ampliamente estudiadas y ellas representan un recurso en riesgo de extinción, debido a factores adversos como huracanes, sequías y deforestación. Por la necesidad de contar con información sobre la diversidad de chiles silvestres, el objetivo del presente estudio fue recolectar y evaluar *in situ* la diversidad morfológica de chiles silvestres *(C. annuum* spp.) del Estado de Tabasco, México.

METODOLOGÍA

La investigación se hizo en el Instituto de Investigación de Zonas Desérticas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí. En un diseño completamente al azar se establecieron pruebas de germinación en cajas Petri, en cada caja se colocaron 30 semillas y por cultivar se evaluaron 3 repeticiones, siendo un total de 90 semillas por cada cultivar de chile guajillo Mirasol (*capsicum spp.)*. Las semillas fueron donadas por 13 productores diferentes, para analizar las pruebas de germinación y la homogeneidad entre los cultivares tradicionales.

Procedimiento

- Se desinfectaron las cajas Petri y se pusieron a secar
- Se contaron 90 semillas de chile (esto se hizo para las 14 muestras)
- Se pusieron las 90 semillas en los vasos de precipitado con una solución de cloro y agua para desinfectar que fueron 40 ml, se agitó en forma circular por 2 minutos.
- Se puso en un colador para retirar el agua de cloro con agua y se lavó con agua destilada que fueron 100ml
- Una vez retirado el exceso de cloro, se puso sobre papel para eliminar el exceso de agua
- Se colocaron 30 semillas en cada caja Petri para hacer las 3 repeticiones, que en total fueron las 90 semillas
- Se agregaron 3 ml de agua destilada dentro de cada caja Petri para facilitar la germinación

Se colocaron las cajas Petri en un lugar seguro a temperatura ambiente con su respectiva etiqueta para poder evaluar la germinación.

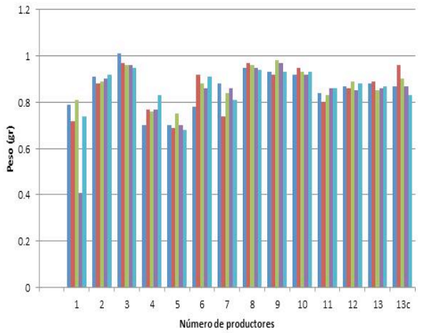
Los datos fueron tomados todos los días, en un periodo de 15 días. La germinación registrada fue muy escasa y hubo fuerte presencia de hongos que no fueron analizados.

Una segunda prueba de germinación se realizó en charolas de unicel de 243 cavidades, la unidad experimental fue de 17 cavidades en las que se colocaron 2 y se evaluaron 5 repeticiones. Se utilizó como sustrato peat most y agua destilada para evitar alguna contaminación con hongos, el riego fue diario y las charolas estuvieron bajo malla sombra. Se registró la germinación durante 3 semanas.

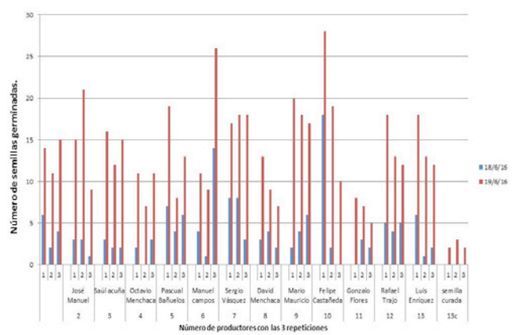
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Una variable que se evaluó es la del peso de 500 semillas de chile, en 5 repeticiones, siendo de 100 semillas por repetición en donde los resultados fueron: sí hay diferencias cauntitativas en cuanto a peso como se muestra en la gráfica 1.

El comportamiento en cuanto a germinación a los 6 y 7 días de establecido el experimento se presenta en la gráfica 2. Se observó una gran variabilidad de respuesta y una alta incidencia de hongos en todos los cultivares.

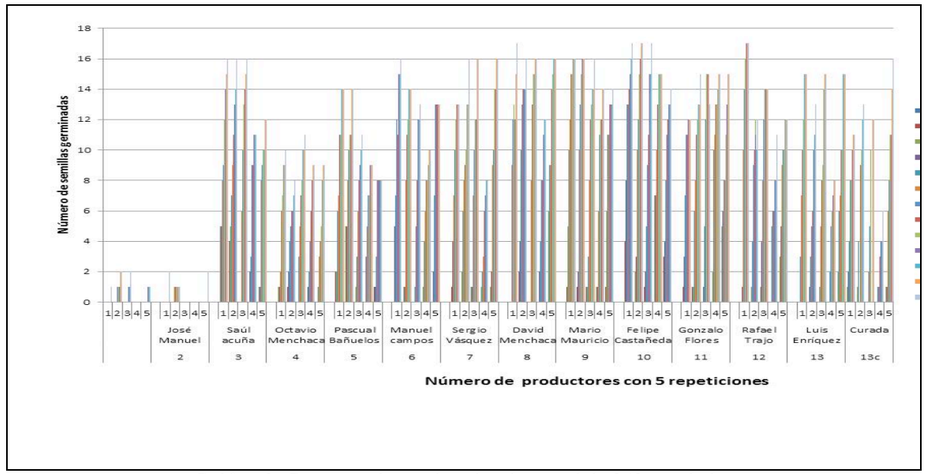


Gráfica 1. *Peso de los cultivares*



Gráfica 2. *Germinación en cajas petri*

En la gráfica 3 se presentan los resultados de la prueba de germinación en charolas con 243 cavidades. En esta prueba el porcentaje de germinación fue superior a lo obtenido en las pruebas de germinación de las cajas Petri, los datos fueron tomados hasta 12 días después de la siembra.



Gráfica 3. Germinación en charolas de unicel de 243 cavidades.

CONCLUSIÓN

En esta investigación se evidencia la variabilidad que hay en cuanto a peso y germinación en los cultivares evaluados, lo que puede ser resultado de los procesos particulares de selección de semilla;y se observó la alta incidencia de hongos que deben ser identificados para proponer estrategias de mejora en la calidad sanitaria de las semillas.

BIBLIOGRAFÍA

David Martínez–Sánchez[1]; Mario Pérez–Grajales[2*]; Juan Enrique Rodríguez–Pérez[2]; Esaú del Carmen Moreno Pérez[2]. (2010). Colecta y caracterización morfológica de 'chile de agua' (*Capsicum annuum* L.) en Oaxaca, México. Rev. Chapingo Ser.Hortic vol.16 no.3

Galindo Gonzales Guillermo; Cabañas Cruz Bartolo. 2006. El cultivo de chile seco en Zacatecas. INIFAP.

Carlos A. Narez-Jiménez[1], Efraín de-la-Cruz-Lázaro[1]*, Armando Gómez-Vázquez[1], Guillermo Castañón-Nájera[2], Aldenamar Cruz-Hernández[1] y César Márquez-Quiroz[1] .2014.La diversidad morfológica *in situ* de chiles silvestres (*Capsicum* spp.) de Tabasco, México. Notas científicas. Revista fitotec.mx vol.37.no.3. chapingo.

INIFAP (2010). Un panorama del cultivo de chile.

SIAP.(2013) . México es primer lugar mundial en la producción de chile verde.

SAGARPA. (2014). Se mantiene México como el principal exportador de chile verde en el mundo; en marcha la transformación del campo: EMM

Ms.C. R. A. Alonso[I], Dra. Pilar Ponce[I], Dr. R. Quiroga[I], Ms.C. M. A. Rosales[I] y Dr. J. L. Zuart[I], Dr.C. C. Moya[II], Dr.C. A. Cabrera[III]**. 2008.** Evaluación In Situ de la variabilidad genética de los chiles silvestres (Capsicum spp.) en la región Frailesca del estado de Chiapas, México. Cultrop V.29 n.2.

DETERMINACIÓN DE LA BIOMASA MICROBIANA DE SUELOS SÓDICOS DEL BAJÌO DEL 18° VCRC

Pérez Patiño Jaime Alejandro[1] y Conde Barajas Eloy[2]

RESUMEN

En el presente trabajo se estimó la biomasa microbiana y su actividad (FDA), complementariamente también se evaluaron los diferentes parámetros físico-químicos (pH, textura, conductividad eléctrica (C.E.), densidad, humedad, capacidad de intercambio Catiónico (CIC), Na^{+}, Ca^{+2}, Mg^{+}, $N\text{-}NO_3$, porcentaje de sodio intercambiable (PSI), carbono orgánico total (COT), materia orgánica (MO)). Esto con la finalidad de identificar algunos indicadores de calidad-funcionalidad de suelos de la región del bajío con problemática de presencia y acumulación de iones de sodio (sodicidad) siendo estos suelos de especial interés para la investigación subsecuente.

Los suelos analizados corresponden a dos localidades del municipio de Cortazar, El Jore (CTJ) y El Huizache (CTH). Los resultados para el perfil fisicoquímico fueron bastantes similares entre ambos suelos dando a entender que son suelos con problemas tenues de sodicidad, pero en cuestión de biomasa microbiana se encontró una diferencia significativa siendo el correspondiente a la etiqueta CTJ el de mayor cantidad de biomasa (213.80 ± 54.93 mg Cmic $kg_{suelo\ seco}^{-1}$) en relación al CTH (71.62 ± 22.18 mg Cmic $kg_{suelo\ seco}^{-1}$), esto utilizando el método de la respiración inducida por el sustrato. Con respecto al método de la hidrolisis de diacetato de fluoresceína se determinó que ambos tienen una actividad enzimática similar (CTH: 12.960 ± 3.720 y CTJ: 14.892 ± 2.656 mg $kg_{suelo\ sueco}^{-1}$ hr^{-1}).

ABSTRACT

On this paper the microbial biomass and activity (FDA) was estimated complementarily different physico-chemical parameters (pH, texture, electrical conductivity, density, moisture, Cation Exchange Capacity, were also evaluated Na^{+}, Ca^{+2}, Mg^{+}, $N\text{-}NO_3$, exchangeable sodium percentage, total organic carbon, organic matter). This in order to identify some indicators of soil quality-functionality of Bajio, with problems of presence and accumulation of sodium ions (sodicity) these soils being of special interest for the subsequent investigation.

The soils analyzed corresponds to two locations in the municipality of Cortazar, El Jore (CTJ) and El Huizache (CTH). The results for the physicochemical profile were quite similar between both giving land to understand that they are soils with wispy problems sodicity, but within microbial biomass a significant difference was found to be corresponding to the CTJ label the highest amount of biomass (213.80 ± 54.93 mg Cmic $kg_{dry\ soil}^{-1}$) relative to CTH (71.62 ± 22.18 mg Cmic $kg_{dry\ soil}^{-1}$) using the method of respiration induced by the substrate but the method of hydrolysis of fluorescein diacetate both have an enzymatic activity similar (CTH: 12,960 ± 3,720 and CTJ: 14,892 ± 2,656 mg $kg_{dry\ soil}^{-1}$ hr^{-1}).

Palabras clave: Biomasa, Suelo sódico, Caracterización fisicoquímica

[1] Instituto Tecnológico Nacional Campus Celaya, Departamento de Ing. Bioquímica; Calle Antonio García Cubas 600 y Avenida Tecnológico, Colonia Alfredo Vázquez Bonfil, C.P: 38010, Celaya, Guanajuato, 12030497@itcelaya.edu.mx
[2] Instituto Tecnológico Nacional Campus Celaya, Departamento de Ing. Ambiental; Calle Antonio García Cubas 600 y Avenida Tecnológico, Colonia Alfredo Vázquez Bonfil, C.P: 38010, Celaya, Guanajuato, eloy.conde@itcelaya.edu.mx

INTRODUCCIÓN

La sodicidad de los suelos es uno de los principales problemas que presenta la agricultura. En México se estima que un 10% del área irrigada tiene algún problema relacionado con salinidad (Cerda *et al*, 2007). Si bien se han implementado diferentes estrategias para la remediación de suelos, que pueden ser químicos, físicos, biológicos y químico-biológicos. La caracterización de los suelos es una parte importante para determinar qué tipo de estrategia utilizar con el propósito de remediarlo.

El hecho de que el suelo sea considerado como, un sistema complejo caracterizado por una serie de procesos químicos, físicos y biológicos, implica que las propiedades del sustrato dependan de tantos factores que se llega a generar una gran variabilidad inclusive en muestras obtenidas de la misma zona. Con el fin de obtener un perfil de características lo más certero posible se requiere evaluar una gran cantidad de parámetros dependiendo del objetivo con el que se realiza la caracterización de los suelos.

La biomasa microbiana representa la fracción lábil del suelo por lo tanto es altamente sensible a los procesos de polución y remediación, lo que la hace una excelente referencia para evaluar de manera relativamente rápida el estado general de un suelo o en su defecto si un proceso de remediación está siendo efectivo (Elmajdoub, B. y Barnett, S., 2014).

Una forma de estimar la biomasa microbiana es por medio de la medición de la actividad enzimática presente en el sustrato. Los métodos utilizados para este proyecto fueron dos, hidrolisis del diacetato de fluoresceína y respiración inducida por el sustrato, esto con la finalidad de generar un perfil de biomasa microbiana lo más acertado posible.

METODOLOGÍA

Los suelos correspondientes a este estudio son provenientes de la región del Bajío del Estado de Guanajuato. La ubicación e información geográfica se encuentra detallada en la Tabla 1.

Tabla 1. Ubicación geográfica especifica de los suelos analizados

Clave Suelo	Municipio	Coordenadas geográficas	Información
CTH	Cortazar	20° 40´ N 100° 96´ O	Altitud a 1750 m.s.n.m. Temperatura media anual 19.3 °C Precipitación pluvial promedio 630 mm
CTJ	Cortazar	20° 42´ N 100° 97´ O	Altitud a 1730 m.s.n.m. Temperatura media anual 19.3 °C Precipitación pluvial promedio 630 mm

Para la determinación de pH y de conductividad eléctrica se realizó una suspensión acuosa 1:2.5 suelo:agua a la que posteriormente se le midió el pH y la conductividad eléctrica utilizando un potenciómetro digital equipado con el electrodo correspondiente (Thomas, 1996). Para la determinación de la Capacidad de retención de Agua se utilizó el método gravimétrico propuesto por Foster (1986). La determinación de humedad fue realizada acorde a la metodología presentada en la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, mientras que la densidad relativa de los suelos fue determinada por el método gravimétrico propuesto en la NOM-021-SEMARNAT-2000, la textura por el método de sedimentación

diferencial y densimetría de Bouyoucos (1962), el porcentaje del COT por el método de Walkley y Black (1934) modificado por reducción de escala como se describe en Alef y Nannipieri (1995). Para el cálculo de la materia orgánica se utilizó un factor de conversión propuesto en la NORMA Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000 el cual relaciona el carbono orgánico con la materia orgánica, la determinación de intercambio catiónico se realizó mediante el método establecido en la NOM-021-SEMARNAT-2000 con el empleo de acetato de amonio como solución saturante, una digestión y titulación del catión índice (ion amonio) y con una solución de ácido clorhídrico 1 M, a partir de la digestión mencionada se determinó Ca^{+2} Mg^{+2} NA^{+} y K^{+} por medio de espectrofotometría de absorción atómica a una longitud de onda de 423 y 285 nm, la cuantificación de la C-BM se determinó por SIR en jarras estáticas como se describe en Alef y Nannipieri (1995) y por último la determinación de hidrolisis de fluoresceína utilizando la técnica descrita en Microbiological Methods For Assessing Soil Quality (Jaap Boleen, 1996) con las correcciones propuesta por Green V.S. et al. (2006), Gillian y Duncan (2001), Shan Jiang et al. (2016) y Schnüre y Rosswall (1982).

RESULTADOS

Un pH alcalino-neutro como el observado en este estudio (Tabla 2) puede indicar un alto contenido de carbonatos o un nivel ligeramente alto de sodio. Sin embargo, aun cuando el pH podría indicar un alto nivel de sales, los datos obtenidos mediante determinación de conductividad eléctrica evidencian lo contrario, generando un particular interés. Por otro lado, densidad del suelo indica un alto rango de permeabilidad de las raíces acorde con lo mencionado por Lorenz (1995).

Tabla 2. Resultados de pH, Conductividad Eléctrica (C.E.), Humedad, Capacidad de Retención de Agua (CRA) y densidad.

	pH	C.E. dS m^{-1}	Humedad %	CRA %	Densidad g mL^{-1}
CTH	8.07 ± 0.02	0.81 ± 0.01	20.02 ± 0.23	162.56 ± 0.60	1.13 ± 0.00
CTJ	7.81 ± 0.04	0.71 ± 0.02	15.24 ± 0.27	158.72 ± 1.81	1.10 ± 0.00

Ambos suelos demostraron ser suelos arcillosos, que se distingue por acumular nutrientes, pero a su vez no permite un desarrollo óptimo de la zona rizosferica de la planta, esto también estaría directamente relacionado a la alta capacidad de retención de agua. La composición detallada se encuentra expresada en la tabla 3. (Mavi *et. al*, 2012)

Tabla 3. Análisis de texturas.

	Textura	Arena %	Arcilla %	Limo %
CTH	Arcilloso	14.75 ± 1.05	62.93 ± 0.21	22.32 ± 0.43
CTJ	Arcilloso	9.10 ± 2.47	69.18 ± 2.45	21.72 ± 1.66

Acorde con las mediciones realizadas por Grim (1953) y los resultados obtenidos en la determinación de capacidad de intercambio catiónico (CIC) (Tabla 4) se puede inferir sobre la fertilidad de suelo y la composición de las arcillas presentes que serían principalmente micas hidratadas y cloritas. También se podría considerar que el suelo tiene un alto contenido de nutrientes. En cuestión a las mediciones de iones (Tabla 4) los resultados obtenidos para Calcio y Magnesio se podría considerar como relativamente

altos inclusive para los estándares de suelos arcillosos. La concentración de nitrógeno (Tabla 4) depende mucho del tipo de cultivo que se quiera implementar para poder juzgar si el resultado obtenido puede considerarse relevante. Lo preocupante de estos resultados podría ser los parámetros de sodio y porcentaje de sodio intercambiable (PSI) ya que estos revelan que hay una cantidad que podría estar causando una alteración en el rendimiento que está brindando el suelo. (Molina, E., 2002)

Tabla 4. Resultados de Capacidad de intercambio catiónico, sodio, calcio, magnesio, nitrógeno y porcentaje de sodio intercambiable

	CIC	Na^{+}	Ca^{+2}	Mg^{+2}	$N\text{-}NO_3$	PSI
	meq / 100 g	mg $kg_{\text{suelo seco}}^{-1}$	mg $kg_{\text{suelo seco}}^{-1}$	mg $kg_{\text{suelo seco}}^{-1}$	mg $kg_{\text{suelo seco}}^{-1}$	%
CTH	63.80 ± 2.5	919 ± 8.60	9794 ± 120	1221 ±24	8.55 ± 0.84	6.27
CTJ	52.80 ± 1.77	988 ± 19.87	7202 ± 54	1311 ± 56	6.44 ± 0.87	8.14

Acorde con los estándares propuestos en la norma NOM-021-RECNAT-2000 los valores obtenidos para carbono orgánico total (COT) y materia orgánica (MO) (Tabla 5) podrían indicar que el suelo tiene una concentración media en ambos suelos. Con respecto a la determinación de biomasa se puede observar claramente que el suelo correspondiente a la etiqueta CTJ tiene una mayor cantidad de biomasa que el correspondiente a CTH esto podría indicar que en el suelo CTH el problema sodicidad está más avanzado, lo cual también se vería reflejado en el hecho de que a pesar de tener una menor cantidad de biomasa microbiana este tiene una actividad enzimática similar al CTJ.

Tabla 5. Resultados de Carbono orgánico total, Materia orgánica, Concentración de biomasa e hidrólisis de diacetato de fluoresceína

	COT	MO	C-BM	H. FDA
	%	%	mg C_{mic} $kg_{\text{suelo seco}}^{-1}$	mg $kg_{\text{suelo seco}}^{-1}$ hr^{-1}
CTH	1.31 ± 0.11	2.26 ± 0.19	71.62 ± 22.18	12.960 ± 3.720
CTJ	1.10 ± 0.04	1.90 ± 0.07	213.80 ± 54.93	14.892 ± 2.656

CONCLUSIONES

Por el análisis físico-químico se puede establecer que existe un problema de sodicidad en el suelo, esto se podría ver enmascarado por la composición del suelo ya que los suelos de composición arcillosa tienden a acumular nutrientes. Los análisis correspondientes al material orgánico y la biomasa microbiana, revelan que probablemente el suelo correspondiente a la etiqueta CTH tiene un deterioro mayor al suelo CTJ, esto basados en los resultados obtenidos de la prueba de respiración inducida en el sustrato y el hidrolisis de FDA. Donde CTJ tuvo una mayor cantidad de biomasa microbiana.

BIBLIOGRAFÍA

Adam, G., & Duncan, H. (2001). Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. *Soil Biology and Biochemistry*, *33*(7), 943-951.

Alef, K., & Nannipieri, P. (1995). *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. Academic press.

Bloem, J., Hopkins, D. W., & Benedetti, A. (Eds.). (2005). *Microbiological methods for assessing soil quality*. CABI.

Bouyoucos, G. J. (1962). Hydrometer method improved for making particle size analyses of soils. *Agronomy Journal*, *54*(5), 464-465.

Castellanos, J.Z., 2006. Manual de interpretación de Análisis de Suelos y Aguas. Editorial INTAGRI. México. 220 p. ISBN: 03-2015-042709572100-01

Cerda, E. R., Nuncio, R. A. A., Montemayor-Trejo, J. A., Hernández, M. F., Ramírez, J. O., & Gamboa, J. C. V. (2007). Aprovechamiento y mejoramiento de un suelo salino mediante el cultivo de pastos forrajeros. *Técnica Pecuaria en México*, *45*(1), 19-24.

Cruz, A. B., Barra, J. E., del Castillo, R. F., & Gutiérrez, C. (2004). La calidad del suelo y sus indicadores. *Revista Ecosistemas*, *13*(2).

de la Federación, D. O. (2002). Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000. *Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis: México*, *31*, 85.

Elmajdoub, B. y Barnett, S. 2014. Response of microbial activity and biomass in rhizosphere and bulk soils to increasing salinity. Plant Soil 381:297–30

Emerson, W. W., Foster, R. C., & Oades, J. M. (1986). Organo-mineral complexes in relation to soil aggregation and structure. *Interactions of soil minerals with natural organics and microbes*, (interactionsofs), 521-548.

Espinoza, L., Slaton, N. A., & Mozaffari, M. (2006). Understanding the numbers on your soil test report. Cooperative Extension Service, University of Arkansas, US Department of Agriculture, and county governments cooperating.

Flórez, L., & Alcalá, J. (2013). Manual de procedimientos analíticos. Laboratorio de física de suelos. Universidad Nacional Autónoma de México UNAM. Instituto de geología. Departamento de edafología.

Green, V. S., Stott, D. E., & Diack, M. (2006). Assay for fluorescein diacetate hydrolytic activity: optimization for soil samples. *Soil Biology and Biochemistry*, *38*(4), 693-701.

Krebs Reginatto, L. (2003). Respiración del suelo como herramienta para evaluar calidad de fondos en acuicultura. I. Desarrollo de un protocolo estándar para medir dióxido de carbono.

Lamz, P. A., y González C. M. C. (2013). La salinidad como problema en la agricultura: la mejora vegetal una solución inmediata. CulTrop. 34:31-42.

Lorenz, G. (1995). Caracterización ecológica de un suelo Eutric Regosol bajo bosque en el Chaco Semiárido, Argentina. *Quebracho*, *3*, 13-23.

Mavi, M. S.; Sanderman, J.; Chittleborough, D. J.; Cox, J. W. y Marschner, P. 2012. Sorption of dissolved organic matter in salt-affected soils: Effect of salinity, sodicity and texture. Science of the Total Environment. 435-436: 337-344.

Mexicana, N. O. (2004). NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. *Que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio*.

Molina, E. (2002). Análisis de suelos y su interpretación. Centro de Investigaciones Agronómicas, Universidad de Costa Rica.

Rozas, H. R. S., Echeverria, H. E., & Angelini, H. P. (2011). Niveles de carbono orgánico y pH en suelos agrícolas de las regiones pampeana y extrapampeana argentina. Ciencia del suelo, 29, 29-37.

San Juan, R. F. D. V., Arrarás, I. R., de Provens, E. C. P., & Santos, J. M. D. (2006). Estimación de la capacidad de retención de agua en el suelo: revisión del parámetro CRA. *Investigación agraria. Sistemas y recursos forestales*,*15*(1), 14-23.

Walkley, A., & Black, I. A. (1934). An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil science*, *37*(1), 29-38.

SOBREVIVENCIA DE LOMBRIZ ROJA CALIFORNIANA CON DIFERENTES DESECHOS ORGANICOS

Ramírez Pérez Carmen[1] y Jarquín Gálvez Ramón[2]

RESUMEN

El presente documento tiene como objetivo mostrar los resultados obtenidos en una prueba de caja en la cual se comparó la sobrevivencia de *Eisenia foetida* ó lombriz roja californiana en diferentes sustratos consistentes en naranja, estiércol, y desecho orgánico dómestico. Se monitoreo la temperatura y pH de los tratamientos. La variable dependiente fue el número de individuos vivos durante un periodo de 15 días para evaluar cuál de los sustratos ofreció características apropiadas para el mantenimiento de las lombrices. Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorio consistente en cuatro tratamientos y tres repeticiones. Los resultados analizados estadísticamente demuestran una mejor respuesta del desecho domestico combinando con naranja.

ABSTRACT

This document aims to show the results of a test case in which the survival of *Eisenia foetida* or red worm Californian different substrates consisting orange , manure, organic waste and household compared . Temperature and pH monitoring treatments . The dependent variable was the number of living individuals over a period of 15 days to evaluate which of the substrates offered appropriate for the maintenance of worms features. a completely randomized experimental design consisting of four treatments and three replications. The results analyzed statistically demonstrate a better response orange combined with domestic waste.

Palabras clave: *Eisenia foetida*, Sustratos orgánicos, Aprovechamiento de desechos

INTRODUCCIÓN

La lombricultura es una biotecnología que permite aprovechar y trasformar los residuos sólidos orgánicos derivados de las actividades agrícolas, pecuarias, agroindustrias y urbanas por medio de la acción combinada de lombrices y microorganismos con bajo costo. La *Eisenia foetida* ó lombriz roja Californiana tiene alta capacidad de adaptación y de proliferación, por lo cual su crianza y explotación se ha extendido notablemente en las últimas tres décadas con buenos resultados (Jarquín, 2015).
La técnica de la lombricultura es una alternativa viable eficiente y amigable al medio ambiente, con bajos costos de inversión. La transformación de estos residuos orgánicos produce beneficios mejorando las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo, permeabilidad, Intercambio Catiónico (Cerdas, 1996).

Una de las alternativas de manejo que permiten mejorar las características microbiológicas de los desechos orgánicos es la lombricultura o vermicultura, actividad que inicia su desarrollo en los Estados Unidos a finales de la década de los años cuarenta y principios de los cincuenta. En América latina se inicia su desarrollo a principios de 1980; también es bien conocido el desarrollo alcanzado en países corno Suiza, Holanda, España, Cuba, Japón, Canadá y Colombia entre otros y más recientemente en México (Ferruzi, 2007).

[1] [1]Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista, C P 25315 Saltillo,
Coahuila, MÉXICO, oniricarmen@gmail.com
[2] Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Ejido Palma de la Cruz, Km 14.5 carretera #57 San Luis Potosí-Matehuala, CP 78321, Apdo. Postal 32, Soledad de Graciano Sánchez, S.L.P., MÉXICO; ramón.jarquin@uaslp.mx

El alimento a suministrar a las lombrices debe proceder de una materia orgánica de generación reciente, compostada en el marco de un proceso aeróbico, con humedad adecuada, en lo posible sin formación de cenizas durante la fase de elevación térmica. Se debe asegurar que la materia orgánica no posea riesgo biológico (virus, bacterias patógenas, forma de resistencias de protozoos, de helmintos parásitos, nematodos) ni poluentes contaminantes de índole química (metales pesados como plomo, mercurio, cadmio, cromo, níquel, zinc etc.) (Schuldt, 2004). En el país son escasas las investigaciones con *Eisenia foetida* acerca de los tipos de alimentación.

Los objetivos de esta investigación fueron evaluar el efecto de cuatro fuentes de alimentación distinta en las densidades de población de lombriz roja californiana.

MARCO TEORICO

La alimentación de las lombrices es de materia orgánica en descomposición. Las lombrices requieren que el sustrato se encuentre en forma pastosa, que les permita succionar las porciones a digerir. Además ellas se alimentan de materiales en descomposición y no de materiales frescos. Por esto es necesario dejar que el desecho orgánico se descomponga 3 a 4 días antes de que pueda ser ingerido por la lombriz (Soto, 2003).

Entre los principales factores que influyen en la reproducción de cápsulas están: especie, densidad, calidad del alimento, temperatura y humedad del medio. Si la lombriz es periódicamente trasladada a alimentos frescos la producción de cápsulas y fecundidad aumentan. Esta disminuye a medida que pasa el tiempo de crianza, pues las reservas alimenticias disminuyen. La humedad más favorable es de 80%. La temperatura óptima es de 20 o C; sin embargo *E. fétida* vive sin problemas en ambientes con temperaturas que fluctúan entre 10-25 o C. bajo condiciones favorables las cápsulas (cocones) eclosionaron después de 4 a 5 semanas (Lund, 1987).

Los principales factores limitantes para cultivos de *Eisenia foetida* son: la temperatura(óptima: 14-270C, letales: inferiores a 00C y superiores a 420C); el pH (entre 5 y 9; la mayoría de las MO compostadas se sitúan en esos valores), la humedad (óptima: 85-95%; soportan horas un encharcamiento –desaconsejable; escasa actividad con humedades inferiores al 70%)y la densidad de lombrices en el cultivo [depende de la edad del compost: cuanto más viejo menos lombrices soporta; densidades elevadas –mas de 70.000 lombrices/Lecho (Lecho "L":2m2)- repercuten negativamente sobre la reproducción (Schuldt, 2007).

El alimento a suministrar a las lombrices debe proceder de una materia orgánica de generación reciente, compostada en el marco de un proceso aeróbico, con humedad adecuada, en lo posible sin formación de cenizas durante la fase de elevación térmica. Se debe asegurar que la materia orgánica no posea riesgo biológico (virus, bacterias patógenas, forma de resistencias de protozoos, de helmintos parásitos, nematodos) ni poluentes de índole química (metales pesados como plomo, mercurio, cadmio, cromo, níquel, zinc etc.) (Schuldt, 2004).

METODOLOGIA

El experimento se desarrolló en el laboratorio de suelos de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad de San Luís Potosí que se localiza en el municipio de Soledad de Graciano. Se estableció una prueba de caja en bolsas negras con capacidad de 1 kilogramo inoculándose 10 individuos adultos de lombriz roja californiana, proveniente del criadero de la propia facultad .Se utilizaron 4 tratamientos : T1 (1000gr Cáscara de Naranja), T2 (1000gr Desecho domestico), T3 (500 gr Naranja+ 500 gr Desecho doméstico), T4 (1000 kg Estiércol de bovino), se estableció con un diseño completamente aleatorio, empleando 3 repeticiones, y se hizo un conteo para revisar la mortandad de las lombrices a las 48 horas.
La variable dependiente fue el número de individuos vivos y se monitoreo la temperatura del sustrato y el pH. Durante 2 semanas. Con los datos obtenidos se realizó análisis de varianza y comparación de medias, utilizando el programa estadístico de la UANL Versión 1994.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

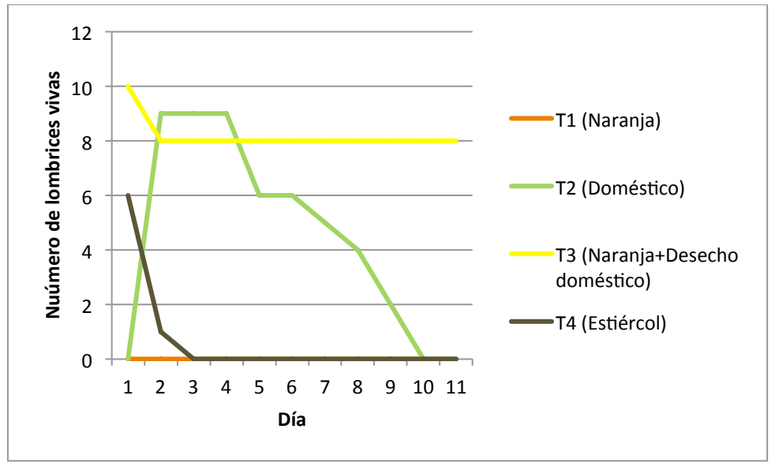
Los resultados obtenidos del análisis de varianza y comparación de medias indican que hay diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 1)

Tabla 1.

Tratamiento	PH	Sobrevivencia
Naranja	7.6667 B	0.0000 A
Desecho doméstico	5.0000 C	4.8667 B
Naranja/Desecho doméstico	7.6667 B	8.0000 A
Estiércol	8.8333 A	0.2333 C

Temperatura
En la evaluación de temperatura no se encontró diferencia significativa así que esta variable no es un factor que haya afectado a la lombriz.

En la evaluación que se realizó de la supervivencia de lombrices y bajo las condiciones de este experimento, se observó que el tratamiento que mostró mejores resultados fue el Tratamiento 3, consistente en 500gr de cáscara de naranja fresca combinada con 500 gr de desechos domésticos (cáscaras de papaya, melón, aguacate y café molido), que supero estadísticamente a los demás tratamientos después de las primeras 24 horas y durante las dos semanas que se mantuvo en observación (Gráfica 1). Así mismo se encontró que el uso de cáscara de naranja y estiércol como sustratos no son viables para una buena reproducción y crianza al incrementar la mortalidad.



Gráfica 1. Sobrevivencia de lombrices

Según, Soto, (2003), las lombrices son capaces de digerir la mayoría de los desechos orgánicos y por la presencia de la glándulas de Morren, pueden regular un poco el pH del sustrato. Sin embargo algunos materiales como la pulpa de naranja o piña con pH inicial de 3 a 3.5 no permitirán el desarrollo de las lombrices hasta 2 a 3 semanas después, en que el pH sea naturalmente regulado. En ensayos realizados por Gutiérrez, et al (1999), citado por Soto, (2003), encontraron que después de dos semanas las

lombrices fueron capaces de adaptarse y lograron una descomposición total de los materiales. Durante estas dos semanas las lombrices pudieron degradar la materia orgánica disponible y adaptarse al de la naranja para poder lograr su descomposición.
La literatura menciona que a pesar de la adaptabilidad que presentan las diferentes especies de lombriz, las características del sustrato o material de crecimiento, afectan directamente el estado y multiplicación de este organismo (Ferruzi 1994; Alas y Alvarenga, 2002). Pese a que en algunos estudios el estiércol es recomendado en este caso presentó la mayor mortandad desde el inicio del proceso, probablemente debido al grado de intemperismo en las que se encontraba y las condiciones del mismo.
En ese sentido el desecho doméstico permitió la acción glandular de las lombrices y nivelo la condición inicial y por lo tanto permitió mayor supervivencia en comparación con los otros dos tratamientos.

CONCLUSIONES

El sustrato en el cual la población de lombrices mantuvo el mayor número de días, fue el de naranja combinado con desecho orgánico doméstico. Este tratamiento mostró promover menor mortandad durante el periodo que se mantuvo en observación

BIBLIOGRAFIA

Libros
ALAS, R Y ALVARENGA, H. (2002) *Evaluación de sustratos de origen animal y vegetal en la producción de humus y carne de lombriz (Eisenia foetida)* Tesis Ing. Agrónomo, San Salvador, El Salvador, Universidad de El Salvador.
CERDAS, C. (1996) *Potencial de la lombriz/ Elementos básicos para su desarrollo*/Claudia Martínez Cerdas/Dr. Alfredo Carballo Quiros/México/Lombricultura Técnica Mexicana/ Pág. 27-30-31-34.
SCHULDT, M. (2004). *El alimento de las lombrices. Lombricultura* fácil. p. 35-48
SCHULDT M. (2007) .Lombricultura. *Desarrollo y adaptación a diferentes condiciones de temperie*, REDVET. Revista electrónica de Veterinaria. ISSN 1695-7504Volumen VIII Número 8.
LUND. *Eisenia foetida* (Savigny 1826). *Su descripción y cultivo*. Universidad Católica de Chile, 100p.
FERRUZI, C. (1994). *Manual de lombricultura*. Ediciones Mundí Prensa. Madrid, España

Artículos de libros
JARQUÍN G. R. (2015). Manual para productores # 4: Fortalecimiento de Capacidad Productiva del Suelo (Producción de Humus de Lombriz), Centro Nacional De Investigación, Innovación y Desarrollo Tecnológico del Café.

Artículos en línea
SOTO, G. (2003). Abonos orgánicos: el proceso de compostaje. Taller de abonos orgánicos.http://www.cia.ucr.ac.cr/pdf/Memorias/Memoria%20Taller%20Abonos%20Org%C3%A1nicos.pdf. fecha de consulta 06-08-2016

GENES DE FUNCIÓN DESCONOCIDA DE AMARANTO DE GRANO QUE SE EXPRESAN EN CONDICIONES DE ESTRÉS BIÓTICO (I.E., INFECCION BACTERIANA)

Brenda Liliana Rodríguez Álvarez[1] y John P Délano Frier[2]

RESUMEN

El amaranto fue una de las principales plantas cultivadas durante la época prehispánica, en parte por haber sido considerado como el alimento de los dioses. En la actualidad, se ha incrementado el interés del cultivo de amaranto de grano, en gran parte porque la semilla ofrece una proteína de alta calidad nutricia. Asimismo, las semillas y hojas poseen varios compuestos nutracéuticos que pueden contribuir a prevenir, e incluso curar, varias enfermedades crónicas y otros padecimientos, como alergias. Desde el punto de vista agronómico, el amaranto es capaz de adaptarse a diferentes tipos de suelo y climas. A partir de lo anterior, ha surgido el interés por el estudio de genes de amaranto que se sabe que son expresados por varios tipos de estrés (a)biótico, con el fin de obtener plantas mejoradas que puedan ser más tolerantes a condiciones de estrés, incluyendo el causado por patógenos bacterianos. Con este trabajo se pretende identificar los genes de función desconocida que se expresan en condiciones de estrés por infección bacteriana. Para explorar el patrón de inducción de algunos de estos genes, se emplearon dos bacterias de virulencia contrastante: *Pseudomonas syringae* pv. *syringae (Pss)* (avirulenta), y *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis (Cmm)* (virulenta). Posteriormente, se colectó la hoja infectada (respuesta local), la hoja distal (respuesta sistémica), el tallo y la raíz de las plantas a las 6, 12, 24 y 48 horas después de haber sido inoculadas. Posteriormente se cuantificaron los niveles de expresión de cada uno de estos genes en las condiciones descritas, mediante qRT-PCR.
Esta investigación ofrece, además, la posibilidad de proponer el uso de estos genes para el mejoramiento genético de amaranto y de otros cultivos de interés comercial, para incrementar la tolerancia al estrés biótico.
Palabras clave: *Amaranthus caudatus*, estrés biótico, infección bacteriana, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae, Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis*

ABTRACT

Amaranth was one of the main cultivated plants during pre-Hispanic times, partly because it was considered the food of the gods. Currently, interest has increased crop grain amaranth, largely because the seed offers a high quality nutritional protein. Also, seeds and leaves have several nutraceutical compounds that may help prevent and even cure several chronic diseases and other ailments, such as allergies. From the agricultural point of view, amaranth is able to adapt to different soil types and climates. From the above, there has been interest in studying genes amaranth known that are expressed by various stresses (a) biotic, in order to obtain improved plants that may be more tolerant to stress conditions, including caused by bacterial pathogens. This work aims to identify genes of unknown function expressed in stress conditions bacterial infection. Pseudomonas syringae pv: To explore the induction pattern of some of these genes, virulence contrasting two bacteria were used. syringae (Pss) (avirulent) and Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis (Cmm) (virulent). Subsequently, the infected leaf (local response), the distal blade (systemic response), stem and root plants at 6, 12, 24 and 48 hours after being inoculated was collected. Subsequently expression levels of each of these genes in

[1] Instituto Tecnológico Superior de Purísima Del Rincón, Blvd. Del Valle #2301 Purísima del Rincón, Gto. C.P. 36413, Purísima del Rincón, Gto, México, lilianaalvarezitesp@gmail.com
[2] Unidad de Biotecnología e Ingeniería Genética de Plantas, (Cinvestav-Unidad Irapuato) Km 9.6 del Libramiento norte carretera Irapuato-León. Apartado Postal 629, C.P. 36821, Irapuato, Gto, México. jdelano@ira.cinvestav.mx

the conditions described by qRT-PCR were quantified. This research also offers the possibility to propose the use of these genes for genetic improvement of amaranth and other crops of commercial interest, to increase tolerance to biotic stress.

Keywords: Amaranthus caudatus, biotic stress, bacterial infection, Pseudomonas syringae pv. syringae, Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis

INTRODUCCIÓN

Las plantas están constantemente expuestas al ataque de microorganismos patógenos. Existe una gran diversidad de microorganismos que atacan a las plantas, estos pueden ser específicos, atacando un órgano o un tejido en particular. Dos patógenos importantes que atacan a una gran diversidad de plantas que son de suma importancia en el consumo humano son: A) *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* y B) *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis. Pseudomonas* es una bacteria con forma bacilar, Gram-negativa, con flagelos polares, estrictamente aeróbica y quimio-organoheterótrofa, la cual produce pigmento fluorescente en medios de cultivo apropiados, esta bacteria afecta principalmente las hojas. *Clavibacter* es una bacteria Gram positiva, no móvil, aerobio, productor de cápsula, que en agar nutritivo desarrolla colonias de color amarillo claro a naranja, mucoide, cuya temperatura óptima de crecimiento *in vitro* es de 25 a 28°C (Schaad *et al.,* 2000; Jones *et al.,* 2001)., puede transmitirse a hojas y tallo por medio de una semilla infectada y posteriormente penetra a los tejidos vasculares a través de heridas, estomas, tricomas e hidátides de la hoja (Gleason *et al.,* 1993). Algunas plantas pueden resistir el ataque por patógenos y otras condiciones ambientales aparentemente desfavorables. Debido a la resistencia que presenta a distintas condiciones de estrés se evaluó la expresión genética de algunas plantas de amaranto bajo condiciones de estrés por dichos microorganismos ya que anteriormente la evidencia sugiere que Amaranto es una de las plantas más resistentes a estas condiciones de estrés bacteriano. El estrés es un factor ambiental externo biótico o abiótico que reduce la tasa de algún proceso fisiológico (por ejemplo, crecimiento o fotosíntesis) de un organismo, por debajo de la tasa máxima que podría alcanzar.

El amaranto pertenece a la familia de las amarantáceas y al género *Amaranthus,* es una planta dicotiledónea de cultivo anual que puede alcanzar de 0.5 a 3m de altura, posee hojas anchas y abundantes de color brillante, espigas y flores purpura, naranjas, rojas y doradas, según la especie y variedad. Existen tres especies de amaranto que producen semilla y que, a su vez, son las más apreciadas, *Amaranthus Caudatus*, *Cruentus e Hypochondriacus.*

METODOLOGÍA

Se sembraron semillas de amaranto (*A. Caudatus*) en charolas de germinación de 60 cavidades. Dos semanas después de su germinación, las plántulas se trasplantaron en macetas 1.3 L que contenían un substrato estéril, una semana posterior a su trasplante fueron fertilizadas con una mezcla 20:10:20 (N:P:K), hasta completar cuatro semanas en un cuarto de crecimiento iluminado, bajo condiciones de temperatura de 26°C, simulando el día y la noche (16 h luz/8 h oscuridad). Por otro lado, se prepararon medios de cultivo para el crecimiento de las bacterias. Para *Cmm* (acr42) se usó el medio 802 (peptona 1g/L, extracto de levadura 2 g/L, $MgSO_4$ $7H_2O$ 0.92 g/L y Agar 15 g/L), empleando 20 µL de la bacteria en la placa, mediante siembra por estría, incubando durante 48 h a 28°C. Para *Pss* (3525) se usó el medio KB (bactopeptona 10 g/500mL, fosforo dibásico potásico 0.75 g/500 mL, Glicerol 0.75 mL/500 mL, Agar 705 g/500 mL) y al igual que el caso de *Cmm* (acr42) se sembró 20 µL de la bacteria en la placa

con el medio y se incubó durante 24 h en un cuarto de crecimiento a 28°C. Una vez pasado el tiempo de crecimiento se diluyeron las dos muestras en un Buffer de fosfatos estéril 0.05 M a pH 7.0, hasta lograr una densidad óptica de 0.2 en el caso de las *Pseudomonas* y 0.3 para *Clavibacter*.

Se inocularon 48 plantas de amaranto de cuatro semanas de edad para cada una de las bacterias, 24 plantas fueron inoculadas con un volumen de 400 µL de la solución de *Pss* (3525) por planta, distribuido en el envés de cuatro hojas jóvenes cercanas al meristemo y el grupo restante inoculado con buffer de fosfatos por cada tiempo de colecta, utilizando una jeringa de 1mL, se colectaron en un pool de 3 plantas por cada tiempo de colecta, considerando la hoja infectada (respuesta local) y la hoja distal (respuesta sistémica), para el caso de las plantas tratadas con *Cmm* el número de plantas fue el mismo, al inocular se utilizó un volumen de 500 µL de la solución con bacteria distribuidos 400 µL de la solución de por planta, distribuido en el envés de cuatro hojas jóvenes cercanas al meristemo, y 100 µL en el tallo, se colectó hoja infectada, hoja distal, tallo y raíz para cada tratamiento, a las 6, 12, 24 y 48 horas posteriores a su inoculación, ambas especies se congelaron en nitrógeno líquido y se almacenó a -80°C.

El tejido de las plantas de amaranto sometido a estrés por infección con patógenos bacterianos con *pseudomonas syringae syringae* y *clavibacter michiganensis subsp michiganensis,* se pulverizó con nitrógeno líquido. El RNA fue extraído a partir de aproximadamente 200 mg de tejido congelado empleando TRIZOL (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA), siguiendo las instrucciones del fabricante con algunas modificaciones. Una vez extraído el RNA se cuantificó su concentración utilizando el NanoDrop, y posteriormente comprobar su integridad mediante electroforesis en gel de agarosa (al 1%). Para la síntesis de cDNA, se partió de 4 µg de RNA, empleando el oligonucléotido Dt_{20} y 200 unidades de transcriptasa reversa SuperScript II (Invitrogen). El cDNA obtenido se diluyó 25 veces con agua desionizada y se empleó para realizar el análisis de expresión mediante el método 2-ΔΔC.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El fenotipo que presentó las plantas frente al ataque de microorganismos patógenos mostró síntomas de clorosis. La expresión de los genes de función desconocida en *Amaranthus Caudatus* se comportó de manera distinta en *Pss* y *Cmm* además de ser dinámica a lo largo del tiempo. Como respuesta al ataque de *Pseudomonas spp* la expresión en la hoja infectiva del gen *Sensc* a las 48 horas posterior a la inoculación fue significativamente mayor que la expresión de los genes (Aglu, Dzinc, *DUF3407, 3844, 3240, DUF642, 2880*) incluso en cualquiera de los cuatro tiempos (**Figura 1**). La expresión del gen *Sensc* en la hoja distal se encuentra en el promedio de la expresión de los otros genes pero la expresión del gen *Aglu* aumentó a las 24 h. El nivel de expresión a las 6 h es cercano a 1.5, sufriendo un cambio drástico a las 12 h cuando el nivel de expresión es cercano a cero y después llega a su punto máximo cercano a 3 y a las 48 h baja el nivel de expresión (**Figura 2**). En las plantas que fueron inoculadas con *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* la máxima expresión fue identificada en el gen *3844* a las 48 h, mientras que en el gen *2880* el mayor incremento fue a las 12 h (**Figura 3**). Para la respuesta sistémica inoculada con *Cmm* (**Figura 4**) el nivel máximo de expresión relativa fue en el gen *2880* a las 12 h, en el resto de los genes y tiempos en la expresión relativa no hay un incremento significativo. En el tallo infectado por *Cmm* (**Figura 5**) la mayoría de los genes tuvieron un incremento un tanto tardío, el mayor incremento en su nivel de expresión fue a las 48 h, después de ser inoculados con la bacteria, sin embargo, el gen *Sensc*, 3844 y 2880 incrementaron a las 6 horas, en particular el gen 2880 presentó un nivel de expresión relativamente alto en la medición de 12 h.

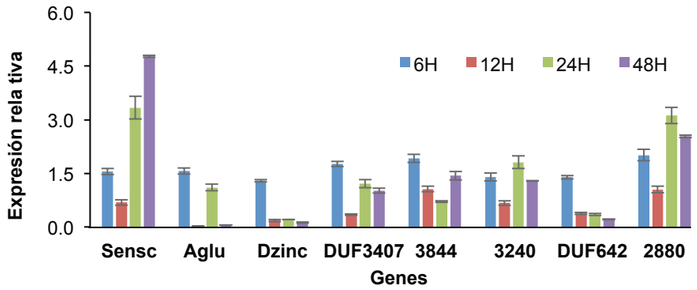


Figura 1. Niveles de expresión de hoja infectiva (respuesta local) en plantas de *A. Caudatus* en respuesta al estrés por infección bacteriana con *Pseudomonas sp.* Las mediciones se hicieron a las 6, 12, 24 y 48 horas.

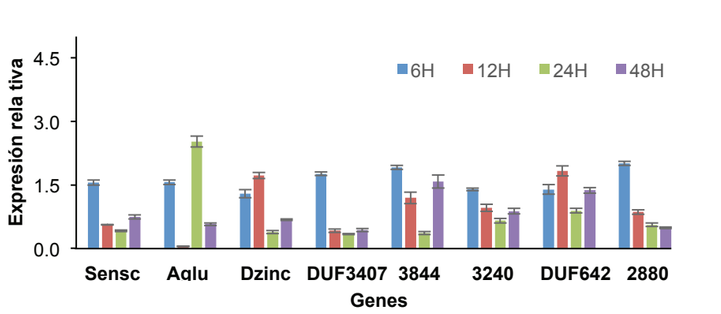


Figura 2. Niveles de expresión de hoja distal (respuesta sistémica) en plantas de *A. Caudatus* en respuesta al estrés por infección bacteriana con *Pseudomonas sp.* Las mediciones se hicieron a las 6, 12, 24 y 48 horas.

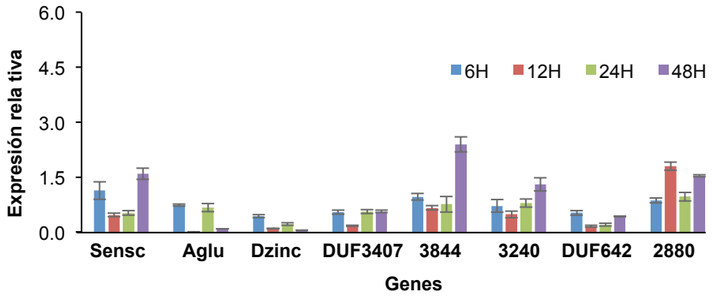


Figura 3. Niveles de expresión de hoja local en plantas de *A. Caudatus* en respuesta al estrés por infección bacteriana con *Clavibacter michiganensis* subsp *michiganensis (Cmm)*. Las mediciones se hicieron a las 6, 12, 24 y 48 horas.

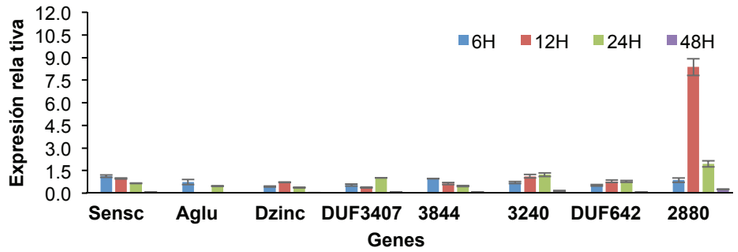


Figura 4. Niveles de expresión de hoja sistémica en plantas de *A. Caudatus* en respuesta al estrés por por infección bacteriana con *Clavibacter michiganensis* subsp *michiganensis (Cmm)*. Las mediciones se hicieron a las 6, 12, 24 y 48 horas.

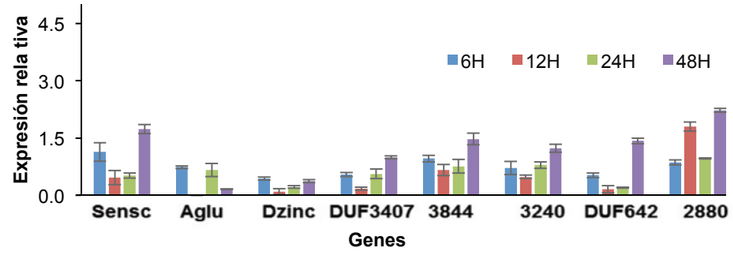


Figura 5. Niveles de expresión de tallo en plantas de *A. Caudatus* en respuesta al estrés por infección bacteriana con *Clavibacter michiganensis* subsp *michiganensis (Cmm)*. Las mediciones se hicieron a las 6, 12, 24 y 48 horas.

CONCLUSIONES

El desarrollo del presente trabajo permitió conocer que existen diversos genes de amaranto que presentan niveles relativos de inducción ≥ 1.5. La expresión relativa de los genes de función desconocida de amaranto varía dependiendo del tejido. Esta investigación por lo tanto ofrece la posibilidad de elegir algún gen candidato para su caracterización funcional en plantas modelo.

BIBLIOGRAFÍA

Délano-Frier J P, H Aviles-Araunt, K Casarrubias-Castillo, G Casique-Arroyo, P A Castrillon-Arbelaes, L Herrera-Estrella, J A Massange-Sanchez, N A Martinez-Gallardo, F I Parra-Cota, E Vargas-ortiz, M G Estrada-Hernandez (2011) Transcriptomic analysis of grain amaranth (*Amaranthus Hypochondriacus*) usin 454 pyrosquencing: comparision with *A. tuberculatus*, expressionn profilig in stems and in response to biotic and abiotic stress. BMC Genomics 12:363.

Gleason M, E J Braun, R H Peterson (1993) Survival and dissemination of *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis* in tomatoes. Phytopathology 81:1519-1523

Jones J B, J P Jones, R E Stall, T A Zitter (2001) Plagas y Enfermedades del Tomate. Sociedad Americana de Fitopatologia. Ed. Mundi-Persa. España. pp:26-32.
Schaad N W, J Jones B, W Chun (2000) Laboratory Guide for Indentification of Plant Pathogenic bacteria. Ed. APS Press. U.S.A. pp:1-15.

EFECTO DE LA APLICACIÓN DE UN TRATAMIENTO CALOR-HUMEDAD SOBRE LA DIGESTIBILIDAD DE HARINA DE CAMOTE AMARILLO (*Ipomea batata*)

Victor Eduardo Rodríguez Chávez[1] y Vicente Espinosa Solis[2]

RESUMEN

El efecto del tratamiento de calor-humedad (TCH) sobre la digestibilidad *in vitro* de la harina y almidón de camote amarillo fueron estudiados, las micrografías indican que TCH causó un rompimiento del gránulo de almidón; este tratamiento, favoreció la ruptura de los carbohidratos no amiláceos, lo que incrementó el contenido almidón total (AT) y el contenido de glucosa libre (GL) en un 12.35 y 8.36% respectivamente. TCH disminuyó el contenido de almidón de digestión lenta (ADL) en la harina, sin efecto en el contenido de almidón resistente (AR), en las muestras de almidón, este aumentó el contenido de ADL y disminuyo el contenido de AR. El almidón modificado sometido a un proceso de retrogradación presentó el mayor contenido de ADL 36.43%.

ABSTRACT

The effect of heat-moisture treatment (HMT) on *in vitro* digestibility of yellow sweet potato flour and starch were studied, the micrographs indicated that HMT caused a break of starch granules; this treatment favored the breakdown of non-starch carbohydrates, which increased the total starch content (TS) and the free glucose content (FG) in 12.35 and 8.36 % respectively. HMT decreased the content of slowly digestible starch (SDS) in the flour, without effect in the content of resistant starch (RS), while in the starch samples, this increased the content of SDS and decreased RS content. Modified starch subjected to a retrogradation process had the highest content of SDS 36.43 %.

Palabras clave: Almidón, Tratamiento calor-humedad, digestibilidad.

INTRODUCCIÓN

El camote (*Ipomea batatas* L.), a nivel mundial, es uno de los 6 cultivos alimentarios más importante, con una producción de 105 millones de toneladas producidas anualmente, provee un suplemento de calorías, vitaminas y minerales en la nutrición humana. Los carbohidratos del camote llegan a representar del 80 – 90 % del peso en base seca y están conformados principalmente por pectina, celulosa, hemicelulosa, sacarosa y una pequeña cantidad de glucosa y fructosa; siendo el almidón el principal componente de estas moléculas con un 50-80% en materia seca. (Nabubuya, *et al.* 2012, Colato, *et al.* 2011)

Generalmente, el almidón está compuesto de una mezcla de dos moléculas biológicas, amilosa prácticamente lineal conformada de unidades de glucosa unidas mediante enlaces α-1,4 y presenta un pequeño número de ramificaciones, por otro lado, la amilopectina es una molécula altamente ramificada, la cual es un polímero compuesto de glucosa unida con enlaces α-1,4 y 5% de estos enlaces son enlaces α-1,6, los cuales son los puntos de ramificación. En el granulo de almidón estas dos moléculas están organizadas en diferentes escalas para formar la estructura jerárquica de esta macromolécula, incluyendo principalmente los anillos de crecimiento, la lámina amorfa-cristalina, los cristalitos y las cadenas moleculares. (Wang, *et al.* 2016) El almidón es un biopolímero con características únicas que lo hacen diferente a otros carbohidratos, es una fuente importante de carbohidratos en la dieta humana. De acuerdo

[1]Coordinación Académica Región Huasteca Sur, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Carretera Tamazunchale-San Martin Km. 5, C.P 79960, Tamazunchale, San Luis Potosí.
rodcha.victor@hotmail.com
[2]Coordinación Académica Región Huasteca Sur, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Carretera Tamazunchale-San Martin Km. 5, C.P 79960, Tamazunchale, San Luis Potosí.
vicente.espinosa@uaslp.mx

a la tasa y extensión de digestión o liberación de glucosa, el almidón se divide en tres tipos: Almidón de Digestión Rápida (ADR), Almidón de Digestión Lenta (ADL) y Almidón Resistente (AR). ADR es la fracción de almidón que causa una rápida liberación de glucosa en el tracto gastrointestinal, lo cual conlleva a un incremento repentino en el nivel de glucosa en la sangre después de la ingestión, mientras que ADL es la fracción de almidón que causa la liberación y absorción de glucosa en el tracto gastrointestinal lenta pero completa. AR ha sido definido como la porción de almidón que no puede ser digerida para liberar glucosa, pero puede ser fermentada por microorganismos en el intestino grueso y convertido a ácidos grasos de cadena corta que es benéfico para la salud del colon. (Huang, *et al*. 2015, Sui, *et al.* 2015, Huang, *et al.* 2016) En general, el almidón es utilizado en muchos sistemas alimenticios para contribuir en el control de la humedad, textura, viscosidad, y el tiempo de conservación, durante el proceso y en el producto terminado, pero el almidón nativo tiene algunas limitaciones tales como baja resistencia a ácidos, bajo esfuerzo de cizalla, baja estabilidad térmica y alta tendencia a la sinéresis y retrogradación (Wang, *et al.* 2014, Sui, *et al.* 2015).

Para obtener un comportamiento de digestión deseado, el almidón ha sido estudiado a través de diferentes modificaciones, ya sean, físicas, químicas o enzimáticas, las cuales han sido aplicadas no tan solo para modificar sus propiedades fisicoquímicas, sino también para regular la digestibilidad a través del cambio de las características estructurales. Entre estos métodos, la modificación física tiene una mayor atracción, ya que es considerada segura, no toxica y no crea residuos químicos, son métodos económicos y fáciles de aplicar. (Huang, *et al*. 2016, Wang, *et al.* 2016). El tratamiento calor humedad es un tratamiento físico, en el cual el almidón es tratado a bajos niveles de humedad (<35%) a un cierto periodo de tiempo 15 minutos hasta 16 horas, a una temperatura por encima de la transición vítrea pero por debajo de la temperatura de inicio de gelatinización. Algunos autores (Wang, *et al.* 2016, Lee & Moon 2015, Huang, *et al*. 2016 y Chung, *et al.* 2009), han aplicado el tratamiento de calor humedad, para modificar la digestibilidad del almidón, sin embargo se ha reportado que este tratamiento no solo tiene influencia en la digestibilidad, sino que también puede causar algún grado de gelatinización u otro tipo de daño en el granulo, también puede causar cambios en los dominios cristalinos y amorfos del gránulo a diferente grado, lo cual induce cambios en el poder de hinchamiento y solubilidad, lixiviación de amilosa, características de gelatinización, patrón de rayos X, cristalinidad, retrogradación, estabilidad térmica y propiedades de pasta. (Lee & Moon 2015, Huang, *et al*. 2016). El objetivo del presente trabajo fue evaluar un método de calor-humedad para evaluar su efecto sobre las propiedades de digestibilidad de la harina de camote amarillo (*Ipomea batata*).

METODOLOGIA

Materiales. El camote utilizado se adquirió en la central de abastos de la ciudad de Pachuca, Hidalgo. Las enzimas α-amilasa, amiloglucosidasa y glucosa oxidasa-peroxidasa (GOPOD) fueron adquiridas en la empresa Megazyme International (Ireland). Mientras que las enzimas invertasa (S. cerevisae), pepsina (Mucosa gástrica porcina), pancreatina (Páncreas Porcino) y amiloglucosidasa (A*spergillus Níger*) empleadas en la técnica de Englyst fueron adquiridas en Sigma Aldrich (EUA).

Obtención de la harina de camote y aislamiento de almidón. El camote se lavó, y corto en rodajas de 0.5 cm, se colocaron en solución de ácido cítrico al 3%, por 15 minutos, después de esto se colocaron en una estufa de secado por convección (Shellab, EUA) a 45 °C durante toda una noche (16h), el camote seco se trituro en un molino (Nutribullet, Reino Unido). La muestra fue tamizada utilizando un tamiz no. 100. Y almacenada en un contenedor de vidrio.

Para poder observar el efecto del tratamiento de calor humedad sobre el almidón este fue aislado utilizando la metodología descrita por De la Rosa-Millan *et al*., (2015) con algunas modificaciones, el almidón fue tratado con bisulfito de sodio y tamizado a través de mallas del No 50, 100 y 200 para posteriormente ser centrifugado y lavado con agua destilada, el precipitado fue secado a 45 °C y almacenado hasta su posterior uso.

Determinación del contenido de humedad de muestra. Se utilizó el método 44-19 (AACC, 2000) El análisis se hizo por triplicado.

Tratamiento Calor-Humedad. El tratamiento de calor humedad se llevó a cabo de acuerdo a lo descrito por Liu *et al*., (2015), Para lo cual el porcentaje de humedad de la harina fue ajustado a 30.2 % mediante la adición de volúmenes apropiados de agua destilada. Las muestras fueron selladas en contenedores y se equilibraron a 4 ° C durante 24 h. Después de la incubación, los recipientes se almacenaron a 110 ° C durante 16 h, después se enfriaron a temperatura ambiente. Las muestras fueron secadas en una estufa de secado por convección a 40 ° C durante 12 h. y almacenadas hasta su posterior uso.

Glucosa libre y almidón Total: Para conocer el contenido de glucosa presente en la muestras se utilizó el reactivo de GOPOD de la empresa megazyme, y se leyó la absorbancia a 510 nm utilizando un espectrofotómetro (RAYLEIGH, China). El contenido de glucosa fue calculado utilizando una curva estándar de glucosa.

Para conocer la pureza de los almidones obtenidos y poder cuantificar el contenido de almidón resistente, se determinó el contenido de almidón total siguiendo la metodología de la AACC 76.13. Para lo cual se utilizó el kit de la empresa Megazyme International (Ireland Ltd).

Digestibilidad *in vitro* (ensayo de Englyst): La digestibilidad de los almidones nativo se analizó utilizando la técnica propuesta por Englyst *et al,* (1992) con algunas modificaciones. Con la cual se determinaron las fracciones de ADR, ADL y AR. Para este análisis se utilizaron muestras crudas y muestras sometidas a un proceso de retrogradación (20 min, en agua en ebullición y 12 horas en refrigeración a 4 °C) posteriormente se sometieron a un ataque enzimático utilizando un coctel enzimático de amiloglucosidasa, pancreatina, invertasa, pepsina, la reacción fue evaluada tras haber transcurrido 20 y 120 min de reacción utilizando el reactivo GOPOD.

Micrografía de harina y almidón: Para conocer los cambios en la estructura de los gránulos de almidón, se hidrato el almidón en agua al 10%, durante 15 min y se tomaron alícuotas de 20 µL y estas fueron puestas en un portaobjetos, para ser analizados en un microscopio (Leica,) (100X) y se tomaron fotografías de las mismas.

Análisis Estadístico: Para saber si había diferencias estadísticas significativas entre las muestras, se utilizó un análisis de varianza de una sola vía (ANDEVA), cuando se encontraron diferencias significativas se utilizó un análisis de Tukey. Utilizando el software estadístico PASWStatistics versión 18.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se presentan las micrografías de las muestras analizadas. El almidón y harina nativa presentan gránulos con formas esféricas y algunas fisuras (figura 1a, 1c), estas morfologías concuerdan con lo reportado por Ramesh *et al.* (2006) y Ndangui, *et al.* (2014), en la harina se pueden observar como algunos gránulos aún permanecen almacenados en amiloplastos. Por otro lado, el almidón de camote modificado y la harina de camote modificada se forman estructuras cristalinas sin ninguna forma, este comportamiento también fue reportado por Huang *et al.* (2015), quienes trabajaron con almidones de camote mediante tratamientos de calor-humedad y desramificación enzimática. Estas formas se debe al rompimiento del gránulo por la acción de la temperatura y presión a la que fue sometido durante el tratamiento, lo cual hizo que se perdiera su estructura granular completamente. El tamaño del granulo no se pudo medir debido a la falta de accesorios en el microscopio.

Para analizar la pureza de las harinas y almidones aislados se determinó el contenido de almidón total, el cual se puede observar en la Tabla 1. La harina de camote nativo presentó una cantidad de almidón de 54.32%, lo que concuerda con lo citado por Nabubuya *et al.* (2012). Sin embargo, existe una diferencia

estadística significativa (p=0.05) con la harina modificada, ya que esta presentó un contenido de almidón total de 66.67%, este aumento se puede deber al rompimiento que sufrieron otros carbohidratos que se encuentran presentes en el camote y que no son cuantificados con el kit enzimático de megazyme (sacarosa, pectinas, hemicelulosas etc.), en lo que respecta a los almidones nativo y modificado no existen diferencias estadísticas significativas (p=0.05) entre los valores encontrados.

Tabla 1. Resultados de almidón total y glucosa libre presentes en las harinas y almidones de camote amarillo.

Muestra	GL	Humedad	Almidón total
HCN	1.48 ± 0.46^{c}	4.67 ± 0.20^{a}	54.32 ± 0.46^{a}
HCM	9.84 ± 1.71^{b}	10.07 ± 0.03^{c}	66.67 ± 1.71^{b}
ACN	1.03 ± 1.53^{a}	9.01 ± 0.41^{b}	83.01 ± 1.53^{c}
ACM	0.90 ± 0.86^{a}	9.80 ± 0.31^{c}	83.26 ± 0.86^{c}

Los datos representan la media ± Desviación Estándar.
Letras diferentes en una misma columna representan diferencias estadísticas significativas (p=0.05).
HCN: harina camote nativa. HCM: harina camote modificada. ACN: Almidón camote nativo, ACM: almidón camote modificado.

Los resultados de glucosa y humedad se presentan en el Tabla 1, la cantidad más elevada de glucosa libre resulto en la harina de camote modificado, lo que concuerda con la cantidad elevada de almidón total de esta muestra. Seguida por la harina nativa y la cantidad más baja resulto para los almidones nativos y modificados. Los resultados de almidón total y glucosa libre nos indican una pureza del material obtenido en el proceso de aislamiento de almidón, libre de partículas de tamaño molecular pequeño. En el porcentaje de humedad se observa que la harina de camote nativo tuvo una cantidad de humedad más baja que las otras muestras, esto se debió a que la harina de camote se secó en un horno de secado por convección, mientras que las demás harinas fueron secadas con un horno de secado sin convección.

El contenido de ADR, ADL, y AR de las harinas se pueden observar en Tabla 2, El proceso de gelatinización y retrogradación de las harinas nativas incrementó el contenido de ADR en un 5.64%; disminuyó el contenido de ADL en un 16.82% y aumentó el AR en un 10. 79 %. Esta pérdida de la propiedad de ADL se puede ver como una característica desfavorable de la harina de camote tras el proceso de retrogradación. Sin embargo, un aumento en AR es algo favorable. Estos cambios se deben a que en él durante el proceso de gelatinización la estructura granular (figura 1c) se pierde y el material gelatinizado (amilosa y amilopectina) tienden a formar re asociaciones cuando las muestras fueron almacenadas a 4°C en refrigeración.

En cuanto a la harina modificada se puede observar que tras el procesamiento térmico, la cantidad de ADR disminuyó en un 15.44% y aumento el ADL en un 18.52 % estos dos procesos son favorables y se deben principalmente a una reasociacion de las cadenas largas de la amilopectina, las cuales reasociaron y atraparon en el gel carbohidratos simples como la GL (Tabla 1) haciendo que estos se fueran liberando paulatinamente, lo cual aumentó el contenido de ADL.

En general la muestra de harina modificada y sometida al proceso de retrogradación presento los mejores resultados. En lo que respecta al AR, las cantidades más bajas las presentaron la harina de camote modificada (HCM) retrogradada, HCM cruda y la harina de camote nativa (HCN) cruda, con 12.71, 15.80 y 16.79 respectivamente, no encontrándose diferencias estadísticas significativas (p=0.05), mientras que la HCN retrogradada presentó la cantidad más alta con 27.18% Lo que nos indica que el tratamiento de calor-humedad tuvo efecto sobre la fracción de positivo sobre el ADL. Sin embargo, este efecto es contrario a lo reportado por Ahn *et al.,* (2013).

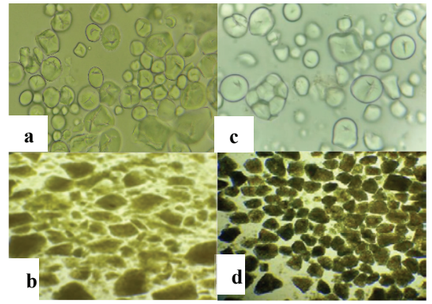


Figura 1.- Micrografía de harina de camote y almidón nativos y tratados con tratamiento calor-humedad. a) almidón de camote nativo, b) almidón de camote modificado, c) harina de camote nativa y d) harina camote modificado. Microscopio de campo claro 100X

Tabla 2. Resultados de la prueba de digestibilidad de Englyst, de harinas de camote amarillo nativas modificados mediante un tratamiento de calentamiento-humedad (crudas, y retrogradadas 4°C durante 12 horas).

Muestra	ADR	ADL	AR
HCN Cruda	15.63 ± 1.06^{a}	22.69 ± 0.69^{b}	16.79 ± 1.00^{a}
HCN Retrogradada	21.27 ± 0.87^{b}	5.87 ± 3.26^{a}	27.18 ± 3.78^{b}
HCM Cruda	42.66 ± 0.66^{c}	8.22 ± 1.61^{a}	15.80 ± 2.01^{a}
HCM Retrogradada	27.22 ± 0.74^{d}	26.74 ± 0.50^{b}	12.71 ± 0.29^{a}

Los datos representan la media ± Desviación Estándar.
Letras diferentes entre columnas significa que hay diferencias estadísticas significativas (p=0.05).
HCNR: Harina camote Nativa retrogradada, HCN: harina camote nativa, HCMR: harina camote modificada retrogradada, HCM: harina camote modificada.

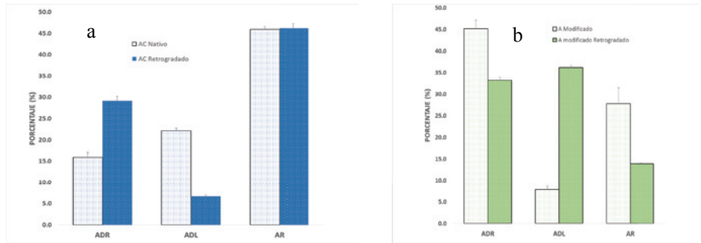


Figura 2.- Resultados de la digestibilidad in vitro aplicados a almidones. a) almidón nativo crudo y retrogradado. b) almidón modificado crudo y retrogradado.

En la Figura 2 se presentan los resultados obtenidos para el contenido de ADR, ADL y AR, de las muestras de almidones de camotes nativos (figura 2a) y modificados (figura 2b). Existe un incremento de la fracción de ADL en el almidón modificado tras ser sometido a un proceso de retrogradación, mientras que en la fracción de AR hubo una disminución comparado con el nativo sometido al mismo proceso térmico. En lo que respecta a la fracción de ADR el almidón de camote modificado y retrogradado presentó un incremento comparado con el almidón nativo y retrogradado. Estos incrementos se deben principalmente la conformación de cadenas de amilosa y amilopectina dentro del gránulo del almidón, además de que el tratamiento de calor-humedad y retrogradación se encuentran implícitos.

CONCLUSIONES

Los resultados indican que el tratamiento de calor humedad daña la morfología de los gránulos de almidón, ocasionando un aumento en el nivel de glucosa libre. El almidón de camote amarillo modificado mediante TCH a 30.2 % de humedad y 110 °C durante 16 horas presenta una alternativa para incrementar el contenido de ADL, el cual puede ser incorporado a un alimento que necesite de un proceso de cocción.

BIBLIOGRAFIA

AACC. (2000.). Approved methods of the American Association of Cereal Chemists. Vol. I y II., Edición 10.

AHN, J.H., BAEK, H.R., KYUNG MI KIM K.M., GUI JUNG HAN, G.J., JUN BONG CHOI J.B., YANG KIM Y., & MOON, T.W. (2013). Slowly digestible sweetpotato flour: preparation by heat-moisture treatment and characterization of physicochemical properties. *Food Science Biotechnology,* Núm. 22, [pp. 383-391].

CHUNG, H-J., LIU, Q., HOOVER, R. (2015). Impact of annealing and heat-moisture treatment on rapidly digestible, slowly digestible and resistant starch levels in native and gelatinized corn, pea and lentil starches. *Carbohydrate Polymers*, Núm. 75, [pp. 436–447].

COLATO, A.G., YOSHIE, T.C., AUGUSTUS, O.R., & JIN, P.K. (2011). Sweet Potato: Production, Morphological and physicochemical Characteristics, and Technological Process*. Fruit Vegetable and Cereal Science and Biotechnology,* Núm. 5, [pp. 1-18].

DE LA ROSA-MILLAN, J., HUI-MEI, L., A., OSORIO-DÍAZ, P., AGAMA-ACEVEDO E., HAMAKER, B.R., & BELLO-PEREZ L.A. (2015). Influence of annealing flours from raw and pre-cooked plantain fruit on cooked starch digestion rates. *Starch/Stärke*, Núm. 67, [pp. 139–146].

HUANG. T.T., ZHOU, D.N., JIN Z.Y., XU, X.M., & CHEN, H.Q. (2015). Effect of debranching and heat-moisture treatments on structural characteristics and digestibility of sweet potato starch. *Food Chemistry*, Núm. 187, [pp. 218–224].

HUANG. T.T., ZHOU, D.N., JIN Z.Y., XU, X.M., & CHEN, H.Q. (2016). Effect of repeated heat-moisture treatments on digestibility, physicochemical and structural properties of sweet potato starch. *Food* Hydrocolloids, Núm. 54, [pp. 202-210].

LEE, C.J., & MOON, T.W. (2015). Structural characteristics of slowly digestible starch and resistant starch isolated from heat–moisture treated waxy potato starch. *Carbohydrate Polymers*, Núm. 125, [pp. 200–205].

LIU, H., GUO, X., LI, W., WANG, X., IV, M., & PENG, Q. (2015). Changes in physicochemical properties and in vitro digestibility of common buckwheat starch by heat-moisture treatment and annealing. *Carbohydrate Polymers,* Núm. 132, [pp. 237-244].

LIU, Q., DONNER, E., YIN, Y., HUANG, R.L, FAN, M.Z. (2006). The physicochemical properties and in vitro digestibility of selected cereals, tubers and legumes grown in China. *Food Chemistry*, Núm. 99, [pp. 470–477].

NABUBUYA, A., NAMUTEBI, A., BYARUHANGA, Y., NARVHUS, J., & WICKLUND, T. (2012). Potential Use of Selected Sweetpotato (Ipomea batatas Lam) Varieties as Defined by Chemical and Flour Pasting Characteristics. *Food and Nutrition Sciences*, Núm. 3, [pp. 889-896].

NDANGUI, C.B., PETIT, J., GAIANI, C., NZIKOU, J.M., & SCHER, J. (2014). Impact of thermal and chemical pretreatments on physicochemical, rheological, and functional properties of sweet potato (Ipomea batatas lam) flour. *Food Bioprocess Technol*. Núm. 7, [pp. 3618–3628].

RAMESH, Y., A., GUHA, M., THARANATHAN, R.N., & RAMTEKE R.S. (2006). Changes in characteristics of sweet potato flour prepared by different drying techniques. *LWT*, Num. 39, [pp. 20–26].

SUI, Z., YAO, T., ZHAO, Y., YE, X., KONG, X., & AI, L. (2015). Effects of heat–moisture treatment reaction conditions on the physicochemical and structural properties of maize starch: Moisture and length of heating. *Food Chemistry,* Núm. 173, [pp. 125–1132].

WANG, H., ZHANG, B., CHEN, L., & LI, X. (2016). Understanding the structure and digestibility of heat-moisture treated starch. *International Journal of Biological Macromolecules,* Núm. 88, [pp. 1–8].

WANG, S., WANG, J., YU, J., & WANG, S. (2014). A comparative study of annealing of waxy, normal and high-amylose maize starches: The role of amylose molecules. *Food Chemistry,* Núm. 164, [pp. 332–338].

MICROPROPAGACIÓN *EUCHILE MARIAE* (AMES) WITHNER, Y *EPIDENDRUM CILIARE L.*

Yahaira Elizabeth Rodríguez Cruz[1] y Candy Carranza Álvarez[2]

RESUMEN

La familia Orchidaceae es una de las más diversas, pero también una de las más vulnerables, principalmente por la destrucción de su hábitat y la gran extracción a la que ha estado sujeto. En este proyecto se trabajó con dos especies de orquídeas características de la Huasteca Potosina y con algún grado de vulnerabilidad. Para ello, se utilizaron cultivos *in vitro* de *Euchile mariae* y *Epidendrum Ciliriae* en diferentes estados de diferenciación celular. Los objetivos de la presente investigación fueron evaluar diferentes sustratos naturales en la multiplicación de los brotes de E. ciliariae, y probar diferentes soportes naturales (carbón, corteza y agar) con auxinas sintéticas (AIA y AIB) en el enraizmiento y preaclimatación de *E. mariae*. Los resultados mostraron un efecto benéfico por el uso de sustratos y soportes naturales en ambas orquídeas.

ABSTRACT

The orchid family is one of the most diverse, but one of the most vulnerable, mainly by the habitat destruction and high extraction which has been subject. In this project, two species of orchids from the Huasteca and with some degree of vulnerability were studied. Thus *in vitro* cultures of *Euchile Ciliriae* and *Epidendrum Mari*ae in different states of cell differentiation were employed. The objectives of this research were to evaluate different natural substrates in the multiplication of buds of *E. ciliariae*, and evaluate try different natural substrates (coal, bark and agar) with synthetic auxin (IAA and IBA) on rooting and preaclimatación of *E. Mariae*. The results showed a beneficial effect by use of natural substrates and supports both orchids.

Palabras clave: orquídeas, micropropagación, conservación.

INTRODUCCIÓN

La familia Orchidaceae es una de las más diversas, pero también una de las más vulnerables, principalmente por la destrucción de su hábitat y la gran extracción a la que ha estado sujeto. En México 181 especies de orquídeas son consideradas en alguna categoría de riesgo (NOM-059-ECOL-2001). *Euchile mariae* (Ames) Withner, es una orquídea epífita y endémica de México que se distribuye en los estados de Tamaulipas, San Luis Potosí, Hidalgo, Guanajuato, Querétaro, Puebla y Veracruz. Habita en bosques de encino, pino-encino y liquidámbar, a una altitud de 800 a 1350 metros sobre el nivel del mar (Soto, 2002). Se encuentran Catalogada por la Norma Oficial Mexicana (NOM-059-ECOL-2001) como una especie amenazada (SEMARNAT 2002), esto debido principalmente a la destrucción de su hábitat y al saqueo y comercio ilegal de plantas silvestres.

Se considera que es de vital importancia tomar acciones que conlleven a un manejo sustentable de las orquídeas mexicanas, entre las que se tiene el establecer sistemas de micropropagación, para conseguir la reproducción de orquídeas en forma masiva a partir de semillas o tejidos vegetativos y desarrollarlas en grandes invernaderos. Con esto, se puede mantener una producción continua de ejemplares de calidad, para reducir en cierta medida el saqueo de especies de sus poblaciones naturales (Lee y Lee, 1991). Por otra parte, la especie *Epidendrum ciliare* L. es una orquídea que crece comúnmente sobre pedregones grandes y sobre los troncos de los árboles en áreas totalmente expuestas. Las poblaciones se encuentran principalmente en la medianía y la altura de los bosques húmedos y calizos de las costas. Esta especie se

[1] Universidad Autónoma de Aguascalientes AV. Universidad No. 940, Colonia: Ciudad Universitaria C.P. 20131
[2] Unidad Académica Multidisciplinaria Zona Huasteca, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Romualdo del Campo No. 501, Rafael Curiel, C.P. 79060, Cd. Valles, S.L.P., MÉXICO; candy.carranza@uaslp.mx

encuentra a través de todas las indias occidentales, en México y en el centro de Sudamérica. (Ackerman y Del Castillo, 1992). La composición del medio de cultivo es uno de los factores que determinan el éxito de generar y propagar plántulas. Todo medio está básicamente compuesto de macronutrientes, micronutrientes, vitaminas, aminoácidos y una fuente de carbono. La inducción de una ruta morfogénica específica (organogénesis, embriogénesis, callogénesis) es regulada por la composición del medio básico de cultivo y la adición de compuestos reguladores de crecimiento.

Tradicionalmente la adición de auxinas y citoquininas ha sido utilizada para regular el crecimiento y desarrollo de tejidos vegetales. No obstante, el uso de estos compuestos es costoso, por lo tanto, se han investigado sustitutos de origen natural que puedan ser una fuente de minerales, aminoácidos, vitaminas y azúcares (Vyas et al., 2009). En el este trabajo describe el proceso de *E. Ciliriae* L. se efectuó una prueba de distintos nutrientes naturales para observar su efecto en la elongación. Además, para la especie pre-aclimatación de la especie *Euchile mariae* (Ames) Withner usando diferentes sustratos y nutrientes.

METODOLOGÍA

Material biológico

Las plantas utilizadas para la prueba de aclimatación *(Euchile mariae),* y para la prueba de nutrientes naturales en la elongación *(E. Ciliriae)* fueron obtenidas del laboratorio de Ciencias Ambientales de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí Campus Huasteca (Ciudad Valles), las cuales fueron germinadas a partir de semilla en medio MS en el mismo laboratorio. Para cada prueba se usaron plantas en diferentes etapas de crecimiento.

Efecto de sustratos naturales en la elongación de brotes de E. Ciliriae

Se usaron 5 grupos implementados con diferentes sustratos usando en todos los medios de cultivo MS comercial (Murashige y Skoog, 1962) (Phyto-Technology) para lo cual se disolvieron 4.43 g de las sales del medio por litro. Al grupo 1 se le añadió 10% de extracto de plátano (EP), al grupo 2 se le añadió el 10% de extracto de manzana (EM), al grupo 3 el 10% de H2O de coco (EC), al grupo 4 se le añadió una concentración de 10 ppm de BAP, y al grupo 5 una de 5 ppm de BAP. En todos los grupos excepto en los que contenían extractos de manzana y plátano se usaron 30 g. de sacarosa por litro. El pH se ajustó a 5.6-5.8. Posteriormente se agregó carbón activado y agar Plant TC como agente gelificante a todos los medios y éstos se distribuyeron en recipientes de cristal tipo “Gerber”, y se esterilizaron en autoclave por 15 minutos a 15 lb pulg2. Para cada tratamiento se midió la altura de brotes.

Efecto de soportes naturales de enraizamiento en la preaclimatación de la especie E. Mariae

Se usaron tres diferentes sustratos; carbón, corteza y agar. Para cada sustrato se probaron diferentes tratamientos. Primeramente, se realizó la esterilización de los sustratos carbón y corteza secos, para después adicionarles medios de cultivo MS comercial (Murashige y Skoog, 1962) (Phyto-Technology) a un pH de 5.6 – 5.8. Para los medios con agar se realizó el procedimiento anterior, agregando el medio MS en agua destilada, y midiendo el mismo rango de pH para después añadir agar como agente gelificante. Para cada sustrato se realizaron 3 tratamientos; el primero era el control, el segundo correspondía al implementado con AIA y el tercero con AIB. Se distribuyeron en frascos tipo gerber del mismo tamaño y se esterilizaron en las mismas condiciones que la prueba anterior.

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar. Los datos fueron sometidos a una prueba de ANOVA, pruebas de t de Student y a un análisis estadístico de Tukey. Los valores con una $p \leq 0.05$ se consideraron estadísticamente significativos. Se utilizaron los Software Statistica 8.0 y Sigma Plot 11.0 para la generación de las gráficas comparativas y la posterior interpretación de los datos.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Efecto de sustratos naturales en la elongación de brotes de E. Ciliriae

Para el ensayo de diferentes nutrientes en la elongación de *Epidendrum ciliare* L., se realizaron dos pruebas: i) el efecto de los sustratos naturales sobre el incremento de la altura de rotes (Figura 1), y ii) el efecto de los sustratos naturales en el incremento del número de brotes para cada tratamiento (Figura 2). En la Figura 1, se puede observar que si existió una diferencia estadísticamente significativa entre el extracto de agua de coco (EC) y la citocinina BAP (5ppm). En Figura 2, se puede apreciar que no hubo ninguna diferencia estadísticamente significativa entre todos los tratamientos evaluados. Sin embargo, para ambas pruebas se obtuvieron mejores resultados visibles en el tratamiento que contenía el extracto de agua de coco (Figura 3) debido a que en las plantas cultivadas en estas condiciones, se observó un mayor número de brotes y raíces con una coloración más brillante a comparación al resto de los tratamientos.

Dichos resultados concuerdan con lo reportado por Arditti *et al.,* (1982) quieres describieron que el agua de coco contiene ribósidos de zeatina que poseen un efecto similar a una citocininas natural o sintética. La presencia de citocinicas en el agua de coco podría inhibir la formación de raíces y estimular el crecimiento de partes aéreas y la proliferación de brotes (Trigiano y Gray, 2005). Así mismo, Stancato *et al.,* (2008) determinaron en tres especies de orquídeas (*Laelia longipes* Rchb.f., *Laelia tenebrosa* Rolfe y *Miltonia spectabilis* Lindley) que la adición de diferentes extractos naturales como la pulpa de plátano, estimuló el desarrollo de plántulas con mayor materia seca total. Los resultados encontrados en este experimento, demuestran probablemente en un futuro, se podrán reducir los costos de la micropropgación de esta especie, al sustituir el uso de reguladores de crecimiento sintéticos por sustratos naturales durante de las etapas de multiplicación y elongación de los brotes.

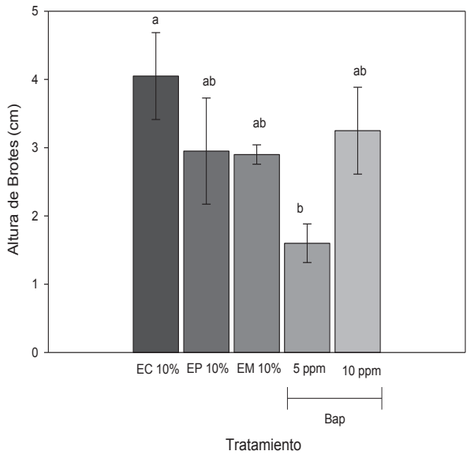


Figura 1. Efecto de sustratos naturales en la elongación de los brotes de E. Ciliriae L. Extracto de coco (EC), plátano(EP), manzana (EM)y bap a 5 y 10 ppm contra altura de brotes (cm)

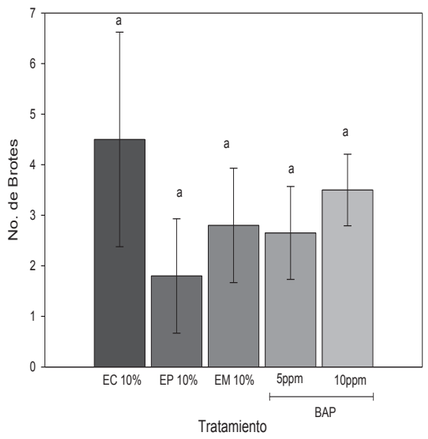


Figura 2. Efecto de sustratos naturales en la multiplicación de brotes de E. Ciliriae L. Extracto de coco (EC), plátano (EP), manzana (EM) y bap a 5 y 10 ppm contra número de brotes (cm)

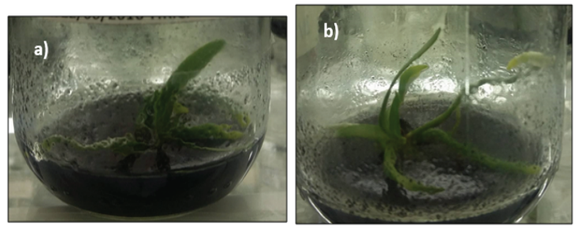


Figura 3: Plantas de la especie E. Ciliriae correspondientes a los tratamientos a) MS adicionado con 10ppm y b) MS adicionado con extracto de coco

Efecto de soportes naturales de enraizamiento en la preaclimatación de la especie E. Mariae

Por otra parte, cuando se realizaron experimentos sobre la pre-aclimatación de plántulas *Euchile mariae* (Ames) Withner, se encontró que después de 20 días de cultivo *in vitro*, no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes sustratos de soporte y auxinas evaluados (Figura 4). Sin embargo, al igual que las pruebas anteriores esto pudo deberse al poco tiempo (dos semanas) en el que se evaluaron los tratamientos.

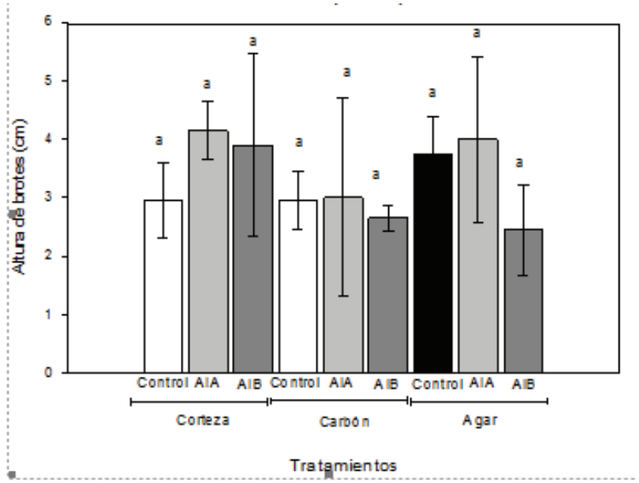


Figura 4. Efecto de las auxinas (control, AIA y AIB) y de diferentes soportes de enraizamiento (corteza, carbón vegetal y agar) sobre la pre-aclimatación de Euchile mariae (Ames)

Además, otro factor que influyó sobre preaclimatación de las plántulas, fue la oxidación presentada en algunos de los brotes. La desecacionEsto probablemente se debió a que cuando las plántulas son retiradas de un medio de cultivo *in vitro*, las hojas no son fotosintéticamente activas ni tienen estomas funcionales, ya que en las condiciones y sobreviven gracias a que el medio de cultivo le proporciona los nutrientes necesarios. En este punto muchas de las hojas mueren y acen hojas nuevas capaces de generar su alimento, supliendo así las hojas viejas (Seelye et al, 2003).

De acuerdo con Nava et al., (2011) las plantas de *L. eyermaniana* micropropagadas deberán colocarse por lo menos 60 días en un ambiente controlado. Así también, el proceso de aclimatación tendrá una mayor probabilidad de llevarse a cabo exitosamente cuando las plantas tengan un tamaño superior a 3 cm, cuenten con un mayor número de hojas y de raíces (más de cuatro) y con pseudobulbos más conspicuos; con ello se estaría asegurando el contenido de humedad necesario para lograr su adecuado desarrollo. En este trabajo fue menor el tiempo, por lo que en ensayos futuros se debería tomar en cuenta.

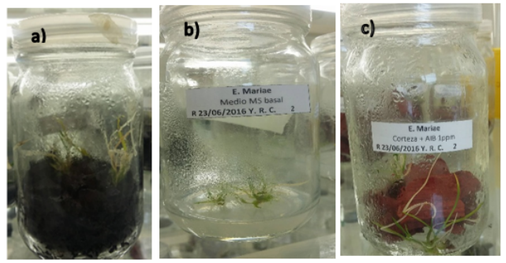


Figura 5. Morfología de las plántulas de E. Marie en etapa de pre-aclimatación después de dos semanas de cultivo. Los tratamientos corresponde a) Carbón adicionado con AIA (1ppm) b) MS basal) y c) Corteza adicionada con AIB (1ppm)

CONCLUSIONES

El mejor tratamiento obtenido para la prueba de sustratos naturales en la elongación de brotes de E. Ciliriae fue el de Extracto de coco y para la prueba de preaclimatación de la especie E. Mariae no se obtuvieron resultados significativamente diferentes en todos los tratamientos, aunque se pudo observar un mayor crecimiento en las plantas adicionadas con fitohormonas. Sin embargo, es recomendable seguir con la línea de investigación, ya que fue poco el tiempo de evaluación en estas pruebas.

BIBLIOGRAFÍA

- Ackerman, J. Del Castillo, M. (1992). Las orquídeas de Puerto Rico y Las Islas Vírgenes. Universidad de Puerto Rico. [pp. 108-109].
- Arditti, J.; Clements, G.; Fast, G.; Hadley, G.; Nishimura, G.; Ernst, R. (1982). Orchid seed germination and seedling culture - manual. En: Arditti, J.; Clements, G.; Fast, G.; Hadley, G.; Nishimura, G.; Ernst, R. (eds.). Orchid biology: Reviews and Perspective II. New York: Cornel University. [pp 390-391]**.**
- Lee, J. Y Lee H. (1991).Micropropagación de orquídeas a partir de semillas. Boletín informativo de FIRA XXIV 2. [pp15-30].
- Nava, J. Jiménez, A. Arenas, M. Ventira, E. Evangelista, S. (2011). Estudio De La Morfología Y Aclimatación De Plantas De Laelia Eyermaniana Rchb. F. Generadas In Vitro. México.32. Pág. 115
- Seelye, J., Burge, G., Y Morgan, E. (2003). Acclimatizing Tissue Culture Plants: Reducing the Shock. Combined Proceedings International Plant Propagators' Society 53. [pp 85-90].

- SEMARNAT. 2002. Norma Oficial Mexicana NOM-059- ECOL-2001. Protección ambiental-especies nativas de México de flora y fauna silvestres-categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambiolista de especies en riesgo. Diario oficial (6 de marzo 2002). México, D.F.
- Soto A., M.A. 2002. Euchile mariae (Ames) Withner. In: E. Hágsater & M. Soto (ed.), Icones Orchidacearum.
  Orchids of Mexico Part 2,3. Asociación Mexicana de Orquideología. A.C. Mexico. Lámina. [p 584].
- Stancato, G.C.; Abreu, M.F.; Furlani, A.M.C. (2008). Crecimiento de orquídeas epífitas in vitro: adição de polpa de frutos. Bragantia, 67. [pp. 51-57].
- Trigiano, R.N.; Gray, D.J. (2005). Plant development and biotechnology. CRC Press, Boca Raton-EEUU. [358 p].
- Vyas, S.; Guha, S.; Bhattacharya, M.; Rao, I.U. (2009). Rapid regeneration of plants of *Dendrobium lituiflorum*Lindl. (Orchidaceae) by using banana extract. *Sci. Hortic.* 121. [pp. 32-37].

ESTUDIO DE COSTOS E INGRESOS EN EL EJIDO LOS LLANOS, ARTEAGA, COAHUILA; ELCASO DE UNA UNIDAD DE PRODUCCIÓN LECHERA FAMILIAR

Edgar Alejandro Rodríguez Valdés[1] y Luis Aguirre Villaseñor[2]

RESUMEN

La presente investigación se realizó con el fin de mostrar cómo se encuentra la situación económica del pequeño productor; él manifestó que no lleva un control sobre los gastos en los que incurre y de los ingresos que percibe; entonces si él tiene control sobre los gastos e ingresos podrá saber por ejemplo en qué gastos innecesarios incurre, de tal manera que tendrá una visión clara de la forma en que puede reducir sus costos y mejorar sus ingresos, que le permita mejorar su sistema de producción, con más eficiencia y eficacia de su negocio, dando como resultado una correcta toma de decisiones, es por eso que se realizó el estudio obteniendo un resultado positivo.

ABSTRACT

This research was conducted to show how is the economic situation of the small producer said that does not keep control over the expenses incurred and income received ; then if he has control over expenditure and revenue you may know for example how unnecessary expenses incurred , so you will have a clear vision of how they can reduce their costs and improve their income , allowing you to improve your production system with more efficiency and effectiveness of their business, resulting in a correct decision .

Palabras Clave: Estudio de costos e ingresos, Agricultura campesina, Unidad campesina, Campesino.

INTRODUCCIÓN

En el mundo hay un gran número de países que se dedican a la producción y abasto de leche como una prioridad nacional, razón por la cual establecen políticas de alto proteccionismo para el sector lácteo en países en vías de desarrollo como México, donde la producción de leche de bovino es muy heterogénea desde el punto de vista tecnológico, agroecológico y socioeconómico, incluyendo la gran variedad de climas regionales y características de tradiciones y costumbres de las poblaciones.

Según SAGARPA (2012), durante el periodo de 2005 a 2010 la producción lechera se concentró en cuatro estados, los que contribuyeron conjuntamente con el 45% de la producción nacional en este período, ellos son: Jalisco, Coahuila, Durango y Chihuahua. Destacaron los estados de Coahuila y Durango que se encuentran ubicados en la Región Lagunera, que es la más importante cuenca lechera del país, y que ocupa el primer lugar en producción a nivel nacional. La principal fuente de explotación son las grandes granjas en las cuales se produce el 75 por ciento de la producción, mientras que el 25 por ciento proviene de pequeños productores y explotaciones familiares que se caracterizan por ser explotaciones pequeñas que fluctúan entre 3 y 40 vacas, las cuales manejan los miembros de la familia, ya sea en forma; estabulada o semi-estabulada, en sitios aledaños a las casas de los productores.

[1] Estudiante en Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Departamento de Economía Agrícola, Calzada Antonio Narro No 1923 Col. Buenavista, C.P: 25315, Coahuila, Saltillo, gariux_1010@hotmail.com..
[2] Profesor en Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Departamento de Economía Agrícola, Calzada Antonio Narro No 1923 Col. Buenavista, C.P: 25315, Coahuila, Saltillo, luisaguirrev@prodigy.net.mx.

La alimentación de las vacas en las explotaciones pequeñas se basa fundamentalmente en pajas y rastrojos de maíz, avena, sorgo, trigo y residuos de cervecería, residuos de hortalizas y en zonas áridas, el nopal.

Según Mellado, (2012), en muchas de estas explotaciones las vacas pastorean los residuos de cosecha o el forraje que crece a orillas de los caminos y acequias. El uso del concentrado es limitado. Las becerras se crían por lo común separadas de las madres y los machos se venden pocos días después de nacidos. Los animales en estos sistemas son normalmente vacas Holstein de bajo potencial genético, las cuales presentan producciones de alrededor de 2500 litros de leche por lactancia; se practica la monta natural y la ordeña generalmente es a mano y normalmente no se practica la medicina preventiva ni se tiene un programa de mejoramiento genético.

Sin embargo una vez analizada este tipo de explotaciones, cuando se analizan los aspectos económico administrativo, se llega a una conclusión de que este tipo de explotaciones no tiene un control adecuado sobre los ingresos que percibe ni de los costos en los que incurre.

Es por eso que con el fin de ayudar a este tipo de explotaciones se realiza los estudios de costos ingreso, ya que muestran de una manera clara los resultados al final de un periodo, que es lo que se hizo en este caso.

MARCO TEORICO

La agricultura campesina es una forma de ser, vivir, y de producir en el campo, se basa en el rescate de tradiciones, costumbres y cultura de los pueblos originarios, donde el autoabastecimiento, el abastecimiento local y regional de alimentos, constituyen la promoción de la soberanía alimentaria, sus principales características que destacan son: pequeña propiedad, trabajo familiar, control de proceso de producción, diversidad productiva, semillas nativas, base agroecológica, técnicas apropiadas al sistema campesino de producción.

La Agencia Latinoamericana de Información reafirma que la agricultura campesina apunta a la mejoría de la calidad de vida de las familias y a la reducción de las penurias del trabajo. Así como también dice que la tierra y el territorio son las bases fundamentales para la agricultura campesina y la soberanía alimentaria, el tener acceso a ella y explotarla racionalmente y adecuadamente es vital para el desarrollo humano equitativo.

Sin embargo la agricultura campesina no es una profesión, es una forma de ser, de vivir y de producir. Se basa en las familias y las comunidades campesinas. En cuanto a la agricultura familiar es el proyecto pensado desde el capital para la pequeña propiedad, donde la lógica de la gestión es la misma de una empresa rural capitalista, solo que es agronegocio en escala reducida según **González R., V., & Silos A., J. S. (1968).**

METODOLOGIA

Para la elaboración de la presente investigación se utilizó una metodología consistente en recabar la información de campo; se utilizó el método de la encuesta estructurada, debido a que se preparó previamente una guía de preguntas con un orden definido.

Según la Universidad de **Córdoba (sf)** la encuesta es una búsqueda sistemática de información en la que el investigador pregunta a los investigados sobre los datos que desea obtener, y posteriormente reúne estos datos individuales para obtener durante la evaluación datos agregados.

En mí caso solo se aplicó la encuesta a solo una persona, que está estructurada en tres apartados;

El primer apartado se basa principalmente en el cálculo del presupuesto familiar que incluye costos como la luz eléctrica, el agua potable, la educación entre otros que tiene el pequeño productor en el lapso de un periodo que en este caso es un año. En el segundo apartado se concentra la información relacionada con la producción agrícola, que en este caso es la producción de maíz el cual se destina para el consumo de los animales y como tercer apartado se concentra la información relacionada con la actividad ganadera que en este caso es la producción de leche, donde destaca el costo de la mano de obra, los gastos en la producción lechera así como los ingresos.

Al procesar la información recabada de los tres apartados, se presenta una tabla la cual tiene como fin la estimación del saldo al final de un periodo, donde se puede definir si tuvo pérdida o ganancia.

La aplicación de la encuesta, se llevó acabo el día miércoles 15 de junio del presente año 2016.

Para llegar al lugar donde se aplicó llamado el ejido Los Llanos, Arteaga se hizo un tiempo aproximando de 45 minutos de camino en camión, el cual se tomó a las 7:40 am en el puente del sarape en la ciudad de Saltillo y se llegó al ejido alrededor de las 8:30 am. De inmediato me trasladé a la casa del productor.

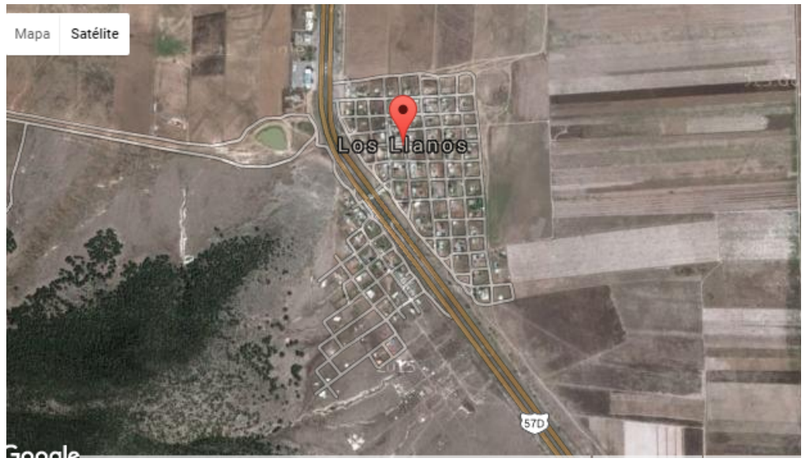
La aplicación de la encuesta comenzó a las 8:40, la cual duró alrededor de 1 hora 20 minutos, tiempo necesario para que el productor se desenvolviera ampliamente y respondiera debidamente la encuesta, así como también se corroboró la información anteriormente dada para ajustar detalles.

Terminada la aplicación de la encuesta se procedió a retirarse del lugar, despidiéndome debidamente y agradeciendo por el tiempo prestado, así como por las molestias. A continuación se muestran fotos que fueron tomadas durante la aplicación de la encuesta.

Figura 1. Fotografías de las instalaciones del productor.

La presente investigacion de llevo a cabo en la localidad de Los Llanos está situada en el Municipio de Arteaga, en el Estado de Coahuila de Zaragoza. Ubicado en las coordenadas a 100°48´00" longitud oeste y 25°18´21" latitud norte, a una altura de 2040 msnm.

Figura 2. Microlocalizacion del ejido de Los Llanos



RESULTADOS

Después de un largo tiempo de estar planeando detalladamente la herramienta adecuada para levantar información, así como los apartados y tipos de preguntas que debería tener, se logró el objetivo establecido. Se logró una análisis detallado de la situación de un pequeño productor de leche ubicado en el ejido Los Llanos, Arteaga, Coahuila.

En este caso se muestran los resultados obtenidos, analizando los costos en los que incurre el pequeño productor durante un año, así como los ingresos que percibe durante el mismo periodo, como se muestra en el siguiente cuadro.

Tabla 1. Indicadores Económicos

Concepto	Valor (pesos)
1)Total de ingresos	619,250.00
2)Total de egresos	335,560.00
3)Ingreso neto	**283,690.00**
4)Cargo de interés sobre el capital invertido al 12%	35,242.80
5)Ingreso del agricultor	**258,447.20**
6)Valor de productos usados por la familia	72,517.00
7)Ganancia del productor	**$185,930.20**

Como se muestra en el cuadro anterior los ingresos que percibe el productor, en este caso por la venta de leche es de 619,250 pesos, en cambio los costos ascienden a 335,650 pesos, debido que se toma en cuenta la mano de obra usada que en este caso es la mano de obra familiar, así como las materias primas aprovechadas como alimento al ganado, servicios como luz eléctrica y asistencia técnica.

También se restó el 12 por ciento del capital invertido, ya que el productor confirmó que durante el periodo realizó varias inversiones tales como la construcción de comederos, bebederos y la habilitación de una área adecuada para llevar a cabo la ordeña.

A la vez se le restó el concepto de productos usados por la familia donde se integró la cosecha de maíz levantada en 16 hectáreas por el productor de manera tradicional y la cual es destinada para el abasto de insumos para la actividad ganadera.

Una vez restados estos conceptos se obtuvo que al final del período una ganancia de $185, 930.20. En conclusión el resultado positivo y favorable para el productor.

DISCUSION, CONCLUSIONES,

Los estudios de costos e ingresos por lo regular se aplican a empresas o productores grandes, sin embargo si se le diera la debida importancia a los pequeños productores con la aplicación y ejecución de este tipo de estudios, así como el apoyo en cuanto a asistencia técnica, su situación seria otra.

En conclusión este tipo de estudios ayudan a dar un panorama muy amplio y detallado de cómo se encuentra la situación económica en las actividades, quedando pendiente identificar en qué costos innecesarios se incurre y que ingresos se perciben, quedando avanzada la aportación administrativa que se le prometió al productor de leche.

En mi persona hay una satisfacción muy grande ya que aporté un granito de arena, con la elaboración de este estudio, ya que son productores que no cuentan con el financiamiento necesario y con la información adecuada, y es muy satisfactorio ver cómo puedes ayudar a los pequeños productores aunque sea con un poco de tus conocimientos.

BIBLIOGRAFIA

- Mellado Bosque, Miguel. (2012). Producción de leche en zonas templadas y tropicales, Trillas. 2012
- Universidad de Córdoba. (s.f.). Recuperado en Junio de 2016, de http://www.uco.es/zootecniaygestion/img/pictorex/09_13_21_sesion_6.pdf.
- Secretaria de Economía. Análisis del Sector Lácteo de México. 2012.
- González R., V., & Silos A., J. S. (1968). Economía de la producción agrícola en el Bajío, El sistema de pequeña propiedad en la zona de Celaya. Folleto Técnico No. 53, 68. Secretaría de Agricultura y Ganadería. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, México.

ANÁLISIS GENÓMICO Y METABOLÓMICO DE LA INTERACCIÓN PLANTA-MICROORGANISMO

Alejandro Romo Avalos[1] y José Pablo Lara Ávila[2]

RESUMEN

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis* (Cmm) es un fitopatógeno Gram-positivo causante de la enfermedad conocida como cancro bacteriano del jitomate (*Solanum lycopersicum*), una enfermedad para la cual no existen tratamientos curativos o preventivos, lo que ha provocado pérdidas importantes en México y en el mundo entero. *Brevibacillus laterosporus* es un potente agente de control biológico contra insectos y bacterias Gram-positivas, por lo que en este estudio se ha realizado la curva de crecimiento de ambas bacterias para la determinación del tiempo de duplicación, y posteriormente probar si *B. Laterosporus* presenta actividad antagonista contra *Cmm*, como alternativa de control biológico en plantas de jitomate.

ABSTRACT

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis* (Cmm) is a Gram-positive bacterial pathogen causing bacterial wilt and canker of tomato (*Solanum lycopersicum*), an economically important disease that actually not know curative or preventive treatments, producing economic losses worldwide. *Brevibacillus laterosporus* is a powerful biological control agent against insects and Gram-positive bacterial. So, in this study it has been made the growth curve of both bacterias for duplication time determination, and subsequently prove if *B. laterosporus* presents against activity to *Cmm,* like biological control option in tomato plants.

Palabras Clave: *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis, Brevibacillus laterosporus,* fitopatógeno, antagonista, cancro bacteriano.

INTRODUCCIÓN

Las bacterias fitopatógenas son microorganismo con estructura de tipo procariótico que causan enfermedades en las plantas. La estructura celular de dichas bacterias se caracteriza por la falta de compartimentación celular y una membrana que engloba el citoplasma que contiene un único cromosoma constituido por ADN bicatenario y circular que no está aislado de él por ningún tipo de membrana y posee ribosomas de pequeño tamaño del tipo 70s (Brock, 1991).

***Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Cmm).**

La infección por el patógeno Gram-positivo *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Cmm), causante de la enfermedad conocida como cancro bacteriano del jitomate; ha provocado pérdidas millonarias en los estados de San Luis Potosí, Baja California, Estado de México, Michoacán, Guanajuato, Sinaloa, Morelos, Zacatecas; y tal es su importancia en el mundo que es una especie sujeta a regulaciones de cuarentena internacional por parte de la Unión Europea (Comission Directive 95/4/EC) y de Estados Unidos (NAPPO) (Jahr *et al.*, 1999); en México es catalogada como plaga cuarentenaria tipo A1 por la hoja de requisitos fitosanitarios y Norma Oficial Mexicana 007 (NOM 007).

[1] Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Biológicas; Carretera Torreón-Matamoros Km. 7.5, Ejido el Águila, C.P: 27276, Torreón, Coahuila, aleex_romoo@outlook.com
[2] Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Agronomía y Veterinaria; Carretera San Luis Potosí, Km. 14.5, Soledad de Graciano Sánchez, C.P: 78321, San Luis, S.L.P, pablo.lara@uaslp.mx

La infección de la planta ocurre a través de las heridas, estomas o por el uso de semillas contaminadas; los síntomas son marchitez unilateral de las hojas, heridas en el fruto llamadas ojo de pájaro y el desarrollo de heridas en el tallo llamadas chancros (Carlton *et al*., 1998; Jahr *et al*., 1999; Balaji *et al*., 2008; Gartermann *et al*., 2008), una vez dentro de la planta, la bacteria invade todo el sistema vascular, se traslada y multiplica en los vasos del xilema y salen de ellos por el floema, médula y corteza, donde forman grandes cavidades (Agrios, 2005).

Cmm es considerado como un organismo biotrófico pero puede sobrevivir por lagos periodos de tiempo cuando se asocia a restos vegetales, lo cual constituye un foco de infección para el siguiente ciclo agrícola (Jahr *et al*., 1999; Gartermann *et al*., 2003).

Se sabe poco acerca de las estrategias de virulencia que utiliza *Cmm* durante la infección, sin embargo se ha reportado que los exopolisacaridos (EPS) presentes en la pared celular, pudieran ser los responsables de los síntomas de marchitez en las hojas, sin embargo no representa un factor de patogenicidad importante (Jahr *et al*., 1999; Gartermann *et al*., 2003).

Interacción planta-patógeno.

Cuando una planta y un patógeno entran en contacto, ocurre una reprogramación de la actividad transcripcional ya que el patógeno se enfoca en la colonización de los tejidos y en la utilización de los recursos de la planta con fines de nutrición, mientras que la planta se adapta para la detección del patógeno y defenderse, lo que implica cambios en la expresión génica y cambios metabólicos (Wan *et al*., 2002).

En el caso de una defensa eficiente, los síntomas en la planta son restringidos, el patógeno no se multiplica o propaga y no hay desarrollo de la enfermedad (interacción incompatible), cuando la defensa es ineficiente la planta es rápidamente infectada, aparecen síntomas y la planta muere (interacción compatible); con el fin de combatir tales infecciones, las plantas han desarrollado un sistema de defensa en cada célula y otro basado en señales sistémicas que emanan del sitio de infección (Jones & Dangl, 2006).

Planta y patógeno son especies co-evoluciondas, esto significa que las barreras estándares de una planta pueden ser sobrepasadas por un patógeno en particular, pero puede bloquear con éxito el avance de otros (Baker *et al.,* 1997; Bishop *et al*., 2000; Wan *et al.,* 2002).

Relativamente pocos microorganismos pueden romper los mecanismos de defensa de las plantas, con consecuencias devastadoras en términos agronómicos y económicos, como es el caso de *Cmm* en jitomate, sin embargo aún se desconoce la razón por la cual un microorganismo puede ser altamente virulento en una especie y puede ser no patogénico en otra especia, incluso dentro del mismo género.

Brevibacillus laterosporus.

Existe un grupo de importante de bacterias muy útiles como agentes de control biológico que muestra efecto antagónico frente a otros microorganismos. Entre las más importantes se encuentran algunas especies de los géneros Bacillus, Brevibacillus y Paenibacillus, productoras de sustancias con actividad antimicrobiana y caracterizados como dipéptidos, péptidos cíclicos y lipopéptidos de bajo peso molecular que poseen actividad antifúngica y/o antibacteriana. Por esto se ha sugerido el uso de estas especies o de sus metabolitos secundarios puede ser una alternativa o un método suplementario para la protección de las plantas contra microorganismo fitopatógenos (Földes *et al.,* 2000).

Brevibacillus laterosporus, es una bacteria formadora de esporas aeróbico que se caracteriza por su capacidad de producir una inclusión parasporal laminar en forma de canoa adyacente a la espora.

Algunas cepas producen inclusiones cristalinas de diversas formas y tamaños, que son liberados por separado a partir de esporas durante la lisis del esporangio. *B. laterosporus* tiene el potencial para ser utilizado como un agente de control biológico que, en comparación con las cepas de *Bacillus thuringiensis* y *Bacillus sphaericus*, demuestra un muy amplio espectro de actividades biológicas (Shida *et al.,* 1996).

Respecto a los compuestos con actividad antimicrobiana se conoce que *B. laterosporus* produce el antibiótico laterosporina, efectivo contra bacterias Gram-positivas.

MÉTODOS Y MATERIALES

Para la elaboración de las cinéticas de crecimiento de ambas bacterias se prepararon medios de cultivo diferentes, *B. laterosporus* se inoculó en medio Luria Bertani (LB) y *Cmm* en medio mínimo M9, ya que es un medio de cultivo que cuenta con los requerimientos mínimos necesarios para la formación de una colonia.

Curva de crecimiento de *Bacillus laterosporus*.
Para el desarrollo de la curva de crecimiento de *B. laterosporus* Fig 1) se inoculó en el medio de cultivo incubándose por 48h a 150 rpm a 37 ºC hasta alcanzar una Densidad Óptica (OD) de 0,032 a 680 nm en una celdilla de cuarzo utilizando el espectrofotómetro de UV/VIS proporcionado por el Laboratorio Nacional de Goeprocesamiento de Información Fitosanitaria (LanGIF) ubicado dentro de la Coordinación para la Innovación y Aplicación de la Ciencia y la Tecnología (CIACyT) de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí (UASLP); realizándola en un total de 25h, donde las primeras 3h corresponden a la fase de latencia, las siguientes 8h a la fase exponencial o logarítmica, que son las utilizadas para determinar la tasa de crecimiento y el tiempo de duplicación de la bacteria.

Curva de crecimiento de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis.*
En cuanto a la curva de crecimiento de *Cmm* Fig 2) se inoculó en el medio de cultivo, donde se dejó incubando a las mismos parámetros que *B. laterosporus* hasta alcanzar una Densidad Óptica (OD) de 0,075 a 680 nm (se usó el mismo espectrofotómetro) realizándola en un total de 37h, donde cumpliendo con la curva de crecimiento, las primeras 4h corresponden a la fase de latencia y las siguientes 19h corresponden a la fase exponencial o logarítmica.

RESULTADOS

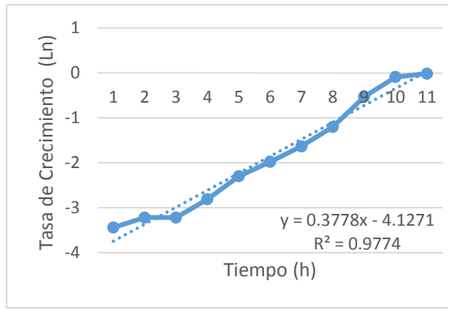


Figura 1. Cinética de crecimiento de Brevibacillus Laterosporus.

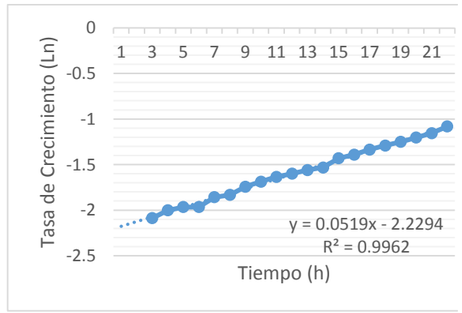


Figura 2. Cinética de crecimiento de Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis.

Para determinar el tiempo de duplicación (τ) de *Brevibacillus Laterosporus* de la fig.1, se utilizará la ecuación 1), donde μ (tasa de crecimiento) es igual a la pendiente (m), obtenida experimentalmente de la ecuación de la recta. Donde despejando τ obtenemos la ecuación 2). Sustituyendo los valores en la ecuación 3) se obtiene el tiempo de duplicación.

$$\mu = \frac{Ln2}{\tau} \quad (1)$$

$$\tau = \frac{Ln2}{\mu} \quad (2)$$

$$\tau = \frac{Ln2}{0{,}3778} = 1{,}8346\ h \quad (3)$$

El tiempo de duplicación de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* de la fig. 2 se expresa en la ecuación 4).

$$\tau = \frac{Ln2}{0{,}0519} = 13{,}3554\ h \quad (4)$$

CONCLUSIONES

La necesidad actual de buscar alternativas que satisfagan el mejoramiento de los cultivos propios de la nación y del mundo entero, ha permitido desarrollar estrategias basadas en las nuevas tecnologías, con el objetivo de asegurar la inocuidad y la estabilidad económica que han sido provocadas en la actualidad por plagas de alto impacto.

Entre estas estrategias, se plantea erradicar la acción fitopatógena de la bacteria Gram-positiva *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, con la aplicación de la bacteria *Brevibacillus laterosporus* en plantas de jitomate (*solanum lycopersicum*), que ha demostrado en pruebas antagónicas desarrolladas en el laboratorio tener gran ventaja de crecimiento, ganando terreno sobre *Cmm.* Dichas pruebas aún se siguen estudiando, por lo que esta estancia será el pilar de futuras investigaciones.

BIBLIOGRAFIA

AGRIOS, N. G. (2005). *Patología de plantas*, San Diego: Academic Press Editorial.
BALAJI, V., Mayrose, M., Sherf, O., Jacob-Hirsch, J., Eichenlaub, R., Iraki, N., Manulis-Sasson, S., Rechavi, G., Barash, I., Sessa, G. (2008). *Tomato transcriptional changes in response to Clavibacter michiganensis subsp. Michiganensis reveal a role for the ethylene in disease development. Plant physiol 146:* [pp. 1797-1809]
BAKER, B., Zmbryski, P., Staskawicz, B., Dinesh-Kumar, S. P. (1997). *Signaling in plant-microbe interactions*. Science 276: [pp. 726-733].
BISHOP, J. G., Dean, A. M., Mitchell-Olds, T. (2000). Rapid evolution in plant chitinases: Molecular targets of selection in plan-phatogen coevolution. PNAS 97: [pp. 5322-5327]
BROCK, T, D. (1991). *Biología de los microorganismos,* New Jersey: Prentice-Hall Editorial.
CARLTON, W. M., Braun, E. J., Gleason, M. L. (1998). *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis into tomato leaves through hydathodes*. Phytopathology 88: [pp. 525-529].
FÖLDES, T., Banhegyi, I., Varga, Z., Szageti, J. (2000). *Isolatin of Bacillus strains from the Rhizosfere of cereals and in vitro screening from antagonism against phytophatogenic, Food-Born pathogenic and epoilage microorganisms. Journal of applied microbiology* 89: [pp. 840-845].

GARTEMANN, K. H., Kirchner, O., Engemann, J., Grafen, I., Eichenlaub, R., Burger, A. (20003). *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis. First steps in the understanding of virulence of a Gram-positive phytopathogenic bacterium. J. Biotechnol 106:* [pp. 179-191].
GARTEMANN, K. H., Abt, B., Bekel, T., Burger, A., Engemann, J., Flugel, M., Gaigalat, L., Goesmann, A., Grafen, I., Kalinowski, J., Kaup, O., Kirchner, O., Krause, L., Linke, B., McHardy, A., Meyer, F., Pohle, S., Ruckert, C., Schneiker, S., Zellermann, E. M., Puhler, A., Eichenlaub, R., Kaiser, O., Bartels, D. (2008) *The genoma sequence of tomato-pathogenic actinomycete Clavibacter michignensis subsp. michiganensis NCPPB382 reveals a large island involved in pathogenicity*. *J Bacteriol 190*: [pp. 2138-2149]
JAHR, H., Bahro, R., Burger, A., Ahlemeyer, J., Eichenlaub, R. (1999). *Interactios between clavibacter michiganensis and its host plants.* Environ Microbiol 1: [pp. 113-118]
JONES, J. D. G. & Dangl, J. L. (2006). *The plant immune system*. Nature. 444: [pp. 323-329].
SHIDA, O., Takagi, B., Kadowaki, K., Komagata. K. (1996). *Propuesta de dos nuevos géneros, Brevibacillus gen. nov. y Aneurinibacillus gen.* nov. Int. J. Syst. Bacteriol. 46**:** [pp. 939-946]
WAN, J., Dunning, F. M., Bent, A. F. (2002). *Probing plant-pathogen interactions and downstream defense signaling using DNA microarrays.* Funct IntegrGenomics 2: [pp. 259-273]

MICROENCAPSULACIÓN DE PIGMENTOS NATURALES EXTRAÍDOS DE LA CASCARA DE TUNA PURPURA Y NARANJA ASISTIDA CON ULTRASONIDO

Mariana Salas Gaona[1] y Myrna Alicia Abraján Villaseñor[2]

RESUMEN

La presente investigación contempla la extracción de jugo de tuna roja como pigmento a encapsular, se utilizó una mezcla de mucilago y fibra de nopal forrajero, los cuales se trataran con hidróxido de sodio y posteriormente con ácido nítrico para desechar toda la clorofila presente en ellos. La micro encapsulación consiste en la mezcla de mucilago con fibra previamente reducida con ayuda del ultrasonido, a la cual se le adiciona jugo de tuna roja concentrado, mezclamos y congelamos para que al día siguiente se liofilice durante 24 horas seguidas, con la finalidad de obtener el pigmento dentro de la cubierta que es la fibra y el mucilago. Para comprobar su eficacia se aplicó en gomitas dulces.

ABSTRACT

This research involves the extraction of juice from red tuna as pigment to encapsulate, used a mixture of mucilage and fodder nopal fiber, which is treated with sodium hydroxide and then with nitric acid to dispose all the chlorophyll present in them. Micro-encapsulation is the mixture of mucilage with previously reduced fiber using ultrasound, red tuna juice concentrate is added, and we freeze so that the next day you freeze-dry for 24 hours, in order to obtain the pigment inside the cover that is the fiber and mucilage. To check its efficiency is applied in sour sweet.

Palabras clave: Tuna roja, nopal forrajero, mucilago, micro encapsulación, pigmento.

INTRODUCCIÓN

El uso de los colorantes sintéticos en la industria alimentaria es cada vez más estricto debido a la regulación para su uso, por los problemas de toxicidad, reacciones de intolerancia y alérgicas. Lo anterior ha favorecido el interés para obtener colorantes de fuentes naturales, como posibles sustitutos de los colorantes sintéticos, ya que a la fecha no existe evidencia de su toxicidad en humanos y comúnmente en humanos se les asocia con el mantenimiento de una buena salud (Pedreño y Escribano, 2000; Fernánez-López y Almela, 2001). Entre los pigmentos naturales de interés para la industria alimentaria, están las betalainas, que actualmente se reconocen como nutraceuticas ya que se ha evaluado su actividad antioxidante y su beneficio potencial a la salud (Escribano et al., 1998; Stintzing y Carle, 2004).

Éstas se encuentran en diez familias del orden Centrospermae. Las betalainas comprende dos tipos de pigmentos hidrosolubles: las betacianinas (pigmentos rojo-violeta) y las betaxantinas (pigmentos amarillos; Piattelli e Imperato, 1969). Sin embargo, es de gran interés encontrar otras fuentes de explotación de estos pigmentos. (Stintzing y Carle 2004) consideran que las fuentes promisorias de betalainas se encuentra en la familia Cactaceae principalmente el género Opuntia (subfamilia

[1] Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”, Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Ingeniería en Ciencia y Tecnología de Alimentos; Calzada Antonio Narro, No 1923, Col. Buenavista, C.P: 25315, Saltillo, Coahuila. Teléfono (844) 279 04 03, anaturque@gmail.com
[2] Universidad Autónoma de Aguascalientes, Centro de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Tecnología de Alimentos; Avenida Universidad 940, Col. Ciudad Universitaria, C.P. 20131, Aguascalientes, Aguascalientes. Teléfono: (449) 557 16 83, maabraj@correo.uaa.mx

Opuntioideae) como la tuna cardona (Opuntia streptacantha); la pitaya de los géneros Cereus, Hylocereus Selenicereus y Stenocereus (Wybraniec et al., 2001); el garambullo (Myrtillocactus geometrizans; Reynoso et al., 1997); aunque también lo son la familia Amaranthaceae principalmente Amarantus cruentus (Cai et al., 1998a).

MATERIALES

- Cascaras de nopal
- 2 kg de cascara de tuna roja
- 2 kg de pulpa de tuna roja
- 20 litros de NaOH al 2%
- 19.5 litros de NaOH al 5%
- 600 mililitros de NaOH al 2M
- 40 litros de H2NO3 al 2N
- Agua purificada
- 1 litro de Mcilvaine's Buffer System de pH 5
- 18.5 mililitros de metanol
- 30 mililitros de acetona
- 300 mililitros de etanol
- Silica gel para cromatografía en placa
- Acetona
- Tubos para centrifuga Corning
- Pizeta con agua destilada
- Pipeta de 5 y 10 mililitros
- Columna de vidrio de 1 litro
- Soporte y pinza para bureta
- Vasos de precipitado de 10, 50, 250, 500 y 1000 ml
- Papel filtro
- Potenciómetro
- Refractómetro
- Colorímetro
- Tubos de ensaye de 15 mililitros
- Parrilla de agitación y calentamiento
- Tela de cielo para filtrar
- Liofilizador
- Ultrasonido
- Marmita a vapor
- Centrifuga
- Micro espátula

MATERIALES DE LAS GOMITAS DE GRENETINA

- 50 gramos de grenetina 275
- 234 gramos de agua
- 332 gramos de sacarosa
- 365 gramos de jarabe de maíz
- 1 mililitro de saborizante de cereza
- 5 gramos de ácido cítrico
- 10 gramos de pigmento de tuna roja sin encapsular
- 10 gramos de pigmento con almidón

METODOLOGÍA DEL PROCESAMIENTO DE LA CASCARA DE NOPAL

I. Se agregan las cascaras de nopal a la marmita, adicionamos agua purificada hasta cubrir las cascaras, agitamos durante 1 hora, pasado el tiempo filtramos el agua que contiene mucilago, teniendo cuidado de separar bien la fibra, depositamos el agua con mucilago en botes de plástico, tapamos los botes y llevamos a congelar.
II. Realizamos un segundo lavado con la fibra que quedo del filtrado, en esta ocasión se adiciona hidróxido de sodio al 2 molar, agitando a una temperatura de vapor de 90 °C, repetimos dicha operación hasta dejar el agua incolora.
III. Se realiza un tercer lavado con ácido nítrico al 2 normal, agitando a una temperatura de 80 °C, se repite la operación hasta dejar al agua incolora.

IV. Por último lavamos con agua purificada durante una hora, después filtramos la fibra cuidando de separar bien el agua con mucilago; separamos ambas partes (fibra y mucilago), guardamos en botes de plástico y llevamos a congelar.
V. A continuación se toma uno de los botes de mucilago que sacamos en el primer lavado y llevamos a centrifugar durante 20 minutos a 3500 revoluciones; reunimos 100 gramos de mucilago centrifugado en un vaso de precipitado de 500 ml, adicionamos 300 mililitros de etanol, llevamos a agitar hasta observar que se forman unas pequeñas membranas, las cuales se separan del solvente mediante filtración. Al sólido resultante se le adiciona acetona para secar las membranas hasta obtener un polvo fino.

METODOLOGÍA DEL PROCESAMIENTO DE LA CASCARA Y PULPA DE TUNA ROJA

- Molemos las cascaras y vaciamos 40 mililitros de la mezcla en los tubos para centrifuga Corning, llevamos a centrifugar durante 20 minutos a 3500 revoluciones; separamos el jugo resultante del sólido, al jugo lo congelamos y al sólido le agregamos 40 mililitros de agua purificada, mezclamos y llenamos los tubos Corning con 40 mililitros de mezcla, repetimos este proceso hasta que los sólidos queden descoloridos. Realizamos el mismo procedimiento con la pulpa, a excepción de que es por un tiempo de 30 minutos a 3500 revoluciones.

METODOLOGÍA DE CROMATOGRAFÍA EN COLUMNA

i. Tomamos la gel silica para cromatografía y mezclamos con agua destilada hasta tener una mezcla pastosa, a continuación colocamos el soporte y la pinza para sostener nuestra columna de vidrio, vaciamos dentro la mezcla del gel silica, habiendo colocado previamente un tapón de caucho en la parte inferior de la columna de vidrio, concentramos la pasta dejando un espacio de 4 centímetros entre tapón y el gel.
ii. Ya teniendo nuestro gel bien compactado y asegurado con el tapón, se procede a vaciar 20 mililitros de pigmento de tuna roja concentrado; cubrimos la columna con papel aluminio, quitamos el tapón y dejamos reposar en un lugar obscuro por una semana, poco a poco se irá observando el descenso del pigmento a través del gel.
iii. Pasado dicho período se quita el papel aluminio y observamos como el jugo se fue separando en sus distintas tonalidades por medio del gel. Para obtener cada una de estas tonalidades por separado se realizó un barrido de cada una de ellas por medio de agregar agua destilada y raspar con una micro espátula, obteniendo cada tono en un vaso de precipitado y agregándole 20 mililitros de agua destilada.
iv. Posterior a esto se centrifugó cada uno de los líquidos para desechar el gel y obtener el pigmento concentrado, se depositó en vasos de plástico los cuales se cubrieron con papel aluminio y luego fueron llevados a congelar para que al día siguiente fuesen liofilizados y así obtengamos un polvo con el color concentrado, se almaceno en tubos Corning y se etiquetaron.
v. Dicha práctica de cromatografía nos sirvió para comprender que en la tuna roja predominan los tonos rosados y anaranjados, concluyendo en que las micro cápsulas producirán una tonalidad rosada al ser aplicadas.

METODOLOGÍA DE LA MICROENCAPSULACIÓN DEL PIGMENTO

I. Pesar 40 gramos de fibra en un vaso de precipitado de un litro, agregar agua purificada y homogenizar durante 30 minutos en plancha con bala magnética.

II. Al finalizar de agitar se lleva la mezcla a ultrasonido durante 1 hora en un ciclo de 0.5 y 50 de amplitud. Pasando dicho periodo se pesa el sólido resultante para cuánta agua contiene.
III. Se adiciona 40 mililitros de mucilago centrifugado por 40 ml de mezcla, regresamos al ultrasonido durante media hora. Finalizando el proceso se añaden 250 mililitros del pigmento de pulpa de tuna y se homogeniza por media hora en plancha con bala magnética.
IV. Congelamos la mezcla durante 24 horas y después liofilizamos por otras 24 horas.

METODOLOGÍA DE LA PREPARACIÓN DE GOMITAS

i. Hidratar la grenetina con 106 gramos de agua y dejamos reposar durante 30 minutos.
ii. Disolver 332 gramos de sacarosa en 115 gramos de agua, calentar a 70 °C, agregar 365 gramos de jarabe de maíz y calentar hasta alcanzar 84 °Brix; concluir el calentamiento, enfriar a 100 °C y agregar la grenetina hidratada, mezclando perfectamente. Agregar saborizante, colorante y por último ácido cítrico diluido y homogenizar.
iii. Colocar en embudos volumétricos y depositar en cofres con almidón previamente impresos con una figura circular. Dejar secar durante 24 horas. Transcurrido el tiempo, desmoldar, eliminar exceso de almidón.

RESULTADOS

Se sometió al pigmento de tuna sin encapsular y al pigmento encapsulado con almidón a dos pruebas fisicoquímicas (calor y pH) con la finalidad de averiguar si estos factores serían cruciales para la aplicación de nuestro micro encapsulado, los resultados reportados fueron los siguientes:

➢ **CALOR**

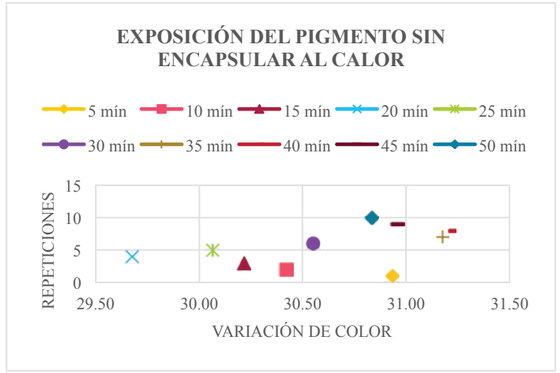


Figura 1: La gráfica representa la variabilidad del color a una misma temperatura (80 °C) en diferentes tiempos, iniciando con 5 minutos y terminando en 50 minutos.

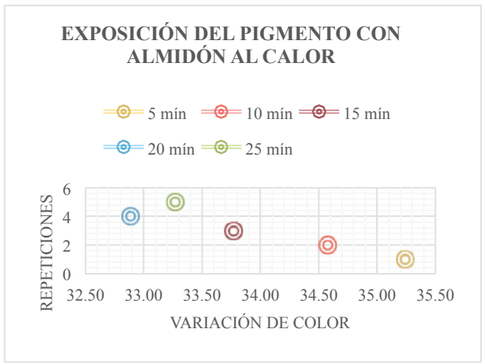


Figura 2: La gráfica representa la variabilidad del color en el pigmento con almidón encapsulado a una misma temperatura (80 °C) en diferentes tiempos, iniciando con 5 minutos y terminando en 25 minutos.

➢ **pH**

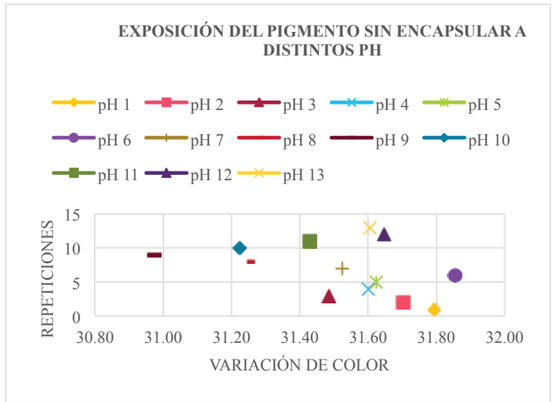


Figura 3: La gráfica representa la variabilidad del color a distintos pH, en el pigmento no encapsulado.

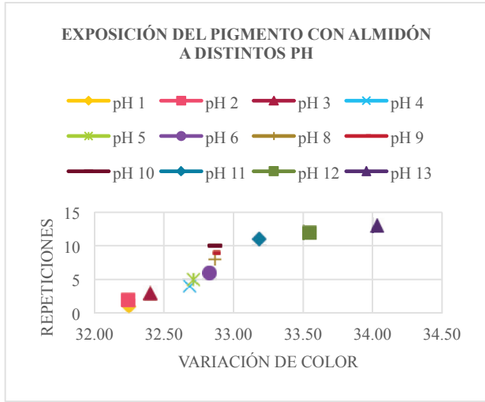


Figura 4: La gráfica representa la variabilidad del color en el pigmento con almidón encapsulado a distintos pH.

EVALUACIÓN DE LAS GOMITAS

- El pigmento se degrado durante el procesamiento de la gomita, obtuvimos un tono rosado, muy parecido al color durazno.
- La textura de la gomita no se alteró con la presencia de la fibra que contenía el micro encapsulado.
- La sensación al masticar no cambió y el componente del micro encapsulado no tuvo influencia en el sabor u olor de la gomita.
-

Figura 5: Imagen que muestra las gomitas después de reposar en almidón.

CONCLUSIONES

- Manipular el nopal es un proceso complicado, la filtración del mucilago se hace tedioso y recuperarlo conlleva de mucho tiempo y de varias repeticiones de lavado.

- Entendimos que el jugo de tuna roja no produce en si un color rojo concentrado, gracias a las cromatografías realizadas descubrimos que los componentes del pigmento son un matiz de tonos intermedios que van desde el rosa fiusha hasta el amarillo pálido.
- De las dos pruebas fisicoquímicas realizadas, obtuvimos que el calor a una temperatura de 80 °C y a un tiempo máximo de 50 minutos no altera significativamente al pigmento sin encapsular, no obstante al pigmento con almidón le provoca una gelatinización, haciendo variar su tono a un rosado intenso.
- Los pH de 8, 9 y 10 provocan un cambio de color en el pigmento sin encapsular, haciéndole virar a un color marrón. Siendo los pH 11, 12 y 13 los que provocan un cambio de color en el pigmento con almidón, haciéndole verse de un tono marrón verdoso.
- El procesamiento de las gomitas nos demuestra que el pigmento sin encapsular mantiene más su color que el pigmento con almidón previamente micro encapsulado. El primero presentó un tono rosado y el segundo un tono durazno, pálido y poco apetecible.

BIBLIOGRAFIA

- Cai, Y., Sun, M., Wu, H., Huang, R. and Corke, H. (1998b). Characterization and quantification of betacyanin pigments from diverse Amaranthus species. Journal of Agricultural and Food Chemistry 46, 2074-2070.
- Escribano, J., Pedreño, M. A., García-Carmona, F. and Muñoz, R. (1998). Characterization of the antirradical activity of betalains from Beta vulgaris L. roots. Phytochemical Analysis 9, 124-127.
- Fernández-López, J. and Almela, L. (2001). Application of high-performance liquid chromatography to he characterization of the betalain pigments in prickly pear fruits. Journal of Chromatography A. 913, 415-420.
- Pedreño, M. A. and Escribano, J. (2000). Studying the oxidation and the antirradical activity of betalain of beetroot. Journal of Biological Education 35, 49-51.
- Piattelli, M. and Imperato, F. (1969). Betacyanins of the family Cactaceae. Phytochemistry 8, 15031507.
- Stintzing, F. C., Schieber, A. and Carle, R. (2002). Betacyanins in fruits from red-purple pitaya, Hylocereus polyrhizus (Weber) Britton & Rose. Food Chemistry 77, 101-106.
- Stintzing, F. C. and R. Carle. 2004. Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. Trends in Food Science & Technology 15, 19-38.

ANALISIS DE LA INMUNOGENICIDAD DE PÉPTIDOS CONTRA *BABESIA BOVIS*

Sergio Arturo Salinas Aguilar[1] y Juan Mosqueda[2]

RESUMEN

Se realizó una estancia de verano en el laboratorio de Inmunología y Vacunas dirigido por el doctor Juan Mosqueda en donde se realizaron distintas actividades desde trabajo de campo, hasta trabajo de laboratorio. En el tiempo que se realizó la estancia, se cubrieron todas las áreas de trabajo realizadas en el laboratorio y a manera de introducción recibí una capacitación sobre las técnicas que se realizan en este laboratorio y los equipos con los que cuenta. Posteriormente se hizo una revisión bibliográfica para la selección del proyecto que desarrollé en el tiempo en que la estancia se llevó a cabo. Se me asignó un proyecto en específico y comencé a trabajar en él, estuve involucrado en el proceso de toma de muestras y en el procesamiento en el laboratorio de dichas muestras.

ABSTRACT

I carried out a summer training course in the laboratory of Immunology and vaccines led by Dr. Juan Mosqueda where various activities were conducted from field work to laboratory work. During the time of the training, all fields of work were covered in the laboratory and by way of introduction I received training on the techniques performed in the laboratory and the proper use of the equipment. I also spent time doing literature review for the selection of my project during the stay. I was assigned a specific project and started working on it, I was involved in the process of sampling and laboratory processing of these samples.
Palabras Clave: Babesiosis, ELISA, péptidos sintéticos, diagnóstico inmunológico.

INTRODUCCIÓN

Existen distintos tipos de enfermedades que atacan a los mamíferos. Los mamíferos son el blanco idóneo para distintos organismos parásitos que sobreviven a partir de ellos. Entre estos se encuentra la garrapata *Boophilus microplus*, que es la responsable de la transmisión de la babesiosis, una enfermedad transmitida principalmente a los humanos y a los bovinos. Los bovinos que han sido infectados y no son tratados de manera adecuada, regularmente mueren, esto significa pérdidas económicas ya que el curso de esta enfermedad es bastante rápido y si no se atiende a tiempo termina con la muerte del animal.

La babesiosis es transmitida por protozoos del género *Babesia* cuyo nombre se estableció en honor a Victor Babes, un biólogo rumano quien logró aislar por primera vez al agente patógeno en 1888, sin embargo, Victor Babes no logró determinar cuál fue el vector de transmisión, y no fue hasta 1893 que Theobald Smith junto con Frederick Kilborne demuestran que el vector de transmisión es un artrópodo más específicamente la garrapata *Boophilus* spp. Ellos junto con Cooper Curtice llegaron a la hipótesis de que, si se eliminaban las garrapatas, se podría eliminar la enfermedad. Esta enfermedad se logró erradicar de una pequeña región de Estados Unidos sin embargo este es el único caso documentado de éxito (Mosqueda *et al.* 2012). La babesiosis tiene un gran impacto económico y de salud principalmente en los bovinos.

Es la enfermedad transmitida por artrópodos más grande del mundo. Las especies más prevalentes son *Babesia bovis y Babesia bigemina,* existe un peligro latente ya que se ha reportado que muchos medicamentos eficaces han sido retirados del mercado por problemas de seguridad o de residuos, así que es de vital importancia el desarrollo de un fármaco preventivo contra la enfermedad y lograr disminuirla hasta erradicarla (Enciclopedia bovina 2009).

[1]Universidad Autónoma de Querétaro, facultad de química, Ingeniería en Biotecnología, Cerro de Las Campanas, s/n, Las Campanas, 76010 Santiago de Querétaro, QRO, checo_salinas@live.com
[2]Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Ciencias Naturales, Laboratorio de Inmunología y Vacunas, Campus UAQ-Aeropuerto, Carr. a Chichimequillas s/n, Ejido Bolaños, Querétaro, Qro. C.P. 76140, México, joel.mosqueda@uaq.mx

La babesiosis bovina regularmente se encuentra en zonas donde existen garrapatas, las cuales son el principal vector, estás generalmente se encuentran en zonas tropicales y subtropicales. Los géneros más importantes son *B. bovis, B. bigemina* y *B. divergens,* pero las dos primeras son las que tienen una mucho mayor prevalencia en América del norte, central y del sur (Anna Rovid *et al*. 2013). Las garrapatas logran adquirir la infección de babesiosis por medio de su alimentación en animales infectados, después los protozoarios pasan a los ovarios y así se transmiten a las larvas. Para que la *babesia* logre terminar su ciclo de maduración, es necesario que la garrapata se adhiera a un huésped (Enciclopedia bovina 2009). Una de las características principales de la *Babesia* es que dentro de la garrapata, los cigotos de *Babesia* se multiplican y logran invadir muchos de los órganos de la garrapata, entre estos están incluidos los ovarios y por tanto es una manera fácil de que la *Babesia* logre transmitirse de generación en generación por vía transovárica, dependiendo la garrapata y el género de *babesia* aunque sus huéspedes no estén presentes Los parásitos de *B. bovis* generalmente pueden ser transmitidos dos a tres días posteriores de la infección de las garrapatas y este género de *Babesia* se transmite a través de las larvas.

Por el contrario *B. bigemina* logra madurar hasta los 9 días aproximadamente después de que la larva de garrapata se prende del bovino huésped y esta solo se puede transmitir a través de ninfas y adultos. Los signos clínicos de la enfermedad causada por *B. bigemina y B. bovis* aparecen generalmente después de 2 semanas de la infestación de la garrapata y en caso de inoculación directa el periodo de incubación puede ser de 4 a 5 días para *B. bigemina* y de 10 a 12 días para *B. bovis.* Los signos clínicos de esta enfermedad son difíciles de detectar ya que es casi asintomática y si no se tiene el cuidado suficiente termina en la muerte del animal. Se caracteriza por anorexia y fiebre alta y esto es causado por una anemia hemolítica (Mosqueda *et al.* 2012).

Generalmente también llegan a presentarse casos de destrucción de eritrocitos y por tanto en su orina se alcanza a percibir un tono rojizo. Existen varios tratamientos contra esta enfermedad tan grave en bovinos, sin embargo, se está trabajando en el desarrollo de medicamentos y el desarrollo de una vacuna segura contra esta enfermedad (Anna Rovid *et al*. 2013). El tratamiento y el diagnóstico temprano de esta enfermedad son muy importantes para controlar y prevenir la diseminación de esta enfermedad (Mosqueda *et al.* 2012).

MARCO TEÓRICO

Existen distintos métodos de diagnóstico para la babesiosis, desde métodos de microscopia clásica, hasta métodos moleculares y de ingeniería genética. El método empleado para la determinación de la inmunogenicidad de ciertos péptidos fue el método de ensayo de inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA). La ELISA se basa en el uso de anticuerpos marcados con una enzima, de forma que los conjugados resultantes tengan actividad tanto inmunológica como enzimática. Al estar el anticuerpo marcado con una enzima e insolubilizado sobre un soporte (inmunoadsorbente) la reacción antígeno-anticuerpo quedará inmovilizada y, por tanto, será fácilmente revelada mediante la adición de un substrato especifico que al actuar la enzima producirá un color observable a simple vista o cuantificable mediante el uso de un espectrofotómetro o un colorímetro. En este caso se utilizó el método de ELISA indirecto (Javier Albadalejo 2005).

MÉTODOS Y MATERIALES

Se utilizaron muestras de bovinos de 4 grupos (figura 2) el primer grupo fue un grupo control a los cuales se les inmunizó únicamente con adyuvante y por tanto no deben generar reacción en el ensayo ELISA; el segundo grupo es un grupo de bovinos a los cuales se les inmunizó con un coctel de péptidos y adyuvante, por tanto, deberían generar reacción positiva en el ensayo. El tercer grupo también fue inmunizado con un coctel de péptidos y adyuvante y, además se le suplemento con un probiótico; por último, al grupo 4 también se le inmunizó con un coctel de péptidos y adyuvante y, se le suplemento con un probiótico distinto al anterior. Se realizaron ensayos probando 3 péptidos diferentes (figura 1) los cuales se sospecha que generan respuesta inmune. Se utilizaron placas para ELISA de la marca COSTAR (No. De Cat. 3590), de alta unión fabricado por Corning. Las placas y los reactivos fueron proporcionados por la Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ), por el

Laboratorio de Inmunología y Vacunas de la Facultad de Ciencias Naturales de la UAQ campus aeropuerto. Se tamizaron los pozos de las placas con cada uno de los péptidos de interés a una concentración 10 µg/ml con Buffer de carbonato/bicarbonato, esto fue para pegar los péptidos de interés en los pozos de la placa, los cuales se dejaron incubando a 4 °C durante toda la noche. Posteriormente se lavaron con PBS-tween 20 al 0.05% para eliminar los péptidos fijados deficientemente o no fijados. Luego se le adicionó un buffer de bloqueo (leche Svelty al 5%) para cubrir los espacios que no fueron cubiertos por los péptidos y así evitar pegados inespecíficos de los anticuerpos y se incubó durante una hora a 37 °C. Después de esta incubación se realizaron 3 lavados de las placas con PBS-tween 20 al 0.05% para eliminar sobrantes del buffer de bloqueo, siguiendo con la adición del suero de interés, estos fueron sueros de bovinos de 4 grupos (figura 2), estos sueros estaban diluidos a una concentración 1:40 y se les dio un tiempo de incubación de 1 hora a 37 °C. Posteriormente se realizaron 3 lavados con PBS-tween 20 al 0.05% para eliminar residuos y se procedió a adicionar el anticuerpo secundario diluido 1:1000 (Anti-IgG Anti-bovino hecho en cabra acoplado a peroxidasa) y se incubó durante una hora a 37 °C. Después de la incubación se lavó con PBS tween 20 al 0.05% tres veces y se agregó el sustrato (OPD en buffer de fosfato/Ácido cítrico pH 5.0) se hicieron lecturas a los 10, 20 y 30 minutos. Se obtuvieron las lecturas de las placas a una absorbancia de 450 nm. (Figura 3).

RESULTADOS

PEPTIDO 1	PEPTIDO 2	PEPTIDO 3
MIC-1-2	RON-2-2	AMA-1-2

Figura 1: péptidos utilizados en los ensayos de ELISA

GRUPO 1	GRUPO 2	GRUPO 3	GRUPO 4
131	10	170	140
26	64	30	171
186	04	148	15
23	152	165	106
12	191	24	150
21	184	166	168

Figura 2: grupos utilizados en el estudio. Grupo 1: grupo de bovinos no inmunizado; grupo 2: grupo de bovinos inmunizado; grupo 3: grupo de bovinos inmunizado y suplementado 1; grupo 4: grupo de bovinos inmunizado y suplementado 2. Cada número representa un bovino.

		MIC-1-2 20 min		RON-2-2 20 min		AMA-1-2 20 min	
	Bovino	Pre-inmunización	Post-inmunización	Pre-inmunización	Post-inmunización	Pre-inmunización	Post-inmunización
GRUPO 1	1	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-
	6	-	-	-	-	-	-
GRUPO 2	1	-	-	-	+	-	+
	2	-	+	-	+	-	+
	3	-	-	-	+	-	+
	4	-	-	-	+	+	+
	5	-	-	-	+	-	+

	6	-	-	-	+	-	+
GRUPO 3	1	-	+	-	+	-	+
	2	-	-	-	+	-	+
	3	-	-	-	+	-	+
	4	-	-	-	+	-	+
	5	-	+	-	+	-	+
	6	-	+	-	+	-	+
GRUPO 4	1	-	-	-	+	-	+
	2	-	-	-	+	-	+
	3	-	-	-	-	+	-
	4	-	-	-	+	-	+
	5	-	-	-	-	-	-
	6	-	-	-	-	-	-

Figura 3: dividido en 4 grupos, se tomó la medición con los distintos péptidos a los 20 minutos y se refleja en la tabla con color gris los resultados negativos y con color verde los resultados positivos.

CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos en los ensayos realizados se logra concluir que los péptidos seleccionados lograron generar una respuesta inmunológica adecuada, además de que se obtuvieron resultados esperados, ya que con los probióticos generando una potenciación de la respuesta inmune en bovinos y mejorando así su inmunidad.

BIBLIOGRAFIA

Mosqueda, J., Olvera-Ramírez, A., Aguilar-Tipacamú, G., & Cantó, G. (2012). Current Advances in Detection and Treatment of Babesiosis. *Current Medicinal Chemistry*, *19*(10), 1504–1518. http://doi.org/10.2174/092986712799828355

Enciclopedia bovina. (2009). Babesiosis Bovina. 2016, de UNAM Sitio web: http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/e_bovina/04BabesiosisBovina.pdf

Anna Rovid Spickler; María Victoria Lenardon. (2013). Babesiosis bovina. 2016, de Iowa State University, College of veterinary medicine Sitio web: http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/babesiosis_bovina.pdf

Javier Albadalejo. (2005). Fundamentos y tipos de ELISAs. 2016, de Cultek Sitio web: http://www.cultek.com/inf/otros/soluciones/Soluciones-ELISA-protocolos.pdf

ESTABLECIMIENTO DE CIERTAS ACCESIONES DE LA COLECCIÓN NACIONAL DE AGAVES UG-SAGARPA EN SISTEMAS DE INMERSIÓN TEMPORAL (SIT)

Salvador Arroyo Gloria Ivete[1] y Héctor Gordon Núñez Palenius[2]

RESUMEN

Actualmente el *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck es un recurso natural vegetal de suma importancia en México, especialmente en la región del Altiplano comprendida por los estados de Tlaxcala, Hidalgo, Puebla y Estado de México (Flores Morales, Castañeda Hidalgo, Sánchez Pérez, Romero Aguilar, & Ruiz Luna). Su importancia radica en su capacidad para coadyuvar en la formación, retención y conservación del suelo , el cual es un problema grave en el territorio mexicano; además de sus grandes usos en el aspecto culinario especialmente en la industria mezcalera, lo cual ha afectado directamente a la reducción considerable de su población. Es por ello que es de suma importancia tener sistemas eficientes de programación de esta especie. Por lo tanto, a lo largo de ésta investigación se determinaron las concentraciones de reguladores de crecimiento IBA y TDZ e intensidad lumínica más apropiada para el desarrollo de los explantes en un Sistema de Inmersión Temporal.

ABSTRACT

Currently, the *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck is a plant natural resource of utmost importance in Mexico, especially in the Altiplano region comprised the states of Tlaxcala, Hidalgo, Puebla and Mexico State. It's importance lies in its ability to assist in the formation, retention and soil conservation which is a serious problem in the Mexican territory. Besides, *Agave salmiana* has great uses in the culinary aspect especially in the mezcal industry, which has directly affected the substantial reduction of its population. Therefore, it is very important to find sustainable propagation systems for this species. So, during this study several concentrations of plant growth regulators; TDZ and IBA were determined and three light intensity were tested to find the most suitable for the explant development in a Temporary Immersion System.

Palabras Clave: **IBA** (Ácido indolbutirico), **TDZ** (Thidiazuron), **Intensidad lumínica**, ***Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck**, **SIT** (Sistema de Inmersión Temporal)

INTRODUCCIÓN

Los agaves son uno de los grupos vegetales más representativos de México. Su importancia va desde su valor ecológico y económico, hasta su aspecto cultural.

Un claro ejemplo de estas especies es el *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck, que ante la sobre explotación para la producción de mezcal y pulque ha sido seriamente afectada. Es por ello que ante las condiciones poco favorables de reproducción sexual se han tenido que implementar nuevos métodos para su micropropagación.

Generalmente esta especie presenta de 10-20 hojas, de forma linear-lanceolada de 70 cm a 2 m de largo por 16 a 40 cm de ancho. La edad reproductiva sexual es entre los 7 y los 12 años de haber germinado, y presenta un "Escapo floral" que mide entre 6 y 8 metros. La floración sucede generalmente a mediados o finales de verano y los frutos pueden tardar varios meses en formarse después de haberse polinizado; con semillas negras de 8 a 9 mm de longitud por 5 a 7 mm de ancho. (PULQUES, 2015)

[1]Instituto Tecnológico de Querétaro, Ingeniería Industrial; Av. Tecnológico s/n, Centro, C.P: 76000, Querétaro, Qro, ivete2803@gmail.com
[2]Universidad de Guanajuato Campus Irapuato-Salamanca, Departamento de Agronomía; Ex-Hacienda El Copal. Km. 9 Carr. Irapuato-Silao Colonia, C.P: 36824, Irapuato. Gto, palenius@ugto.mx

El *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck se distribuye principalmente en los estados de Aguascalientes, Guanajuato, Querétaro, Hidalgo, México, Tlaxcala, Puebla, Michoacán, y el Distrito Federal. (Jacinto, 2014)

Planteamiento

Debido a la extracción descontrolada del *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck su población se ha reducido considerablemente, debido a que la reproducción sexual ya no es tan efectiva esto como consecuencia de la desaparición del murciélago polinizador, presentando un serio problema para los productores de mezcal y pulque principalmente, así como a la diversidad de especies agaváceas. Es por ello que en el laboratorio de Cultivos de Tejidos Vegetales, de la División Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca de la Universidad de Guanajuato, se llevará a cabo un estudio para determinar el mejor tratamiento para la micropropagación de esta especie.

Objetivo

Establecer explantes *in vitro* de *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck en un *sistema de inmersión temporal (SIT)* que permita determinar la concentraciones de reguladores de crecimiento IBA (Ácido indolbutirico) y el TDZ (Thidiazuron) así como la intensidad lumínica más apropiada para el desarrollo de los explantes.

MÉTODOS Y MATERIALES

Se utilizaron 81 explantes de *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck en total (accesión #20 de la Colección Nacional de Agaves UG-SAGARPA), crecidos bajo condiciones *in vitro*, como material biológico, los cuales fueron clasificados en 9 tratamientos con concentraciones de reguladores de crecimiento IBA y TDZ distintos tal y como se muestra en la tabla 1; datos obtenidos a partir de la fórmula 1, con 3 intensidades de luz diferentes y 3 repeticiones de cada uno.

Tabla 1. Concentraciones de reguladores de crecimiento IBA y TDZ.

TDZ \ IBA	0.6 **mg**. 600 ml^{-1}	1.2 **mg**. 600 ml^{-1}	1.8 **mg**. 600 ml^{-1}
0.3 **mg**. 600 ml^{-1}	T1	T2	T3
0.6 **mg**. 600 ml^{-1}	T4	T5	T6
3 **mg**. 600 ml^{-1}	T7	T8	T9

$$\frac{\text{Concentración de reguladores de crecimiento deseada} \times \text{Volumen del medio}}{\text{Concentración de solución stock}} = \text{Volumen de solución stock requerida}$$

[1]

Posteriormente se lavaron y acomodaron 81 frascos de cristal de 413 ml, 81 tapones de goma del número 6 a los cuales se les introdujo en el centro una manguera de ¼ pulg, rellena de algodón; se recortaron 81 soportes de malla de plástico en forma de semicubo con 4x4 cm de área central y extremidades de 3x3 tal y como se muestra en la Figura 1.

Figura 1 Materiales para el SIT

Se preparó medio de Murashige y Skoog 1962 (MS) al 50%, como se muestra en la Tabla 2, en donde todas las cantidades se multiplicaron por 4.05 L que es la cantidad a la que se aforaron.

Tabla 2 concentraciones de sustancias para el medio MS

Macronutrientes	50 ml
MgSO4	25 ml
FeEDTA	10 ml
Micronutrientes	0.5 ml
Vitaminas	0.5 ml
Sacarosa	15 g
pH	5.7-5.8

Se etiquetaron los frascos con base a la nomenclatura establecida en la Tabla 3 y se vació la cantidad de IBA y TDZ correspondientes a cada tratamiento se midió el pH y se repartieron 50 ml en cada frasco etiquetado, se taparon con papel aluminio y se esterilizaron junto con los tapones en la autoclave a 121 °C, 15 lb/pulg2, por 20 min.

Tabla 3 Nomenclatura para etiquetado

Tratamiento \ Intensidad	60.2 µmol $m^{-2}s^{-1}$ **I1**	117.7 µmol m^{-2} s^{-1} **I2**	16.1 µmol m^{-2} s^{-1} **I3**
T1	T1I1	T1I2	T1I3
T2	T2I1	T2I2	T2I3
T3	T3I1	T3I2	T3I3
T4	T4I1	T4I2	T4I3
T5	T5I1	T5I2	T5I3
T6	T6I1	T6I2	T6I3
T7	T7I1	T7I2	T7I3
T8	T8I1	T8I2	T8I3
T9	T9I1	T9I2	T9I3

Ya esterilizados los frascos y tapones y a temperatura ambiente, se trasladaron a la campana de flujo laminar donde ya todo se encontraba completamente limpio y estéril, prosiguiendo a traspasar los explantes a los frascos, los cuales fueron tapados y sellados con plástico adherente.

Finalmente se colocaron las 81 muestras en el cuarto de crecimiento por 20 días con una temperatura de 28°C aprox. a tres intensidades de luz diferentes 60.2 $\mu mol.\, m^{-2}.\, s^{-1}$,117.7 $\mu mol.\, m^{-2}.\, s^{-1}$,16.1 $\mu mol.\, m^{-2}.\, s^{-1}$ con un fotoperiodo de 16 horas luz/ 8 obscuridad, y una inmersión de 1 min cada 72 h.

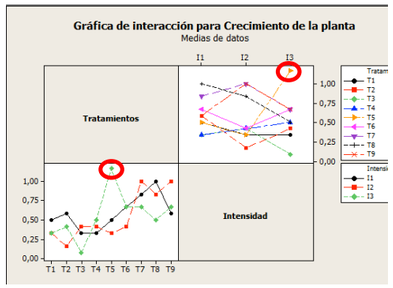
Los explantes fueron analizados por 20 días y se realizaron mediciones cada semana para registrar su comportamiento con cada tratamiento esto con la finalidad de analizar la interacción entre medias y determinar el mejor tratamiento para cada variable, mediante un ANOVA bifactorial e interrelación entre variables con un nivel de significancia de 0.05.

RESULTADOS

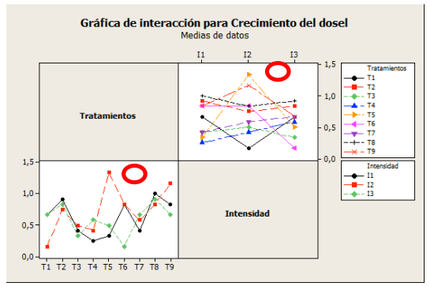
Tabla 4 Registro de medias de variables.

Tratamientos	Intensidad	Crecimiento de la planta	Crecimiento del dosel	Numero de puntas nacidas	Numero de necrosidades	Numero raices
T1	I2	0,33	0,17	0,33	0,33	2,33
T1	I3	0,33	0,67	0,67	1,00	1,33
T2	I1	0,58	0,92	0,00	0,67	1,33
T2	I2	0,17	0,75	0,33	1,33	0,67
T2	I3	0,42	0,83	0,67	1,00	2,33
T3	I1	0,33	0,42	1,67	0,67	3,00
T3	I2	0,42	0,50	1,00	1,33	4,33
T3	I3	0,08	0,33	0,33	0,00	1,33
T4	I1	0,33	0,25	0,33	0,00	2,67
T4	I2	0,42	0,42	0,33	1,67	0,67
T4	I3	0,50	0,58	0,00	1,00	1,67
T5	I1	0,50	0,33	0,00	0,33	1,50
T5	I2	0,33	1,33	0,33	0,67	2,00
T5	I3	1,17	0,50	0,00	0,33	1,33
T6	I1	0,67	0,83	0,33	0,33	2,33
T6	I2	0,42	0,83	0,67	1,33	3,00
T6	I3	0,67	0,17	0,67	0,33	1,33
T7	I1	0,83	0,42	0,33	0,00	2,00
T7	I2	1,00	0,58	0,00	0,00	1,67
T7	I3	0,67	0,67	0,33	1,00	1,00
T8	I1	1,00	1,00	0,00	0,00	4,00
T8	I2	0,83	0,83	1,33	0,00	3,33
T8	I3	0,50	0,92	0,67	0,67	2,00
T9	I1	0,58	0,83	0,00	0,00	1,67
T9	I2	1,00	1,17	0,33	1,67	3,67
T9	I3	0,67	0,67	0,00	0,00	3,67

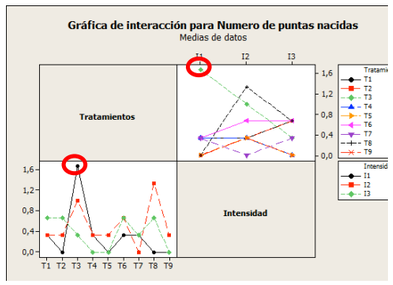
Para determinar los datos de la Tabla 4 primeramente fue necesario sacar la diferencia entre la primera muestra y la última, de la altura de la planta, la anchura del dosel y las puntas, para posteriormente sacar la media de las tres repeticiones realizadas para cada tratamiento.



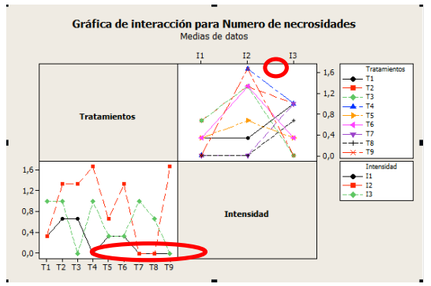
Grafica 1 Crecimiento de la planta



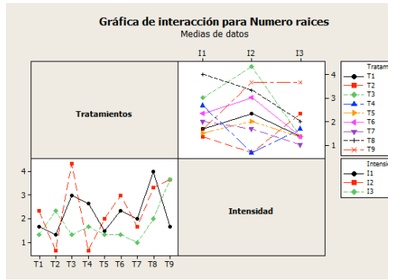
Grafica 2 Nmero de punta nacidas



Grafica 3 Número de punta nacidas



Grafica 4 Número de necrosidades



Grafica 5 Numero de raíces

ANOVA de dos factores: Crecimiento del dosel vs. Tratamientos; Intensic

Fuente	GL	SC	MC	F	P	
Tratamientos	8	0,92644	0,115805	1,54	0,220	Se acepta H0
Intensidad	2	0,09311	0,046553	0,62	0,551	Se acepta H0

ANOVA de dos factores: Numero de puntas nacidas vs. Tratamientos; Int

Fuente	GL	SC	MC	F	P	
Tratamientos	8	2,07407	0,259259	1,83	0,145	Se acepta H0
Intensidad	2	0,17284	0,086420	0,61	0,556	Se acepta H0

ANOVA de dos factores: Numero de necrosidades vs. Tratamientos; Inter

Fuente	GL	SC	MC	F	P	
Tratamientos	8	1,48148	0,18519	0,68	0,705	Se acepta H0
Intensidad	2	2,00000	1,00000	3,66	0,049	Se acepta H1

ANOVA de dos factores: Numero raices vs. Tratamientos; Intensidad

Fuente	GL	SC	MC	F	P	
Tratamientos	8	11,1317	1,39146	1,66	0,186	Se acepta H0
Intensidad	2	1,9156	0,95782	1,14	0,344	Se acepta H0

H°: No existe significancia
H1: Existe significancia

Figura 1 Datos obtenidos con el ANOVA

En las gráficas anteriores se muestra cómo es que interrelacionan los factores que son los tratamientos e intensidad lumínica y se indica cual es la mejor combinación para cada variable, en donde es importante mencionar que en cuestión a la variable de necrosidades se presentaron con mejores resultados 6 tratamiento al no detectarse presencia de estas.

De acuerdo al ANOVA (Figura 1) realizado se puede determinar que en cuestión a los tratamientos no existe significancia alguna para ninguna de las variables que se están estudiando, mientras que la intensidad lumínica solo tiene significancia en el número de necrosidades con una P de 0.049 debido a que se encuentra por debajo de nuestro nivel de significancia que es de 0.05.

CONCLUSIONES

Con base a los resultados obtenidos se puedo determinar que los tratamientos más favorables para cada variable son:
T5I3con el mayor crecimiento, T5I2 crecimiento del dosel más elevado, T3I1 con mayor número de puntas nacida, T3I2 con el mayor número de raíces y los tratamientos T3I3,T4I1,T8I1,T8I2, T9I1y T9I3 con cero necrosidades.
Por otra parte debido a que el periodo de tiempo fue muy corto no se logró obtener un análisis de los brotes.

BIBLIOGRAFIA

Flores Morales, A., Castañeda Hidalgo, E., Sánchez Pérez, F. J., Romero Aguilar, L., & Ruiz Luna, J. (2015). MECANISMOS DE CONSERVACIÓN Y USO DEL MAGUEY PULQUERO Agave salmiana.

Jacinto, R. J. (2014). Remocion cuticular y desarrollo foliar en los agaves pulqueros. Estado de México: Colegio de Postgraduados .

PULQUES. (2015). PROPAGACIÓN IN VITRO Y EX VITRO DE AGAVE SALMIANA (AGAVACEA).

RODRIGUEZ, B. O. (2014). DIVERSIDAD GENETICA DEL MAGUEY PULQUERO(A. salmiana y A. mapisaga Trel) Y USO DE TECNOLOGIAS AGROECOLOGICAS. ESTADO DE MEXICO: COLEGIO DE POSTGRADUADOS.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco rotundamente a todas aquellas personas que a lo largo de este proyecto me apoyaron para que lo puediera desarrollar adecuadamente, principalmente al Dr. Héctor Núñez Palenius, Dr. José Herrera, asi como a los técnicos Rebeca Ramírez y Claudio Bernardo; quienes en todo momento me apoyaron y motivaron para concluir exitosamente el proyecto.

COMPORTAMIENTO DE UN FERTILIZANTE FOSFÓRICO EN MATRIZ DE CERA DE CANDELILLA IN VITRO E IN VIVO

Carmen Alejandra Santiago López[1] y Antonio Cárdenas[2]

RESUMEN

Este proyecto se llevó acabo con la finalidad de experimentar con un fertilizante fosfórico pero teniendo la variante de cera de candelilla como el medio de transporte y vinculación entre el sustrato y la candelilla con fósforo. Este fertilizante a base de este compuesto de origen vegetal puede ser un producto sustentable en un futuro si se logra manipular de manera correcta en pro de la agricultura. Para el siguiente proyecto se llevaron a cabo varias pruebas para así determinar si es factible o no este nuevo producto como una alternativa de fertilizantes que se podría utilizar por parte de nuestros agricultores. Cabe destacar que los proyectos de agricultura tienen un poco más de dificultad en cuanto a lo experimental.

ABSTRACT

This project just took in order to experiment with a phosphoric fertilizer but the variant having candelilla wax as the means of transport and linkage between the substrate and candelilla phosphorus. This fertilizer based on this compound of plant origin can be a sustainable product in the future if it can properly handle towards agriculture. For the next project will be carried out several tests to determine whether it is feasible or not this new product as an alternative fertilizer that could be used by our farmers. Notably agriculture projects have a little more difficulty in terms of the experimental.

Palabras Claves: Fosfato mono amónico (MAP), fosfato mono potásico (KH_2PO_4), pepino y sustrato.

INTRODUCCIÓN

El fósforo (P) es uno de los macronutrientes vegetales esenciales, al igual que el nitrógeno y el potasio, y uno de los principales elementos minerales que limitan la producción de los cultivos, especialmente aquellos que se realizan en suelo (Hawkesford et al., 2012). El P participa en diversas funciones de las plantas como en procesos celulares, reacciones de energía, fotosíntesis, transporte de nutrientes así como formando parte de estructuras de macromoléculas, y su ausencia repercute negativamente en el crecimiento y desarrollo de las plantas (Kondracka y Rychter, 1997).

Respecto de la recuperación de los fertilizantes por los cultivos, autores mencionan que los fertilizantes nitrogenados son aproximadamente del 50%, la de los potásicos es cercana al 40% mientras que la de los fosfatados es menor a 10%, repercutiendo en pérdidas económicas y daños al ambiente (Baligar et al. 2001; Mortvet, 1994). De acuerdo a lo anterior nosotros requerimos evaluar la liberación de un fertilizante fosfórico encapsulado con cera de candelilla en sustratos y condiciones contrastantes para su aprovechamiento en plántulas de pepino.

[1] Ingeniería en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro No 1923 Col. Buenavista, C.P: 25315, Coahuila, Saltillo, Teléfono (844) 411 0200.: carale_94@hotmail.com
[2] Centro de Investigación en Química Aplicada, Blvd. Enrique Reyna Hermosillo No.140 C.P. 25294 Saltillo, Coahuila México. Tel.(844)4389830, Antonio.cardenas@ciqa.edu.mx.

I.I Funciones del fósforo en las plantas.

El fósforo (P) está implicado en varias funciones de las plantas que son claves en muchos procesos fisiológicos y bioquímicos como en el caso de reacciones que utilizan energía dentro de la célula, y forma parte de las moléculas que acumulan energía, como es el caso de adenosin trifosfato (ATP), estás moléculas se forman como resultado de la fotosíntesis y la respiración de las plantas. El P forma parte de compuestos análogos al ATP como son el guanosín trifosfato (GTP) y citidín trisfosfato (CTP) los cuales son utilizados para la síntesis de azúcares, fosfolípidos y ácidos ribonucleicos (RNA) (Better, 1999; Fernandez, 2007) entre otras funciones.

I.II Formas asimilables de fósforo.

La incorporación natural del fósforo al suelo se inicia cuando se acumulan en la superficie residuos de organismos como pueden ser plantas, animales y microorganismos, otro medio de incorporar fósforo es por medio de fertilizantes químicos o abonos orgánicos y así aumentar la disponibilidad del P en el suelo debido a las reacciones que ocurren en él (Potash and Phosphate Institute, 1987). El fósforo orgánico se puede derivar de residuos vegetales y animales que posteriormente pasan por un proceso de mineralización donde se lleva a cabo la degradación de la materia orgánica por los microorganismos del suelo para que se liberen compuestos fosfatados, y así pueda ser asimilable por las plantas.

I.III Usos de la candelilla:

La cera de candelilla es extraída de la planta de candelilla (*Euphorbia antisyphilitica Zucc*.), la cual crece de forma silvestre y se distribuye por el norte de México y el sur de Estados Unidos, el proceso de extracción y refinación es compleja por el manejo que se le da a la planta. La cera de la candelilla tiene distintas aplicaciones, este material natural es considerado un compuesto de gran interés industrial cosmética, alimentaria y médicamente (www.candelilla.org).

Materiales y equipos.

- Peat moss.
- Perlita.
- Semillas de tomate, pepino y melón.
- Macetas.
- Tres charolas con 200 cavidades.
- Cera de candelilla con el fosfato en proporción 60 y 40% respectivamente.
- Phytagel.
- Probeta.
- Tubos de Falcón.
- Espectrofotómetro.
- Micro pipetas.
- Fosfato mono amónico.
- Fosfato mono potásico.
- Cloruro de calcio, nitrato de calcio y sulfato de magnesio 0.4 N.
- Ácido cítrico.
- Citrato de sodio.
- Ácido ascórbico.
- Agua.
- Acetato de zinc.
- Molibdato de amonio.
- Hidróxido de sodio.
- Vasos dpp.

METODOLOGÍA

Fertilizante fosfórico en matriz de candelilla: Las preparación de los fertilizantes fue realizada por el Dr. Carlos Espinoza González del Departamento de Materiales Avanzados del CIQA. Éstas fueron elaboradas utilizando como matriz a la cera de candelilla refinada y fundida a 70 °C, y mezclada en emulsión con una solución acuosa concentrada de, según fuera el caso, fosfato mono amónico ($NH_4H_2PO_4$) o de fosfato monopotasico (KH_2PO_4) mediante un proceso de deshidratación térmica. El fertilizante en la matriz de candelilla deshidratada y a temperatura ambiente resulto en una placa quebradiza (Figura 1) la cual fue macerada para su aplicación en los ensayos.

Figura 1: placa de cera de candelilla proporcionada por el Dr. Carlos Espinoza.

1ª Etapa: experimento en vivo.

Formulación del sustrato: Se prepararon 30 macetas en una proporción de 50 y 50 de peat moss y perlita para lo que fue el sustrato, el peat moss se tuvo que humedecer para que así este tuviera una mayor uniformidad, 15 macetas se fueron trabajando con cera de candelilla y con fosfato en la matriz de cera y las 15 macetas con MAP. Se agregaron 8 macetas más para que se tomaran como testigos.

Figura 2: Sustrato con MAP

Figura 3: Sustrato+candelilla

Maceración de fertilizante en la matriz de cera.

Nuestra placa de cera de candelilla fue macerada en un mortero para así crear un polvo fino, se estimó mediante cálculos que la barra de cera de candelilla con un peso de 100 gramos contenía en total 12 gramos de fosforo.

Tabla 1. Gramos de cada uno de nuestros tratamientos que se usaron por maceta.

Cera de candelilla con fosfato mono amónico.	6.78 g por cada maceta.
Fosfato mono amónico.	2.71 g por cada maceta.

Estos gramos se pesaron y se fueron combinando en cada maceta dependiendo el tratamiento y después se realizó la siembra en las macetas, pero solo fue la siembra del pepino. Como se muestra en la figura 2 y 3.

2ª Etapa pruebas in vitro

Para esta etapa se tuvieron que realizar diferentes soluciones de cloruro de calcio, nitrato de calcio y sulfato de magnesio, de igual forma se generó 10 ml de HCl y de NaOH para ajustar los ph a 6.2.

Tabla 2: Gramos a pesar de cada uno de los compuestos para formar el medio de cultivo en 500 ml de agua des ionizada.

Nitrato de calcio	0.179 g
Cloruro de calcio	0.08 g
Sulfato de magnesio	0.3744 g
Phytagel	2.5 g

Una vez hecha las soluciones anteriores estas se metieron a esterilizar y después se vaciaron en cajitas Petri previamente etiquetadas, de cada solución se sacaron 10 cajitas Petri, ya cuando se gelifico el medio estas se guardaron para después realizar más pruebas.

2.1. Pruebas para disolver el medio:

Preparación de soluciones 0.1 M de ácido cítrico y citrato de sodio. Se pesaron 1.4709 g de ácido cítrico para preparar 70 ml de solución, de igual manera se pesaron 1.8064 g de citrato de sodio para el mismo volumen y con estas dos crear la solución buffer. Enseguida realizamos 8 secciones en cada uno de los medios de cultivo y de esas ochos secciones tomar 3 y poner en cada uno de los tubos Falcón previamente etiquetados con el compuesto, la molaridad y los ml a usar que en este caso fueron: 5ml, 7.5ml, 10ml y 12.5ml. enseguida agregamos la cantidad de volumen requerida a cada uno de los tubos Falcón con el medio picado ya en su interior, esto se hizo por tres repeticiones, una vez realizado todo esto para cada compuesto, sometimos a los 36 tubos a una pequeña agitación._Los resultados que se obtuvieron en la agitación fueron los siguientes.

Tabla número 3: Resultados de nuestro interés tomando en cuenta las muestras que se disolvieron más.

Analito de interés	Molaridad	Vol. Inicial (ml)	Vol. Final (ml)
KH_2PO_4 (Fosfato mono potásico).	1 mM	5	7.2
	1 mM	7.5	9.9
	1 mM	10	12.9
	5 mM	5	8.0
	5 mM	7.5	10.9
	5 mM	10	13.3
	10 mM	5	7.9
	10 mM	7.5	10.3
	10 mM	10	12.8

Una vez verificado lo anterior se llevó la realización de una curva de calibración de la siguiente manera.

- Primeramente preparamos 40 ml de ácido ascórbico (4g de ácido ascórbico) y 20 ml de molibdato con acetato de zinc (0.247g de molibdato de amonio y 0.0658g de acetato de zinc).

- Ajustamos el ph de ambos a 5, tomamos 32 ml del ácido ascórbico y 8 ml del molibdato y así formar el reactivo en una relación 2:4.
- El reactivo tomo un color ámbar.

Una vez hecho lo anterior se llevó acabo la preparación de los tubos que se someterían a baño maría para después leer en el espectrofotómetro. Los tubos quedaron de la siguiente forma: Cloruro de calcio a 5, 7.5 y 10 ml; Nitrato de calcio a 7.5 y 10 ml; Sulfato de magnesio a 5, 7.5 y 10 ml y fosfato mono potásico a 1, 5 y 10 mM y de igual forma a los volúmenes de 5, 7.5 y 10 ml.

Todos los tubos anteriores contenían 320 µL del buffer citrato y 1680 µL del reactivo.

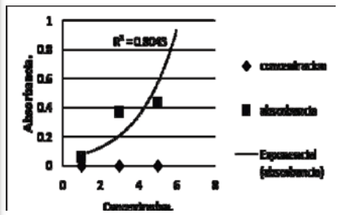
Los blancos se estructuraron de la siguiente manera:

- Blanco 1: citrato solo.
- Blanco 2: cloruro de calcio a 5 mili Molar + reactivo.
- Blanco 3: cloruro de calcio a 7.5 mili Molar + reactivo.
- Blanco 4: cloruro de calcio a 10 mili Molar + reactivo.
- Blanco 5: citrato + phytagel.

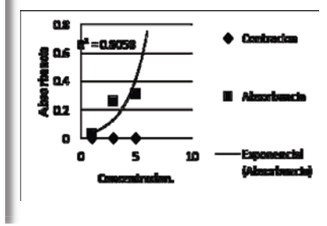
Todos los tubos ya preparados se llevaron a un baño María de 37°C por 30 minutos. Una vez pasado el tiempo llevamos las muestras para leerlas en el espectrofotómetro.

Las curvas para cada de las diferentes concentraciones y molaridades (1,5 y 10 m M) del KH_2PO_4 quedaron de la siguiente manera.

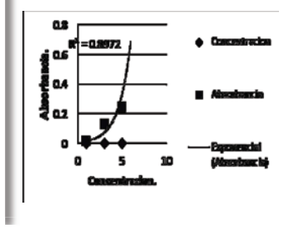
Grafica 1: Curva para la concentración de 5 ml.



Grafica 2: Curva para la concentración de 7.5 ml.



Grafica 3: Curva para la concentración de 10 ml.



Las gráficas muestran las curvas de calibración en cada una de los diferentes volúmenes pero solo tomando en cuenta las lecturas del espectrofotómetro en las concentraciones de 1,5 y 10 m M de KH_2PO_4 ya que lo que nos interesa es saber si hay fosforo en los medios que disolvimos y que además vayan de acuerdo a los volúmenes que se manejaron. El coeficiente de correlación (R^2) se muestra muy próximo a 1, por lo cual nos indica que nuestra curva es eficiente y que nuestro trabajo fue bien elaborado.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En cuanto a la prueba de la disolución de los medios de cultivos nos dimos cuenta de que casi todos los medios respondieron de manera favorable ante el buffer de citrato que se les agrego, el único que causo incertidumbre fue el de $Ca(NO_3)$ en el volumen de 5 ml.

Los resultados que obtuvimos de las lecturas en el espectrofotómetro se muestran que nuestro analito de interés se encuentra de manera proporcional al volumen en que se está trabajando. Por lo cual es una manera muy eficaz de darnos cuenta de que el contenido de fosforo en nuestros medios son buenos para

nuestra siembra in vitro. Para lo que fue la siembra en vivo nos dimos cuenta de que la cera de candelilla le está ocasionando un daño a las plantas, quizás sea por el tamaño de la partícula en la que se está trabajando

CONCLUSIÓN

El objetivo nos marca la liberación del fosforo en diferentes sustratos cosas que se realizaron pero que aún falta perfeccionar, un trabajo agronómico requiere más tiempo y si hay falla alguna se requiere comenzar desde cero y por ello son trabajos más delicados. Falta perfeccionar el fertilizante encapsulado, falta probarlo con la siembra in vitro por lo mismo la conclusión no es tan precisa porque aun el trabajo no se ha terminado.

BIBLIOGRAFÍA

Hawkesford et al., 2012; Kondracka y Rychter, 1997; Baligar et al. 2001; Mortvet, 1994; Better, 1999; Fernandez, 2007; http://www.candelilla.org.

ELABORACIÓN Y APLICACIÓN DE BIOPELÍCULAS DE ALMIDÓN DE PAPA (*Solanum tuberosum*) Y ALMIDÓN DE ARROZ (*Oryza sativa*) EN FRESA (*Fragaria ananassa*)

Segura Cerda Viridiana[1] y Antonio Rodríguez Chong[2]

RESUMEN

El almidón es uno de los polímeros más prometedores para la elaboración de películas biodegradables; es un material renovable, flexible y se puede acondicionar a diferentes procesos de termoplastificación, tales como el recubrimiento de alimentos. En este estudio se llevó a cabo la extracción de almidón de arroz (*Oryza sativa)* y almidón de papa (*Solanum tuberosum*) para formular y elaborar biopelículas con tres distintas concentraciones, 2%, 3% y 4%, utilizando glicerina como plastificante y agua para la solución. El objetivo de esta investigación fue la aplicación de las biopelículas en fresa *(Fragaria ananassa)* para extender la vida de anaquel de estos frutos y sus características de turgencia.

PALABRAS CLAVE: Biopelícula, Almidón, Turgencia, Arroz, Papa

ABSTRACT

Starch is one of the most promising for the development of biodegradable polymer films; it is a renewable, flexible material and can be use to different termoplastificación processes such as food coating. This study carry out the extraction of starch from rice *(Oryza sativa)* and potato *(Solanum tuberosum)* to formulate and develop biofilms with three different concentrations, 2%, 3% and 4%, using as a plasticizer glycerin and water for solution. The objective of this research was the biofilms application in strawberry *(Fragaria ananassa)* to extend the shelf life of these fruits and their turgidity characteristics.

KEY WORDS: Biofilm, Starch, Turgidity, Rice, Potato

INTRODUCCIÓN

Los cambios en el estilo de vida que la gente experimenta en los últimos años, así como su mayor consciencia de la importancia de ingerir alimentos saludables, han causado un incremento en el consumo de alimentos listos para comer, en especial de frutas mínimamente procesadas (García *et al*, 2011). La introducción de frutas frescas con procesamiento mínimo en los mercados es una forma de incrementar su consumo, por los beneficios que estas presentan a la salud de los consumidores.

En los últimos años, se ha incrementado la necesidad de producir alimentos de alta calidad; con mayor tiempo de vida útil y un menor impacto a nivel ambiental. Esto ha llevado al estudio y desarrollo de biopelículas y/o coberturas comestibles biodegradables (Estrada *et al*, 2013) que permiten conservar las características de turgencia de los frutos; término relacionado a las características del contenido de agua del mismo.

Aplicar recubrimientos comestibles en frutas a partir de fuentes renovables, como lípidos, polisacáridos y proteínas, así como mezclas de éstos, disminuyen su tasa de respiración, retrasan su pérdida de peso por

[1]Instituto Tecnológico de Celaya, Departamento de Ingeniería Bioquímica. Antonio García Cubas 600 y Avenida Tecnológico, Alfredo V. Bonfil, 38010 Celaya, Gto., mail: 11030556@itcelaya.edu.mx
[2] Coordinación Académica Región Altiplano de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Carretera Cedral Km. 5+600, Ejido San José de las Trojes, Matehuala, San Luis Potosí, MÉXICO, mail: antonio.rodriguez@uaslp.mx

deshidratación, prolongan su pérdida de firmeza y pigmentación, causado por microorganismos. Además se inhibe el pardeamiento enzimático y reacciones metabólicas asociadas con la maduración y se promueve la conservación de propiedades mecánicas y se conservan las características sensoriales ya que se retrasa la maduración y se incrementa la vida útil de la fruta; al proporcionar una barrera semipermeable a los gases y al vapor de agua, además puede actuar como portadores de ingredientes funcionales como agentes antimicrobianos y antioxidantes (Vázquez y Guerrero, 2013).

El objetivo de este trabajo fue la formulación y elaboración de biopelículas a partir de almidón de arroz y almidón de papa; y su aplicación en fresa para determinar el efecto de su uso sobre la calidad post-cosecha de este fruto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Etapa 1. Elaboración de biopelículas a partir de almidón de arroz y papa.

a) Extracción de almidón de arroz.

Se realizó la molienda de 1.925 kg de arroz en una licuadora marca OSTER modelo MBRLY07-200 15 y se tamizó en un tamaño de partícula de 80 µm. La harina obtenida fue colocada en un recipiente y se le adicionaron 1.925 litros de agua destilada y se dejó en reposo durante 90 minutos. Una vez asentado el almidón, se retiró por decantación el sobrenadante y el almidón obtenido pasó por una etapa de secado durante 7 horas a 45°C en horno marca TST modelo DH6-9145A.

Figura 1. Proceso de extracción de almidón de arroz. i. Molienda. ii. Harina en agua estéril. iii. Decantación. iv. Secado

b) Extracción de almidón de papa.

Se pelaron y molieron 2.5 kg de papa en una licuadora marca OSTER modelo MBRLY07-200 15 en una relación 1:1 con agua estéril destilada; y se tamizó en un tamaño de partícula de 80 µm. Se dejó en reposo durante 90 minutos a una temperatura de 7°C. Asentado el almidón, se retira por decantación el sobrenadante y el almidón obtenido pasó por una etapa de secado durante 5 horas a 45°C en horno marca TST modelo DH6-9145A.

Figura 2. Proceso de extracción de almidón de arroz. v. Molienda. vi. Papa molida en agua. vii. Decantación. viii. Secado

c) Preparación de las biopelículas.

Se elaboraron biopelículas con una concentración de almidón al 2%, 3% y 4%; utilizando agua y glicerina HYCEL como plastificante. La mezcla fue colocada en vasos de precipitados manteniendo en constante agitación; se calentó hasta alcanzar una temperatura de 90°C en parrilla marca Thermo Cientific modelo SP131325. Se dejó enfriar a 35°C para su posterior aplicación en fresas.

El procedimiento fue el mismo para la preparación de la solución para las biopelículas de almidón de arroz y de papa.

Etapa 2. Aplicación de biopelículas de almidón de arroz y papa en fresas.

Se prepararon dos lotes de tres unidades de fresas marca DRISCOLL´S para cada una de las diferentes concentraciones y también un lote control con tres unidades.

Una vez seleccionadas y lavadas las fresas, se realizó la aplicación de las biopelículas por inmersión y se colocaron en refrigeración a 4°C, simulando el tratamiento post-cosecha del fruto.

Etapa 3. Monitoreo de peso y volumen de fresas.

Para el control de los pesos y los volúmenes de las unidades de los lotes de fresas, se tomaron medidas y peso en t=0 sin biopelículas, y a partir de la aplicación se realizó el monitoreo durante 7 días.

Para medir la masa de cada una de las unidades se utilizó la balanza analítica marca OHAUS ADVENTURE modelo AR2140, y para la medición de las dimensiones de la fresa se tomaron parámetros de ancho y largo con la utilización de un vernier marca SURTEK Shock-Proof modelo OF154402B; realizando cálculos para volumen mediante la siguiente ecuación (1):

$$\rho = (\pi r^2 h)/3 \qquad (1)$$

RESULTADOS

Etapa 1. Elaboración de biopelículas a partir de almidón de arroz y papa.

a) Extracción de almidón de arroz y papa.

En la siguiente tabla se indica el peso tratado de cada variedad y el almidón total obtenido en cada caso.

Tabla 1. Almidón de arroz y almidón de papa obtenido (g)

Variedad	Peso tratado (g)	Almidón obtenido (g)
Arroz	1925	188.04
Papa	2225	105.45

b) Preparación de biopelículas.

Se prepararon biopelículas a concentraciones del 2%, 3% y 4%, en una mezcla con glicerina y agua destilada.

En la siguiente tabla se reportan las cantidades requeridas para la preparación de las biopelículas.

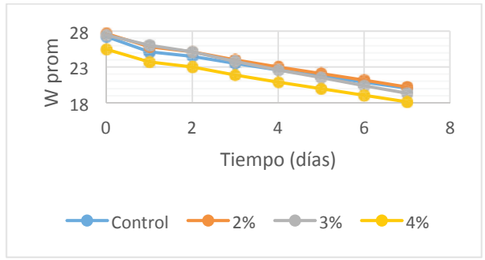


Figura 3. Control de peso perdido en fresas recubiertas al 2%, 3% y 4% con almidón de arroz y la muestra control

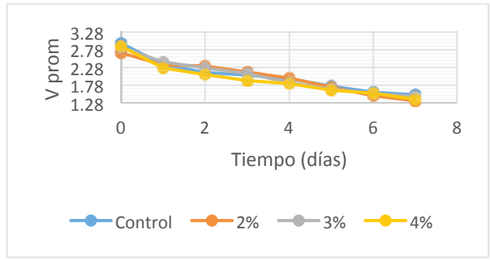


Figura 4. Control de volumen perdido en fresas recubiertas al 2%, 3% y 4% con almidón de arroz y la muestra control

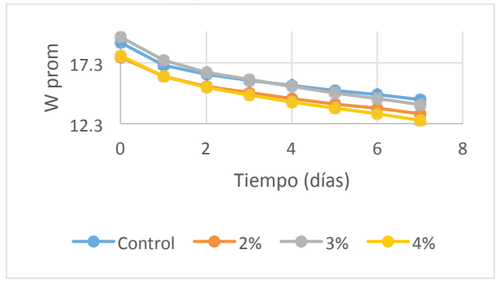


Figura 5. Control de peso perdido en fresas recubiertas al 2%, 3% y 4% con almidón de papa y la muestra control

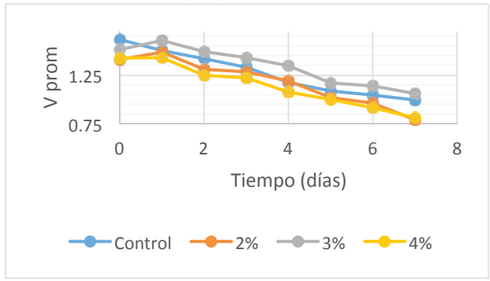


Figura 6. Control de volumen perdido en fresas recubiertas al 2%, 3% y 4% con almidón de papa y la muestra control

Tabla 2. Formulación de soluciones para preparación de biopelículas.

Concentración (%)	Almidón (g)	Glicerina (g)	Agua (ml)
2	2	2	96
3	3	2	95
4	4	2	94

Se utilizaron las mismas proporciones para la preparación de las biopelículas de almidón de arroz y almidón de papa.

Etapa 2 y 3. Aplicación de biopelículas y monitoreo peso-volumen en fresas.

a) Monitoreo de peso y volumen en fresas con biopelículas de almidón de arroz.

En los siguientes gráficos se muestran los datos de los controles de peso y volumen de cada una de las unidades de los lotes de fresa que se mantuvieron en observación durante 7 días recubiertas con almidón de arroz.

b) En los siguientes gráficos se muestran los datos de los controles de peso y volumen de cada una de las unidades de los lotes de fresa que se mantuvieron en observación durante 7 días recubiertas con almidón de papa.

c) Relación peso/volumen para evaluación de densidad y su relación con la conservación del fruto.

En los siguientes gráficos observamos la relación masa/volumen de la muestra control y los tratamientos realizados al 2%, 3% y 4% de concentración, con biopelículas de almidón de arroz y almidón de papa.

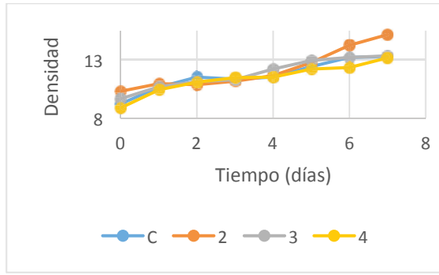


Figura 7. Relación peso/volumen en fresas recubiertas al 2%, 3% y 4% con almidón de arroz y la muestra control

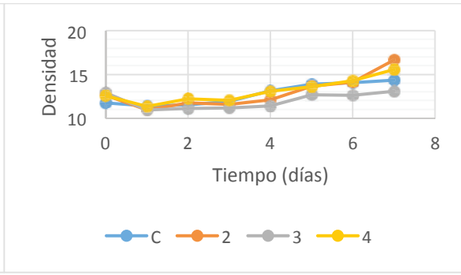


Figura 8. Relación peso/volumen en fresas recubiertas al 2%, 3% y 4% con almidón de papa y la muestra control

En las tablas siguientes se observa el incremento de densidad en cada caso.

Tabla 3. Incremento de densidad en la aplicación de biopelículas de almidón de arroz y almidón de papa

	D ρ			
Almidón	**Control**	**2%**	**3%**	**4%**
Arroz	4.081445	4.86104	3.674873	4.318472
Papa	2.6147578	4.03004	0.21484	2.995021

En las 3 muestras recubiertas con almidón de arroz y almidón de papa, se observó el incremento en la densidad del fruto, siendo el tratamiento al 3%, en ambos casos, el que mostró menor variación. La densidad se relaciona directamente con las características de turgencia del fruto; entre menor variación exista en la densidad, la turgencia se conserva; manteniendo así, las características del mismo.

CONCLUSIONES

En este estudio, el proceso de extracción del almidón de arroz se realizó mediante los protocolos establecidos referenciados en la bibliografía; sin embargo, el proceso de extracción del almidón de papa, se realizó a 4°C para detener el proceso de fermentación del tubérculo y así obtener un almidón con las características físicas y químicas adecuadas para la elaboración de las biopelículas.

El tamaño de los gránulos de almidón de arroz presentan diámetros entre 1-5 µm; a diferencia del tamaño de los gránulos de almidón de papa que van de 15-100 µm. Un mayor tamaño de partícula sugiere mayor absorción de agua, mayor flexibilidad y mayor tiempo de secado; fenómeno observado en el secado de las biopelículas de almidón de papa, contrario al menor tiempo de secado de las biopelículas de almidón de arroz. A partir de esto, podemos sugerir la variación que se tuvo en los tiempos de secado de las biopelículas de las diferentes variedades evaluadas.

En este estudio, el recubrimiento con almidón de arroz y almidón de papa, en una concentración del 3%, mostró una mayor eficiencia en el incremento de la vida de anaquel de las fresas por encima de las demás aplicaciones realizadas, mediante un análisis de la relación de la densidad ganada y la turgencia del fruto.

BIBLIOGRAFÍA

ESTRADA, K., GONZÁLEZ, B., & RODRIGUEZ, A. (2013) Elaboración y caracterización de biopelículas de almidón de sorgo *(Sorghum vulgare)*. Coordinación Académica Región Altiplano de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Matehuala, SLP. Inducción a la Ciencia, la Tecnología y la Innovación en la UASLP, Vol. 1.

GARCÍA, M., VENTOZA, M., DÍAZ, R. & CASARIEGO, A. (2011) Efecto de coberturas de alginato de sodio enriquecidas con Aloe Vera en la calidad de zanahoria mínimamente procesada. Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de La Habana, Cuba.

VÁZQUEZ, M., GUERRERO, J. (2013) Recubrimientos de frutas con biopelículas. Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental. Universidad de las Américas Puebla. Temas Selectos de Ingeniería en Alimentos 7-2: 5-14.

ESTUDIO DE GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE *PINUS CEMBROIDES* PARA RESTAURACIÓN ECOLÓGICA

Denis Betzabé Torres Mena[1] y Liliana Miranda Aragón[2]

RESUMEN

Se realizó un estudio de germinación de semillas para la especie de *Pinus cembroides* con la finalidad de tener una selección del sustrato viable para la producción de planta para propósitos de reforestación y restauración ecológica. Los sustratos estuvieron compuestos por diferentes proporciones de tierra de mezquite, estiércol de cabra, aserrín y arena. Los tratamientos se regaron cada tercer día y en el día nueve se presentó la germinación de todos los tratamientos, posteriormente se midió la longitud del hipocótilo. Se estableció el experimento en bloques completos al azar con tres tratamientos, cada tratamiento con 20 repeticiones y un factor a través de la aplicación de micorrizas a 10 repeticiones de cada tratamiento. Se realizó un análisis de varianza con el programa de SAS. Los resultados que se analizaron fueron de la primer y última medición del hipocótilo, los cuales no muestran diferencias significativas. Sin embargo, el tratamiento que presentó mayor longitud y vigor en su crecimiento fue el tratamiento dos (50% de estiércol, arena 25% y tierra de mezquite 25%) seguido del tratamiento tres (estiércol 50%, aserrín 25%, tierra de mezquite 25%).

ABSTRACT

It was carried out a study of seed germination for the species *Pinus cembroides* with the aim to select the optimal substrate for plant production for reforestation and ecological restoration purposes. The substrates were composed of different proportions of land of mesquite, goat manure, sawdust and sand. The experiment was established in a randomized complete block with three treatments, each treatment with 20 repetitions and a factor through the application of mycorrhizae to 10 repetitions of each treatment. The treatments were irrigated every third day, and in the ninth day, germination of all treatments was presented, subsequently hypocotyl length was measured. A variance analysis was carried out in SAS program. The results were analyzed in the first and last measurement, which showed no significant differences. However, the treatment 2 (goat manure 50%, sand 25%, mesquite soil 25%) presented greater length and vigor in growth followed by the treatment 3 (50% goat manure, sawdust 25%, mesquite soil 25%).

Palabras clave: *Pinus cembroides*, germinación, micorrizas, restauración ecológica.

INTRODUCCIÓN

El *Pinus cembroides* Zucc subsp. *cembroides* var. *cembroides*, también conocido como “Pino piñonero, Piñón, Piñón prieto” es una especie ideal para reforestación, especialmente en zonas áridas, semiáridas y erosionadas. Pertenece a la familia de las Pinaceas y al género *Pinus*. Es originario de México y se distribuye en la Sierra Madre Oriental al norte del Trópico de Cáncer, comprende estados como Chihuahua, Durango, Coahuila, Zacatecas, Aguascalientes, Jalisco, Nuevo León, San Luis Potosí, Querétaro, Veracruz, Baja California, entre otros. Su crecimiento es de 5 a 15 metros de altura con un diámetro de 30 a 70 centímetros, es resistente a la sequía, se adapta fácilmente, resiste heladas y temperaturas elevadas.

[1] Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Av. Manuel Nava No. 6, C.P. 78260, San Luis Potosí, S.L.P., MÉXICO; liliana.miranda@uaslp.mx
[2] Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Carretera San Luis Potosí Km. 14.5, Soledad de Graciano Sánchez, C.P. 78321, San Luis Potosí, S.L.P., MÉXICO. liliana.miranda@uaslp.mx

El fruto de *Pinus cembroides* son conos. La semilla de los conos es su principal uso ya que es de alto valor económico y su madera es de poco valor comercial, sin embargo es usada como leña, carbón y pulpa para papel. Aguilera (2001). Para su propagación sexual se emplean semillas sanas, recolectándose los conos verdes, estos una vez secos se abren, también es importante seleccionar las semillas para ello se requiere realizar una prueba de germinación. Pérez (2010) describe el métodoqueconsiste en dejarlos 24 horas en agua para conocer la viabilidad de la semillapara tener seguridad en la germinación. El *Pinus Cembroides* tarda en promedio para germinar alrededor de 9 a 22 días, la selección de un sustrato adecuado con fertilidad adecuada es muy importante para que permita una adecuada retención de humedad, se encuentre libre de sales, con suficiente materia orgánica y con ello haya germinación de todas las semillas.

La restauración ecológica centra su objetivo en la recuperación de un ecosistema degradado para que pueda tener condiciones similares a las originales, para esto es necesario un estudio completo del ecosistema a recuperar, conocer sus condiciones climatológicas, hábitat, y principalmente la especie restauradora ya que esta debe ser compatible con el ecosistema para que llegue a establecerse, por lo quese requiere de una producciónsuficiente de individuos germinados en el vivero. La presente investigación tuvo como objetivosconocer el tiempo de germinación para los tres sustratos propuestos en el presente trabajo, conocer la longitud del hipocótilo después de su germinación a través de la medición del mismo y conocer la efectividad de cada tratamiento.

METODOLOGÍA

Área de estudio

Su ubicación fue dentro del invernadero de cactáceas de la Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Autónoma de San Luis Potosí con coordenadas 100°51’43.82’’O 22°14’2.24’’N *(Figura 1)*.

Figura 1.Prueba de viabilidad.

Se colocó una malla sombra para evitar que los pájaros entraran al experimento y evitar el golpe directo de las gotas de lluvia para evitar la expulsión de las semillas ya plantadas y la penetración de la radiación aprovechable para la especie en estudio *(Figura 2)*.

Figura 2. Ejemplificación sistema.

Colecta y prueba de germinación

La colecta de la semilla del pino es de procedencia de la Sierra de Álvarez, S.L.P. sin fecha de colecta, con un total de 355 semillas, a las cuáles les realizamos la prueba de viabilidad dejandolas 24 horas en agua.

Preparación de sustratos

1. Sustrato 1 50:25:25 Aserrín, estiércol y materia orgánica (tierra de mezquite).
2. Sustrato 2 50:25:25 Estiércol, arena y materia orgánica (tierra de mezquite).
3. Sustrato 3 50:25:25 Estiércol, aserrín y materia orgánica (tierra de mezquite).

Establecimiento de los tratamientos

Cada tratamiento consistió de diez repeticiones con micorrizas, diez repeticiones sin micorrizas y un testigo por cada sustrato con la finalidad de observar el tiempo de germinación y mayor vitalidad.
Los recipientes empleados en esta etapa fueron bolsas de polietileno de color negro de 15 por 20 cm. Además se agregó un nuevo tratamiento en recipientes biodegradables con tres repeticiones de cada sustrato y micorrizas.Con un total de 82 recipientes establecidos, 63 en bolsas de polietileno y 19 en recipientes biodegradables. Todas las repeticiones se etiquetaron para su identificación en la toma de datos.
El lunes 13 de junio de 2016 fue la fecha de siembra y se colocaron cuatro semillas por recipiente para asegurar la germinación en cada repetición

Análisis de varianza

Los datos se procesaron en el programa de SAS (2002). Se realizó un diseño de Bloques completamente al azar con un factor para saber si al menos uno de los tratamientos presentaba mejor germinación con respecto a los demás.

Prueba de Tukey

Se realizó para conocer las diferencias significativas entre los tratamientos ($p \leq 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la prueba de germinación de las 333 solo 18 fueron semillas vanas. El 22 de Junio día nueve después de la plantación germinaron las primeras semillas, en comparación con experimentos establecidos dentro de la facultad por alumnos de la carrera forestal han sido en un periodo mayor a 20 días, por lo que el uso de recursos como el estiércol de cabra permite que con este tipo de sustrato se pueda establecer una plantación en vivero de manera sustentable evitando con ello altos costos para la producción de esta especie forestal.

Cuando se realizaban los riegos también se eliminaba la maleza en el experimento para evitar competencia de nuestra especie de interés.

Se realizaron cinco mediciones los días lunes, miércoles y viernes de cada semana para registrar la longitud del hipocótilo a partir del 26 de junio hasta el 15 de julio de 2016. En la Figura 3 y 4 se observa que tuvo un efecto positivo el haber aplicado las micorrizas permitiendo observar que su germinación fuera buena y constante a diferencia en donde no hay micorrizas.

En el sustrato uno durante los primeros días habían germinado ocho y después los faltantes germinaron quedando con 10, hasta el 01 de julio, posteriormente la población disminuyó a cuatro, lo que indica que hubo pérdida por plagas (pájaros principalmente debido a que no estaba cubierta el área en su totalidad). En el sustrato dos iniciamos con nueve germinados, despues sube sólo un día a 10 y se mantiene estable desde el 29 de junio hasta el final de toma de datos. En el sustrato tres comienza en ocho para finalizar en cinco (presencia de plaga)(Figura 3).

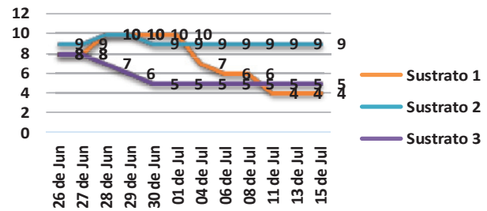


Figura. 3. Comportamiento de los sustratos SIN micorrizas respecto al tiempo.

En la Figura 4 en el sustrato uno comenzamos con siete y cinco germinadas. En el sustrato dos iniciamos con seis germinadas y se termina en cinco. En el sustrato tres comienza en seis, pero aquí hubo germinación de nuevas (presencia de plaga).

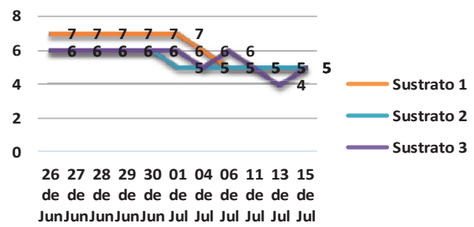


Figura. 4. Comportamiento de los sustratos CON micorrizas respecto al tiempo.

Sin embargo, el análisis estadístico indica que no existen diferencias significativas en los sustratos. El sustrato dos fue el que proporcionó los nutrientes adecuados para su crecimiento resultando con ello las más vigorosas en su crecimiento en longitud y diámetro del hipocótilo.

CONCLUSIONES

- El sustrato 2 es el más apto para germinación de *Pinus cembroides*.
- La aplicación de micorrizas no fue significativa, debido a que en donde no se aplicaron también hubo germinación.
- La época, el clima, el riego son importantes para una rápida germinación, el tiempo fue corto de acuerdo a lo esperado.
- El estiércol no era tan ácido como creíamos, ya que fue apto para la especie.
- Se recomienda aplicar insecticida para control de dípteros como tratamiento previo para el estiércol.
- El *Pinus cembroides* es una especie que se adapta al cambio y es muy resistente.
- San Luis Potosí es ideal para reforestar áreas degradadas con esta especie..

BIBLIOGRAFÍA

CETINA, A.V.M., GARCÍA, M.E. & KEYE, M.R. (1984). Estudio sobre la germinación del Pinus cembroides zucc en condiciones simuladas. *Centro de Genética. Colegio de Postgraduados*, 83-97.

GÓMEZ ROMERO, M., SÁENZ ROMERO, J.V.C. & LINDIG CISNEROS. R. (2013). Efecto de la micorrización en el establecimiento de Pinus pseudostrobus en cárcavas. *Madera y Bosques*, 19(3) 51-63.

ROMERO, G.F. (1886). El Pino Piñonero en la Provincia de Valladolid.*Universidad Politecnica de Madrid. Ed. Libreros de la Universidad y del Instituto,* 326.

CONRADO, M.V. (1964). Formación de Micorrizas en Pinus Centroamericanos bajo condiciones controladas. *Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA. Centro de Enseñanza e Investigación*, 60.

JIMÉNEZ, P.J., AGUIRRE, C.O.A., YERENA, Y.J.I. (2007). Catálogo de contenido de carbono en especies forestales de tipo arbóreo del noreste de México. *CONAFOR. Gerencia de Desarrollo y Transferencia de Tecnología*, 44.

MAS, P.J. (2003). Guía práctica para la producción de planta en un vivero. *Comisión Forestal del Estado*, 38.

ANTONIO, B.A., (2012). Manual de Ensayos de Semillas Forestales. *Secretaría de Medio Ambiente*, 55.

SECRETARIA DEL DESARROLLO AGROPECUARIO. (2007). Manual de Producción de Planta Forestal, 1-108.

CARRASCO, V., PÉREZ, J., ESPINOSA, V., ALMARAZ, J., QUINTERO, R., TORRES, M.(2010). Caracterización de micorrizas establecidas entre dos hongos comestibles silvestres y pinos nativos de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas,* 567-577.

UNSHELM, E. (2013). Manejo integral y sostenible de los residuos y desechos sólidos en la industria forestal. *Notas Técnicas. Los desechos forestales,* 1-40.

AGUILERA, M. (2001). Pinus cembroides Zucc. *Archivo personal*, 1-7.

COMISIÓN NACIONAL FORESTAL. (1825). Prosopis juliflora. *Sistema Nacional de Información Forestal,* 1-8.

CARRILLO, C. (2000). Técnicas de micorrización en vivero con hongos ectomicorríticos. Experiencias realizadas en el Centro Nacional de Mejora Forestal "El Serranillo". *Tercer Curso Avanzado de Viveros y producción forestal*, 1-19.

PAZ, F. (2008). Determinación de la composición química de la madera obtenida del primer clareo en árboles de Melina (Gmelina Roxb.), de una plantación proveniente del departamento de Izabal.1-122

ANÁLISIS DE LA EXPRESION DIFERENCIAL DE PROTEÍNAS DE MANGO A TRAVÉS DE SDS-PAGE

Leticia Estela Uribe Trujillo[1] y Andrés Cruz Hernández[2]

RESUMEN

El fruto del mango exhibe una gran diversidad de caracteres morfológicos, lo que sugiere una importante diversidad genética. Pueden ser clasificados en monoembriónicos, cuya semilla sólo da origen a una nueva planta, posee características de mayor fibra en el tejido e incluso se reporta mayor resistencia contra antracnosis. Por otro lado los mangos poliembriónicos pueden dar origen a más de una planta a partir de una sola semilla. Se hizo un análisis en dos variedades de mango, uno monoembriónico y otro poliembriónico para evaluar si hay una expresión diferencial en el contenido de proteínas en dos estadios de maduración utilizando cascara y pulpa para igualmente evaluar la expresión de proteínas. Utilizando la técnica de SDS-PAGE se pudo observar la presencia de proteínas y la cantidad que presenta cada variedad de mango en estadios distintos.

ABSTRACT

The mango fruit exhibits a great diversity of morphologic characteristics, suggesting an important genetic diversity. They can be classified into monoembryonic, whose seed gives only rise to a new plant, has the characteristics of most fiber in the fabric and even greater resistance to anthracnose reported. On the other hand polyembryonic handles can give rise to more than one plant from a single seed. Analysis was done in two varieties of mango, and other polyembryonic monoembryonic one to assess whether there is a differential expression in the protein maturation stages two and pulp using cascara also assess protein expression. Using the technique of SDS -PAGE was observed the presence of proteins and how much has each variety of mango that differs stadiums.

Palabras clave: monoembriónico, poliembriónico, SDS-PAGE.

INTRODUCCIÓN

El mango (Mangifera indica L.), que pertenece a la familia Anacardiaceae, es uno de los frutos más importantes comercializado en el mundo con una producción mundial de más de 26 millones de toneladas. Se cultiva de forma natural principalmente en las regiones tropicales y subtropicales.
Una amplia investigación en el área de cultivo de plantas ha generado cientos de cultivares, los frutos de los cuales muestran una pronunciada diversidad en el tamaño, color, sabor, tamaño de la semilla, la composición y exhibe una gran diversidad de caracteres morfológicos, lo que sugiere una importante diversidad genética.

De acuerdo con SAGARPA, en el año 2013 México se convirtió en el mayor exportador de mangos en el mundo, llegando los mangos mexicanos a 22 países, obteniendo ganancias totales por 273 millones 491 mil dólares y un volumen total de exportación de 312, 500 toneladas.

Los mangos pueden ser clasificados en monoembriónicos, cuya semilla sólo da origen a una nueva planta, posee características de mayor fibra en el tejido e incluso se reporta mayor resistencia contra

[1] Universidad Autónoma de Querétaro, Cerro de Las Campanas, s/n, Las Campanas, 76010 Santiago de Querétaro, QRO. Letyuribe_01@hotmail.com
[2] Universidad Autónoma de Querétaro, Cerro de Las Campanas, s/n, Las Campanas, 76010 Santiago de Querétaro, QRO. Andrex1998@hotmail.com

antracnosis, tienen colores verde, amarillo, naranja o rojo y son mayormente redondos. Por otro lado los mangos poliembriónicos pueden dar origen a más de una planta a partir de una sola semilla, son mayormente amarillos y alargados.

En estudios actuales aún no se ha dado información sobre las proteínas de los mangos por lo que se busca identificarlas, secuenciarlas y caracterizarlas y para esto se ocupará el método SDS-PAGE que es uno de los métodos de electroforesis más comúnmente aplicado para proteínas.

Esta técnica es conocida como SDS-PAGE. Para ello se prepara un gel en placa vertical. En la preparación del gel, la polimerización de los monómeros de acrilamida produce cadenas lineales. Al incluir bisacrilamida, ésta da lugar a puntos de ramificación en el polímero, lo que permite formar una matriz tridimensional, dando lugar al gel de poliacrilamida. El tamaño de los huecos o poros que forma la retícula del polímero depende de la concentración de acrilamida y del grado de entrecruzamiento (es decir, de la proporción de bisacrilamida con respecto al total).

Así, variando la concentración de acrilamida y bisacrilamida en la preparación del gel se consiguen distintos grados de porosidad y, por tanto, distintos intervalos de separación de proteínas. También se añade un tampón (comúnmente Tris-HCl). Además, se añade un agente iniciador de la polimerizacón como el persulfato amónico, que al disolverse en agua genera radicales libres que transforman la acrilamida en radical libre y se inicia la polimerización.

También se añade al medio TEMED (N,N,N',N'-tetrametil-etilenodiamina) como catalizador porque puede existir en forma de radical libre. Las muestras proteicas se tratan, previamente a su fraccionamiento, con SDS a 100 ºC. Como consecuencia de este tratamiento y de la presencia posterior de SDS durante toda la separación (tanto en el tampón de electroforesis como en la composición del gel), las proteínas se mantienen desnaturalizadas.

El SDS tiene la propiedad de unirse a las cadenas polipeptídicas en una proporción masa:masa constante (1.4 g SDS/g de proteína), de modo que en el complejo SDS-proteína la carga de la proteína queda enmascarada por la de las múltiples moléculas de SDS y ésta es proporcional al tamaño (nº de aminoácidos). Esta electroforesis es discontinua pues utiliza dos geles: Un gel concentrador con bajo grado de reticulación y pH 6,8 (gel acumulador o "stacking gel").

Un gel separador con grado de reticulación mayor con valores entre 6% y 15%, pudiéndose también utilizar gradientes de concentración de acrilamida (gel separador). En la electroforesis en gel de poliacrilamida con SDS, la separación de proteínas se hace en función de la masa molecular. Tanto es así que la representación del logaritmo de la masa molecular frente a la distancia migrada obedece a una línea recta para gran número de proteínas.

Para que esta dependencia sea correcta, es preciso romper los puentes disulfuro intra- e intercatenarios, para lo cual es frecuente añadir durante la preparación de la muestra un agente reductor, generalmente 2-mercaptoetanol.

De este modo, la masa molecular observada corresponde a la de cada subunidad de una proteína, no a la proteína completa, al existir una relación lineal. Para aplicar la muestra al gel, se le suele añadir un agente que la haga más densa, generalmente glicerina o sacarosa.

Además, para seguir el avance de la separación, se añade un colorante, como azul de bromofenol. Éste tiene una movilidad mayor que la de cualquier macromolécula y, por tanto, si se aplica corriente hasta que el colorante esté a poca distancia del extremo inferior del gel, se tiene la seguridad de que ninguna macromolécula se ha salido del gel por avance excesivo.

MÉTODOS Y MATERIALES.

Material.

Microespatula

Mortero/Pistilo

Micropipetas 20µL/100µL/1000µL

Tubos Eppendorf

Tubos Falcon

Mango verde/maduro Tommy

Mango verde/maduro Autaulfo

Nitrógeno liquido

Agua destilada

Agua estéril

Buffer de extracción

Buffer de corrida (TRIS 25mM pH 8.3, Glicina 250 mM y SDS 0.1%)

Métodos.

Pretratamiento de la muestra. Para muestrear el mango se tomó uno de cada variedad: Tommy (monoembriónico) y Ataulfo (poliembriónico); cada uno en estado verde y estado maduro.

Primeramente se hizo un corte vertical en la pulpa de mango Ataulfo a nivel del hueso para ver el estadío de maduración de la pulpa, en este caso verde y maduro; después se hizo un segundo corte de la misma forma del otro lado del mango para dejar el hueso desnudo. Se realizó el mismo procedimiento en la variedad Tommy en ambos estadíos.

Se separó la cáscara de la pulpa de ambas variedades en ambos estadios y se trocearon. El proceso de corte se hizo lo más rápido posible para evitar degradación y contaminación de la muestra por lo que se hizo en frío con nitrógeno líquido. Las muestras fueron congeladas en paquetes de aluminio y guardadas en un refrigerador a temperatura de -20°C.

Posteriormente se hizo una molienda de una fracción de cada muestra en frio por medio de morteros y pistilos estériles utilizando nitrógeno líquido para evitar la descongelación de la muestra. El pulverizado de cada muestra fue almacenado en nuevas bolsa de aluminio a -20°C.

Extracción de proteínas. Se utilizaron fracciones de 100mg y 200mg de las muestras pulverizadas provenientes de cáscara verde y madura de la variedad Tommy para evaluar la concentración de proteínas presente en la muestra utilizando el buffer de extracción.

Se hizo un homogenizado de las muestras con el buffer de extracción en una relación 1:5. Se centrifugó durante 5min a 10 000 rpm, se recuperó el sobrenadante y se centrifugó por 15min a 10 000 rpm. Se desechó el sobrenadante quedando el pellet en el tubo Eppendorf al cual se le agregaron 500µL de buffer de extracción y se llevó a centrifugar por 10min a 10 000 rpm. Por último se resuspendió el pellet en 50 µL de buffer de extracción. Finalmente las muestras se mantuvieron en refrigeración por una noche.

Se corrió por 3 horas en un SDS-PAGE al día siguiente, se le añadió Azul de Comassie y se hicieron tres lavados dejando reposar toda la noche. Al día siguiente se reveló en un transiluminador de UV.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

A)

B)

Fig1. Estadío de mango Tommy. A) Verde B) Maduro

Fig2. Estadío de mango Ataulfo maduro.

El muestreo de los mangos se hizo a baja temperatura empleando nitrógeno líquido para evitar la contaminación y oxidación de dichas muestras, además de que facilita el proceso de pulverizado porque aumenta la fragilidad del material. Después de pulverizar las muestras se llevó a un proceso de extracción de proteínas.

Se centrifugaron estas muestras con una relación 1:5 de buffer de extracción con 100mg y 200mg de cada variedad de mango respectivamente. El primer paso de centrifugación nos sirvió para que precipitara la materia orgánica del mango y que en el sobrenadante quedaran solo macromoléculas por eso se recuperó esa parte. Después de volvió a centrifugar a 10 000 rpm para distinguir por pesos moleculares; buscamos el pellet porque ahí se encontraban las macromoléculas de mayor peso, en este caso las proteínas. Por esto mismo se tiró el sobrenadante ya que no ocupábamos otras macromoléculas.

Se usó un buffer de extracción que nos sirvió para que se conservaran las proteínas y que al centrifugar por una última vez no se rompieran. Por último se resuspendió en buffer para tener una solución concentrada de proteínas.

Ya que se tiene la solución se utilizó un gel base del kit de Biorad de acrilamida al 12% para SDS-PAGE. Una vez montado se le agregó el buffer de corrida y se cargaron los pozos en el siguiente orden: 1) Tommy cascara verde a 5µL. 2) Tommy cascara verde a 10µL. 3) Tommy cascara verde a 15µL. 4) Tommy cascara madura a 5µL. 5) Tommy cascara madura a 10µL. 6) Tommy cascara madura a 15µL. 7) Extracto crudo 5µL. 8) Extracto crudo 12µL. 9) Extracto crudo 25µL.

NOTA. El extracto crudo está constituido de materia orgánica, en este caso hojas de plantas sin importar su especie.

Se corrió por 3 horas en un SDS-PAGE y pasando este tiempo se le añadió un tinte el cual fue Azul de Comassie g-250, se dejó en agitacion orbital toda la noche. Al dia siguiente se realizaron 3 lavados con una sol de desteñido para posteriormente poder observar el gel en un transiluminador de UV y observar la presencia de proteinas.

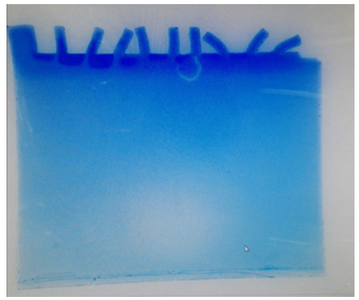


Fig 3. Gel de SDS-PAGE, bandas de proteínas.

CONCLUSIÓN

Como pensamientos finales después de ver los estadios de nuestros mangos de 2 variedades diferentes que en este caso fueron Tommy y Ataulfo, que presentaron características mono embrionarias y poli embrionarias respectivamente, se logró a través de una extracción de las proteínas de la cascara y pulpa, tener presentes cuales eran los elementos que nos serian útiles para nuestro análisis génico y para ver las características en especial lo pesos moleculares, se utilizó la técnica de SDS-PAGE, con el cual logramos tener las bandas de nuestras proteínas, las mismas que nos dejaran ver de qué genes se codifican y así poder observar mutaciones puntuales o la activación de genes en distintas situaciones de los sujetos de prueba en este caso mangos de distinta variedad, que para posteriores estudios será un escalón para avances en la tecnología genética agrícola.

BIBLIOGRAFIA

[1] Smithsonian Tropical Research Institute (2012) Manguifera indica, smithsonian institution: http://biogeodb.stri.si.edu/herbarium/species/13762/?search_key=Mangifera+indica

[2] Kent, SB (2009). «Total chemical synthesis of proteins». *Chemical Society Reviews* 38(2): 338-51

[3] Weber K, Osborn M (August de 1969). «The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis.». J Biol Chem. 244 (16): 4406-4412

[4] Universidad Nacional de Quimes (2013) TP2: Extracción y cuantificación de proteínas, Quilmes: https://ibcmunq.files.wordpress.com/2010/03/tp2.pdf

[5] Tabor S. (1990)."Expression using the T7 RNA Polymerase/promoter system". Current Protocols in Molecular Biology

[6] BARRETO J. (2008) "Characterization and Quantitation of Polyphenolic Compounds in Bark, Kernel, Leaves, and Peel of Mango (*Mangifera indica* L.)" pp. 5599-5610. http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf800738r

DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD DEL MÉTODO LAMP EN LA DETECCIÓN DE B. BOVIS EN SUERO BOVINO

C. M. Uribe Villarreal[1] y J. Mosqueda Gualito[2]

RESUMEN

Babesia bovis es un parásito intraeritrocítico transmitido por garrapatas que infecta al ganado bovino en regiones tropicales y templadas, causando enfermedad y muertes que afectan económicamente a la industria de la carne y el queso. Actualmente existen varios métodos de detección de *B. bovis* así como tratamientos contra la enfermedad, sin embargo es necesario el desarrollo de alternativas más baratas. El método de LAMP representa una alternativa viable en la detección de *B. bovis* ya que tiene mayor especificidad que las técnicas convencionales y es de bajo costo. En este proyecto se evaluó la sensibilidad del método de LAMP hasta concentraciones de 1.89 pg⁄µl de ADN.

ABSTRACT

Babesia bovis is an intraerythrocityc parasite transmitted by ticks that infects cattle in tropical and temperate regions, causing disease and death resulting in major economic losses to the beef and dairy industries. Nowadays there are many detection methods for *B. bovis* as well as treatments to fight the disease, however the development of cheaper alternatives has become necessary. The LAMP method represents a viable alternative in the detection of *B. bovis* since it is more specific and chaper than conventional techniques. In this project the sensitivity of LAMP method for the diagnosis of B. bovis was evaluated, resulting in amplifications up to 1.89 pg⁄µl.

Palabras Clave: LAMP, detección, B. bovis, bovino

INTRODUCCIÓN

El Laboratorio de Investigación de Inmunología y Vacunas (LINVAS) lleva a cabo investigación en el desarrollo de vacunas y métodos de diagnóstico contra hemoparásitos en los bovinos. Algunos de estos parásitos son *Babesia bigemina*, *Anaplasma marginale* y *Babesia bovis*, siendo este último, junto con su detección, el tema principal de este reporte.

Babesia bovis es un protozoario intraeritrocitario perteneciente al grupo Apicomplexa, formado por parásitos intracelulares de pequeño tamaño que poseen una estructura apical para la penetración de las células (Prats, 2005). Este organismo es responsable de causar babesiosis en bovinos de muchas regiones tropicales y templadas en el mundo. De los organismos que infectan animales, *Babesia bovis* es de particular importancia debido a su capacidad de causar enfermedad severa y frecuentemente fatal en ganados susceptibles, teniendo como consecuencia muertes, aumento en la tasa de abortos y esterilidad, además de una disminución de la producción de leche y carne además del costo de medidas preventivas y tratamientos, resultando en grandes pérdidas económicas a la industria de carne y lácteos (Gohil, 2012).

Aunque son varios los parásitos capaces de causar babesiosis en ganado, los más comunes son *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* y *Babesia divergens* (Gohil, 2012). Se calcula que más de la mitad del ganado mundial se encuentra en riesgo de enfermedad e infección por estos agentes. La distribución global de

[1]UAQ, Facultad de Química; Cerro de las Campanas s/n, Las Campanas, C.P: 76010, Querétaro, Qro, carlos_94_uv@gmail.com
[2]UAQ, Facultad de Ciencias Naturales; Carretera a Chichimequillas s/n, Ejido Bolaños, C.P.76140, Querétaro, Qro. joel.mosqueda@uaq.mx

estas especies es dependiente de las garrapatas *Rhipicephalus*, las cuales son responsables de la transmisión de estos parásitos entre el ganado. *Babesia bovis* junto con *B. Bigemina* son las más comúnmente transmitidas por los vectores *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* y *Rhipicephalus annulatus (Gohil, 2013)*.

Babesia bovis tiene un ciclo de vida conformado por varias etapas que son dependientes de la diferenciación celular del parásito, ya que dependiendo del hospedero y del medio en el que se encuentre, expresará una morfología diferente y adquirirá habilidades determinadas que le permitirán llevar a cabo las funciones específicas de cada etapa para sobrevivir.

La infección en el ganado bovino empieza cuando un esporozoito de *B. bovis* entra a los huéspedes susceptibles a través de la saliva de garrapatas. Una vez introducido en el torrente sanguíneo invade directamente a los eritrocitos (sin la necesidad de antes pasar por otros tipos celulares u órganos como el hígado) donde se transforma en un trofozoito. Cada trofozoito se divide una vez por fisión binaria pocas horas después de la invasión para posteriormente lisar la célula liberando dos merozoitos en circulación cada uno de los cuales invadirá individualmente otro eritrocito (se repite la etapa de trofozoito) propagando la infección (Mosqueda, 2012).

Al mismo tiempo, algunos merozoitos serán ingeridos por las garrapatas al alimentarse de la sangre de animal infectado y continuarán su ciclo en el hospedero invertebrado. Dentro la garrapata, los merozoitos maduros deberán diferenciarse en gametocitos y escapar del eritrocito al lumen intestinal para fusionarse con otro gametocito de diferente sexo y formar un zigoto. Cuando el zigoto está listo para entrar en la etapa de infección penetra las células intestinales de la garrapata donde forma cuerpos de fisión que se desarrollan en quinetos móviles, estos últimos tienen la capacidad de distribuirse en los distintos tejidos y tipos celulares (incluyendo los ovarios). Aquellos quinetos que migraron a las glándulas salivales forman un esporoblasto; estructura de la cual surgen miles de esporozoitos que entran al torrente sanguíneo del ganado por medio de la picadura de la garrapata (Mosqueda, 2012).

Debido a la replicación cíclica del parásito en las células rojas, la babesiosis se caracteriza por una aguda y crónica anemia hemolítica acompañada de un aumento de temperatura. Las complicaciones clínicas que pueden surgir por la infección son babesiosis cerebral, síndrome de dificultad respiratoria, falla de órganos y en muchos casos la muerte. (Cooke, 2015)

Actualmente existen métodos de detección de *B. bovis* así como tratamientos para curar la babesiosis, sin embargo, es importante el desarrollo de nuevas técnicas de menor costo que permitan prevenir la enfermedad e impedir su diseminación. El método de LAMP representa una oportunidad económica en la detección de *B. bovis* en suero bovino, por esta razón, el LINVAS ha logrado adaptar esta técnica a las cepas de *B. bovis* presentes en México y estandarizarla. El objetivo del proyecto presentado consiste en determinar la cantidad mínima de ADN necesaria que permita llevar a cabo una amplificación por el método LAMP a partir de sangre de bovino infectada.

MARCO TEÓRICO

LAMP (loop-mediated isothermal amplification) es un método de amplificación de ácidos nucleicos que, a diferencia del PCR, se lleva a cabo en condiciones isotérmicas y que además utiliza un conjunto de primers especialmente diseñados; dos externos y dos internos. Este método se basa en la síntesis de ADN por desplazamiento (Bst polimerasa) y en la formación de horquillas en los productos generados.

En las primeras etapas de la reacción los cuatro primers son utilizados, sin embargo, durante la siguiente etapa consistente en los ciclos de amplificación solo los primers internos participan en la síntesis de ADN por desplazamiento. Inicialmente, la Bst polimerasa genera a partir de los primers internos una cadena complementaria a una región específica de una hebra simple de ADN, dicha cadena es desplazada por la misma Bst polimerasa al polimerizar otra cadena a partir de los primers externos, los cuales

delimitan una región de mayor tamaño dentro de la cual se encuentra la región recién replicada. Una vez que las cadenas han sido separadas completamente, se forma una horquilla en cada extremo, este evento sucede gracias al diseño de los primers, el cual permite también la hibridación de otro primer con una secuencia dentro de cada horquilla, dando lugar a ciclos de amplificación sucesivos cuyos productos finales se presentan como un conjunto de cadenas de ADN de diferentes longitudes y con una variedad de estructuras dada por la formación de múltiples horquillas dentro de una misma cadena de ADN.

El uso de cuatro primers (reconocimiento de seis secuencias diferentes) en los pasos iniciales de la reacción de LAMP y dos primers (reconocimiento de cuatro secuencias diferentes) durante los pasos subsecuentes, asegura una alta especificidad para la amplificación. Aunado a esto, el método LAMP es capaz de amplificar a partir de pocas copias de ADN (mínimo 6) hasta 10^9 copias en una hora bajo condiciones isotérmicas (Notomi, 2000).

MÉTODOS Y MATERIALES

Obtención del suero bovino y confirmación de infección por B. bovis
La muestra de sangre fue extraída de la vena coccígea (localizada en la parte inferior de la cola) de un becerro infectado con *B. bovis*. Para confirmar la presencia del parásito se realizó un frotis sanguíneo el cual una vez seco, fue fijado con metanol y teñido con reactivo de Giemsa con la finalidad de colorear las células incluyendo aquellas alojadas en el citoplasma de su hospedero.

El frotis sanguíneo fue analizado en el microscopio para detectar de manera visual eritrocitos infectados por *B. bovis*, estos son fácilmente identificables ya que en su interior es posible observar merozoitos con la forma característica de dos peras en posiciones cercanas (Figura 1). Es importante mencionar que B. bovis se localiza en la ″pluma″, es decir en las zonas de los bordes del frotis donde las células se encuentran en menor cantidad y más espaciadas.

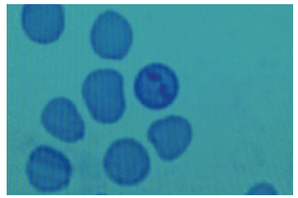


Figura 1. Dos merozoitos de B. bovis dentro de un eritrocito.

Purificación de ADN genómico de la muestra sanguínea.
Una vez confirmada la presencia de *B. bovis* en sangre, se procedió a purificar el ADN genómico de la muestra, para ello se utilizó el Ilustra blood genomic Prep Mini Spin Kit que permite extraer y purificar de manera rápida el ADN genómico de pequeños volúmenes de sangre. 200 µl de muestra fueron purificados y posteriormente se llevó a cabo una evaluación con NanoDrop para determinar la concentración y pureza del ADN en general (Tabla 1). De igual manera se corrió una electroforesis en gel de agarosa para corroborar la integridad de los ácidos nucleicos purificados (Figura 2), el gel fue revelado con bromuro de etidio y se observó la presencia de una única banda gruesa correspondiente al ADN genómico. La muestra en cuestión se cargó en el tercer carril de izquierda a derecha, las demás bandas corresponden a otras muestras con ADN genómico purificadas el mismo día, el carril de la derecha contiene el marcador de peso molecular (1kb).

Tabla 1. Concentración y pureza del ADN genómico.

Concentración [ng/µl]	18.9
Absorbancia a 260 nm	0.378
Absorbancia a 280 nm	0.201
Relación 260/280	1.88
Relación 260/230	0.68

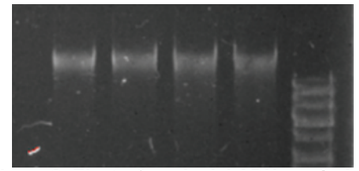


Figura 2. Electroforesis del ADN genómico.

Identificación previa de B. bovis por medio de PCR.
Antes de evaluar la sensibilidad del método LAMP se realizó una PCR para detectar la presencia de ADN de *B. bovis* en la muestra purificada, usando los primers externos (F3 forward, B3 backward) diseñados para la reacción de LAMP para corroborar su funcionamiento. El amplicón se encuentra dentro de la secuencia de RAP-1 (Rhoptry-associated protein 1), una proteína de unión al eritrocito con epítopes reconocibles por células B, con una longitud esperada de 298 pares de bases. El resultado fue positivo en la amplificación de ADN de *B. bovis*, la muestra se cargó en el carril de la orilla izquierda, el carril de la orilla derecha contiene el marcador de peso molecular de 1kb.

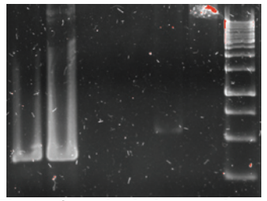


Figura 3. Electroforesis de los productos de PCR.

Evaluación de la sensibilidad del método LAMP.
El experimento consistió en la preparación de diluciones décuples a partir de la solución de ADN purificado. Para la primera dilución 1 µl de la muestra inicial fue diluido en agua estéril hasta un volumen de 10 µl, luego la solución fue homogenizada por pipeteo y se repitió el mismo proceso para las diluciones siguientes. Se realizaron cinco diluciones cuya concentración calculada de ácidos nucleicos se presenta en la Tabla 2.

Tabla 2. Concentración calculada de ADN en las diluciones.

Número de dilución	**D0**	**D1**	**D2**	**D3**	**D4**	**D5**
Concentración calculada (ng/µl)	18.9	1.89	0.189	0.0189	0.00189	0.000189

Como se mencionó anteriormente, el método LAMP requiere al menos cuatro primers para amplificar, por lo tanto, además de los primers externos F3 y B3 se añadieron también los primers internos FIP y BIP (forward inner primer y backward inner primer respectivamente). Otro componente de la reacción es la betaína, compuesto que facilita la disociación de cadenas complementarias para permitir la unión de los primers al ADN. Su uso es necesario puesto que el método LAMP se ejecuta en condiciones isotérmicas, de manera que no es posible desnaturalizar el ADN a partir del aumento de temperatura a 95°C.

Siete reacciones fueron preparadas en tubos de PCR, una correspondiente a la muestra inicial, cinco de las diluciones décuples y una última como control negativo, en el cual el microlitro de ADN fue sustituido por uno de agua. Las condiciones de la reacción fueron 63°C durante una hora seguido de un aumento de temperatura a 85°C por 3 minutos para inactivar a la Bst polimerasa.

RESULTADOS

Para comprobar que la amplificación se hubiera llevado a cabo, se montó una electroforesis con los productos de la reacción. En el primer experimento que se realizó, se observó en el gel que la amplificación no había tenido lugar, en este caso, el fallo se atribuyó a la falta de experiencia en el manejo de la micropipeta. Sin embargo, la reincidencia del mismo resultado al repetir el experimento sugirió la posibilidad de que los primers no estuvieran hibridando correctamente, este escenario era improbable debido a que el método ya había sido previamente estandarizado en el laboratorio, teniendo resultados satisfactorios.
Nótese como en la Figura 4 no es posible apreciar la banda de los primers en la posición 8 de izquierda a derecha, sustentando la posibilidad de que se hayan cometido errores en el pipeteo de las reacciones, de igual manera en la Figura 5 se observan las bandas compuestas por los primers que una vez más no hibridaron con el ADN genómico.
Se llegó a considerar también la posibilidad de que no hubiera ADN genómico en las muestras, específicamente en las diluciones, sin embargo, ese hecho no explicaba porque tampoco se había llevado a cabo la amplificación en la reacción de la muestra original, puesto que no solo se había comprobado la presencia de ADN de *Babesia bovis* en la muestra por medio de PCR, sino que además un miembro del laboratorio había llevado a cabo de manera exitosa la amplificación por el método de LAMP con ADN obtenido de esa misma muestra.

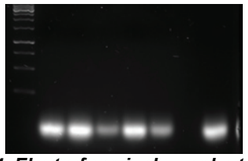


Figura 4. Electroforesis de productos de la reacción de LAMP, experimento 1.

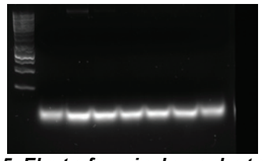


Figura 5. Electroforesis de productos de la reacción de LAMP, experimento 2.

Finalmente se optó por modificar el procedimiento y calentar las reacciones a 95°C por 10 minutos para promover la desnaturalización del ADN y la hibridación de los primers, así como adición de la Bst polimerasa posterior al calentamiento para evitar su inactivación por calor. Al igual que en los experimentos anteriores se corrió una electroforesis y fue entonces posible observar un resultado positivo.

Como puede observarse en la Figura 6 en el segundo carril no hubo reacción puesto que ahí se había cargado el control negativo. En el tercer carril correspondiente a la muestra sin diluir, se puede apreciar un barrido característico de la reacción de LAMP debido a la formación de distintas estructuras de ADN con tamaños variables durante la etapa de los ciclos.

Los siguientes carriles pertenecen a las diluciones, siendo el orden D1, D2, D3, D4 y D5, nótese que para la dilución 3 y 5 no hubo amplificación, muy probablemente debido una vez más al manejo de la micropipeta. Este experimento permitió evaluar la capacidad del método de LAMP de amplificar ADN en concentraciones de hasta 0.00189 ng/µl, nótese también, que la intensidad del último barrido visible es muy parecida a la de los barridos de las muestras de mayor concentración, poniendo de manifiesto que el método de LAMP no solo es muy sensible a bajas concentraciones, sino que además su rendimiento no se ve mayormente afectado por ellas.

Es importante mencionar que el método de LAMP no requiere de una electroforesis para conocer el resultado de la reacción, sino que este puede ser interpretado a simple vista a través de indicadores como el azul de hidroxinaftol, el cual hace virar la solución de color violeta a un azul cielo. Desafortunadamente en los experimentos no fue posible observar el vire de color en las reacciones

La ausencia de amplificación en el último carril puede ser atribuida a la incidencia de errores en el manejo de materiales o reactivos en el proceso puesto que, como se ha visto, la sensibilidad del método es muy alta teniendo además la capacidad de generar respuestas muy parecidas en las diferentes concentraciones, sin mencionar que son dos los carriles que carecen de barrido sustentando la posibilidad recién sugerida, por lo tanto, la parte del experimento de evaluar la amplificación de ADN a 1.89 pg/µl queda inconclusa.

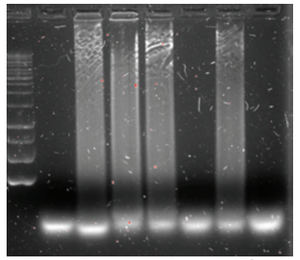


Figura 6. Electroforesis de productos de la reacción de LAMP, experimento 3.

CONCLUSIONES

El método de LAMP representa un gran campo de oportunidad en el desarrollo de nuevos métodos de detección de parásitos en suero sanguíneo de ganado, gracias a su alta sensibilidad y selectividad, facilitando la implementación de estrategias que permitan la prevención y disminución de las tasas de contagio. El método es además una opción viable debido a su bajo costo en comparación con otros métodos de diagnóstico y a que no requiere el uso de equipos especializados.

BIBLIOGRAFÍA

COOKE, B. et al (2005). “Cellular adhesive phenomena in apicomplexan parasites of red blood cells” en *Veterinary Parasitology,* Núm. 132, [pp. 273-295].
GOHIL, S. et al (2010). “Recent insights into alteration of red blood cells by Babesia bovis: moovin forward” en *Trends in Parasitology,* Núm. 12, Vol. XXVI, diciembre [pp. 591-599].
GOHIL, S. et al (2013). “Bovine babesiosis in the 21st century: Advances in biology and functional genomics” en *International Journal for Parasitology,* Núm. 43, [pp. 125-132].
MOSQUEDA, J. et al (2012). “Current advances in detection and treatment of babeiosis” en *Current Medical Chemistry,* Núm. 10, Vol. XIX, [pp. 1504-1518].
NOTOMI, T. et al (2000). “Loop-mediated isothermal amplification of DNA” en *Nucleics Acids Research,* Núm. 12, Vol. XXVIII, [pp. 1-7].
MOTOKI, G. et. al (2009) “Colorimetric detection of loop-mediated isothermal amplification reaction by using hydroxy naphthol blue” en *Short Technical Reports,* Núm. 3, Vol. XLVI, [pp. 167-172].
PRATS, G. (2005). *Microbiología Clínica,* Madrid: Editorial Médica Panamericana
YOKOYAMA, N. et al (2002). “Cellular localization of Babesia bovis merozoite Rhoptry-associated protein 1 and its erihrocyte-binding actvity” en *Infection and Inmunity,* Núm. 10, Vol. LXX, octubre [pp. 5822-5826].

MICROENCAPSULACIÓN DE BETALAÍNAS DE TUNA PURPURA CON FIBRA Y MUCILAGO DE NOPAL TRATADOS CON ULTRASONIDO

Tannya Valencia Flores[1] y Myrna Alicia Abraján Villaseñor[2]

RESUMEN

La industria de alimentos se ve en la necesidad de adicionar componentes que les den valor agregado a sus productos. Un proceso mediante el cual se puede lograr la conservación de estos componentes, es el empleo de tecnologías novedosas como la microencapsulación puede liberar su contenido a velocidades controladas bajo condiciones específicas a la vez que protege al compuesto encapsulado de la luz y el oxígeno, En esta investigación se llevó a cabo la microencapsulación de aditivos de color natural obtenidos a partir de extractos de tuna purpura a través de ultrasonido. Se realizaron análisis sobre estabilidad a luz y temperatura, parámetros de color, humedad, actividad de agua, pH, grados brix.

ABSTRACT

The food industry is the need to add components to give them added value to their products. A process which can achieve the conservation of these components is the use of innovative technologies such as microencapsulation can release their contents at controlled rates under specific while protecting the encapsulated compound of light and oxygen conditions This research was conducted microencapsulation additive natural color obtained from extracts of purple prickly pear through ultrasound, analysis stability to light and temperature parameters color, moisture, water activity, pH, brix were performed.

Palabras clave: Microencapsulación, Ultrasonido, Tuna

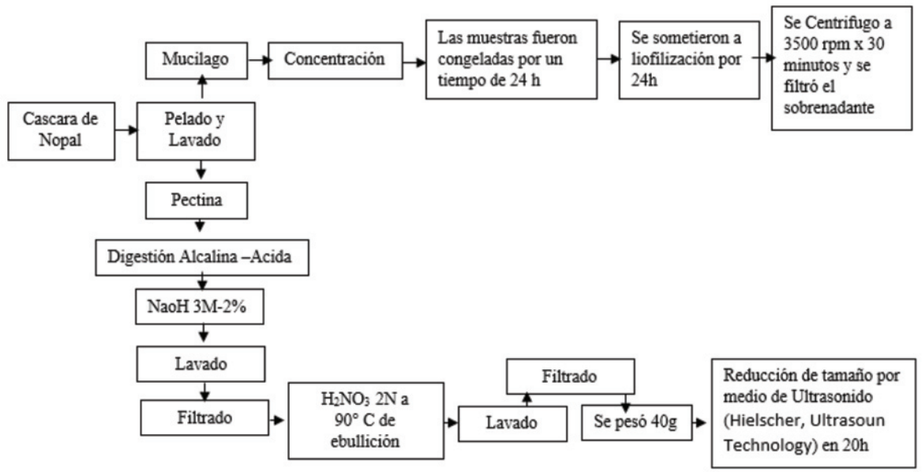
INTRODUCCIÓN

El consumo de alimentos sanos ha sido un tema de interés, sobre todo aquellos que garanticen la inocuidad, las características nutrimentales y los aspectos sensoriales del mismo (Hoover, 2000). La tuna es una fruta que está siendo considerada como un alimento de importancia neutracéutica y funcional, ya que posee constituyentes conocidos como promotores de la salud (Piga, 2004). O*puntia ficus idica* es una fuente de betalaínas: las cuales podrían utilizarse potencialmente como colorantes en la industria de alimentos. Tradicionalmente las betalaínas son inestables frente a factores medio ambientales (luz, oxigeno, temperatura y agua por lo cual pueden degradarse perdiendo su capacidad colorante y antioxidante. La encapsulación se presenta como herramienta para la obtención y protección de estos pigmentos. (Vergara, 2013) Es un método frecuentemente utilizado para conservar su efectividad, así como para ampliar su intervalo de aplicación.El empleo de ondas ultrasónicas aplicadas durante el alimento, mejora sus propiedades y, promoviendo la homogenización y la emulsificacion de sus ingredientes obteniendo cambios físicos y químicos en el producto. En esta investigación se realizó microencapsulación utilizando como material encapsulante mucilago y fibra de nopal a través de ultrasonido.

[1] Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Departamento de Horticultura; Calzada Antonio Narro, Buenavista, #. 1923 C.P: 25315, Saltillo, Coahuila, shsss.12@live.com
[2] Universidad Autónoma De Aguascalientes, Departamento De Ingeniería Agroindustrial, Jesús María, Ags, C.P 20924, Jesús María, Aguascalientes. maabraj@correo.uaa.mx

MATERIALES Y MÉTODOS

Extracción de pectina y mucilago a partir de cascara de nopal



Encapsulación de betalaínas de tuna con extractos de mucilago y fibra de nopal

Mezclamos 100ml de mucilago con 3g de fibra en plancha con bala magnética por 15 minutos, se dejó en ultrasonido (Hielscher,Ultrasoun Technology) con un ciclo de 0.5 y 50% de amplitud por un tiempo de 30 minutos, añadimos 40 ml de pigmento, posteriormente se congelo por 24 horas, fue puesto a liofilizar por 24 h y debido a la cantidad de azucare presentes la consistencia fue poco favorable por lo tanto se agregó dextrina y el almidón como medios dispersantes y disolventes de la glucosa presente. Se dejó secar a temperatura ambiente, se molió con ayuda de un procesador de alimentos, se tamizaron las muestras, obteniendo los tamaños >0.015, <0045 µm y <0045 >325 µm.

Determinación de humedad en la fibra de nopal

Principio: El método para determinar la cantidad de agua presente en la muestra se basa en la pérdida de peso de la muestra por calentamiento en una estufa, refiriendo su peso al peso total de la muestra y es expresada en porcentaje

A cada crisol se le añadieron 3 gr de muestra (fibra), se sometieron los crisoles al horno de secado 24 hr aproximadamente a una temperatura 80°C, se determinó el color antes y después del secado

Estabilidad a la temperatura del colorante microencapsulado

Se tomaron 12 ml para cada muestra y se adiciono a tubos de ensayo, en plancha magnética hasta llegar a la temperatura 80°C, tomándose lectura en espectrofotómetro color L* a* b* cada 5min por 1hr

Estabilidad al cambio de pH del colorante microencapsulado

Se tomaron 12 ml para cada muestra adicionándolos a un vaso de precipitado, con ayuda de una pipeta Pasteur agregamos ácido clorhídrico 0.5 N para bajar pH e hidróxido de sodio 0.1N subirlo, tomamos lectura en espectrofotómetro color L* a* b del pH 1 a 14

Estabilidad a luz del colorante microencapsulado

Se tomaron 12 ml para cada muestra, se sometieron a luz ultravioleta por 24hr, igualmente se sometieron a luz blanca, se tomó lectura cada 2hr medimos en espectrofotómetro color L* a* b*

Aplicación de la encapsulación en gomitas

Se puso agua1 a hervir a temperatura de 85°C, disolvimos 365g de jarabe de maíz y sacarosa en agua, se mezcló 10.6g de grenetina con agua y pigmento al 7% (pigmentos utilizados: capsulas de almidón, fibra y mucilago de tamaño >0.015 <004, µm fibra y mucilago tamaño y <0045 >325 µm, fibra, mucilago y dextrinas) cubrimos y metimos a refrigeración Disolvimos ácido cítrico 128g en agua1 Mezclamos grenetina con el pigmento, ácido cítrico, saborizante, jarabe de maíz, Cubrimos con almidón dejamos reposar un día y anotamos resultados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla.1. Determinación de grados °Brix y pH

Muestra	° Brix	pH
Mucilago	22.5	5
Fibra	10	6.8
Pigmento	10.6	4.9

Tabla.2. Determinación de humedad mezcla de fibra y mucilago

Repeticiones	Humedad
1	24.16%
2	23.61%
3	24.33%
Promedio	24.033

Tabla.3. Determinación de color de los distintos extractos

Color	Sin encapsular	Encapsulación con almidón	Encapsulación con dextrinas
L*	31.2233333	32.3333333	32.3766667
a*	1.18333333	2.82	2.02
b*	1.51666667	1.73333333	1.63

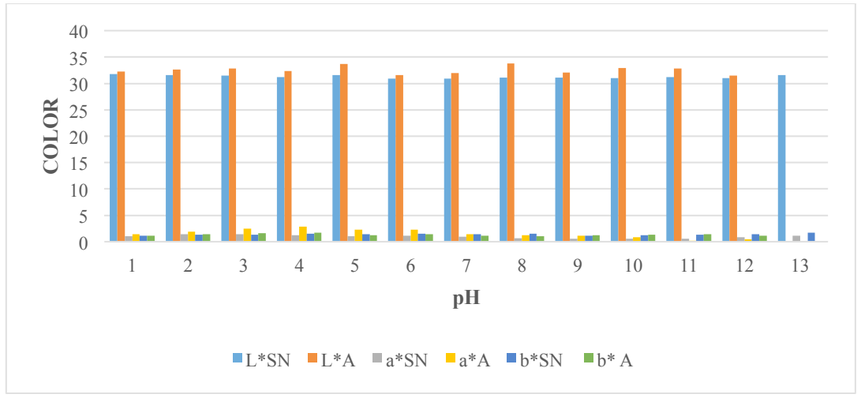


Grafico 1. Comparación de color L* a* b* SN (Sin encapsular) y A (Almidón) dependiendo al pH

Las betalaínas son estables en el rango de pH entre 3.5-7, rango en el que se encuentran la mayoría de los alimentos (Delgado Vargas et al., 2000) Se pudo observar que al aumentar la acidez el color pasa de rojo a rojo café. En el encapsulado con almidón a* disminuye y en sin encapsulación a* y b* disminuyen.

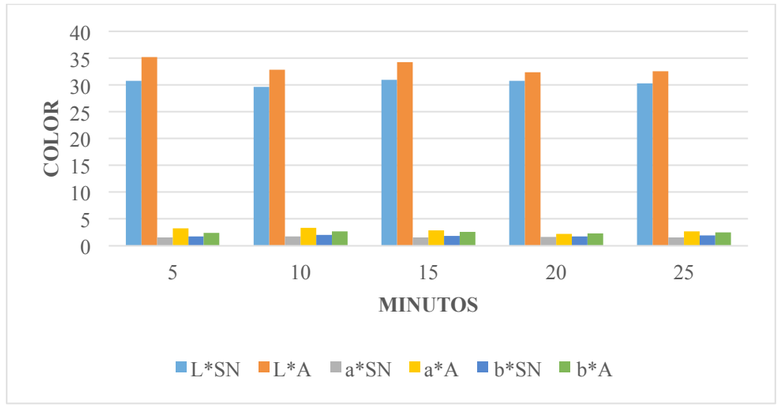


Grafico 2. Comparación de color de L* a* b* SN (Sin encapsular) y A (Almidón) a temperatura de 80°C por 25 minutos

Al calentar soluciones de betanina se produce una reducción gradual del color característico de este pigmento con la aparición de pardeamiento (von Elbe et al.,1974) En este caso se observó una ligera significancia en el color al pasar el tiempo ya que todos se encuentran en los mismos rangos por lo que se podría aumentarse el tiempo.

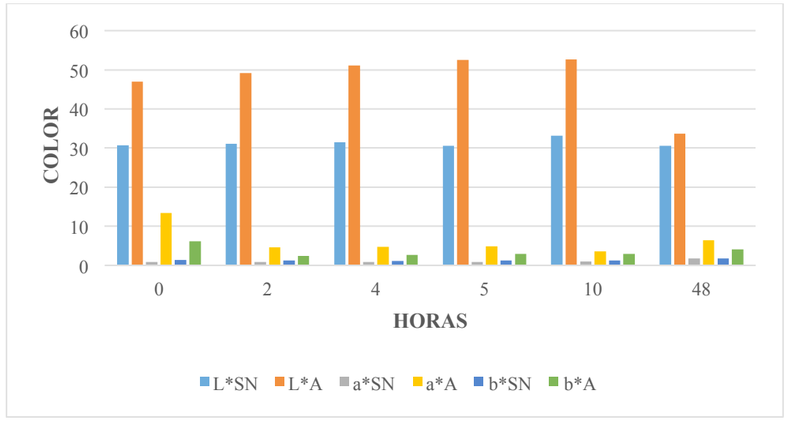


Grafico 3. Comparación de color de L* a* b* SN (Sin encapsular) y A (Almidón) en luz ultravioleta y luz blanca

Las degradaciones de las betalaínas decrecen 15,6% después de la exposición en un día a la luz a temperatura de 15°C (Attoe y Von Elbe,1985) con el paso del tiempo los colores del encapsulado con almidón disminuyen ligeramente en L* y b*, y sin encapsular los colores a* b* .

Tabla.4. Determinación del contenido de agua

Muestra	AW
Encapsulado >0.015 <004	0.418
Encapsulado <0045 >325	0.415
Encapsulado con dextrinas	0.422

Tabla.5. Propiedades físicas y químicas de la aplicación en gomitas

Características	Encapsulado <0045 >325	Encapsulado >0.015 <004	Encapsulado con dextrinas
Textura	Chiclosa	Suave	Suave
Sabor	Cereza acida	Cereza acido	Cereza acido
Color	Amarillo Pálido	Amarillo	Durazno
Acidez	SI	SI	NO
Resistencia	NO	NO	NO
Rebote	Si	SI	NO
pH	3.43	3.47	3.49

CONCLUSIÓN

Las betalaínas son inestables frente a factores ambientales como luz, oxigeno, pH $_{y}$ temperatura entre otros, por esta razón la microencapsulación se presenta como herramienta para proteger y mejorar su estabilidad, en esta investigación la utilización del ultrasonido como degradante de las partículas

mucilago y fibra funciona sin embargo la consistencia resulto poco favorable debido al contenido de azucares. Las pruebas realizadas y la aplicación no resultaron de lo más favorable debido a que la búsqueda del color no fue concluida, por lo que es una prueba para continuar con la investigación.

BIBLIOGRAFÍA

Hoover.D.G.2000.Ultrasound. J. Food Sci. Suppement Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing technologies.

Piga, A.2004.Cactus pear:a fruit of nutraceutical and functional importante.Journal of Professional Association for cactus develop

Von Elbe, J.H. 1981.Photochemical degradation of betanine and selected anthocynins.Journal of Food Science

Delgado –Vargas, F., Jimenez, A.R. y Paredes-Lopez, O. 2000.Natural pigmets:carotenoids, anthocyanins, and betalains characteristics, biosynthesis, processing,and stability.Critical Reviews in Food Science and Nutrition.

ATTOE, E.L.; VON ELBE, J.H. Oxygen involvement in betanine degradation: effect of antioxidants. J. Food Sci. 50:106-110. 1985.

Vergara. 2013.Etracción y estabilización de betalaínas de tuna purpura (*opuntia ficus indica*) mediante tecnología de membranas y microencapsulación, como colorante alimentario. Universidad de chile. Santiago Chile.

INVESTIGACIÓN EN NUTRIENTES ORGÁNICOS PARA LA ELABORACIÓN DE BIOFERTILIZANTES

Guillermo Vargas Martínez[1] y Raúl Armenta Villanueva[2]

RESUMEN

Ante la gran problemática presentada en el sector agropecuario, los biofertilizantes son el complemento perfecto para los insumos químicos aplicados en la agricultura convencional de manera que pueda brindar nutrición y protección vegetal a los cultivos y protección al suelo con los cuales, se logra reducir el uso de fertilizantes químicos.

Para esto se requiere investigar componentes de biofertilizantes y sus beneficios en el suelo para que cumpla con el objetivo de tener un costo menor ser y amigable con el ambiente. Seleccionamos cuatro componentes para la formulación de un nuevo biofertilizante que podría elaborarse para un próximo proyecto de investigación

ABSTRACT

Given the great problems presented in the agricultural sector, biofertilizers are the perfect complement for chemical inputs applied in conventional agriculture so that it can provide nutrition and plant protection of crops and protection of the soil which is achieved reducing the use chemical fertilizers.

This requires research components of bio-fertilizers and its benefits on the ground to fulfill the objective inexpensive and environmentally friendly. We selected four components for the formulation of a new bio-fertilizer that could be formulated for an upcoming research project.

Palabras Clave: Biofertilizante, agroquímicos y microorganismo

INTRODUCCIÓN

La interpretación del término biofertilizante es muy amplia, representando desde microorganismos, abonos verdes y estiércoles, hasta extractos de plantas. De manera sintetizada, podemos decir que son productos que contienen microorganismos, que al ser inoculados pueden vivir asociados o en simbiosis con las plantas y le ayudan a su nutrición y protección[1]. Estos microorganismos se encuentran de forma natural en el suelo y abarcan diversos grupos; sin embargo, su población es afectada por el manejo de suelo y uso excesivo de agroquímicos [2].

De acuerdo con Vessey dentro de los biofertilizantes debe incluirse cualquier microorganismo que promueva el crecimiento de las plantas incrementando el suministro o la disponibilidad de nutrientes primarios a la planta hospedera, ya sea favoreciendo el reabasteciendo de los nutrientes del suelo (por ejemplo, a través de la fijación biológica de nitrógeno), aumentando la disponibilidad de estos nutrientes (por ejemplo mediante la solubilización de fosfatos) o bien ampliando el acceso físico de las plantas a estos nutrientes (por ejemplo, incrementando el volumen o modificando la estructura de las raíces)[3].

Producción de biofertilizantes

La producción de biofertilizantes se centra en países desarrollados donde es una práctica adoptada. Se fabrican por empresas gubernamentales o privadas e incluyen micorrizas, *Rhizobium, Azospirillum, Azotobacter, Bacillus, Pseudomonas* y agentes de biocontrol como *Trichoderma*. Los inoculantes son inocuos y se requiere de un cuidadoso manejo para no menguar su efectividad. En muchos países en desarrollo no hay industrias de inoculantes, lo cual hace aún más difícil su popularización. Además, en

[1] Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Departamento de Ciencias del Suelo Calzada Antonio Narro #1923 col. Buenavista, C.P: 25315, Saltillo, Coahuila, México. ikmemo76@gmail.com
[2] Instituto Tecnológico Superior de Irapuato. Carretera Irapuato - Silao Km. 12.5, Col. El Copal, C.P: 36821. Irapuato, Guanajuato, México. Teléfono: (462) 6-06-79-00 Ext. 175; raul.armenta@itesi.edu.mx

muchas áreas rurales hay una renuencia básica a usar bacterias y hongos como microorganismos benéficos, en estas culturas los microbios están asociados con enfermedades humanas y de animales [4].

En los diferentes países latinoamericanos, existe una amplia gama de factores tanto favorables como desfavorables que influyen en la calidad, producción y distribución de los biofertilizantes. En ocasiones, las empresas no cuentan con almacenes apropiados a gran escala o la estructura necesaria para su transportación. En otros, la tecnología e infraestructura para su producción no está desarrollada. Es evidente que se necesita un organismo regulatorio que ejerza un fuerte control de los inoculantes presentes en el mercado para evitar que el agricultor adquiera productos de baja calidad [5].

MÉTODOS Y MATERIALES

Tomando como referencia a (Sampieri) [6], esta investigación tendrá un enfoque exploratorio El diseño de la investigación es documental no experimental puesto que solo se harán consultas de material bibliográfico para elaborar la propuesta final, la cual se plantea tendrá beneficios tanto a los cultivos y su producción como al suelo disminuyendo su desgaste

En esta investigación se busca componentes de diferentes biofertilizantes y los beneficios que aportan al cultivo y el suelo, partiendo de lo investigado proponer un biofertilizante que ayude a mejorar las condiciones de la producción agrícola permitiendo que se aprovechen mejor los nutrientes con el menor desgaste posible en el suelo y sus consecuentes beneficios.

RESULTADOS

Componentes seleccionados para la propuesta del bioferlizante

Exudado o Líquido de lombriz

Los residuos de cosecha, basuras orgánicas, estiércoles sólidos y líquidos, abonos verdes y deyecciones de lombrices, son materiales orgánicos que se descomponen fácilmente cuando se aplican al suelo formando humus y produciendo elementos nutritivos para las plantas especialmente nitrógeno, potasio, azufre, calcio, magnesio, hierro, manganeso y boro (Muñoz, 1994) [7].

Cuadro 1. Composición del humus líquido de lombriz.

Parámetros	Unidades	Símbolo	Contenido
Nitrógeno	%	N	0.65
Fósforo	%	P	0.01
Potasio	%	K	1.21
Calcio	%	Ca	1.87
Magnesio	%	Mg	1.06
Sodio	%	Na	1.51
Ácidos húmicos	%	AH	5.01
Ácidos fúlvicos	%	AF	1.48
Hierro	Mg kg^{-1}	Fe	14
Zinc	Mg kg^{-1}	Zn	2.3
Manganeso	Mg kg^{-1}	Mn	3.1
Cobre	Mg kg^{-1}	Cu	3.1
Boro	Mg kg^{-1}	Bo	27
Flora microbiana benéfica	Ufc/ml	Fmb	$1.1x10^{6}$

Fuente: Planta de Lombricultura. Sección Agrotecnia. 2008.

Suero de leche: Principalmente tiene la función de reavivar el biopreparado, de la misma forma que lo hace la melaza aporta proteínas, vitaminas, grasa y aminoácidos para la formación de otros compuestos orgánicos que se generan durante el periodo de la fermentación del biofertilizante, al mismo tiempo les permite el medio propicio para la reproducción de la microbiología de la fermentación [8].

Melaza : Aporta con la energía necesaria para activar el metabolismo microbiológico, para que el proceso de fermentación se potencialice, además de aportar otros componentes en menor escala como son algunos minerales, entre ellos; calcio, potasio, fósforo, boro, hierro, azufre, manganeso, zinc y magnesio[9].

Tabla 1. Composición de los sueros de leche dulce y ácido.

Componente (g/L)	Suero de leche dulce	Suero de leche ácido
Sólidos totales	63.0 - 70.0	63.0 - 70.0
Lactosa	46.0 - 52.0	44.0 - 46.0
Grasa	0.0 - 5.0	0.0 - 5.0
Proteína	6.0 - 10.0	6.0 - 8.0
Calcio	0.4 - 0.6	1.2 - 1.6
Fósforo	0.4 - 0.7	0.5 - 0.8
Potasio	1.4 - 1.6	1.4 - 1.6
Cloruros	2.0 - 2.2	2.0 - 2.2

Adaptado de Panesar (2007), Callejas (2012).

COMPOSICIÓN: valores expresados en % peso/peso sobre muestra húmeda:

pH	5.0	
C. E. (mS/cm)	31.5	
DENSIDAD (Kg/l)	1.4	
HUMEDAD (%)	26.0	(a 110ºC)
CENIZAS (%)	12.30	(Por calcinación 550ºC)
MATERIA ORGÁNICA (%)	61.7	(Por calcinación 550ºC)
EXTRACTO HUMICO TOTAL (%)	56.5	
NITRÓGENO TOTAL (%N)	1.3	
FOSFORO TOTAL (% P_2O_5)	0.5	
POTASIO TOTAL (% K_2O)	4.0	

Tabla II.1. Intervalos usuales para la composición elemental de las sustancias húmicas. *(Steelink, 1985).*

Elemento	Ácidos Húmicos(%)	Ácidos Fúlvicos(%)
Carbono	53,8-58,7	40,7-50,6
Oxígeno	32,8-38,3	39,7-49,8
Hidrógeno	3,2-6,2	3,8-7,0
Nitrógeno	0,8-4,3	0,9-3,3
Azufre	0,1-1,5	0,1-3,6

Sustancias humicas : Las sustancias húmicas (HS) son mezclas complejas y heterogéneas de materiales polidispersados formados en suelos, sedimentos y aguas naturales por parte de las reacciones bioquímicas y químicas durante la descomposición y transformación de restos vegetales y microbianos (un proceso llamado humificación). Lignina planta y su transformación productos, polisacáridos, la melanina, cutina, proteínas, lípidos, ácidos nucleicos, partículas finas del carbón de leña, etc., son componentes importantes que participan en este proceso (International Humic Substance Society) [10].

Mejora de la estructura del suelo incidiendo, de ese modo, en la relación agua-aire en la rizosfera[17].
Incremento en el suelo la actividad microbiana[11].

Al evaluar abonos orgánicos lombricomposta, composta, micorrizas y fertilizante químico, en el cultivo de cebolla los resultados demostraron que la mejor respuesta de los caracteres longitud, número y peso seco de raíces y diámetro de bulbo lo presentaron los biofertilizantes [12].

Propuesta del biofertilizante

En base al análisis de las tablas seleccionadas se propone los siguientes componentes para la creación de un nuevo biofertilizante que cumple con los objetivos planteados en la investigación

Componente	Melaza	Suero de leche (g/L)		Sustancias húmicas		Liquido o exudado de lombriz
		Suero dulce	Suero acido	AH	AF	
N	1.3 %			0.8-4.3 %	0.9-3.3%	0.65 %
P	0.5 %	0.4-0.7	0.5-0.8			0.01 %
K	4.0 %	1.4-1.6	1.4-1.6			1.21 %
Ca		0.4-0.6	1.2-1.6			1.87 %
Mg						1.06 %
Na						1.51 %
AH						5.01 %
AF						1.48 %
Fe						14 Mg kg
Zn						2.3 Mg kg
Mn						3.1 Mg kg
Cu						3.1 Mg kg
S				0.1-1.5 %	0.1-3.6 %	
B						27 Mg kg
PROTEINA		6.0-10.0	6.0-8.0			
FMB						1.1x10

CONCLUSIONES

Los biofertilizantes son más baratos de producir que los fertilizantes químicos y eso permite que su precio sea más bajo que el de los fertilizantes químicos y por tanto se reducen los costos de producción.
Por ello, es importante explorar alternativas que detengan el deterioro del suelo como el uso de Biofertilizantes. Estos son una opción para el agricultor que le permite enfrentar los altos costos de la fertilización química y disminuir los efectos contaminantes al ambiente que éstos tienen y a su vez mejorar las condiciones del suelo.
El uso de biofertilizantes tendrá un impacto positivo en el suelo con problemas de fertilidad, pérdida de materia orgánica y disminución de la actividad biológica y además actuaría como un complemento a la fertilización química lo que permite aumentar en la mayoría de los casos el rendimiento Esta investigación es el punto de partida para un estudio posterior de mayor profundidad.

BIBLIOGRAFIA

1. Duxbury, J. M. 1994. The significance of agricultural sources of greenhouse gases. Fert. Res. 38: 151-163
2. (Voet, 1996: 8)
3. Vessey, J. K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteriaas biofertilizers. Plant Soil. 255:571-586.
4. (Caballero-Mellado *et al*., 1992; Grageda-Cabrera *et al*., 2003).

5. Vessey, J. K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteriaas biofertilizers. Plant Soil. 255:571-586.
6. Manual teórico-práctico Los Biofertilizantes y su uso en la Agricultura SAGARPA-COFUPRO-UNAM.
7. (Grageda-Cabrera .2008)
8. (Sampieri, Fernández, Metodología de la investigación 5a edición .Mc Graw Hill)
9. Muñoz, R. 1994. Los abonos orgánicos y su uso en la agricultura. pp. 293-304. En: Fertilidad de suelos diagnósticos y control. Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo. Editorial Guadalupe Ltda., Bogotá. 524 p.
10. (Jairo Restrepo Rivera Cali, 2007 Biofertilizantes preparados y fermentados a base de mierda de vaca)
11. (Piccolo et al., 1997).
12. (Ocio et al., 1990)
Referencia http://www.humicsubstances.org/

MICROENCAPSULACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS EXTRAÍDOS DE LA CASCARA DE TUNA CON ASISTENCIA DE ULTRASONIDO

Paulina Vargas Rodríguez[1] y Myrna Alicia Abraján Villaseñor[2]

RESUMEN

La tuna Cardona (*Opuntia streptacantha*), es una buena fuente de betalaínas y México es uno de los principales productores de tal fruto, se ha extraído este pigmento de la cascara de la tuna (% acidez=0.05, 10.4°Bx y pH= 4.9, y L*=30.48±0.32, a*=1.69±0.10 y b*=1.79±0.12), para posteriormente microencapsularlo mezclando con fibra de la cascara de nopal forrajero (humedad= 75.95%, Aw=0.457, y L*=88.84±0.53σ, a*=-1.03±0.01σ y b*14.95±0.10σ) y mucilago del mismo, tratando la muestra con ultrasonido y posteriormente liofilizarlo. Lo anterior se hizo con dos tamaños distintos de fibra (>0.015, <0045 y otra de <0045 325), luego de que ambas estuvieron microencapsuladas se midió color, siendo la fibra de tamaño más grande la que tuvo mejor absorción de color (ΔE=44.66) y luego fueron aplicadas en gomitas.

ABSTRACT

The Cardona prickly pear (*Opuntia streptacantha*), is a good source of betalains and since Mexico is one of the leading producers of such fruit, this pigment has been extracted from the skin of the prickly pear (% acidity = 0.05, 10.4°Bx and pH = 4.9, and L * = 30.48 ± 0.32, a * = 1.69 ± 0.10 and b * = 1.79 ± 0.12), later microencapsulating mixing fiber shell forage nopal (humidity = 75.95%, Aw = 0.457, and L * = 88.84 ± 0.53σ, a * = - 1.03 ± 0.01σ b * 14.95 ± 0.10σ) and mucilage thereof, treating the sample with ultrasound and then freeze-drying. This was done with two different sizes of fiber (> 0.015 <0045 and another <0045 325), after both were microencapsulated color is measured, with the fiber size larger which was better absorption color (.ΔE = 44.66) and then were applied gummies.

KEYWORDS: *Opuntia streptacantha*, betalains, microencapsulation, freeze-dryer, prickly pear, mucilage, functional food

INTRODUCCIÓN

En años recientes, los consumidores se han vuelto más consientes sobre la importancia de una alimentación sana y natural, tanto en la forma de fabricar alimentos y consumirlos. Una parte de esta realidad es el uso de productos naturales como colorantes. De esta manera hay una gran extensión de colorantes naturales, extraídos de diferentes materias primas naturales, ricas en compuestos tales como antocianinas, carotenoides y clorofilas. A parte de estos, hay un grupo de compuestos químicos que se han estudiado muy poco, las betalaínas.[1]
Las betalaínas son compuestos solubles en agua presentes en un número limitado de familias de plantas del orden Caryophyllales.[2] Han sido numerosas las ventajas reportadas por consumo de alimentos ricos

[1] Universidad Autónoma de Zacatecas, Programa de Químico en Alimentos, Campus UAZ siglo XXI, carr. Guadalajara km 6, ejido la escondida, C.P. 98160, Zacatecas, Zac., pau06_vr@hotmail.com
[2] Universidad Autónoma de Aguascalientes, Centro de Ciencias Agropecuarias. Departamento de Tecnología de Alimentos. Ave. Universidad 940, Ciudad Universitaria, Aguascalientes, Ags. CP 20131. maabraj@correo.uaa.mx

en betalaínas, como efectos en la actividad antioxidante, antiviral, anti-inflamatorio y anticancerígenos.[3,4] Las betalaínas se estructuran en dos familias químicas (betacianinas y betaxantinas). La fracción común de ambas familias químicas corresponde a ácido betalámico, y la naturaleza del residuo adicional determina la clasificación de pigmento como betacianinas (derivados del ácido hidroxicinámico o azúcares) o betaxantinas (aminas o aminoácidos),[5] con un máximo de absorción alrededor de 540 y 480 nm, respectivamente.[3,6]

Opuntia ficus-indica es un tipo de cactus que ofrece tunas comestibles. Este tipo de cactus se cultiva ampliamente en el mundo debido a su adaptabilidad a las condiciones difíciles (zonas áridas y semiáridas). Recientemente, el estudio del fruto del cactus se ha vuelto más y más prominente debido a su alto contenido de betalaínas y otros compuestos fenólicos. De hecho, estos compuestos han sido estudiados previamente en esta materia en diferentes partes comestibles y no comestibles de tunas como pulpa, cascara y semillas.[1]

La microencapsulación es definida como una tecnología de empaquetamiento de materiales sólidos, líquidos o gaseosos, consiste en micropartículas conformadas por una membrana polimérica porosa contenedora de una sustancia activa. Las microcápsulas selladas pueden liberar sus contenidos a velocidades controladas bajo condiciones específicas, y pueden proteger el producto encapsulado de la luz y el oxígeno. Una microcápsula consiste de una membrana semi-permeable, esférica, delgada y fuerte alrededor de un centro solido/líquido. Algunos materiales que se utilizan para el encapsulamiento pueden ser gelatina, grasas, aceites, goma arábiga, alginato de calcio, ceras, almidón de trigo, ciclodextrina, maltodextrina, caseinato de sodio, proteína de lactosuero o proteína de soya.

Algunas de las aplicaciones de la microencapsulación se dirigen a la industria textil, metalúrgica, química, alimenticia, cosméticos, farmacéutica y medicina. Dentro de las técnicas utilizadas para microencapsular se encuentran el secado por aspersión, secado por enfriamiento, secado por congelamiento, coacervación y extrusión. Las sustancias a microencapsular pueden ser vitaminas, minerales, colorantes, prebióticos, probióticos, sabores nutraceúticos, antioxidantes, olores, aceites, enzimas, bacterias, perfumes, drogas e incluso fertilizantes.

El nopal o planta de tuna es una cactácea endémica de América. Existen 258 especies reconocidas, 100 de las cuales se encuentran en México, quien cuenta con una superficie aproximada de 10,000 hectáreas (ha) de plantaciones especializadas en nopal para consumo humano.[7] Este puede ser un cultivo alternativo para zonas con problemas por bajos rendimientos debido al empobrecimiento paulatino de los suelos o lugares donde hay deficiencia de agua para los cultivos tradicionales, siendo el caso de la parte norte de la República Mexicana.[8]

En los últimos años se ha incrementado el interés en la búsqueda de fuentes importantes de antioxidantes naturales, para que se pueda contribuir a la producción de alimentos con un valor agregado y así estimular el consumo de estos productos.[9] El nopal es considerado un alimento funcional, ya que además de proporcionar sabor y nutrición puede ofrecer beneficios a la salud y en la prevención de enfermedades, además es una fuente interesante de componentes entre los que destacan: la fibra, hidrocolóides, los pigmentos, los minerales Ca y K y Vitamina “C”.[10]

En este trabajo se microencapsuló el pigmento de la cascara de tuna Cardona con microfibras de celulosa y mucilago de nopal forrajero determinando la estabilidad del colorante al calor, a la luz y pH y su uso en alimentos como colorante. El interés por estas materias primas es que en México y en estados como Aguascalientes y Zacatecas son abundantes este tipo de productos.

MATERIALES Y METODOS

El nopal utilizado fue del tipo forrajero proveniente del municipio de Rincón de Romos, Aguascalientes, se lavó, peló y almacenó congelando las cascaras para su uso posterior. La tuna Cardona se obtuvo de la

central de abastos de Aguascalientes, se lavaron y pelaron, congelando por separado las cascaras y la pulpa, para usarlo después.

Extracción de Mucilago
Las cascaras de nopal se depositaron en una marmita para así poder lavarlas con agua purificada y agitándolas por una hora. Posteriormente se decantó todo el líquido depositándolo en una cubeta que se guardó en un refrigerador, se centrifugo y filtro para tu utilización. Para conocer la concentración de mucílago que contenía la solución extraída de tomo una muestra de 100 ml y deshidrató con acetona y pesó los sólidos obtenidos.

Fibra
Se procedió a hacer una purificación alcalina-acida (figura 1) de la cascara lavada del nopal, primeramente se hizo la digestión alcalina con hidróxido de sodio (NaOH), esto se hizo tres veces con concentraciones de 2%, 2M y 3M a 90^{o}C por una hora. Después de esta digestión se procedió a lavar con ácido cítrico al 1%, luego de esto la fibra se filtró y se lavó con agua purificada, esto hasta obtener un pH cercano al neutro. Para la digestión acida se usó ácido nítrico (HNO_3) al 2N, con el cual se hicieron dos digestiones por una hora cada una a 80^{o}C, se lavó varias veces con agua purificada y finalmente con agua destilada hasta obtener un pH final de 6.8. Se filtró y sónico preparando una solución al 10% de fibra en agua destilada, para luego someterla a ultrasonido (Hielscher UP200S) por aproximadamente tres días a una amplitud de 50% y ciclo de 0.5 (figura 2).

Figura 1. Purificación alcalina-ácida ***Figura 2. Fibra obtenida***

Pigmento
Las cascaras de tuna Cardona que estuvieron congeladas se descongelaron y molieron en una licuadora, para después centrifugar y así separar los sólidos del pigmento. El sobrenadante se concentró por crioconcentración hasta obtener 18°Bx, se refrigero hasta su uso. Luego se midió el color con un colorímetro Chroma meter CR-400, además de los ^{o}Bx, pH y % de acidez, para esto último se valoró el pigmento con hidróxido de sodio y tomando como referencia el ácido cítrico para la tuna (figura 3).

Figura 3. Pigmento extraído y análisis

Microencapsulación
Para microencapsular se pesaron 40 gr de fibra húmeda y se disolvió en agua purificada, se sonicó por una hora en el ultrasonido a una amplitud de 50% y ciclo de 0.5, se hicieron los cálculos para ver la cantidad de mucilago (0.5085 gr de solido/100 ml) que se debería agregar para una relación 78%-22%, sabiendo esto se agregó 2240 ml de mucilago sin deshidratar, se homogenizo por unos 15 min con la fibra y se metió al ultrasonido por 1 hora, pasado el tiempo de sonificación se sacó y se añadió el pigmento teniendo en cuenta la relación 1:1 (base sólidos) se agregaron 250 ml de pigmento concentrado. Se mezcló perfectamente y se congelo para después meterlo a un liofilizador Bulk Tray Dryer Labconco por 24 horas (figura 4).

Figura 4. Microencapsulación

RESULTADOS

Estabilidad del pigmento sin encapsular al calor.
En 10 tubos de ensayo con tapón se puso en cada uno 12 ml del pigmento sin encapsular el cual previamente fue diluido a 10°Bx, se calentó agua hasta una temperatura de 80°C, se metieron todos los tubos y se fueron sacando cada 5 min para medir color, dejándolos enfriar un momento para que no interviniera en la eficacia del colorímetro y cada muestra se leyó por triplicado. De acuerdo con los resultados y tomando en cuenta la variación de color (ΔE), la estabilidad del color al calor se verá afectada pasando un tiempo de 10 min a 80°C con una ΔE=0.87.

Estabilidad del pigmento a la luz ultravioleta y luz blanca
En un vaso de precipitados de 50 ml se midió 20 ml de pigmento no encapsulado. Se metió en una campana de flujo laminar con luz ultravioleta (figura 5) y cada cierto tiempo se estuvo sacando para medir color, al final estuvo 48 horas en luz blanca. En cuanto a la estabilidad del pigmento a la luz, se puede decir que pasando un tiempo de 24 horas en la luz ultravioleta hay un cambio significativo en la diferencia de color (ΔE=1.43).

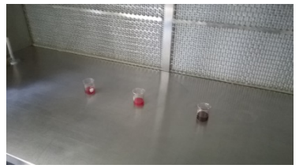


Figura 5. Pigmento expuesto a luz ultravioleta

Estabilidad del pigmento sin encapsular en diferentes pH´s.
Se tomó el pH de 12ml de cada pigmento, luego para hacerlos más ácidos se les agregó ácido clorhídrico midiendo el color cada que se obtuvo el pH deseado, y para hacerlo más básico se le agregó hidróxido de sodio e igualmente se fue midiendo el color al pH deseado, esto se hizo de un pH 1 al 13, los resultados nos muestran que la estabilidad del pigmento al pH se verá afectada a partir de que el jugo tenga un pH de 10 (ΔE=1.02).

Figura 6. Cambio de pH a pigmento

La fibra se secó en una estufa a 100°C por 24 horas obteniéndose una humedad de 75.95% y se le midió color (ΔE=0.00, L*=88.84±0.53σ, a*=1.03±0.01σ y b*=14.95±0.10σ), además de que se tamizo en dos tipos de malla, una de >0.015, <0045 y otra de <0045 325. También se hicieron pruebas de absorción de color y agua con estos dos tamaños de fibra, primeramente con la fibra más grande se pesaron 3.0086 g y se mezcló con 30 ml de pigmento, esto se homogenizó por media hora, se centrifugó por 20 minutos a 3500 rpm, para luego medir el sobrenadante y saber cuánto había absorbido la fibra. También se hizo con el tamaño de fibra más pequeño pesando1.8762 g con 18.762 ml de pigmento, homogenizando por media hora, en los dos casos se midió color de la fibra con el pigmento (tabla 1).

Tabla 1. Resultados de color para fibra grande y chica con pigmento.

	ΔE	C*	h	L*	a*	b*
30 min grande	44.66	19.46	1.31	50.07±0.03$^{\sigma}$	18.79±0.11$^{\sigma}$	5.04±0.02$^{\sigma}$
30 min pequeña	41.00	18.33	1.24	53.28±0.14$^{\sigma}$	17.32±0.13$^{\sigma}$	6.01±0.05$^{\sigma}$

Debido a que la fibra grande que se mezcló por media hora fue la que absorbió más pigmento (58.3%), se usó para volver a hacer una microencapsulación agregando 100ml de mucilago en los 3 g de fibra con 17.5 ml de pigmento, y se homogenizó por media hora. Al igual con la fibra más pequeña que absorbió un 46.52% de pigmento (8.7 ml) se microencapsuló haciendo un ajuste para así agregar alrededor de 62 ml de mucilago, se homogenizó y ambas mezclas se metieron a congelar para después meterlas a liofilizar por 24 horas. Finalmente se midió Aw del microencapsulado con fibra chica (Aw=0.418), microencapsulado con fibra grande (Aw=0.415) y de la fibra seca (Aw=0.457).

Finalmente se procedió a hacer la aplicación del microencapsulado con fibra grande, fibra chica y el jugo concentrado (% acidez=0.05, 10.4°Bx y pH= 4.9) en producto los cuales fueron gomitas y bombones. Para las gomitas se agregó de cada pigmento 10% a su respectiva mezcla, a excepción de la fibra chica que solo alcanzó para el 7%, se dejaron reposar un día, para luego hacer las pruebas sensitivas y de pH. Para el caso de los bombones, se añadió el mismo % de pigmento a cada mezcla, pero debido a la manera en que se hacen estos, el color no fue diferenciable, ni notable, por lo que en este producto no fue relevante su presencia.

Figura 7. Gomitas y bombones hechos con pigmento microencapsulado.

El pH de las gomitas varió entre 3 y 3.5, en tanto al pH de los bombones en promedio estuvo cercano a 6. El color en las gomitas fue muy leve pero se podían diferenciar, ya que las que contenían el jugo tenían un color más intenso que las otras, y las hechas con fibra chica y grande los colores fueron muy similar al durazno, con un color más opaco que las otras, pero estas se diferenciaban por la textura, ya que la de fibra más grande tuvo una textura más rígida, ambas suaves y con rebote. Las gomitas hechas con jugo tuvieron una textura mucho más suave, y tanto estas como las de fibra chica si se esturaban no regresaban a su forma original, en comparación con la de fibra grande.

CONCLUSIONES

Resulta interesante la aplicación que se le puede dar a las betalaínas del pigmento de tuna Cardona microencapsuladas con microfibras de celulosa y mucilago en alimentos, ya que además de dar color al alimento y cierta rigidez y textura, puede darle la característica de ser un alimento funcional que en estos días es altamente valorado entre los consumidores y la industria, además de que el pigmento es estable a factores como luz, pH y calor, también puede ser manejado de mejor manera ya que esta en polvo y así tener un tiempo de vida más largo. México tiene una gran ventaja ya que es uno de los principales productores de tuna Cardona y de nopal, por lo cual resulta interesante darle uso a estos productos para obtener colorantes de origen natural que suplanten a los sintéticos que pueden llegar a hacer mucho daño a os consumidores.

BIBLIOGRAFIA

[1] Cejudo-Bastante, M. J.; Chaalal, M.; Louaileche, H.; Parrado, J.; Heredia, F. J. **(2014)**; *J. Agric. Food Chem*., 62, 8491−8499
[2] Waterman, P. G. (1998) Alkaloid chemosystematics. In The Alkaloids, *Chemistry and Pharmacology*; Academic: San Diego, CA, USA,; Vol. 50.
[3] Strack, D.; Vogt, T. (2003); Schliemann, W. Recent advances in betalain research. Phytochemistry, 62, 247−269.
[4] Reddy, M. K.; Alexander-Lindo, R. L.; Nair, M. G. (2005) Relative inhibition of lipid peroxidation, cyclooxygenase enzymes, and human tumor cell proliferation by natural food colors. *J. Agric. Food Chem*., 53, 9268−9273.
[5] Herbach, K. M.; Stintzing, F. C.; Carle, R. (2006) Betalain stability and degradation − structural and chromatic aspects. *J. Food Sci*. 71, R41−R50.
[6] Azeredo, H. M. C. (2009) Betalains: properties, sources, applications, and stability − a review. *Int. J. Food Sci. Technol*., 44, 2365−2376.
[7] SPNyT. (2014). Proyecto estratégico nacional nopal y tuna 2013-2019. Retrieved 2014, from http://nopalytuna.org.mx/3522/files/Nopal%20y%20Tuna/Proyecto%20estrategico%20nacional%20nopal%20y%20tuna%202013%20261113.pdf
[8] Lozano, L. (2013). Nopalitos: Alternative Food for the north of Argentine. Cactusnet Newsletter , 107-115.
[9] Reyes Munguía, A., Azuara Nieto, E., Beristain, C. I., Cruz Sosa, F., & Vernon Carter, E. J. (2009). Propiedades antioxidantes del maguey morados (Rhoeo discolor). *CyTA Journal of Food* , 209-216.
[10] Valencia Sandoval, K., Brambila Paz, J. d., & Mora Flores, J. S. (2010). Evaluación del nopal verdura como alimento funcional mediante opciones reales. *Agrociencia* , 955-953.

ESTABLECIMIENTO DE CIERTAS ACCESIONES DE LA COLECCIÓN NACIONAL DE AGAVES UG-SAGARPA EN SISTEMAS DE INMERSIÓN TEMPORAL (SIT)

Adriana Villeda García[1] y Héctor Gordon Núñez Palenius[2]

RESUMEN

El *Agave durangensis* Gentry, es utilizado principalmente para la elaboración de mezcal artesanal; es considerado endémico de la región que se localiza al sur del estado de Durango y al Norte del Estado de Zacatecas. Se encuentra ubicado principalmente en los municipios de Nombre de Dios, Sýchil, Durango y en Tamazula. Es considerada como una especie en peligro de extinción, es por ello que actualmente se está buscando la manera de lograr la conservación de esta especie que se está viendo afectada por el uso desmedido de las poblaciones silvestres de agaves con las que se cuenta, y una de las técnicas que se están utilizando es el establecer explantes *in vitro* en un SIT, para obtener plántulas sanas y lograr su micropropagación.

ABSTRACT

Agave durangensis Gentry is used primarily to obtain artisanal mezcal; and it is considered endemic in the region of the south of Durango State and Zacatecas' north part. It is located mainly in the municipalities of Nombre de Dios, Sýchil, Durango and Tamazula. It is considered an endangered species, that´s why is imperative the conservation of this plant, since is being affected by the excessive use of wild agave populations. One of the techniques that are being used is set up explants under *in vitro* conditions into a SIT to get healthy seedlings and achieve their micropropagation.

Palabras claves: *Agave durangensis* Gentry, SIT, RCV, micropropagación, in vitro

INTRODUCCIÓN

El agave es considerado como una especie endémica de América, actualmente se cuenta con aproximadamente 200 especies, de las cuales 150 se localizan dentro del territorio mexicano, lo que representa el 75%, las cuales se consideran endémicas de México. La palabra agave es el nombre científico que a mediados del siglo XVIII, le dio el naturista sueco Carlos Linneo; esta proviene del vocablo griego *"agavus"* que significa noble o admirable. El agave tiene varios usos dentro de los cuales destaca la elaboración de mezcal, pero también es una fuente de obtención de materia prima utilizada para elaborar gran cantidad de productos; las pencas sirven para obtener hilos para tejer costales, tapetes, morrales y redes de pesca; las pencas enteras se usaban para techar las casas, el quiote servía como viga y para la creación de cercas, las espinas eran utilizadas como clavos y como agujas; de las raíces se elaboraban cepillos y escobas, estos son solo algunos de los usos que tienen estas plantas.

Debido al crecimiento lento de estas plantas, así como de su baja tasa de reproducción sexual y asexual que en los últimos años se ha visto seriamente afectada por problemas como lo son la perdida de especies como los murciélagos nectarívoros y murciélagos Leptonycteris curasoae, que son considerados unos de

[1]Instituto Tecnológico del estado de Querétaro, Ingeniería Industrial, Avenida Tecnológico s/n, colonia Centro, C.P: 76000, Querétaro, Querétaro, adii_kmpaniitha@hotmail.com.
[2]Universidad de Guanajuato, División Ciencias de la Vida, Ex Hacienda El Copal, km 9, Carretera Irapuato-Silao. C.P: 36500 Irapuato, Guanajuato México, palenius@ugto.mx

los mejores polinizadores, es por ello que es muy difícil lograr su multiplicación masiva por métodos convencionales.
Ante esta problemática, se están utilizando diferentes alternativas que ayuden a lograr la propagación de estas especies, tal es el caso de la técnica conocida como micropropagación *in vitro,* misma que consiste en la propagación asexual de plantas utilizando las técnicas de cultivo de tejidos vegetales, mediante la cual se incrementa en poco tiempo la producción de plántulas sanas. La mayoría de los procesos de micropropagación se llevan a cabo en medios de cultivo semisólido, al que se le adiciona un agente gelificante, creando un sustrato sobre el cual las plantas crecen y se multiplican. No obstante también se tienen algunas desventajas en el uso de esta alternativa tales como las que son ocasionadas al agregar el gelificante que es altamente costoso, así como el estar cambiando periódicamente el medio de cultivo para de esta manera evitar que las plantas se queden sin nutrientes. Se cuenta con otra técnica de cultivo la cual es realizada en un medio líquido, el cual tiene grandes ventajas para el desarrollo de las plántulas gracias a que sus condiciones son más homogéneas y facilitan la retención de nutrientes gracias a que existe un mayor contacto directo, logrando de esta manera un recubrimiento total por parte de toda la planta, además como en esta técnica no es necesario el uso del gelificante los costos son menores y con el uso del sistema de inmersión temporal se incrementa el volumen de producción de plantas.

Actualmente el *Agave durangensis* Gentry es una especie que se encuentra en peligro de extinción, esto debido a la sobreexplotación de este recurso que es usado principalmente para la obtención de mezcal, dicho agave tiene una baja tasa de reproducción y su crecimiento es lento, lo que lo hace más susceptible a desaparecer, es por ello que mediante la realización de este trabajo que consiste en establecer explantes *in vitro* de *Agave durangensis* Gentry (Accesión #42 de la Colección Nacional de Agaves UG-SAGARPA) en un sistema de inmersión temporal (SIT) que permita determinar las concentraciones de reguladores de crecimiento vegetal (RCV), Thidiazurón (TDZ) y ácido indolbutírico (IBA), así como la intensidad lumínica apropiada para el desarrollo del explante, se espera poder obtener el mejor tratamiento que ayude a lograr la micropropagación de la especie.

Figura 1. Agave durangensis Gentry (Colección Nacional de Agaves UG-SAGARPA)

MÉTODOS Y MATERIALES

Para el desarrollo de este proyecto se utilizaron 9 tratamientos con diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento vegetal (RCV), siendo estos el ácido indolbutírico (IBA) y el Thidiazurón (TDZ), los tratamientos se muestran en la tabla 1, asimismo se hizo uso de tres intensidades lumínicas diferentes (16.1 µmol.m^{-2}.s^{-1}, 60.2 µmol.m^{-2}.s^{-1} y 117.7 µmol.m^{-2}.s^{-1}). Se realizaron 3 repeticiones de cada tratamiento, dando como resultado un total de 81 muestras, por lo que se procedió a lavar los 81 frascos de vidrio de 413 ml, los cuales fueron etiquetados (tabla 2), de acuerdo al tratamiento que le correspondía, posteriormente se cortaron los 81 soportes de malla de polietileno resistente al calor generado en la autoclave, con medidas de 4x4 cm de área central y con altura de 3x3 cm, las cuales fueron introducidas en los frascos, a continuación se cortaron 81 mangueras de ¼ de pulgada de diámetro y de 12 cm de largo las cuales fueron rellenadas con algodón comprimido para posteriormente

ser introducidas cada una en un tapón perforado de goma del #6, los cuales servirían como medio de obtención de oxígeno para cada uno de los 81 explantes de *Agave durangensis* Gentry (Colección nacional de agave UG-Sagarpa, accesión 42), los cuales estaban libres de daño por fitopatógenos.

Tabla. 1. Concentraciones de reguladores de crecimiento vegetal

IBA / **TDZ**	0.6 mg. 600 ml^{-1}	1.2 mg. 600 ml^{-1}	1.8 mg. 600 ml^{-1}
0.3 mg. 600 ml^{-1}	T1	T2	T3
0.6 mg. 600 ml^{-1}	T4	T5	T6
3 mg. 600 ml^{-1}	T7	T8	T9

Tabla. 2. Simbología para el etiquetado de los frascos

Intensidad / **Tratamiento**	I1 60.2 µmol m^{-2} s^{-1}	I2 117.7 µmol m^{-2} s^{-1}	I3 16.1 µmol m^{-2} s^{-1}
T1	T1I1	T1I2	T1I3
T2	T2I1	T2I2	T2I3
T3	T3I1	T3I2	T3I3
T4	T4I1	T4I2	T4I3
T5	T5I1	T5I2	T5I3
T6	T6I1	T6I2	T6I3
T7	T7I1	T7I2	T7I3
T8	T8I1	T8I2	T8I3
T9	T9I1	T9I2	T9I3

Se preparó el medio de cultivo MS (Murashige y Skoog, 1962) al 50%, una vez agregados los RCV se midió que el pH estuviera entre 5.7 $\pm$ 5.8, ya ajustado el pH se fue colocando 50 ml de medio por cada frasco de vidrio, se colocaron tapones con papel aluminio a los frascos con los birreactores y junto con los tapones de goma se esterilizaron durante 20 min a una presión de 20 lb/pulg² y a temperatura de 115 °C en autoclave. una vez esterilizados los frascos y los tapones se trasladaron a la campana de flujo laminar la cual había sido previamente preparada con los elementos que se ocuparían tales como platos, un azulejo forrado de papel aluminio, pinzas y bisturí que se habían esterilizado, se desinfectaron con alcohol al 100% los frascos que contenían los 81 explantes de *Agave durangensis* Gentry de la accesión # 42 de la Colección Nacional de Agaves UG-SAGARPA, posteriormente se introdujo cada uno de los explantes en los frascos, estos se taparon con los tapones de goma y se sellaron con plástico adherente, ya colocadas todos los explantes se trasladaron las 81 muestras al cuarto de crecimiento vegetal donde fueron colocadas cada una de acuerdo a la intensidad lumínica correspondiente (16.1 µmol.m^{-2}.s^{-1}, 60.2 µmol.m^{-2}.s^{-1} y 117.7 µmol.m^{-2}.s^{-1}) , con una temperatura de 28 °C, con un fotoperiodo de 16 horas luz y 8 de oscuridad y una inmersión de 1 min cada 72 horas. Cada semana durante un periodo de 20 días, los explantes de agave fueron medidos para poder obtener datos acerca del incremento de altura, anchura del dosel, número de puntas, número de puntas necrosadas y número de raíces. Para determinar el mejor tratamiento para el desarrollo del explante se realizó un análisis con la prueba de ANOVA, en el software Minitab 15, para este estudio se consideró un nivel de confianza del 95%.

RESULTADOS

Con base al análisis estadístico en la figura 2, se demuestra que no existe un tratamiento específico que

demuestre significancia para generar los más óptimos beneficios en los 5 parámetros estudiados, sin embargo para el desarrollo de raíces si es significante el tratamiento y la intensidad lumínica.

ANOVA de dos factores: incremento de altuta de la planta vs .Tratamientos; Intensidad

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tratamientos	8	0,98611	0,123264	2,23	0,081
Intensidad	2	0,01080	0,005401	0,10	0,907

ANOVA de dos factores: Anchura del dosel vs .Tratamientos; Intensidad

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tratamientos	8	0,171811	0,0214763	0,78	0,623
Intensidad	2	0,006687	0,0033436	0,12	0,886

ANOVA de dos factores: Numero de puntas vs. Tratamientos; Intensidad

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tratamientos	8	0,92181	0,115226	2,29	0,076
Intensidad	2	0,00823	0,004115	0,08	0,922

ANOVA de dos factores: Numero de necrosidades vs. Tratamientos; Intensidad

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tratamientos	8	0,35208	0,0440101	0,76	0,643
Intensidad	2	0,19845	0,0992227	1,71	0,213

ANOVA de dos factores: Numero raices vs. Tratamientos; Intensidad

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tratamientos	8	18,2670	2,28338	6,23	0,001
Intensidad	2	2,6731	1,33653	3,65	0,050

Figura 2. Resultados del estudio ANOVA

En cuanto al incremento de altura de la planta como se muestra en la figura 3, podemos observar que el mejor tratamiento es el T6 con la intensidad 2 (117.7 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$), para la anchura del dosel (figura 4), el mejor tratamiento es el T6 con la intensidad 1 (60.2 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$), asimismo para el número de puntas (figura 5) el mejor es el T4 con la 3 intensidad (16.1 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$), en lo referente al número de necrosidades (figura 6), se cuenta con varios tratamientos que son satisfactorios tales como el T1, T4, T6, T7, T8, T9, con la 3 intensidad (16.1 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$) y finalmente para la generación de raíces (figura 7), el mejor es el T1 con la intensidad 2 (117.7 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$).

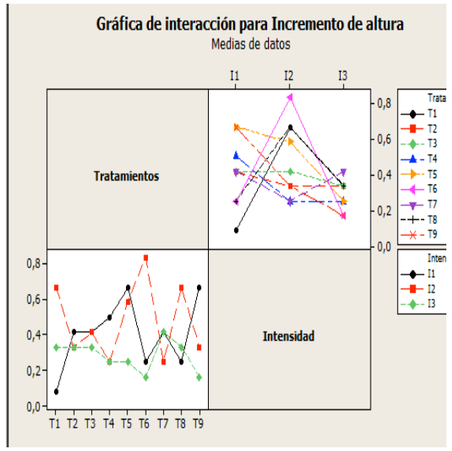


Figura 3. Incremento de altura

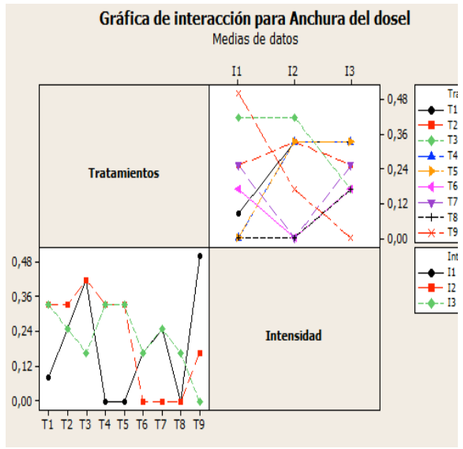


Figura 4. Anchura del dosel

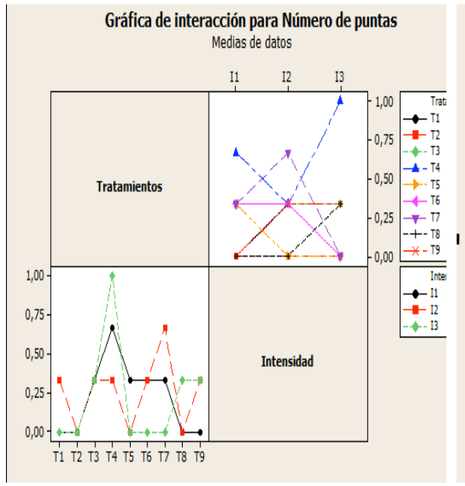


Figura 5. Número de puntas

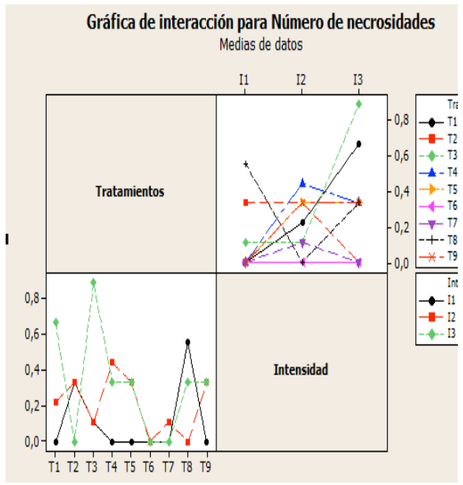


Figura 6. Número de necrosidades

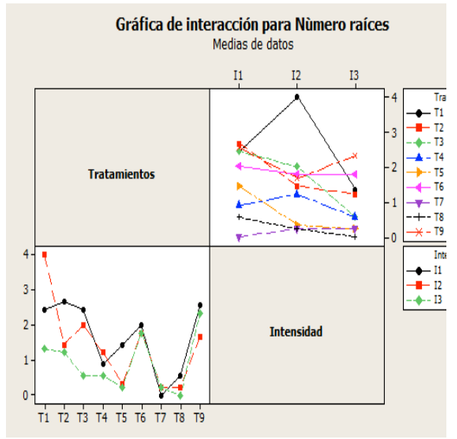


Figura 7. Número de raíces

CONCLUSIONES

Durante la realización de este proyecto de investigación, podemos decir que el tiempo con el que contamos para analizar el desarrollo del explante fue muy poco para poder determinar cuál fue el mejor tratamiento para el *Agave durangensis* Gentry, no obstante se observó que en la mayoría de las variables analizadas del explante la intensidad lumínica de 117.7 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$, es la que presenta resultados más favorables.

BIBLIOGRAFÍA

Instituto Politécnico Nacional, "Obtención de un surfactante a partir de biomasa residual de *agave durangensis* y su aplicación en la remoción de arsénico por la técnica de aglomeración esférica". Consultada en http://www.repositoriodigital.ipn.mx/handle/123456789/15761?show=full, (fecha de consulta 16-06-2016).

"Los agaves de México", consultada en http://www.alumno.unam.mx/algo_leer/AgaveMexico.pdf, (fecha de consulta 16-06-2016).

"Los magueyes, plantas de infinitos usos", consultada en http://mezcalpedia.com/attachments/057_nota-usosdelmaguey.pdf, (fecha de consulta 18-06-2016).

CICEANA / IBUNAM, "La diversidad de los agaves en México", consultada en http://www.ciceana.org.mx/contenido.php?cont=265 (fecha de consulta 22-06-2016).

"Manual para la propagación de plantas por cultivo de tejidos in vitro", consultada en http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/46738/Documento_completo__.pdf, (fecha de consulta 22-06-2016).

AGRADECIMIENTOS

Mi más profundo y sincero agradecimiento a todas aquellas personas que con su ayuda han colaborado en la realización del presente proyecto, Dr. Héctor Núñez Palenius, Dr. José Herrera, a Rebeca Ramírez y de igual manera a Claudio Bernardo, técnicos del laboratorio de cultivos vegetales.

Gracias por la orientación, el seguimiento y la supervisión continúa, pero sobre todo por la motivación y el apoyo recibido a lo largo de esta estancia.

EVALUACIÓN DEL FECTO ANTAGONICO DE *BACILLUS* CIS-45 ANTE ESPECIES BACTERIANAS PATOGENAS PARA EL SER HUAMNO

Nicy Daniela Vargas Padilla[1] y Alejandro Hernández Morales[2]

RESUMEN

Actualmente existe un amplio número de investigaciones que fundamentan la capacidad antagónica de algunas especies bacterianas del genero *Bacillus* ante diversos fitopatógenos como hongos y bacterias, por lo que son altamente empleadas como método de control biológico durante distintas etapas del desarrollo vegetal en varias especies. Por lo anterior, en el presente estudio se llevó a cabo un trabajo de carácter experimental con la finalidad de evaluar y analizar el desarrollo de antagonismo producido por una rizobacteria (*Bacillus* CIS-45) ante patógenos humanos como *Vibrio cholerae* y *Klebsiella pneumoniae,* obteniendo una respuesta de antagonismo positiva y considerable para ambos patógenos.

ABSTRACT

Actually there are researchs that support the antagonistic capacity of some bacterial species of the genus *Bacillus* against various pathogens as fungi and bacteria, so they are highly used as biological control method during different stages of plant development in several species. Therefore, in the present study an experimental work was performed in order to evaluate and analyze the development of antagonism produced by a rhizobacteria (*Bacillus* CIS-45) against human pathogens such as *Vibrio cholerae* and *Klebsiella pneumoniae*, obtaining a positive antagonism for both pathogens.

Palabras Clave: Antagonismo, rizobacteria, *Bacillus methylotrophicus.*

INTRODUCCIÓN

Las rizobacterias son aquellas bacterias que colonizan las raíces, éstas pueden desarrollar distintos tipos de efectos en la planta en la que se encuentren, desde efectos nocivos y neutros hasta efectos benéficos, pues pueden promover el crecimiento de la planta o emplearse como método de biocontrol contra algunos microorganismos constituyendo una barrera de defensa entre los fitopatógenos y la superficie vegetal de los órganos (Garima y Vanamala, 2007). Cuando las poblaciones de organismos se encuentran reducidas a causa de situaciones naturales en las que se ven involucrados sus depredadores, parásitos, antagonistas y enfermedades, el proceso se denomina control natural, pero por otra parte, cuando se emplea para el control de plagas, entonces el proceso se conoce como control biológico o biocontrol. Existe un gran número de rizobacterias, sin embargo Asaka y Shoda, (1996) demostraron que el género *Bacillus spp.* tiene un potencial muy grande para ser un agente de biocontrol debido a que secreta diversos metabolitos que desarrollan respuestas de antagonismo. El antagonismo, en microbiología, está dado por una inhibición, deterioro o bien, la muerte de alguna especie por la acción de otra. Por lo anterior, se seleccionó a *Bacillus* CIS-45 para evaluar el desarrollo de algún mecanismo de antagonismo contra *Vibrio cholerae* y *Klebsiella pneumoniae* lo cual trataría de emplear este tipo de relaciones microbianas para controlar, proteger y reducir el número de infecciones provocadas por estas especies ya que son importantes patógenos de humanos.

[1] Universidad Autónoma de Aguascalientes, Departamento de química; Avenida Universidad No. 940, Ciudad Universitaria, C.P. 20131, Aguascalientes, Aguascalientes. daniela.flash@hotmail.com
[2] Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Unidad Multidisciplinaria Zona Huasteca, Romualdo del Campo No. 501, Rafael Curiel, C.P. 79060, Ciudad Valles, San Luis Potosí. aldolasa@yahoo.com.mx

MÉTODOS Y MATERIALES

***Bacillus* CIS-45, preparación del inóculo.**
A partir de un stock, se sembró *Bacillus* CIS-45 en 5 ml de medio LB (Luria Bertani) completo como pre-inóculo, el cual se dejó en agitación (150 rpm) por 24 horas y a temperatura ambiente. Del pre-inoculo se tomaron 50 µl, los cuales se colocaron en un matraz con 50 ml de medio LB, esto se incubó a 28°C por 48 horas sin agitación. Al finalizar las 48 horas, se humedeció un hisopo del cultivo de *Bacillus* CIS-45 y con el mismo se sembró la rizobacteria en una caja de Petri con agar LB completo mediante la técnica de césped y se dejó a 28°C por 24 horas.

Cepas patógenas de humanos
Por otra parte, *Vibrio cholerae* se sembró en 5 ml de caldo peptona, mientras que *Klebsiella pneumoniae* se sembró en 5 ml de caldo soya tripticaseina, ambas se incubaron a 37°C durante 24 horas, sin agitación. Transcurrido el tiempo de incubación, las dos cepas se ajustaron al estándar 0.5 de McFarland, tomando como blanco los medios de cada una sin inocular y con ayuda de un espectrofotómetro y solución salina, dejando a ambas con una absorbancia final de entre 0.1 y 0.19.

Ensayo de antagonismo
Se introdujeron hisopos dentro de los cultivos de *K. pneumoniae* y *V. cholerae* a los que se les ajustó la absorbancia previamente para enseguida sembrar por césped en agar Mueller Hinton y se dejó secar en campana por un tiempo aproximado de 10 a 15 minutos. Mientras tanto, en el agar en que se inoculó *Bacillus* CIS-45, con ayuda de popotes se realizaron cortes circulares, mismos que se colocaron en la superficie del medio sólido ya seco en que se sembraron las cepas patógenas de humanos, cuidando que la parte del corte en donde creció *Bacillus* CIS-45 tuviera contacto con la superficie del otro medio sólido y se incubaron por 24 horas a una temperatura de 37°C.
En cada caja de Petri se colocaron tres trozos de agar y lo anterior se realizó por duplicado para cada cepa patógena de humano. Como control se empleó un trozo de agar en el cual no se sembró nada previamente.

Análisis de resultados
Las cajas de Petri se observaron a través de un contador de colonias y se realizaron mediciones de los diámetros de los halos de inhibición desarrollados, calculando el promedio del tamaño de los mismos y la desviación estándar con ayuda del paquete estadístico GraphPad Prism 6.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al revisar los resultados arrojados sobre el ensayo de antagonismo, como se puede observar en las Figuras 1 y 2, *Bacillus* CIS-45 logró inhibir el crecimiento de *K. pneumoniae* y *V. cholerae*, desarrollando en la última, halos de mayor tamaño (Figura 3). Además, como se puede observar en todos los trozos de agar a excepción de los controles, se presentó un ligero crecimiento de *Bacillus* CIS-45, lo cual nos brinda información sobre el tipo de antagonismo que se pudo haber dado ya que existen varios. Como mencionan Fernández y Vega (2001), existe una clase de antagonismo llamado competencia, el cual es una lucha continua por los nutrientes y el espacio del medio de cultivo en el que se encuentran ambas bacterias, por lo que usualmente no se observa tan claramente la formación de halos de inhibición de crecimiento, de manera contraria, el crecimiento de ambas especies llega a unirse resultando compleja la identificación de cada una, por lo tanto, es más viable mencionar que el antagonismo desarrollado en nuestro ensayo se debe a la producción de metabolitos bioactivos por parte de *Bacillus* CIS-45 ya que durante los últimos años se ha empleado a *Bacillus spp*. para la producción de metabolitos con actividad antifúngica como es el caso de surfactinas, iturinas, subporinas, fungistatinas, además de lipopéptidos que poseen actividad antimicrobiana y en ocasiones pueden combatir también a levaduras (Basha y Ulaganathn, 2002). Además, también se puede mencionar la producción de enzimas líticas, antibiosis, parasitismo e inducción de resistencia, que son otros tipos de antagonismo (Janisiewicz y Korsten, 2002).

Por lo anterior es de suma importancia que se identifique el mecanismo de antagonismo que se está llevando a cabo para poder realizar un correcto uso de los mismos en el caso de emplearlos en procesos de control, aunque no es una tarea sencilla debido a que comúnmente, los antagonistas no cuentan con un método exclusivo de acción, por lo tanto un estudio a nivel bioquímico y molecular contribuirían a obtener un mejor resultado.

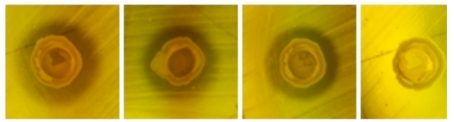


Figura 1. Halos de inhibición en el crecimiento de V. cholerae causados por Bacillus CIS-45, en el último recuadro se muestra un control (trozo de agar sin crecimiento de Bacillus CIS-45).

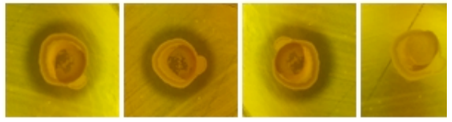


Figura 2. Halos de inhibición en el crecimiento de K. pneumoniae causados por Bacillus CIS-45, en el último recuadro se muestra un control (trozo de agar sin crecimiento de Bacillus CIS-45).

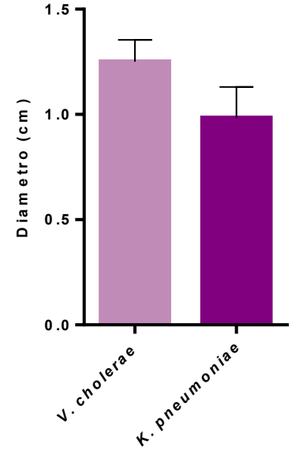


Figura 3. Respuesta antagónica, promedio de diámetro de halos de inhibición desarrollados en el crecimiento de patógenos humanos por parte de Bacillus CIS-45.

CONCLUSIONES

Bacillus CIS-45 ejerce efecto antagónico contra patógenos humanos, especialmente mayor para *Vibrio cholerae* en comparación con *Klebsiella pneumoniae*.

BIBLIOGRAFIA

ASAKA, O., SHODA, M. (1996). "Biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping-off of tomato with *Bacillus subtilis* RB14" en *Appl. Environ. Microbiol*, Núm. 62, Vol. XI, Noviembre-Enero, [pp. 4081-4085].

GARIMA, J., VANAMALA, A. (2007). "Metabolites of rhizobacteria antagonistic towards fungal plant pathogens" en *Annals of Microbiology*, Núm. 57, Vol. I, Agosto-Diciembre, [pp. 127-130].

FERNÁNDEZ, O., VEGA, L. (200). "Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario, avances en el fomento de productos fitosanitarios no sintéticos" en *Manejo integrado de plagas*, Núm. 62, Vol. V, Enero-Junio, [pp. 62-100].

JANISIEWICZ, W.J., KORSTEN, L. (2002). "Biological control of postharvest diseases of fruits" en *Annual Review of Phytopathology*, Núm. 40, Vol. X, Septiembre-Diciembre, [pp. 411-441].

BASHA, S., ULAGATHN, K. (2002). "Antagonism of *Bacillus* species (Strain BC121) towards *Curvularia lunata*" en *Current Science*, Núm. 12, Vol. LXXXII, Enero-Marzo, [pp. 457-1463].

CONACYT
Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología

UASLP
Universidad Autónoma
de San Luis Potosí