

INDUCCIÓN A LA CIENCIA, LA TECNOLOGÍA
Y LA INNOVACIÓN EN LA REGIÓN CENTRO

VOL. III, NUM. 2

Ciencias Agropecuarias



19° Verano
de la Ciencia
Región Centro

The background features a repeating pattern of light green icons on a darker green background. The icons include a sun over crops, laboratory glassware, a fence, a farmer, a DNA helix, wheat stalks, a test tube, a person in a hard hat, a tractor, a cow, a chicken, a barn, and various scientific and agricultural symbols.

Ciencias Agropecuarias



Ciencias Agropecuarias

EFFECTOS DE LA ACTIVIDAD BIOQUÍMICA EN SUELOS ENMENDADOS CON BIOSOLIDOS **12**

Cerritos Coyote Brenda Cecilia¹ y Conde Bajaras Eloy²

EFFECTOS DE LA ACTIVIDAD BIOQUÍMICA EN SUELOS ENMENDADOS CON BIOSOLIDOS **16**

Medina Calderón Juana¹ y Conde Bajaras Eloy²

DESPLIEGUE DE LA FUNCIÓN DE CALIDAD (QFD) PARA IDENTIFICAR LOS REQUERIMIENTOS TÉCNICOS DE LAS VARIABLES QUE INFLUYEN DENTRO DE UN INVERNADERO, CON BASE EN LAS NECESIDADES ACTUALES DE AUTOMATIZACIÓN EN INVERNADEROS DEL ESTADO DE QUERÉTARO, PARA EL DISEÑO DE UN SISTEMA DE CONTROL Y MONITOREO **20**

Ramses Razo Pecina, María Angola Magdalena Jiménez Grajales

DISOCIACIÓN ENZIMÁTICA PARA LA OBTENCIÓN DE PROTOPLASTOS A PARTIR DE HOJAS DE JITOMATE *Solanum lycopersicum* **24**

Rodríguez Rodríguez Amy¹ y Ramírez Martínez Francisco².

ESTUDIO DE LA SITUACIÓN ACTUAL DE LA FRESA EN EL MUNICIPIO DE IRAPUATO GUANAJUATO **28**

Dahiana Yajaira Oviedo Montenegro¹ y María Del Carmen Chacón Olivares²

REDISEÑO DEL PROCESO DE PRODUCCIÓN DE FRAMBUESA EN MACROTUNEL **32**

Maciel Fuerte Daniela¹, y García Torres Alicia²

OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE RECOLECCIÓN DE FRAMBUESA COSECHADA EN MACROTUNEL

Vázquez Zavala Diana Mariela¹ y García Torres Alicia²

INHIBICIÓN DE CEPAS PRODUCTORAS DE XILITOL EN PRESENCIA DE PRETRATADO DE RASTROJO DE MAÍZ

Jorge Martín Barreto González¹ y Divanery Rodríguez Gómez²

INOCULACIÓN DE SEMILLAS DE CALABAZA CON HONGOS ENTOMOPATÓGENOS

Salazar Cerrillo Juan Armando¹ y Villegas Rodríguez Fabiola²

ESTUDIO DE INOCUIDAD A HORTALIZAS ABONADAS CON RESIDUOS SÓLIDOS DE PTAR

Sánchez Salazar Luis Enrique¹ Y M. En C. Armas Garfias Claudia²

EVALUACIÓN DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE ÁRBOLES DE MEZQUITE, CAZAHUATE Y HUIZACHE, POR DOS MÉTODOS DE ESCARIFICACIÓN

Luz María Vargas Almanza¹, Francisco Alejo Iturvide² y Maria Azucena Márquez Lucio

EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE CONTROL BIOLÓGICO DE PATÓGENOS DE SUELO EN PLÁNTULAS DE TOMATE BAJO CONDICIONES CONTROLADAS.

Miguel Ángel Araujo Álvarez y Francisco Alejo Iturvide

BIOLOGÍA, PRODUCCIÓN, BIOTECNOLOGÍA Y BIORREMEDIACIÓN DE MICROALGAS NATIVAS DE MÉXICO.

Turella Lucía Mendoza Manríquez¹, Alberto Ayala Islas²

FORMACIÓN, EVALUACIÓN Y SELECCIÓN DE HÍBRIDOS EXPERIMENTALES CON GERMOPLASMA GENERADO EN EL PROGRAMA DE MEJORAMIENTO GENÉTICO DE MAÍZ DE LA UAAAN-UL

Hernández Vázquez Alex Edray y Espinoza Banda Armando

36

40

44

48

52

55

59

63

SEROPREVALENCIA DE FASCIOLA HEPATICA EN BOVINOS DE LOS MUNICIPIOS DE IRAPUATO Y DOCTOR MORA, GUANAJUATO **67**

Ana Erika Castaño Santoyol, Jonathan Emmanuel Ortega-Palomares y Cesar Andrés Ángel Sahagún¹

PREDADORES Y PARASITOIDES NATIVOS: INSECTOS CON POTENCIAL USO EN CONTROL BIOLÓGICO DE PLAGAS EN LA COMARCA LAGUNERA **71**

Bismar Bibiano Rodríguez y Fabián García Espinoza

FOMENTO DE LA EXPORTACIÓN DE LA CEBOLLA, EN MÉXICO **73**

Francisco López, Claudia Elizabeth¹ y Cárcamo Solís María de Lourdes²

CARACTERÍSTICAS DEL POTENCIAL AGRONÓMICO, CALIDAD FORRAJERA Y DE GRANO DE COLECTAS DE MAÍZ DEL BANCO DE GERMOPLASMA DEL CIMMYT. **77**

Elmer Adair Sanchez Retamal y Oralia Antuna Grijalva²

PREDICCIÓN DE CRUZAS DOBLES Y TRIPLES DE CRUZAS SIMPLES DE MAÍZ **81**

Erick Jonathan Ortiz López¹ y Armando Espinoza Banda¹.

POLISACÁRIDOS ESTRUCTURALES DE BROTES FLORALES (TUNITAS) Y NOPALITOS DE NOPALEA COCHENILLIFERA **85**

Fernando Elías Navarro-Campos y Cristian López-Palacios

EFFECTOS DE LA ACTIVIDAD BIOQUÍMICA EN SUELOS ENMENDADOS CON BIOSOLIDOS **89**

Hernández Bautista Laura Lidia¹ y Conde Bajaras Eloy²

RENDIMIENTO DE FORRAJES Y CALIDAD FISIOLÓGICA DE SEMILLAS DE HÍBRIDOS DE MAÍZ EN SURCOS CONVENCIONALES Y ESTRECHOS **93**

Guzmán Roblero Marení y Antuna Grijalva Oralia

EVALUACIÓN DE LA INDUCCIÓN DE RESISTENCIA A ESTRÉS BIÓTICO EN PLANTAS DE CHILE (CAPSICUM ANNUMM L.)

María Patricia García Castrol y Laura Mejía Teniente2

97

PRODUCCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DE LA NUEZ EN SALTILLO, COAHUILA.

Mayte Rodríguez Sánchez1 y Gregorio Castro Rosales2

101

PLAGAS DE MALVÁCEAS SILVESTRES Y CULTIVADAS EN LOS MUNICIPIOS DE TORREÓN Y MATAMOROS, COAHUILA

Nancy Puebla Valles1 y Fabián García Espinoza2

105

EFFECTO EN GERMINACIÓN DE SEMILLAS CON ACTINOMICETOS DE SUELOS DE ÁREAS NATURALES PROTEGIDAS (ANP) EL CERRO DEL CULIACÁN, GUANAJUATO.

Alberto Antonio Lomelí Bernall y Dra. Blanca Estela Gómez Luna

109

ANÁLISIS DE LAS PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS EN HÍBRIDOS DE MAÍZ POLIEMBRIÓNICO

Armida Nallely Domínguez Almaráz1, Mariela R. Michel Michel y Raúl Rodríguez Herrera2

113

DHIPAAK Y EL MAÍZ EN LA COSMOVISIÓN TEENEK

Natalia Xunaaxy Silva Delgado1 y Ruth Verónica Martínez Loera2

117

CARACTERIZACIÓN DEL PROCESO DE CONCENTRACIÓN Y DESHIDRATACIÓN DE JUGO NATURAL DE NARANJA

Sandra Marina Zúñiga López1 y Christian Michel Cuello2

121

DESARROLLO DE APLICACIÓN MÓVIL PARA EL SUMINISTRO DE FERTILIZANTES Y AGROQUÍMICOS

Carlos Alberto Barrios Cisneros y David Antonio Torres Frausto

126

**PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DEL MAÍZ
ALTAMENTE POLIEMBRIÓNICO** **128**

Claudia Mariana Pérez Juárez¹ y Doctor Raúl Rodríguez Herrera

**AISLAMIENTO DE BEGOMOVIRUS DE PLANTAS
Nicotiana benthamiana INFECTADAS POR MEDIO DE
BIOBALÍSTICA** **132**

Dafne Pamela Ramírez Aguirre¹ y Gerardo Rafael Arguello Astorga²

**ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE MUESTRAS DE
AGUAMIEL A TRAVÉS DE PCR-DGGE** **136**

Dora Elisa Cruz Casas, Sandra Luz Villarreal Morales y Raúl Rodríguez Herrera

**ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE PLANTAS
MEDICINALES Y COMESTIBLES** **140**

Aguirre Aguirre, E. A¹; Carrillo Inungaray, M. L²

**USO DE ALGORITMOS PARA EL ANÁLISIS DE FLUIDOS
COLOIDALES APLICADO A LA DISTRIBUCIÓN DE
SEMILLAS DE LA HYLOCERUS UNDATUS** **144**

Gloria Elizabeth Rodríguez García,¹ y Bernardo José Luis Arauz Lara.²

**BIOLOGÍA, PRODUCCIÓN, BIOTECNOLOGÍA Y
BIOREMEDIACIÓN DE MICRO ALGAS NATIVAS DE
MÉXICO** **148**

Katherine Selene Recio Rocha¹ y Alberto Ayala Islas²

**AISLAMIENTO, IDENTIFICACION Y CARACTERIZACION
DE BACTERIAS ACIDO LACTICAS COMO DETERIORO
EN LA PRODUCCION DE CERVEZA ARTESANAL EN LA
CIUDAD DE QUERETARO.** **152**

Laura Alondra Herrera Altamirano Y Sofía María Arvizu Medrano

**REMOCIÓN DE CONTAMINANTES PRESENTES EN SOLUCIONES
ACUOSAS UTILIZANDO COMPOSITOS DE RESIDUOS AGRICOLAS
CON POLIMEROS** **158**

Luz Elena Valenciana Torres¹ y Nancy Verónica Pérez Aguilar²

**BIOPROSPECCIÓN GENÓMICA DE SUELOS
CONTAMINADOS EN VILLA DE LA PAZ, SAN LUIS
POTOSÍ.**

Reyes-Martínez Mario Antoni¹ y Pérez-Miranda Sandra²

162

**P ADSORCIÓN DE CIANURO EN CARBÓN ACTIVADO A
PARTIR DE HUESO DE TAMARINDO**

Rocha de León Nidia, Muñoz Ramírez Leonor

164

**BIOFERTILIZANTES A BASE DE MICORRIZA
ARBSCULAR PARA LA PRODUCCION DE JITOMATE.**

Perales Villalobos, R; Mendez Cortes, H.

167

**CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE GENES
IMPLICADOS EN EL DESARROLLO Y LA RESPUESTA AL
ESTRÉS BIÓTICO EN ARABIDOPSIS THALIANA**

**Rodríguez Gavaldón, Y.I.; Rivera Rodríguez, A.; Rodríguez Kessler,
M.**

170

**VELOCIDAD DE GERMINACIÓN DE CHILE
MIRASOL (*Capsicum annuum* L.) CON ADICIÓN DE
VERMICOMPOST**

Granados Álvarez, J. D¹. Aguilar Benítez, G²

175

**"LA MAQUINARIA DE SILENCIAMIENTO DE GENES
DE *Arabidopsis thaliana* MEDIADA POR sRNAs Y SU
ROL EN EL ESTABLECIMIENTO DE UNA RELACIÓN
BENÉFICA CON *Trichoderma atroviride*"**

**Bárcenas Pérez Miguel Angell, Casas Flores Sergio², Rebolledo
Prudencio Oscar Guillermo^{2*} y Cruz Hernández Andrés^{1*}**

179

GENÓMICA DE LA INTERACCIÓN PLANTA-PATÓGENO

Rosa María Lozano Esparza¹ y Julio Vega Arreguín²

183

**GENOTIPADO DE PLANTAS DE MAÍZ DEL PANEL DE
DIVERSIDAD**

Amauri Ponce Hernández¹ y Rubén Rellán Álvarez²

187

SIMULACIÓN DE DINÁMICA MOLECULAR DE COLOIDES USANDO PYTHON Y FORTRAN 90 **190**

Albarra Díaz, A. S.¹; Guerrero García, G. I.²

EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN TÉRMICA DE COMPUESTOS HIDROFÓBICOS DE DISTINTAS ESPECIES DEL GENERO OPUNTIA **194**

López-Avila, K.P.1, Rendón-Huerta, J.A.1, Pérez-Martínez, J.D.2, Morales Rueda, J.A.1

CARACTERIZACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES DE LAS PLANTAS GOBERNADORA (Larrea Tridentata) Y RUDA (Ruta Graveolens) POR MEDIO DE ESPECTROSCOPIA RAMAN. **198**

Martínez Ávila Mireya y Ávila Rodríguez Raquel 1

DEPÓSITO DE SEMILLAS Y CRECIMIENTO NANOCABLES DE ZNO **206**

Adriana Gutiérrez Medinal y Harumi Moreno García²

ANÁLISIS DE SISTEMAS AUTOMATIZADOS DE IRRIGACIÓN POR MEDIO DE TECNOLOGÍA IOT **210**

Ricardo Arroyo Aguirre¹ y Huizilopoztli Luna Garcia²

GENOTIPIFICACIÓN DE ZEA MAYS DE UN PANEL DE DIVERSIDAD **214**

Christian Lona-Arronal y Rubén Rellán- Alvarez²

EVALUACIÓN DE LA INDUCCIÓN DE RESISTENCIA A ESTRÉS BIÓTICO EN PLANTAS DE CHILE (CAPSICUM ANNUM L.) **217**

Gerardo Avila Martínez¹ y Laura Mejía Teniente

INFLUENCIA DEL MÉTODO DE SECADO SOBRE EL CONTENIDO DE POLIFENOLES Y LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN MANZANILLA, TOMILLO, HIERBABUENA Y MENTA. **220**

Pérez Vega Itzel Alejandra¹ y Feregrino Pérez Ana Angelica²

TOLERANCIA A ESTRÉS POR SEQUÍA INDUCIDO POR HONGOS ENDÓFITOS

223

Hernández Monasterio Susana y Morales Vargas Adán Topiltzin .

EFECTOS DE LA ACTIVIDAD BIOQUÍMICA EN SUELOS ENMENDADOS CON BIOSOLIDOS

Cerritos Coyote Brenda Cecilia¹ y Conde Bajas Eloy²

RESUMEN

La aplicación de biosólidos en suelos agrícolas es una opción para su manejo y al mismo tiempo incrementar el contenido de materia orgánica. Es importante evaluar el efecto de los biosólidos en las propiedades del suelo, la actividad enzimática del suelo es sensible a los cambios que se presentan en el suelo como la adición de sustratos orgánicos. Los biosólidos incrementan el contenido de algunos nutrientes esenciales para los cultivos, como el contenido de las fuentes de nitrógeno (NO_3^- y NH_4^+) y mejora algunas propiedades del suelo (textura).

En este proyecto se evaluaron las propiedades fisicoquímicas y biológicas de un suelo enmendado con biosólidos, determinando así: pH, C.E., textura, CRA (capacidad de retención de agua), COT (carbón orgánico total), MO (materia orgánica), nitrógeno inorgánico, C-BM (carbono de la biomasa microbiana), FDA (hidrólisis de fluoresceína diacetato), ureasa y finalmente 19 enzimas con el kit de APIZYM® para evaluar el efecto de la adición del biosólido al suelo agrícola.

ABSTRACT

The application of biosolids in agricultural soils is an option for their management and at the same time increase the content of organic matter. It is important to evaluate the effect of biosolids on soil properties, the enzymatic activity of the soil is sensitive to changes occurring in the soil as the addition of organic substrates. Biosolids increase the content of some essential nutrients for crops, such as the content of nitrogen sources (NO_3^- and NH_4^+) and improve some soil properties (texture).

In this project the physicochemical and biological properties of a soil modified with biosolids were evaluated, determining: pH, EC, texture, CRA (water retention capacity), TOC, organic matter, Inorganic nitrogen, C-BM (microbial biomass carbon), FDA (hydrolysis of fluorescein diacetate), urease and finally 19 enzymes with the APIZYM® kit to evaluate the effect of biosolid addition on agricultural soil.

Palabras clave: Actividad enzimática, Biosólido, Suelo agrícola.

INTRODUCCIÓN

La actividad bioquímica del suelo está constituida por una serie de reacciones catalizadas por enzimas, producidas por los organismos del suelo, principalmente los microorganismos. La importancia de las enzimas del suelo radica en los procesos naturales del suelo como es la fertilidad, productividad, mineralización de nutrientes y su relación con los ciclos biogeoquímicos como el del carbono y nitrógeno (Nannipieri et al., 1995). El suelo a estudiar fue enmendado con biosólidos provenientes de una planta de tratamiento de aguas residuales domésticas, que ha sido sometido a procesos de estabilización y que, por su contenido de materia orgánica, nutrientes y características adquiridas después de su estabilización, puedan ser susceptibles de aprovechamiento (NOM-004-SEMARNAT-2002). Actualmente, la utilización de los biosólidos en la agricultura ha dado beneficios a los agricultores, como efecto se ha demostrado ampliamente que las enmiendas orgánicas incrementan la actividad microbiana en el suelo y por ende la actividad enzimática (Fraser et al., 1988; Martens et al., 1992; Perucci, 1992). La descomposición de la materia orgánica y la disponibilidad de nutrientes en los suelos son controlados por las enzimas presentes en el suelo por lo cual estas pueden ser utilizadas como indicadores de calidad del suelo (Lakhdar et al., 2010; Singh et al., 2012; Srivastava et al., 2014). Las diferentes actividades humanas producen aguas residuales, las cuales después de un proceso de tratamiento, contienen grandes cantidades de sólidos orgánicos e inorgánicos suspendidos, los cuales después del proceso de estabilización pueden ser utilizados como mejoradores de suelos y se conocen como biosólidos. El problema de los biosólidos se ha enfocado a la generación de grandes volúmenes y a su adecuada disposición, ya que en la actualidad son enviados a los rellenos sanitarios reduciendo la vida útil de estos, además de que se pueden generar lixiviados y gases de efecto invernadero (Jokela et al., 1990). La aplicación de lodos residuales reduce costos de fertilización, además de mejorar las propiedades químicas y físicas del suelo, por contener buena cantidad de nitrógeno, fósforo, materia orgánica y micronutrientes esenciales en la nutrición vegetal que ayudan a incrementar el rendimiento de los cultivos debido a que varios de estos no están disponibles en cantidades suficientes en los suelos (Hue, et al., 1998; Williamson, et al., 2000). Las principales formas de aplicar los biosólidos residuales al suelo son semilíquido o deshidratado, el semilíquido posee altos contenidos de amonio disponible en un 60 % el primer año, con buenos resultados en el rendimiento de los cultivos, el 40 % restante se libera lentamente durante dos o tres años. En el lodo deshidratado, la materia orgánica se descompone más lentamente, liberando al nitrógeno en un 20 % en el primer año y el restante en los cinco años posteriores (Bingham, et al., 1996). La velocidad de la reacción catalizada por una enzima depende del pH, de la fuerza iónica, de la temperatura y de la presencia o ausencia

de inhibidores (Burns, 1982). La actividad enzimática del suelo es importante porque refleja el estado en el que se encuentran sus poblaciones microbianas y su relación con la biología del suelo, la producción de biomasa, la degradación de contaminantes y la conservación de ecosistemas (Doran, 2002; Gianfreda y Ruggiero, 2006). En agricultura, la actividad enzimática y otros indicadores biológicos, como la biomasa microbiana, se emplean como una medida de la fertilidad y del impacto de esta actividad en los suelos (García-Ruiz et al., 2008); en análisis ambiental, como un indicador de contaminación (Schinner et al., 1993), y en biotecnología, como medida de la eficiencia de los tratamientos biológicos para remediar suelos impactados por diferentes contaminantes, como los hidrocarburos o metales pesados (Margesin et al., 2000). Las enzimas del suelo más estudiadas son las oxidorreductasas (en particular, deshidrogenasas, catalasas y peroxidasas) y las hidrolasas (sobre todo fosfatasa, proteasas y ureasa); menos estudios se han llevado a cabo sobre otras enzimas del tipo transferasas o liasas.

El objetivo de este trabajo es comparar que cambios presenta un suelo enmendado con biosólidos en sus propiedades fisicoquímicas y biológicas antes (día 0) y después (día 60) de la enmienda con biosólidos.

MÉTODOS Y MATERIALES

El suelo a estudiar se ubica en el municipio de Celaya del estado de Guanajuato, México se encuentra a una altura de 1750 msnm con una temperatura promedio de 20 °C, y una precipitación pluvial de 603 mm por año cerca de la planta tratadora de agua del municipio con coordenadas N 20° 30.441', W 100° 52.000. Se realizaron 2 muestreos, el primero fue antes de agregar el biosólido y el segundo fue a los 60 días después de adicionarlos. Los biosólidos se obtuvieron de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Urbanas, ubicado en coordenadas 100° 51.3838' Longitud Oeste 20° 30.4655' Latitud Norte y una altitud de 1750 msnm.

El muestreo se realizó a una profundidad de 0 – 25 cm y se hizo una división en 3 subparcelas (A, B y C) cada una de 30 m por 30 m, se efectuó un muestreo en zigzag con 9 puntos en cada zona, obteniéndose muestras compuestas de 10 kg. Las muestras obtenidas se trasladaron al laboratorio para sus análisis, se dejaron secar al aire por 10 días, se tamizaron a 2 mm y se refrigeraron a 4°C hasta su correspondiente análisis.

Las propiedades fisicoquímicas que se determinaron fueron: Textura mediante el método de Bouyoucos, conductividad eléctrica (C.E.) y pH mediante el método potenciométrico en una suspensión de suelo- agua 1:2.5 (Thomas, 1996), humedad por gravimetría, capacidad de retención de agua (CRA) (Alef y Nannipieri, 1995), estos dos últimas determinaciones son fundamentales para poder medir otros parámetros, así también se calculó el porcentaje del carbono orgánico total (%COT) por el método de Walkley y Black. De igual manera se calculó el nitrógeno inorgánico: nitratos (NO₃⁻), nitritos (NO₂⁻) y amonio (NH₄⁺) por método colorimétrico.

Las propiedades biológicas y bioquímicas que se evaluaron fueron: carbono de la biomasa microbiana (C-BM), actividad microbiana mediante la técnica de hidrólisis de la fluoresceína diacetato (FDA), ureasa y la actividad de 19 enzimas mediante el kit APYZIM®. Primeramente, se pre incubaron 20 g de suelo y se ajustó al 40% de su CRA por 7 días en la oscuridad para activar a los microorganismos presentes, se usó NaOH 1M para capturar el CO₂. El C-BM se determinó mediante el método respiración inducida por sustrato (SIR por sus siglas en inglés) siendo para este caso glucosa el sustrato y el resultado se reporta mg de Cmic kg⁻¹ de suelo seco (Anderson y Domosh, 1978). La actividad microbiana se evaluó mediante la hidrólisis FDA por diferentes enzimas, como son las proteasas, lipasas y esterasas dando como resultado la fluoresceína, la cual es medida a través de un espectrofotómetro a 490 nm (García y Hernández, 2004). La actividad ureasa se basa en la determinación de amonio liberado en las muestras de suelo incubado con solución de urea durante 2 h a 37°C, la determinación del amonio producido es mediante espectrofotómetro a 690 nm (Alef y Nannipieri, 1995). La determinación de 19 enzimas entre las que destacan la familia de fosfatasa, esterasas, amino peptidasas, proteasas y glicosil hidrolasas por el kit APYZIM® se realizó mediante la obtención de un extracto enzimático con la metodología de Boluda et al. (2014) y la lectura de los valores obtenidos fue mediante la carta de colores establecida por el proveedor bioMérieux.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los análisis se le hicieron al suelo 60 días después de haberle agregado biosólidos y se compararon con los datos del suelo antes de haberlo enmendado con biosólidos. Los valores para los parámetros fisicoquímicos y biológicos se muestran en la Tabla 1.

El pH pasó de ser neutro a moderadamente ácido, pero realmente no tuvo cambio significativo. El valor de la conductividad eléctrica incrementó 49% con la aplicación del biosólido, sin embargo, se encuentra dentro de la clasificación de suelo no salino. La materia orgánica, que estaba en clase medio y paso a tener un alto contenido de MO, debido a que incremento más del 156% de su valor inicial. Y la textura del suelo, que pasó de ser arcilloso a franco, lo cual para suelos agrícolas es ideal haciendo que los suelos sean fácilmente manejables. Según Sánchez et al., (2005), expresan que cuando existe una mayor cantidad de MO presente en el suelo tiende a mejorar la estructura del suelo y a aumentar la capacidad de retención de agua (CRA), lo cual coincide con el incremento del 5% de la CRA para el día 60. El carbono orgánico total del suelo (COT) afecta la mayoría de las propiedades físico-químicas y biológicas del suelo vinculadas con su calidad,

Tabla 1. Propiedades de los suelos sin biosólido (día 0) y con biosólido (día 30)

PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS									
Día	pH	C.E. (dS/m)	M.O (%)	COT (%)	Textura	CRA (%)	N-NH ₄ ⁺ **	N-NO ₃ ⁻ *	N-NO ₂ ^{-*}
0	6.83	0.67	2.67	1.55	Arcilloso**	103.64	20.57	23.12	0.47
	±	±	±	±		±	±	±	±
30	1.52	0.17	0.65	0.38	Franco-arcilloso***	2.16	1.99	4.07	0.08
	±	±	±	±		±	±	±	±
30	6.80	1.70	7.20	4.18	Franco-arcilloso***	121.36	168.45	62.71	1.77
	±	±	±	±		±	±	±	±
30	0.12	0.02	0.66	0.38	Franco-arcilloso***	1.89	52.19	11.29	0.48
	±	±	±	±		±	±	±	±

PROPIEDADES BIOLÓGICAS

Día	C-BM (mg C _{mic} /kg suelo seco)	Ureasa (mg N-NH ₄ ⁺ /kg suelo seco/h)	FDA (mg Fluoresceína/kg suelo seco/h)
0	665.13 ± 153.31	206.08 ± 20.56	20.79 ± 5.43
30	856.34 ± 62.28	409.35 ± 16.86	45.88 ± 16.75

Los valores representan las medias ± desviación estándar; * Las unidades de estos parámetros son mg N kg⁻¹ suelo seco; **Distribución de partículas (Arena: 18.66 ± 1.53; Arcilla: 58.77 ± 0.08; Limo: 22.57 ± 0.79); *** Distribución de partículas (Arena: 22.93 ± 2.48; Arcilla: 41.69 ± 1.76; Limo: 35.38 ± 2.79)

sustentabilidad y capacidad productiva, por lo que el COT debe mantenerse o aumentarse (Martínez et al., 2008). El carbono orgánico total aumento en el suelo al que se le enmendó con biosólidos (110%) y valores similares se encuentran reportados por Sánchez et al., en el 2005.

El nitrógeno presente en la materia orgánica se transforma a compuestos inorgánicos vía los procesos de mineralización, lo cual lo vuelven disponible para las plantas. La transformación de nitrógeno ocurre por la descomposición y mineralización llevada a cabo por los microorganismos del suelo (Celaya y Castellanos., 2011). Según la NOM -021-RECNAT-2000, el suelo antes de la enmienda se clasificaba como bajo en nitrógeno inorgánico, al adicionar el biosólido los valores de nitrógeno inorgánico incrementaron para amonio 7 veces su valor inicial, para nitrato casi 10 veces y para nitrito 2 veces su valor inicial, por lo cual se comprueba que el biosólido aporta nitrógeno al suelo que puede ser aprovechado por los cultivos.

Los valores representan las medias ± desviación estándar

* Las unidades de estos parámetros son mg N kg⁻¹ suelo seco

** Distribución de partículas (Arena: 18.66 ± 1.53; Arcilla: 58.77 ± 0.08; Limo: 22.57 ± 0.79)

*** Distribución de partículas (Arena: 12.60 ± 0.59; Arcilla: 55.80 ± 0.83; Limo: 31.590 ± 1.03)

El C-BM disminuyó su concentración en el suelo enmendado con el biosólido, esto, según Ruíz et al., (2009) puede atribuirse a un decremento en la disponibilidad del carbono y nitrógeno en la materia orgánica del suelo, como consecuencia de la rápida mineralización de la misma y la lixiviación de nutrientes minerales, procesos que son favorecidos por la destrucción de los agregados del suelo durante la labranza. Esto también está relacionado con la alta actividad de ureasa que se presentó en el suelo que se analizó, ya que puede provocar una disminución del C-BM debido a que existe una modificación de la comunidad microbiana. Núñez et al. (2012) sugirió que una mayor actividad de ureasa está asociada a un mayor contenido de MO en el suelo más que a un incremento en la biomasa microbiana. Borie y Fuentealba (1982) también sugieren que la actividad de ureasa se modifica gracias a la aplicación de fertilizantes y pesticidas.

La hidrólisis de diacetato de fluoresceína [3',6'-diacetilfluoresceína]: un método rápido y eficaz para determinar la actividad microbiana en muestras de suelo (Ramírez & Trujillo, 2012) y que involucra la medida de un conjunto de enzimas como las proteasas, lipasas y esterases principalmente (Ulloa, 2014).

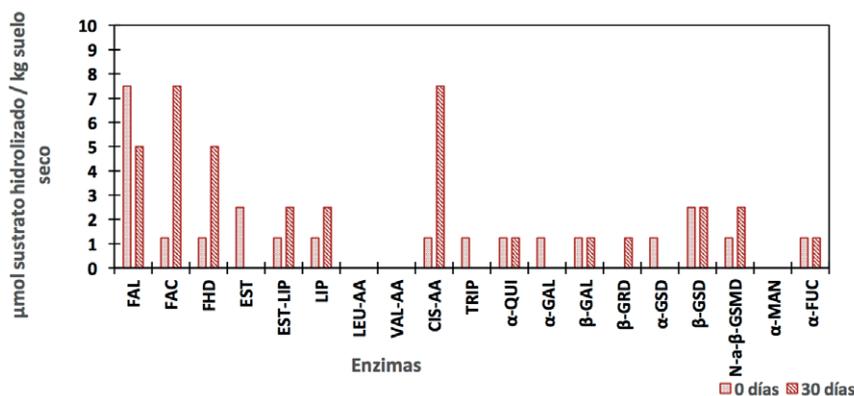


Figura 1. Actividad enzimática determinada mediante kit APIZYM® (FAL: Fosfatasa alcalina; FAC: Fosfatasa ácida; FHD: Fosfohidrolasa; EST: Esterasa; EST-LIP: Esterasa-lipasa; LIP: Lipasa; LEU-AA: Leucina arilamidasa; VAL-AA: Valina arilamidasa; CIS-AA: Cisteína arilamidasa; TRIP: Tripsina; α-QUI: α-Quimiotripsina; α-GAL: α-Galactosa; β-GAL: β-Galactosidasa; β-GRD: β-Glucoronidasa; α-GSD: α-Glucosidasa; β-GSD: β-Glucosidasa; N-a-β-GSMD: N-Acetil-β-D-Glucosamidasa; α-MAN: α-Manosa; α-FUC: α-Fucosidasa).

En el suelo enmendado con el biosólido hubo una disminución de fluoresceína. Comparando los análisis de

Ramírez y Trujillo (2012) se puede interpretar que la aplicación de enmienda (biosólidos) a suelos agrícolas puede disminuir la actividad microbiana de la misma.

Finalmente, en la Figura 1 se muestran los resultados del APIZYM en el suelo enmendado con el biosólido. A diferencia del primero análisis del suelo (día 0), el haberle colocado biosólidos al campo de cultivo, resulto en la inhibición de la mayoría de las enzimas y dando como resultados positivos la fosfatasa acida, fosfohidrogenasa, leucina aminopeptidasa, β -Glucosidasa, N-Acetil- β -D-Glucosaminidasa y α -Fucosidasa.

CONCLUSIONES

Respecto a las observaciones de la actividad enzimática se puede deducir que se vio afectada debido a que no conserva valores cercanos a los del inicio, por lo tanto, se recomienda hacer un estudio de cómo influye el ciclo del cultivo durante estos procesos y realizar muestreos por periodos de tiempo más corto donde se pueda apreciar los altibajos de la actividad enzimática.

Como se mencionó al inicio se notó un cambio en algunas de las características fisicoquímicas como la conductividad eléctrica, que incremento debido a las sales disueltas del biosólido. Sin embargo, en el pH no se encontró variación. Durante los análisis del suelo algunas zonas presentaron un mayor contenido de COT, los datos nos dan a entender que los biosólidos nos son distribuidos de manera correcta, por tanto, se tiene que mejorar la forma de aplicación, quizá con una dispersión equitativa de ciertas toneladas por hectáreas, así como también se podría implementar un subsuelo profundo para obtener un mejor mezclado de suelo. La actividad enzimática del suelo presento variaciones significativas en algunas de las enzimas como fue en la familia de las fosfatasas, FDA y ureasa, es importante resaltar que la actividad enzimática es sensible a las alteraciones producidas por la adición de un sustrato rico en materia orgánica y además también es sensible al manejo del suelo como pueden ser el sistema de labranza y la rotación de cultivo.

BIBLIOGRAFIA

- Alef, K., & Nannipieri, P. (1995). *Methods in applied soil microbiology and biochemistry* (No. 631.46 M592ma). Academic Press.
- Anderson, J. P. E., & Domsch, K. H. (1978). Mineralization of bacteria and fungi in chloroform-fumigated soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 10(3), 207-213.
- Bore F. & Fuentealba R. (1982) *Bioquímica de suelos derivados de cenizas volcánicas: Actividad ureásica*. Agricultura técnica (Chile). 42(2): 135- 138
- Celaya M. H. & Castellanos V. A. 2011. Mineralización de nitrógeno en el suelo de zonas áridas y semiáridas. *Terra Latinoamericana*. 29(3): 343.
- Fraser D., Pagiatakis S. D. and Goodacre A. K.; 1998: Using In-situ Rock Density to Calculate Terrain Corrections to Gravity Observations. *Proceedings of the 12th Annual Symposium on Geographic Information Systems*; 6-9 April, 1998, Toronto, Ontario, Canada.
- Jokela, W.E., S.C. Bosworth, P.D. Pfluke, J.J. Rankin and J.E. Carter. 1996. Ammonia volatilization from broadcast and band-applied liquid dairy manure on grass hay". *Agronomy abstracts*. P.315. Amer.Soc.Agronomy, Madison, WI.
- Martínez H. E., Fuentes E. J & Acevedo H. E. (2008) *Carbono orgánico y propiedades del suelo*. R.C. Suelo Nutr. Veg. 8(1): 68-71.
- Nannipieri P, Ascher J, Ceccherini MT, Landi L, Pietramellara G, Renella G (2003) *Microbial diversity and soil functions*. *Eur J Soil Sci* 54:655–670
- Núñez R. P., Jara C. A., Sandoval S. Y., Demanet R. & Mora M. (2012) *Biomasa microbiana y actividad del suelo en una pradera permanente pastoreada de Chile*. *Ciencia del suelo (Argentina)*. 30(2): 187-188
- Ramírez F. E. & Trujillo T. M. (2012). La hidrólisis de diacetato de fluoresceína: un método rápido y eficaz para determinar la actividad microbiana en muestras de suelo contaminado por pesticidas. *Ciencia y Mar*. 16(47): 31-36
- Sánchez B., Ruiz M & Ríos M. (2005) *Materia orgánica y actividad biológica del suelo en relación con la altitud, en la cuenca del Río Maracay*. *Agronomía Trop*. 55(4): 507-519.
- Secretaría del medio ambiente y recursos naturales. *Especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos*. Norma Oficial Mexicana NOM -021-RECNAT-2000. Diario Oficial de la Federación. 31 de diciembre del 2002.
- Servicios del Departamento de Salud Pública de Salud Ambiental del Condado de San Luis Obispo. 20**. *Aguas Residuales Tratadas, Lodo/Biosolidos y Aplicación en el Suelo en el Condado de San Luis*. Environmental Health Services.
- Thomas, G. W. (1996). Soil pH and soil acidity. *Methods of Soil Analysis Part 3—Chemical Methods*, (methodsofsoil3), 475-490.
- Veléz Z, J. 2007. Los biosólidos: ¿una solución o problema? *Produccion + Limpia*. Vol 2 No. 2.

EFECTOS DE LA ACTIVIDAD BIOQUÍMICA EN SUELOS ENMENDADOS CON BIOSÓLIDOS

Medina Calderón Juana¹ y Conde Bajaras Eloy²

RESUMEN

La aplicación de biosólidos en suelos agrícolas es una opción para su manejo y al mismo tiempo incrementar el contenido de materia orgánica de los suelos, así el uso de este sustrato como enmienda es una solución sustentable a un problema de interés actual para la sociedad. Sin embargo, es importante evaluar el efecto de la enmienda de los suelos con biosólidos como sustrato orgánico en las propiedades fisicoquímicas y biológicas del suelo, como el contenido de materia orgánica, el contenido de nutrientes como las fuentes de nitrógeno (NO₃⁻ y NH₄⁺), pH, C.E., Textura y actividad microbiana y enzimática con respecto al tiempo de mineralización de las enmiendas.

En el presente trabajo se evaluaron las propiedades físico-químicas y biológicas de un suelo enmendado con biosólidos, determinando así: pH, C.E., textura, CRA (capacidad de retención de agua), COT (carbón orgánico total), MO (materia orgánica), nitrógeno inorgánico, C-BM (carbono de la biomasa microbiana), FDA (hidrólisis de fluoresceína diacetato), ureasa y finalmente 19 enzimas con el kit de APIZYM® para evaluar el efecto de la adición del biosólido al suelo agrícola a los 30 días de la adición del biosólido.

Palabras clave: Actividad enzimática, Biosólido, Suelo agrícola.

INTRODUCCIÓN

La actividad bioquímica del suelo es determinada por las reacciones propias del suelo relacionadas con la mineralización de la materia orgánica catalizadas por enzimas, estas son producidas por los organismos del suelo, principalmente los microorganismos. La importancia de las enzimas del suelo radica en los procesos naturales del suelo como es la fertilidad, productividad, mineralización de nutrientes y su relación con los ciclos biogeoquímicos como el del carbono y nitrógeno (Nannipieri et al., 1995). El suelo a estudiar fue enmendado con biosólidos provenientes de una planta de tratamiento de aguas residuales domésticas, que ha sido sometido a procesos de estabilización y que por su contenido de materia orgánica, nutrientes y características adquiridas después de su estabilización, puedan ser susceptibles de aprovechamiento (NOM-004-SEMARNAT-2002). Actualmente, la utilización de los biosólidos en la agricultura ha dado beneficios a los agricultores, como efecto se ha demostrado ampliamente que las enmiendas orgánicas incrementan la actividad microbiana en el suelo y por ende la actividad enzimática (Fraser et al., 1988; Martens et al., 1992; Perucci, 1992). La descomposición de la materia orgánica y la disponibilidad de nutrientes en los suelos son controlados por las enzimas presentes en el suelo por lo cual estas pueden ser utilizadas como indicadores de calidad del suelo (Lakhdar et al., 2010; Singh et al., 2012; Srivastava et al., 2014).

Las diferentes actividades humanas producen aguas residuales, las cuales después de un proceso de tratamiento, contienen grandes cantidades de sólidos orgánicos e inorgánicos suspendidos, los cuales después del proceso de estabilización pueden ser utilizados como mejoradores de suelos y se conocen como biosólidos (Coker et al., 1991). El problema de los biosólidos se ha enfocado a la generación de grandes volúmenes y a su adecuada disposición, ya que en la actualidad son enviados a los rellenos sanitarios reduciendo la vida útil de estos, además de que se pueden generar lixiviados y gases de efecto invernadero (Jokela et al., 1996).

La velocidad de la reacción catalizada por una enzima depende del pH, de la fuerza iónica, de la temperatura y de la presencia o ausencia de inhibidores. La actividad enzimática del suelo es importante porque refleja el estado en el que se encuentran sus poblaciones microbianas y su relación con la biología del suelo, la producción de biomasa, la degradación de contaminantes y la conservación de ecosistemas (Doran, 2002; Gianfreda y Ruggiero, 2006).

En agricultura, la actividad enzimática y otros indicadores biológicos, como la biomasa microbiana, se emplean como indicadores de la fertilidad y del impacto de esta actividad en los suelos (García-Ruiz et al., 2008); en análisis ambiental, como un indicador de contaminación (Schinner et al., 1993), y en biotecnología, como medida de la eficiencia de los tratamientos biológicos para remediar suelos impactados por diferentes contaminantes, como los hidrocarburos o metales pesados (Margesin et al., 2000). Las enzimas del suelo más estudiadas son las oxidoreductasas (en particular, deshidrogenasas, catalasas y peroxidasas) y las hidrolasas (sobre todo fosfatasas, proteasas y ureasa); menos estudios se han llevado a cabo sobre otras enzimas del tipo transferasas o liasas.

El objetivo de este trabajo es comparar que cambios presenta un suelo enmendado con biosólidos en sus propiedades fisicoquímicas y biológicas antes (día 0) y después (día 30) de la enmienda con biosólidos.

MÉTODOS Y MATERIALES

El suelo a estudiar se ubica en el municipio de Celaya del estado de Guanajuato, México se encuentra a una altura de 1750 msnm con una temperatura promedio de 20 °C, y una precipitación pluvial de 603 mm por año cerca de la planta tratadora de agua del municipio con coordenadas N 20° 30.441', W 100° 52.000. Se realizaron 2 muestreos, el primero fue antes de agregar el biosólido y el segundo fue a los 60 días después de adicionarlos. Los biosólidos se obtuvieron de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Urbanas, ubicado en coordenadas 100° 51.3838' Longitud Oeste 20° 30.4655' Latitud Norte y una altitud de 1750 msnm.

El muestreo se realizó a una profundidad de 0 – 25 cm y se hizo una división en 3 subparcelas (A, B y C) cada una de 30 m por 30 m, se efectuó un muestreo en zigzag con 9 puntos en cada zona, obteniéndose muestras compuestas de 10 kg. Las muestras obtenidas se trasladaron al laboratorio para sus análisis, se dejaron secar al aire por 10 días, se tamizaron a 2 mm y se refrigeraron a 4°C hasta su correspondiente análisis.

Las propiedades fisicoquímicas que se determinaron fueron: Textura mediante el método de Bouyoucos, conductividad eléctrica (C.E.) y pH mediante el método potenciométrico en una suspensión de suelo- agua 1:2.5 (Thomas, 1996), humedad por gravimetría, capacidad de retención de agua (CRA) (Alef y Nannipieri, 1995), estos dos últimas determinaciones son fundamentales para poder medir otros parámetros, así también se calculó el porcentaje del carbono orgánico total (%COT) por el método de Walkley y Black. De igual manera se calculó el nitrógeno inorgánico: nitratos (NO₃-), nitritos (NO₂-) y amonio (NH₄⁺) por método colorimétrico.

Las propiedades biológicas y bioquímicas que se evaluaron fueron: carbono de la biomasa microbiana (C-BM), actividad microbiana mediante la técnica de hidrólisis de la fluoresceína diacetato (FDA), ureasa y la actividad de 19 enzimas mediante el kit APYZIM®. Primeramente se pre incubaron 20 g de suelo y se ajustó al 40% de su CRA por 7 días en la oscuridad para activar a los microorganismos presentes, se usó NaOH 1M para capturar el CO₂. El C-BM se determinó mediante el método respiración inducida por sustrato (SIR por sus siglas en inglés) siendo para este caso glucosa el sustrato y el resultado se reporta mg de C_{mic} kg⁻¹ de suelo seco (Anderson y Domosh, 1978). La actividad microbiana se evaluó mediante la hidrólisis FDA por diferentes enzimas, como son las proteasas, lipasas y esterases dando como resultado la fluoresceína, la cual es medida a través de un espectrofotómetro a 490 nm (García y Hernández, 2003). La actividad ureasa se basa en la determinación de amonio liberado en las muestras de suelo incubado con solución de urea durante 2 h a 37°C, la determinación del amonio producido es mediante espectrofotómetro a 690 nm (Alef y Nannipieri, 1995). La determinación de 19 enzimas entre las que destacan la familia de fosfatasas, esterases, amino peptidasas, proteasas y glicosil hidrolasas por el kit APYZIM® se realizó mediante la obtención de un extracto enzimático con la metodología de Boluda et al. (2014) y la lectura de los valores obtenidos fue mediante la carta de colores establecida por el proveedor bioMérieux.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 1. Propiedades de los suelos sin biosólido (día 0) y con biosólido (día 30)

PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS									
Día	pH	C.E. (dS/m)	M.O (%)	COT (%)	Textura	CRA (%)	N-NH ₄ ⁺ *	N-NO ₃ ^{-*}	N-NO ₂ ^{-*}
0	6.83	0.67	2.67	1.55	Arcilloso**	103.64	20.57	23.12	0.47
	±	±	±	±		±	±	±	±
	1.52	0.17	0.65	0.38		2.16	1.99	4.07	0.08
30	6.80	1.70	7.20	4.18	Franco-arcilloso***	121.36	168.45	62.71	1.77
	±	±	±	±		±	±	±	±
	0.12	0.02	0.66	0.38		1.89	52.19	11.29	0.48

PROPIEDADES BIOLÓGICAS			
Día	C-BM (mg C _{mic} /kg suelo seco)	Ureasa (mg N-NH ₄ ⁺ /kg suelo seco/h)	FDA (mg Fluoresceína/kg suelo seco/h)
0	665.13 ± 153.31	206.08 ± 20.56	20.79 ± 5.43
30	856.34 ± 62.28	409.35 ± 16.86	45.88 ± 16.75

Los valores representan las medias ± desviación estándar; * Las unidades de estos parámetros son mg N kg⁻¹ suelo seco; **Distribución de partículas (Arena: 18.66 ± 1.53; Arcilla: 58.77 ± 0.08; Limo: 22.57 ± 0.79); *** Distribución de partículas (Arena: 22.93 ± 2.48; Arcilla: 41.69 ± 1.76; Limo: 35.38 ± 2.79)

Los análisis se le hicieron al suelo 30 días después de haberle adicionado biosólidos y se compararon con los datos del suelo antes de enmendarlo con biosólidos. Los valores para los parámetros fisicoquímicos y biológicos se muestran en la Tabla 1.

El pH no tuvo afectación con la enmienda siendo un suelo neutro. El valor de la conductividad eléctrica

incrementó 149% con la aplicación del biosólido, sin embargo se encuentra dentro de la clasificación de suelo no salino pero este parámetro debe seguirse en caso que se le adicione más biosólido al suelo porque podría exceder el contenido de sales y la enmienda podría no ser adecuada. La materia orgánica, que estaba en clase medio y paso a tener un alto contenido de MO, debido a que incremento más del 150% de su valor inicial. Y la textura del suelo, qué pasó de ser arcilloso a franco-arcilloso debido al alto contenido de arena que poseen los biosólidos, para suelos agrícolas es adecuado que el contenido de arcilla no sea tan alto para que los suelos sean fácilmente manejables. Según Sánchez et al., (2005), expresan que cuando existe una mayor cantidad de MO presente en el suelo tiende a mejorar la estructura del suelo y a aumentar la capacidad de retención de agua (CRA), lo cual coincide con el incremento del 17% de la CRA para el día 60.

El carbono orgánico total del suelo (COT) afecta la mayoría de las propiedades físico-químicas y biológicas del suelo vinculadas con su calidad, sustentabilidad y capacidad productiva, por lo que el COT debe mantenerse o aumentarse (Martínez et al., 2008). El carbono orgánico total aumento en el suelo al que se le enmendó con biosólidos (130%) y valores similares se encuentran reportados por Sánchez et al., en el 2005.

El nitrógeno presente en la materia orgánica se transforma a compuestos inorgánicos vía los procesos de mineralización, lo cual lo vuelven disponible para la plantas. La transformación de nitrógeno ocurre por la descomposición y mineralización llevada a cabo por los microorganismos del suelo (Celaya y Castellanos., 2011). Según la NOM -021-REC/NAT-2000, el suelo antes de la enmienda se clasificaba como bajo en nitrógeno inorgánico, al adicionar el biosólido los valores de nitrógeno inorgánico incrementaron para amonio 8 veces su valor inicial, para nitrato casi 3 veces y para nitrito 4 veces su valor inicial, por lo cual se comprueba que el biosólido aporta nitrógeno al suelo que puede ser aprovechado por los cultivos, y además con estos valores el suelo se clasifica como rico en nitrógeno.

El C-BM incremento su concentración en el suelo enmendado con el biosólido, lo que era de esperarse ya que la adición de materia orgánica estimula la actividad microbiana al haber mayor contenido de nutrientes y carbono disponible para los microorganismos. Esto también está relacionado con la alta actividad de ureasa que se presentó en el suelo que se analizó. Núñez et al. (2012) sugirió que una mayor actividad de ureasa está asociada a un mayor contenido de MO. Bore y Fuentealba (1982) también sugieren que la actividad de ureasa se modifica gracias a la aplicación de fertilizantes y pesticidas.

La hidrólisis de diacetato de fluoresceína [3',6'-diacetilfluoresceína]: un método rápido y eficaz para determinar la actividad microbiana en muestras de suelo (Ramírez & Trujillo, 2012) y que involucra la medida de un conjunto de enzimas como las proteasas, lipasas y esterases principalmente. En el suelo enmendado con el biosólido hubo un incremento de la actividad FDA. Comparando los análisis de Ramírez y Trujillo (2012) se puede interpretar que la aplicación de enmienda (biosólidos) a suelos agrícolas puede incentivar la actividad microbiana de la misma.

Finalmente, en la Figura 1 se muestran los resultados del APIZYM® en el suelo enmendado con el biosólido. A diferencia de los resultados del día 0, la enmienda a los 30 días de su aplicación al suelo resulto en la

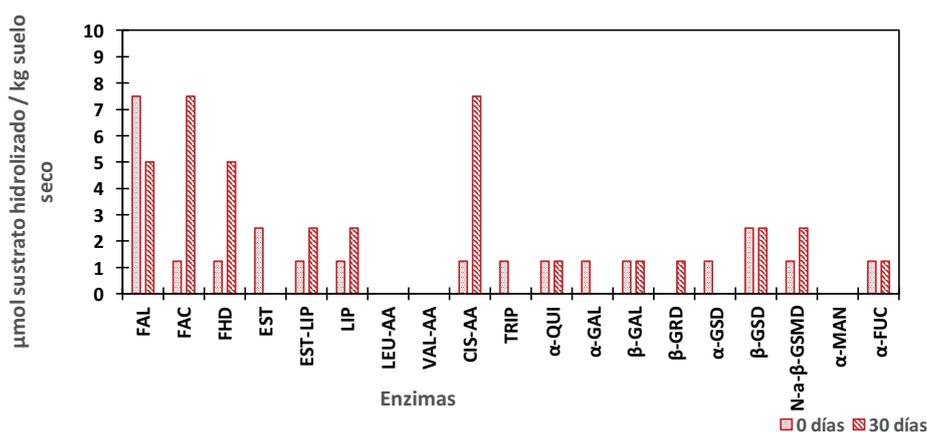


Figura 1. Actividad enzimática determinada mediante kit APIZYM® (FAL: Fosfatasa alcalina; FAC: Fosfatasa ácida; FHD: Fosfohidrolasa; EST: Esterasa; EST-LIP: Esterasa-lipasa; LIP: Lipasa; LEU-AA: Leucina arilamidasa; VAL-AA: Valina arilamidasa; CIS-AA: Cisteína arilamidasa; TRIP: Tripsina; α-QUI: α-Quimiotripsina; α-GAL: α-Galactosa; β-GAL: β-Galactosidasa; β-GRD: β-Glucoronidasa; α-GSD: α-Glucosidasa; β-GSD: β-Glucosidasa; N-a-β-GSD: N-Acetil-β-D-Glucosamidasas; α-MAN: α-Manosa; α-FUC: α-Fucosidasa).

inhibición de las enzimas Esterasa, Tripsina, α-Galactosidasa y α-Glucosidasa. Sin embargo, otras enzimas aumentaron su actividad (Fosfatasa acida, Fosfohidrolasa, Esterasa-Lipasa, Lipasa, Cisteína arilamidasa y N-Acetil-β-D-Glucosamidasas) y para Fosfatasa alcalina su actividad disminuyó, en el resto no hubo cambio en la actividad con la enmienda.

CONCLUSIONES

Respecto a las observaciones de la actividad enzimática se puede deducir que se vio afectada debido a que no conserva valores cercanos a los del inicio, por lo tanto se recomienda hacer un estudio de cómo influye el ciclo del cultivo durante estos procesos y realizar muestreos por periodos de tiempo más largos para ver la evolución de estos parámetros con respecto al tiempo a largo plazo.

Como se mencionó al inicio se notó un cambio en algunas de las características fisicoquímicas como la conductividad eléctrica, que incremento debido a las sales disueltas del biosólido. Sin embargo, en el pH no se encontró variación. Durante los análisis del suelo algunas zonas presentaron un mayor contenido de COT, sin embargo las desviaciones estándar tan altas en la textura nos dan a entender que los biosólidos nos son distribuidos de manera correcta por tanto, se tiene que mejorar la forma de aplicación, quizá con una dispersión equitativa de ciertas toneladas por hectáreas, así como también se podría implementar un subsuelo profundo para obtener un mejor mezclado de suelo.

La actividad enzimática del suelo presento variaciones significativas en algunas de las enzimas como fue en la familia de las fosfatasas, FDA y ureasa, es importante resaltar que la actividad enzimática es sensible a las alteraciones producidas por la adición de un sustrato rico en materia orgánica y además también es sensible al manejo del suelo como pueden ser el sistema de labranza y la rotación de cultivo.

BIBLIOGRAFIA

- Alef, K., & Nannipieri, P. (1995). *Methods in applied soil microbiology and biochemistry* (No. 631.46 M592ma). Academic Press.
- Anderson, J. P. E., & Domsch, K. H. (1978). Mineralization of bacteria and fungi in chloroform-fumigated soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 10(3), 207-213.
- Bore F. & Fuentealba R. (1982) *Bioquímica de suelos derivados de cenizas volcánicas: Actividad ureásica*. Agricultura técnica (Chile). 42(2): 135- 138.
- Coker C. S., Walde L. R. Shea T. G., Brinker M. J., 1991. Dewatering waste water sludge for incineration. *Water Environment and technology* 16, 63-68.
- Doran, J.W. 2002. Soil health and global sustainability, translating science into practice. *Agriculture Ecosystems and Environment*. 88, 119-127.
- FRASER, D., J. DORAN, W. SAHS and G. LESOING. 1988. Soil microbial populations activities under conventional and organic management. *J. Environ. Qual.* 17:585-590.
- García, C., Gil, F., Hernández, T., Trasar, C. 2003. *Técnicas de Análisis de Parámetros Bioquímicos en suelos. Medida de Actividades Enzimáticas y Biomasa Microbiana*. Editorial Mundi-Prensa. España.
- García-Ruiz, R., Ochoa, V., Hinojosa, M.B., Carreira, J.A. 2008. Suitability of enzyme activities for the monitoring of soil quality improvement in organic agricultural systems. *Soil Biology and Biochemistry*. 40, 2137-2145.
- Gianfreda, L., Ruggiero, P. 2006. Enzyme activities in soil. En: Nannipieri, P., Smalla., K. (editores). *Nucleic acids and proteins in soil*. Capítulo 12. Springer Publishing Company. Alemania.
- Jokela, W. E., S.C. Bosworh, P.D. Pfluke, J.J. Rankin and J.E. Carter. 1996 "Ammonia Volatization from broadcast and band-applied liquid dairy manure on grass hay".
- Lakhdar, A., Scelza, R., Scotti, R., Rao, M. A., Jedidi, N., Gianfreda, L. y C. Abdelly. 2010. The effect of compost and sewage sludge on soil biologic activities in salt affected soil. *Revista de la ciencia del suelo y nutrición vegetal* 10(1): 40 –47.
- Margesin, R., Walder, G., Schinner, F. 2000a. The impact of hydrocarbon remediation (diesel oil and polycyclic aromatic hydrocarbons) on enzyme activities and microbial properties of soil. *Acta Biotechnologica*. 20, 313-333.
- Martens, D., J. Johanson and W. Frankenberger Jr. 1992. Production and persistence of soil enzymes with repeated additions of organic residues. *Soil Sci.* 153:53-61
- Martínez H. E., Fuentes E. J & Acevedo H. E. (2008) *Carbono orgánico y propiedades del suelo*. R.C. Suelo Nutr. Veg. 8(1): 68-71.
- Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002. *Diario Oficial de la Federación*. 15 de Agosto del 2003. Protección ambiental.- Lodos y biosólidos.-Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final.
- Norma Oficial Mexicana NOM -021-RECNAT-2000. *Diario Oficial de la Federación*. 31 de diciembre del 2002.
- Servicios del Departamento de Salud Pública de Salud Ambiental del Condado de San Luis Obispo. 20**. *Aguas Residuales Tratadas, Lodo/Biosólidos y Aplicación en el Suelo en el Condado de San Luis*. Environmental Health Services.
- Núñez R. P., Jara C. A., Sandoval S. Y., Demanet R. & Mora M. (2012) *Biomasa microbiana y actividad del suelo en un pradera permanente pastoreada de Chile*. *Ciencia del suelo (Argentina)*. 30(2): 187-188.
- Perucci, P. 1992. Enzyme activity and microbial biomass in a field soil amended with municipal refuse. *Biol. Fertil. Soils*. 14:54-60.
- Ramírez F. E. & Trujillo T. M. (2012). La hidrólisis de diacetato de fluoresceína: un método rápido y eficaz para determinar la actividad microbiana en muestras de suelo contaminado por pesticidas. *Ciencia y Mar*. 16(47): 31-36
- Sánchez B., Ruiz M & Ríos M. (2005) *Materia orgánica y actividad biológica del suelo en relación con la altitud, en la cuenca del Río Maracay*. *Agronomía Trop.* 55(4): 507-519.
- Schinner, F., Bayer, H., Mitterer, M. 1993. The influence of herbicides on microbial activity in soil materials. *Australian Journal of Agricultural Research*. 34, 22-30.
- Singh, K., Singh, B. y R. R. Singh. 2012. Changes in physico-chemical, microbial and enzymatic activities during restoration of degraded sodic land: Ecological suitability of mixed forest over monoculture plantation. *Catena* 96: 57 – 67.
- Srivastava, P. K., Gupta, M., Pandey, A., Pandey, V., Singh, N., y S. K. Tewari. 2014. *Plant Soil Environ*. Effects of sodicity induced changes in soil physical properties on paddy root growth. *Plant soil and environment*

60(4): 165 – 169.

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.

DESPLIEGUE DE LA FUNCIÓN DE CALIDAD (QFD) PARA IDENTIFICAR LOS REQUERIMIENTOS TÉCNICOS DE LAS VARIABLES QUE INFLUYEN DENTRO DE UN INVERNADERO, CON BASE EN LAS NECESIDADES ACTUALES DE AUTOMATIZACIÓN EN INVERNADEROS DEL ESTADO DE QUERÉTARO, PARA EL DISEÑO DE UN SISTEMA DE CONTROL Y MONITOREO

Ramses Razo Pecina¹, María Angola Magdalena Jiménez Grajales²

RESUMEN

La presente investigación se realizó con el propósito de conocer necesidades actuales de los agricultores que siembran dentro de los invernaderos con el fin de crear un sistema de control y monitoreo utilizando internet de las cosas. A partir de la recopilación de esta información se estudiaron diferentes variables que fueron determinadas previamente. Una vez que se contó con dichas variables se aplicó una encuesta a diferentes técnicos y personas que se dedican a la agricultura protegida en la región. Con la compilación de datos se realizó un QFD, el cual tiene la finalidad de identificar los requerimientos técnicos para el diseño del sistema de control y monitoreo mencionado.

Dentro del QFD que se realizó se determinaron las variables más significativas, es decir las de mayor importancia para los agricultores de siembra protegida del Estado de Querétaro, así como el tipo de automatización que se necesita para tener controladas dichas variables, determinar cuáles son las más importantes, y a su vez ser compararlas con las competencias a nivel nacional y mundial.

ABSTRACT

The following investigation was realized with the finality of knowing the needs of the actual agriculturist that plant inside the green houses. This with the finality of developing a new controlling and monitoring system by compilation of information, in this investigation were studied several variables that were previously determined, when we obtained those variables, an inquiry was provided to different technicians, also to people that work in protected agriculture.

Whit the help of the information a QFD was realized that has the finality of sustain the project for a new system of controlling and monitoring, in the QFD we could determine the variables that were more significant or the ones that have more importance for the agriculturist of protected seedtime in the state of Queretaro, also the automatization of the control of those variables and determine what are the most important, and at the same time compare with the other national and international labels.

Palabras claves. - QFD, cultivo protegido, variables, control y monitoreo

INTRODUCCIÓN

Los cultivos bajo protección tienden a perder gran cantidad de lo cultivado. Debido al cuidado de éste las 24 horas del día gran cantidad de variables son descuidadas y esto lleva a la pérdida de los cultivos. Existen demasiados descuidos en los invernaderos entre los que destacan la planta deshidratada, planta ahogada, planta con poco crecimiento, planta asfixiada, planta quemada y planta con plaga, todo esto es debido a que no se tiene el cuidado adecuado que los cultivos requieren, con base a lo anterior se puede determinar que muchos de estos problemas son derivados de una falta de control y monitoreo, además de una falta de automatización dentro de los invernaderos.

En la actualidad la automatización de las variables que más influyen en el crecimiento, cuidado y mantenimiento de los cultivos es de suma importancia para estos negocios ya que pueden resultar ser rentables. El manejo de estas variables depende de una serie de automatizaciones las cuales resultan ser una necesidad en la actualidad y no una alternativa. Las condiciones climáticas actuales resultan ser demasiado impredecibles, por ello toman más importancia las automatizaciones en los riegos, control del viento, así como las de tipo solar, etc. (Departamento de Agricultura , 2002).

En el Estado de Querétaro y dentro del territorio nacional es fácil determinar que los invernaderos que tiene propietarios del sector agrícola carecen de automatización, la cual como ya se menciono es de suma importancia para el desarrollo eficiente de los cultivos.

METODOLOGÍA

La investigación se realizó con la recolección de contactos proporcionados por SEDEA, la cual brindó los contactos de varios de sus técnicos que trabajaron previamente en proyectos de desarrollo de siembra protegida, logrando con esto una red de contactos que incluía a más personas dedicadas a este sector. Como instrumento para la recolección de información se empleó una encuesta, la cual se desarrolló con la finalidad de obtener información importante sobre la siembra protegida. Dentro de la encuesta se pretendió determinar las necesidades actuales en términos de automatización, además de conocer las variables a controlar de mayor importancia, también nos ayudó a conocer la realidad de los invernaderos en cuestión de servicios, conociendo así el tipo de energía utilizada, si contaban con drenaje, internet o diferentes servicios y entre otros puntos conocer cuáles son las problemáticas principales con las que se cuenta para poder tomar una medida ante estas problemáticas

En la elaboración del QFD se tomó en cuenta únicamente la información de las encuestas acerca de las variables de mayor interés, así como el tipo de automatización que se debe de tener como prioridad para mantener un control dentro de los invernaderos. Otro aspecto a tomar en cuenta fue el de la relación significativa y tanto en automatizaciones, así como una clasificación sobre la importancia de los sistemas de automatización, también se realizó un benchmarking para determinar el nivel de control que tienen sobre las variables de interés tanto en empresas nacionales e internacionales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Dentro del proceso de elaboración del QFD pudimos observar con qué características de automatización se debe contar, así como la determinación de las variables de mayor interés y las automatizaciones más

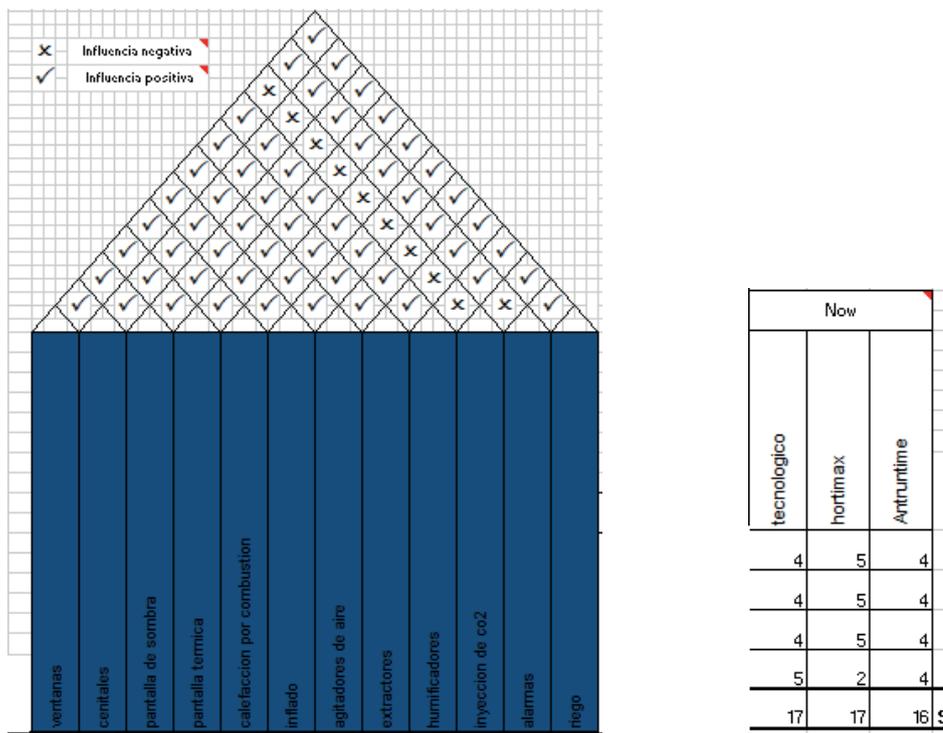


Figura 1.-Requerimientos para cumplir las variables

Temperatura	5	9	9	9	9	9	9	9	9	9	1	9	9
Humedad del aire	3	9	9	1	1	9	1	9	9	9	1	9	
Humedad del suelo	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	9	9
Costo	5	3	3	3	3	9	9	3	9	9	1	1	9
total	17												

Figura 3.- Variables de interés

importancia acumulada	autom atizar												
importancia relativa	91	91	67	67	121	97	91	121	121	17	113	126	
Acumulada	8%	8%	6%	6%	11%	9%	8%	11%	11%	2%	10%	11%	
Importancia	7	8	10	11	1	6	9	2	3	12	5	4	

Figura 4.-Piorizacion de los requerimientos

importantes dentro de los invernaderos. Todo esto se obtuvo con la información recolectada de las encuestas que se realizaron de algunos técnicos y personas dedicadas a la siembra protegida. A su vez se pudo realizar un análisis de las competencias y una comparación del mercado actual y de la forma de controlar y monitorear los invernaderos, nos encontramos que, dentro de la república, el proyecto se encuentra a un nivel muy competitivo en funcionalidad y más accesible en el aspecto económico. A nivel internacional se encuentra por debajo en el control y monitoreo de las variables, pero cuentan con un valor muy superior al del control que se está realizando.

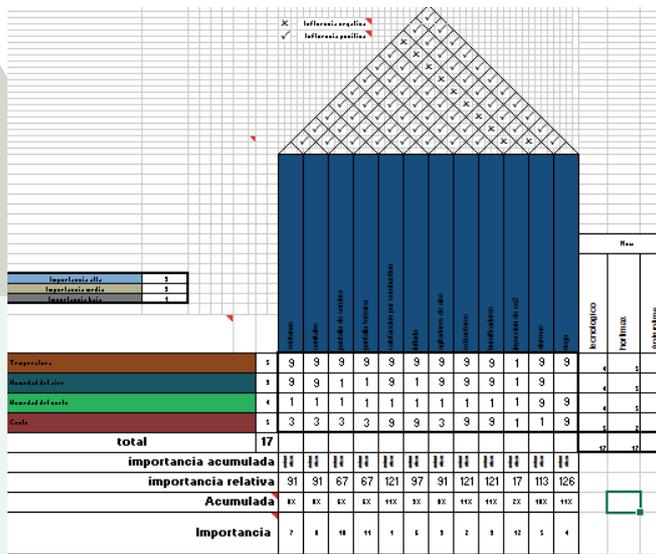


Figura 5.- QFD del nuevo sistema de control y monitoreo de invernaderos



Figura 6.- Control, monitoreo de ventanas y cenitales.



Figura 7.- Control y monitoreo del sistema de riego.

Se conocieron diferentes problemáticas que afectan los cultivos de las personas que siembran en cultivos protegidos, estas problemáticas son causadas por un bajo nivel de automatización que provoca que no se puedan controlar adecuadamente las variables más importantes.

CONCLUSIONES

Con la finalidad de propiciar la automatización adecuada de los invernaderos de la región, se identificaron las variables de mayor interés, sin embargo, se presentó la problemática de que algunos productores no pueden controlar las variables que afectan de forma significativa a sus invernaderos, por ende, se identificaron todas estas variables para buscar un sistema de automatización que ayuden en el control de los invernaderos de manera que se tenga controlada la mayor cantidad de factores a medida de la posibilidad de cada productor.

A su vez se identificó la situación actual de la competencia para que el nuevo sistema propuesto pueda colocarse competitivamente en el mercado con la finalidad de satisfacer las necesidades agrícolas del estado de Querétaro a un precio accesible para ayudar de esta manera a potenciar el sector agrícola.

REFERENCIAS

- Departamento de Agricultura . (2002). Obtenido de <http://www.fao.org/docrep/005/s8630s/s8630s00.htm#Contents>
- Rivera, R. d. (2000). Obtenido de http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lat/silva_c_sl/capitulo3.pdf
- SEDEA. (2012). Obtenido de http://sedea.queretaro.gob.mx/sites/sedea.queretaro.gob.mx/files/pdf_gral/Invernaderos_2006_2011.pdf

DISOCIACIÓN ENZIMÁTICA PARA LA OBTENCIÓN DE PROTOPLASTOS A PARTIR DE HOJAS DE JITOMATE *Solanum lycopersicum*

Rodríguez Rodríguez Amy¹ y Ramírez Martínez Francisco².

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo la disociación por método enzimático para la obtención de protoplastos, de hojas de jitomate *Solanum lycopersicum*, que es el vegetal más producido y consumido en México, los protoplastos son ampliamente usados como modelos de estudio para canales y bombas iónicas, inhibidores de transporte de membrana y proteínas transportadoras, el estudio de la membrana plasmática y de cómo se comporta ante macromoléculas y virus. Otro de los campos en los que se usa de manera amplia es en el de la ingeniería genética de bacterias pues al carecer de pared facilita la inyección de ADN. Se estableció una metodología que eficientiza la obtención de los protoplastos, con una serie de experimentos, por medio de disociación a partir de la enzima celulasa, en periodos de tiempo de 1, 2 y 3 horas, obteniendo resultados favorables a partir de la primera hora, con el uso de celulasa.

ABSTRACT

The present work aimed to dissociation by the enzymic method for obtaining protoplasts., The leaves of tomato *Solanum lycopersicum*, which is the most produced vegetable and consumed in Mexico. Protoplasts are widely used as models of study for channels ionic pumps, membrane transport inhibitors and transporter proteins, study of the plasmatic membrane and how they behave before macromolecules and viruses. Another field in which it is widely used is in the genetic engineering of bacteria so the lack of the wall facilitates the injection of DNA. A methodology was established to obtain the protoplasts, with a series of experiments, by means of the dissociation from the cellulase enzyme, in periods of time of 1, 2 and 3 hours with the use of cellulose.

Palabras clave: protoplastos, disociación, celulasa.

INTRODUCCIÓN

El jitomate es originario de la América del Sur, de la región andina, particularmente de Perú, Ecuador, Bolivia y Chile. Sin embargo, su domesticación fue llevada a cabo en México. El nombre de jitomate procede del náhuatl *xictli*, *ombligo* y *tomatl*, *tomate*, que significa tomate de ombligo.

Los países que ocupan los primeros tres lugares en el ranking de mayores exportadores comercializan poco más de 55% de total mundial. Holanda ocupa el primer sitio, con 22% del volumen de exportaciones mundiales de jitomate; México tiene el segundo lugar con 18% de las mismas; en tercer lugar, España con 17% del total mundial, es por esto por lo que la producción y el desarrollo de técnicas que permitan la manipulación y el control de este vegetal es de gran importancia, en especial para nuestro país. (SAGARPA, 2010)

Se estima que alrededor de 180 billones de toneladas de celulosa son producidas por las plantas anualmente, por lo que constituye una de las fuentes de carbono renovables más importantes que hay sobre la tierra (Kadla & Gilbert, 2000). El contenido de celulosa en las plantas depende del grupo taxonómico al que pertenezcan y oscila entre 35 y 50% en peso seco. La celulosa se encuentra embebida en una matriz compuesta de un número de moléculas (pectinas, proteínas, almidón y lípidos), y la hemicelulosa y la lignina que comprenden del 20 al 35%, y del 5 al 30% en peso seco, respectivamente (Martínez, Balcázar, 2008).

Las paredes celulares de la mayoría de las plantas se componen principalmente de celulosa. La pared de las células vegetales en crecimiento (denominada pared celular primaria) es relativamente delgada y flexible. Una vez que las células han cesado su crecimiento, desarrollan la pared celular secundaria entre la membrana plasmática y la pared celular primaria. La pared primaria contiene, aproximadamente, cantidades iguales de celulosa, hemicelulosa y pectina. La pared secundaria, que es más rígida, generalmente carece de pectina y contiene de un 50–80% de celulosa. La pared, además de ser una estructura compleja y dinámica, proporciona rigidez y protege a la membrana, funciona como mediadora en todas las interacciones de la célula y su entorno, y permite a las células mantener su homeostasis (Kavitha, Miller, Mathew, & Maathuis, 2012).

Para remover la pared se usan enzimas hidrolíticas como celulasa y pectinasa, además, el material se mantiene en un medio ligeramente hiperosmótico para que la membrana se contraiga y se separe de su pared celular,

a este proceso se le llama plasmólisis.

La celulasa cataliza la ruptura hidrolítica de los enlaces covalentes (C–O) y algunos otros. La enzima rompe los enlaces glucosídicos (β 1-4) que presenta el polímero en cada uno de sus monómeros. El tipo de reacción se conoce como una hidrólisis ácida. (Vogelzang & Prins, 1994).

En la actualidad se tienen registros de metodologías implementadas para la obtención de protoplastos de otros tejidos vegetales, pero no en Jitomate, y con este estudio se pretende eficientizar las metodologías usadas hoy en día en hojas, reduciendo en tiempo y los materiales en la medida de lo posible, esto para la posterior utilización de protoplastos de buena calidad y su uso en diferentes campos de aplicación.

METODOLOGIA

Muestreo de las hojas

Para el muestreo de las hojas de jitomate se tomaron aproximadamente 10 hojas de planta de jitomate de la parte central de crecimiento de los arbustos, buscando las de tamaño y color más óptimo (verde brillante), se cortaron desde la base de la hoja, con un inmediato tratamiento aséptico, con detergente e hipoclorito por un tiempo de 10 s. finalizando con agua y el secado al aire libre de las mismas.

Suspensión de hojas y solución

Para la obtención más eficaz de protoplastos a partir de la hoja de jitomate, se recomienda el uso de las hojas de no más de 6 días., la metodología que se siguió para la disociación de las células es la siguiente.

Preparación de material y reactivos.

a. Solución osmótica a pH= 5.7.

- Se pesó 1,8214 g de manitol, disolver en 20 mL para una concentración final de 0,5 M.
- Se pesó 8,12 mg de $MgCl_2$, disolver en 20 mL para una concentración final de 2 mM.

b. Solución enzimática.

- Se pesó 0,0394 g de celulasa, disolver en 6 mL de solución osmótica -previamente estéril- para una concentración de 0,66% p/v.

c. Esterilización de material.

- llevó a esterilizar dentro de una autoclave a 120 °C y 0.15 Psi todo el material necesario: frascos de vidrio con tapa, cajas de Petri, puntas para micropipeta y solución osmótica.

Obtención de protoplastos.

- Se tomó hojas -preferentemente frescas- y se colocaron dentro de una caja Petri.
- Se cortó las hojas con ayuda de bisturí y pinzas, 5 cuadros de aproximadamente 1 cm² y estos a su vez en 5 partes cada uno, obteniendo 25 fragmentos para cada frasco.
- Se pesó la celulasa.
- Se lavó el recipiente que contiene la celulasa con 6 mL de la solución osmótica y vaciar la solución dentro del frasco de vidrio previamente estéril.
- Se colocaron los fragmentos de hojas dentro del frasco de vidrio.
- Se introdujeron, el frasco de vidrio dentro de un baño María a 40 °C por 1 h para comenzar la disociación.
- Contar el tiempo.
- Bajar la temperatura a 30 °C y continuar la disociación por la segunda y tercera hora.

Conteo de Protoplastos.

- Después de 1 h de disociación, tomar una alícuota de 50 μ L y colocarla sobre una cámara de Neubauer.
- Realizar el conteo en 9 campos a 40x en el microscopio.
- Repetir el conteo a las dos y tres horas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este trabajo se probaron cambios en la metodología establecida, con diferentes series de experimentos, variando la temperatura, la concentración, pH y condiciones de la hoja en antigüedad, en base a investigaciones bibliográficas tomadas de referencia. En los primeros experimentos se probó el uso de las enzimas celulasa y pectinasa.

Tabla 1. Formación de protoplastos.

Día hoja	Concentración (%)		T/°C	t/h		
	Celulasa (w/v)	Pectinasa (v/v)		2	4	6
	0.66	0.530	28	1	7	0

Obtención de protoplastos a partir de 2 enzimas (Celulasa y Pectinasa) a temperatura de 30°C. Se registró el número de protoplastos que se observaron al microscopio en nueve campos de una cámara de

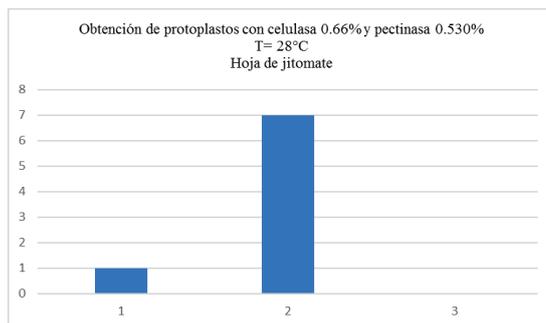


Figura 1. Gráfico del comportamiento de la presencia de protoplastos monitoreado cada 2 h por un máximo de 6 h. Metodología basada en el uso de 2 enzimas (celulasa y pectinasa).

Neubauer cada dos horas por 6 h (Tabla 1). Los datos mostraron que hasta las 6 h de incubación con las enzimas se logró visualizar los protoplastos, aunque en muy bajo número.

De acuerdo con la tabla se elaboró un gráfico para observar el comportamiento de la presencia de protoplastos que muestra la raíz (Figura 1). Donde en el eje de las abscisas se grafica el tiempo en horas y en el eje de las ordenadas se grafica el número de protoplastos.

Con lo anterior, se puede observar en el gráfico que existe formación de protoplastos desde la segunda hora de monitoreo, pero en muy baja cantidad, a la cuarta hora hay un aumento en formación con 7 protoplastos, sin embargo, hay ausencia de protoplastos a la 6 h. De acuerdo a esto, se decidió cambiar la metodología experimental en base a la composición química de la pared celular, la temperatura y la antigüedad de la hoja,

Tabla 2. Condiciones del experimento para la disociación.

Vol. De solución osmótica (mL)	6
Vol. final (mL)	6
pH	5.4
temp. (°C)	40
Día de corte de la hoja	3

Se realizaron 3 repeticiones para las soluciones y su disociación, se trataron con la metodología nueva establecida, por igual a las 3, sin variaciones, los resultados obtenidos son los sig.

Tabla 3. Solución 1

h	N° Protoplastos
1	46
2	31
3	143

Tabla 4. Solución 2

h	N° Protoplastos
1	39
2	390
3	559

Tabla 5. Solución 3

h	N° Protoplastos
1	312
2	85
3	943

Tabla 6. Promedio de protoplastos en 3 h.

h	Promedio de protoplastos
1	42.5
2	210.5
3	351

En la tabla 6 se presenta el promedio de los protoplastos obtenidos en el experimento.

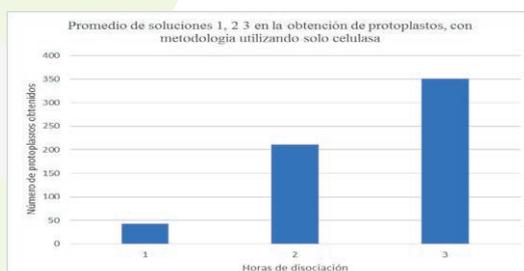


Figura 2. Gráfico con el promedio de los protoplastos obtenidos en las 3 soluciones.

ya que la pared secundaria que desarrollan las células vegetales contiene en mayor proporción el polímero de celulosa, y la pared primaria contiene un 30% del polímero, entonces; es a partir de esta información que se decidió utilizar únicamente la enzima celulasa y aumentar la temperatura hasta 40°C, ya que es la



Figura 3. Presencia de protoplastos a la 1 h en hoja de jitomate por medio de disociación enzimática.

temperatura óptima para esta enzima, además de utilizar hoja fresca, ya que en las referencias bibliográficas consultadas hacen mención a la importancia de la antigüedad de la hoja.

Las condiciones a las cuales se obtuvieron los resultados se muestran en la tabla 2. La temperatura se controló por medio de un baño maría dentro del cual se metieron los frascos con las soluciones y las hojas para su disociación.

En la figura 2, se representan de manera gráfica el promedio de los protoplastos obtenidos, con la metodología establecida, contando con formación desde la primera hora, e incrementando hasta mayor de 300 en la tercera hora con solo la celulasa y dentro de baño maría a temperatura de 40°C-35°C. representados en la figura 3.

CONCLUSIONES

- Las condiciones de asepsia y cuidado prevalecieron durante todo el proyecto.
- La utilización de únicamente celulasa fue más eficiente a una temperatura más óptima (40°C).
- La concentración de celulasa son ideales a 0.5M
- La antigüedad de la hoja es de relevancia, entre más fresca mejor.
- Se redujeron costos con el uso para la disociación de solo celulasa.
- Se redujo el tiempo de disociación para la obtención de protoplastos a 3 h.
- Se observó un aumento gradual conforme las horas para la formación de protoplastos hasta más de 300.

BIBLIOGRAFIA

- SAGARPA (2010) Monografía de cultivos jitomate, secretaría de fomento a los agronegocios, México
- KADLA, GILBERT R. (2000) Cellulose structure: A review. Editura Academiei Române, vol. 34, no3-4, pp. 197-216
- MARTÍNEZ-ANAYA, BALCÁZAR-LÓPEZ, DANTÁN-GONZÁLEZ, L. FOLCH-MALLOL (2008) Celulasas fúngicas: Aspectos biológicos y aplicaciones en la industria energética Revista latinoamericana de microbiología, Vol. 50, Nos. 3 y 4 pp. 119 – 131.
- Kavitha, P. G., Miller, A. J., Mathew, M. K., & Maathuis, F. J. M. (2012). Rice cultivars with differing salt tolerance contain similar cation channels in their root cells. *Journal of Experimental Botany*, 63(8), 3289-3296. doi:10.1093/jxb/ers052
- Vogelzang, S. A., & Prins, H. B. A. (1994). PATCH-CLAMP ANALYSIS OF THE DOMINANT PLASMA-MEMBRANE K⁺ CHANNEL IN ROOT CELL PROTOPLASTS OF PLANTAGO-MEDIA L - ITS SIGNIFICANCE FOR THE P-STATE AND K-STATE. *Journal of Membrane Biology*, 141(2), 113-122.

AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos especiales al Dr. Juan Francisco Ramírez Martínez por el tiempo y apoyo dedicado en la realización de este proyecto, al asistirme como asesor, así como por los conocimientos compartidos durante la estancia dentro y fuera del laboratorio. Al Lic. Juan Carlos Morales Cervantes y a la compañera QFB Magdalena Arriaga con los cuales trabajen en mi día a día durante la estancia, por su apoyo y compañía durante todo el proyecto, así mismo a la Dr. Socorro Hernández por todas las atenciones prestadas dentro de la facultad de Agronomía y Veterinaria, y a la UASLP, por haberme dado la oportunidad de tener la increíble experiencia y honor de participar en el “Verano de la Ciencia 2017”.

ESTUDIO DE LA SITUACIÓN ACTUAL DE LA FRESA EN EL MUNICIPIO DE IRAPUATO GUANAJUATO

Dahiana Yajaira Oviedo Montenegro ¹ y María Del Carmen Chacón Olivares²

RESUMEN

El municipio de Irapuato en el estado de Guanajuato reconocido como líder nacional en la producción de la fresa ha enfrentado respecto a los indicadores de crecimiento económico un control en el volumen de la producción de la frutilla esta situación dio paso a estados competidores a implementar mejores técnicas con capacidad de respuesta para el mercado nacional e internacional. Por consiguiente se realizó una investigación con agricultores de comunidades rurales de Irapuato que se dedica al cultivo de la fresa analizando una muestra representativa, estratificada en una población finita. A manera que se presenta una reflexión crítica en un 48% como área de oportunidad para mejorar la situación del cultivo de la fresa en el estado de Guanajuato.

ABSTRACT

The municipality of Irapuato in the state of Guanajuato recognized as the national leader in the production of strawberry It has faced with respect to economic growth indicators a control in the volume of production of the strawberry this situation of passage to competing states to implement better Techniques with responsiveness for the national and international market. Consequently, an investigation It was carried out with farmers from the rural communities of Irapuato who are engaged in strawberry cultivation and analyzed a representative sample, stratified in a finite population. A way that presents a critical reflection in 48% as the area of opportunity to improve the situation of strawberry cultivation in the state of Guanajuato.

Palabras Clave: Producción de la fresa, rendimiento, mano de obra, apoyos financieros.

INTRODUCCIÓN

Irapuato Guanajuato tiene la ventaja de contar con las condiciones climáticas favorables por su parte esto es ventajoso ya que es posible producir la fresa en invierno sin tecnología costosa (túneles). Mientras tanto, las ventajas climáticas edáfico-ambientales (tabla 2) han sido desaprovechadas.

Entre las principales causas que inciden en la producción de la fresa en el estado de Guanajuato es la falta de conocimiento por parte de pequeños productores asía financiamientos otorgados a proceso de mejora en materia de capacitación y otorgamiento de apoyo para la adquisición de equipo y tecnología para periodos que abarquen toda la producción anual, más eficientes y con resistencia a las plagas y enfermedades. Según cifras de SAGARPA/SIAP “en el 2014 el 91% de todas las fresas del país se produjeron entre Baja California y Michoacán, dejando a Guanajuato en el tercer lugar con una participación del 3.4%. Este declive posiciono a China como el primer productor mundial con una aportación del 38.7% seguido por Estados Unidos con el 28%”. Hoy en día las industrias se encuentran en constante crecimiento y situaciones de riesgo ante los constantes cambios en tecnología esto no podría de dejar de afectar al sector agrícola específicamente el de la fresa para alcanzar procesos de certificación como estrategias de ventajas competitivas y que agreguen valor.

En relación a la problemática presentada y de no proponer soluciones alternas donde intervengan actores de la actividad económica y social nos veremos inmersos en el descenso de la producción a nivel nacional, con efectos de impacto en la disminución de empleos tantos emergentes, como apoyo de amas de casa que ven en la recolección una oportunidad de generar recursos, otro factor a considerar de acuerdo a su producción histórica y aun alto volumen en su producción que presento en la década de los 40's denominada “Capital Mundial de la Fresa”, que dio origen a la realización de la Expo Agroalimentaria Irapuato, además de que la Universidad de Guanajuato decidió ubicar la Facultad de Ciencias Agrícolas en el municipio. La fresa en nuestro país constituye un cultivo que, si bien no destaca por el número de hectáreas sembradas, o por las divisas generadas con su exportación, da lugar a una gran derrama de fuentes de empleo en las principales zonas productoras, no sólo por ser un producto altamente ocupacional sino por las actividades que involucra, desde el desarrollo agrícola hasta la comercialización (Echanove F. 2001). Al analizar los datos presentados, se puede establecer que Irapuato ha sufrido un decremento en la producción de fresa en los últimos años. Por consiguiente de no atender este decremento que está presente y latente, se asumirá el riesgo de enfrentar pérdidas de hectáreas habilitadas para la producción agrícola a causa del crecimiento de la industria manufacturera, por tanto Irapuato retomó su crecimiento, gracias a que empresas trasnacionales ubicadas en Silao, representa el 70% de la mano de obra es proveniente de Irapuato, tanto Administrativa como Operaria. Actualmente Guanajuato se ubica en el cuarto lugar a nivel nacional de la industria

manufacturera, registrando una tasa de crecimiento de 11.9 % en el 2016 (INEGI 2016) esto genera un gran impacto ambiental en el municipio, Irapuato que actualmente ocupa el cuarto lugar en contaminación a nivel nacional. Otro factor de impacto es la pérdidas de empleos en el municipio, la agroindustria de fresa en México genera 13, 186 empleos directos y 1, 810 empleos indirectos en campo; así como 3,955 empleos directos y 540 indirectos en el proceso industrial de esta frutilla, con lo que se estima un total de 15,000 empleos directos y 4,500 empleos indirectos a lo largo de la Cadena. (E.Díaz,P.Gutierrez & O. Magaña 2012).A partir de esta problemática, el presente trabajo tiene como objetivo conocer las causas que inciden en la pérdida de liderazgo de la producción de la fresa en el municipio con el fin de mejorar la competitividad de la producción primaria proponiendo un grupo de sugerencias que contribuyan a fortalecer el sistema de la producción de la Fresa para que sea un verdadero foro donde intervengan todos los actores para contribuir al desarrollo competitivo regional.

MARCO TEORICO

Tabla 1. Sistemas de producción de la fresa

Sistema de producción	Descripción	Rendimiento promedio (ha)
Sistema Tradicional	Bajo este sistema la fruta se desarrolla sobre la tierra y se tiene contacto directo con el agua de riego, ya que es por gravedad aprovechando el agua superficial. En este sistema no se utilizan cubiertas protectoras. El rendimiento por hectárea es bajo además de desarrollarse bajo condiciones menos inocuas.	30 toneladas
Semi tecnificado	Bajo este sistema se utiliza el riego por goteo utilizando aguas superficiales o aguas subterráneas. Se utilizan cubiertas plásticas para el acolchado, por lo que el cultivo no tiene contacto directo con el suelo. Existe menor posibilidad de presencia de enfermedades.	45 toneladas
Tecnificado	Bajo este sistema se utilizan principalmente aguas subterráneas (pozo profundo) o agua superficial limpia. Se emplea acolchado y la totalidad de la superficie está cubierta con lonas plásticas.	80 toneladas

Fuente: Comité Nacional del Sistema producto Fresa (2012).

Tabla 2. Condiciones edáfico-ambientales ideales y presentes en zona Bajío en el estado de Guanajuato para la producción de fresa

Parámetro	Ideal	Irapuato
Temperatura (°C)	7-28	11-28
Precipitación pluvial (mm año ⁻¹)	600	620
Altitud (m)	1300-2000	1700
PH (log)	5.5 – 6.5	>8
Suelo	Arenoso	Arcilloso
Conductividad eléctrica (mmhos cm ⁻¹)	< 0.8	>1.5
Materia Orgánica (%)	>2	<2

Fuente: Instituto de Geografía, UNAM-SAGARP

En México se cultivan diferentes variedades, cada una con características específicas; y con diferentes rendimientos debido a: épocas de producción, resistencias a plagas y enfermedades, sabor, color, tamaño, por mencionar algunas. Las variedades se pueden expresar de distintas formas dependiendo de la región donde se establezcan estas. Existen características en los distintos procesos de la producción que a continuación se describen:

MÉTODOS Y MATERIALES

Para llevar a cabo el presente análisis primeramente se basó en la lectura de fuentes secundarias a través de consulta documental en páginas oficiales, siendo la fuente principal; SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería Desarrollo Rural Y Pesca), SIAP (Sistema Integral de información Agroalimentaria y Pesquera) e INEGI(Instituto Nacional de Estadística y Geografía). El presente estudio se caracteriza por ser una investigación de campo, cuantitativa de tipo descriptiva como fuente primaria de recolección se aplicaron encuestas dirigidas a Agricultores de fresa de comunidades rurales del municipio de Irapuato con un muestreo aleatorio estratificado en un marco definido como una población finita en forma personal que posteriormente después de analizar las encuestas realizadas sirvieron para la evaluación para detectar patrones de cambio en la percepción de las causas.

RESULTADOS

Tabla 3. Principales estados productores de fresa de México.

Ubicación	Superficie Sembrada (Ha)	Superficie Cosechada (Ha)	Producción (Ton)	Rendimiento (Ton/Ha)	PMR (\$/Ton)	Valor producción (miles de pesos)
Baja California	2,048.00	2,048.00	123,586.00	60.34	15,750.71	1,946,567.75
Guanajuato	903.00	901.00	20,198.00	22.42	5,515.66	111,405.27
Jalisco	480.00	480.00	16,461.50	34.29	10,536.16	173,441.05
México	332.50	328.50	5,923.85	18.03	9,628.65	57,038.70
Michoacán	4,605.00	4,482.50	204,937.15	45.72	8,684.74	1,779,825.25

Fuente: Sistema Integral de información Agroalimentaria y Pesquera. SIAP-SAGARPA 2013

Tabla 4. Principales entidades productoras

Entidad federativa	Volumen (toneladas)	Variación (%)
		2014-2015
Michoacán	253,537	-2.2
Baja California	82,608	-43.3
Guanajuato	32,645	14.3
Jalisco	9,931	-13.6
México	5,313	-13.5
Resto	127	-45.3

Año	Sup. Sembrada (Ha)	Sup. Cosechada (Ha)	Producción (Ton)	Rendimiento (Ton/Ha)	PMR (\$/Ton)	Valor Producción (Miles de Pesos)
2015	405	405	10,935.00	27	5,749.83	62,874.39
2014	340	340.00	7650	22.50	3,793.87	29023.11
2013	365	365	7,847.50	21.5	5,414.01	42,486.44
2012	365	365	7,847.50	21.5	6,769.78	53,125.85
2011	441	441.00	6174	14.00	3,214.29	19845.03

Fuente: Atlas Agroalimentario SIAP, SAGARPA 2016

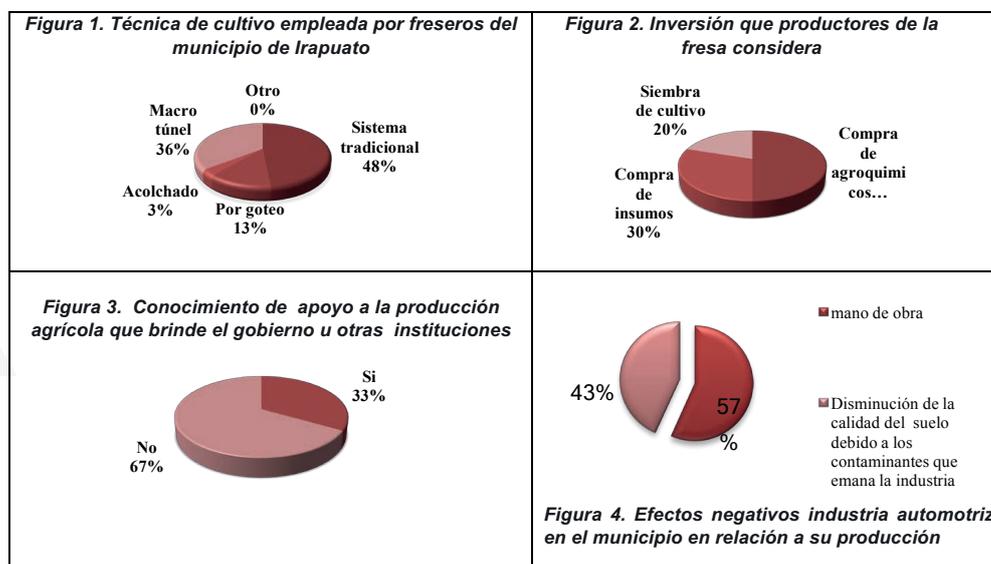
Dentro de los resultados obtenidos por fuentes secundarias nos arroja que el cultivo de la fresa en nuestro país tiene una gran importancia desde el punto de vista socioeconómico, considerando las principales entidades productoras de fresa son Baja California, Guanajuato, Jalisco, Estado de México y Michoacán; en esta última entidad se concentra la mayor producción nacional con una superficie cosechada de 4,482.50 ha y una producción de 204,937.15 Ton en el 2013.

En la presente investigación se determinó de acuerdo a datos obtenidos (tabla 3) que se presenta un margen de rendimiento muy bajo Ton/Ha en el municipio de Guanajuato dejándolo en penúltimo lugar debido a factores tales como; extensión territorial cabe mencionar que representa el 1.56% de la superficie nacional (INEGI 2011), el grado de infestación por plagas y enfermedades como también cuestiones climáticas, en gran medida dichos factores del rendimiento dependen del tipo de técnica de cultivo empleada (tabla 1) sin embargo hoy en día el 48% usa el sistema tradicional lo que puede considerarse como una variable que afecta el rendimiento por Ha en el municipio de Irapuato Guanajuato por tanto ocasionando altos

Tabla 5. Producción de la fresa en los últimos cinco años en el municipio de Irapuato Guanajuato

Fuente:SIAP (2015)

A continuación se presentaran los datos obtenidos por las encuestas realizadas;



Fuente: Elaboración propia

costos que, de acuerdo a productores (figura 2)son la compra de agroquímicos. En consecuencia se posiciono Michoacán como principal productor de la frutilla a pesar de esto el valor de la producción del municipio permite colocarlo en tercer productor nacional, no obstante y actualizando la información encontramos un repunte en la tendencia de la baja producción/ton presentada en la (tabla 4) que aparenta estar en un proceso de control

El escenario presentado de la producción de Irapuato de haber permanecido constante la producción durante dos años y posteriormente tener un decremento durante el 2014,el cultivo de fresa en Irapuato nuevamente presenta un incremento de producción al 2015 en suma de la adopción de tecnologías como acolchado, macro túnel y otras innovaciones de técnicas de cultivo empleadas dentro de la cadena de producción ciertamente el progreso es significativo en un 52%, impactando directamente el rendimiento y el volumen en producción, una causa principal en la instalación de estas tecnologías es la inversión para desarrollo de la infraestructura debido a su costo estas tecnologías no son de fácil acceso para los pequeños productores de acuerdo a los resultados estadísticos obtenidos a partir de un cuestionario de una muestra representativa, estratificada en una población finita arroja que el 48% hasta hoy en día emplea el sistema tradicional en sus cultivos respecto al análisis basado en la experiencia de freseros del Municipio de Irapuato, se determinó que el hallazgo en el que incide es la falta de información y capacitación a pequeños y medianos productores sobre apoyos de

instituciones financieras a la agricultura, tanto que se detectó en un 67% que, el acceso de financiamiento es una parte complicada en relación a los trámites .

Llama la atención el crecimiento de la industria manufacturera con el reciente arribo de la industria automotriz en el estado de Guanajuato participe del decremento de la producción de la frutilla en relación a la mano de obra, en consecuencia se tiene que contratar a personas de Huanímaro ,Silao y Valle de Santiago para lograr cubrir el trabajo de acuerdo a Jaime Arredondo Salazar Presidente de la Asociación de

Figura3. Fresa del municipio de Irapuato



Freseros de Irapuato(2015)”. En este sentido la escasez de la mano de obra se debe en un 57% pues prefieren emigrar al sector industria, de la misma forma existe menos superficie de producción pues Guanajuato es casi considerado el centro logístico en especial el municipio de Irapuato que cuenta con cuatro parques industriales Castro del Río, Centro Industrial Guanajuato, Centro Industrial Apolo y Ciudad Industrial, además de la próxima instalación del Parque Guanajuato Central.

CONCLUSIONES

Estos resultados revelan que es de vital importancia voltear la mirada así el campo cuando puede ser una alternativa y fortaleza del desarrollo económico del municipio, uno de los componentes más importantes a manera de reflexión es buscar hacer frente a los retos que se enfrentan en el campo tanto así que la mano de obra es una causa raíz en un 57% ya que prefieren emigrar a la industria. En relación con las implicaciones es importante aprovechar las ventajas edáfico-ambientales, la ubicación geográfica del municipio de Irapuato para contribuir al desarrollo mejorando la competitividad y manteniendo la base de todas las ventajas que ofrece la tierra para el proceso y la calidad de la fresa , mediante un trabajo participativo y corresponsable con otras instituciones y organizaciones públicas y privadas asociadas al campo, mediante la generación de conocimientos científicos y de la innovación tecnológica agropecuaria ,creyendo en los pequeños y medianos productores para resaltar el icono por el que municipio de Irapuato Guanajuato es reconocido. Si bien atendiendo a estas consideraciones las instituciones gubernamentales y educativas de forma integral tienen un rol importante y a manera de sugerencia deberían implementar una materia de agronegocios dentro del marco de la actividad logística para generar estrategias de comercialización y conciencia de la importancia de la riqueza agroalimentaria de México.

Bibliografía

- Adanelly Ávila-Arce, D. d.-M. (2012). La competitividad de las fresas (*fragaria spp.*) mexicanas en el mercado nacional, regional y de estados unidos. agricultura, sociedad y desarrollo, 27.
- Armando Rucoba García, R. A. (2014). Calidad, comercialización y rentabilidad de fresa en el sistema de producción tradicional y agroecológico en Guanajuato . Agroecología, 16.
- FIRA. (2015). Panorama Agroalimentario ,berries 2016. dirección de investigación y evaluación económica y sectorial, 42.
- E.Díaz,P.Gutiérrez & O. Magaña .(2012). Plan Rector Nacional. Sistema Producto Fresa , 43.
- INEGI. (2011). Perspectiva Estadística Guanajuato . INEGI, 95.
- León López Luis, G. O. (2014). Consideraciones para mejorar la competitividad de la región “El Bajío” en la producción nacional de. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, 15.
- Pedro A. Davalos Gonzalez, J. C. (1992). Guía para cultivar Fresa en Irapuato . Centro de Investigación Regional Del Centro Campo Experimental Bajío , 52.

REDISEÑO DEL PROCESO DE PRODUCCIÓN DE FRAMBUESA EN MACROTUNEL

Maciel Fuerte Daniela¹, y García Torres Alicia²

RESUMEN

El cultivo de frambuesa ha tenido un importante desarrollo durante los últimos años, gracias a las favorables condiciones climáticas y de suelo existente. Su cultivo está dentro del rubro de los berries, con una participación productiva importante, principalmente en la zona centro del país. Esto ha constituido oportunidad para que los agricultores se interesen por la producción de frambuesa. Actualmente gran parte de la producción orgánica de frambuesa es destinada a la exportación a diversos países tales como: Estados Unidos, Japón y algunos lugares de Europa.

La presente investigación fue realizada en una empresa productora de frambuesa orgánica cosechada en macro túnel, con la finalidad de optimizar su proceso actual implementando Buenas Prácticas de Manufactura (BPM). La propuesta se llevó a cabo analizando el proceso, en la que se identificó dos áreas de oportunidad significativas: la falta de estandarización de los procesos para el cuidado de la inocuidad y la inexistencia de procesos alternos para las mermas generadas durante la cosecha.

Con la implementación de esta propuesta se obtuvo un mejoramiento en el cuidado de la inocuidad que impacta con una mayor calidad en la frambuesa orgánica para exportación, adicional de la eliminación de la merma, ya que la fruta que no cumple con los estándares de calidad, se aprovechó para un proceso alternativo como elaboración de jugos y jaleas. Esta investigación servirá como base a las diversas empresas productoras de frambuesa que deseen optimizar sus procesos y eficientizar su recurso.

ABSTRACT

The cultivation of raspberry has had an important development during the last years, thanks to the favorable climatic conditions and the existing soil. Its cultivation is within the Berries category, with a significant productive participation, mainly in the central zone of the country. This has provided an opportunity for farmers to become interested in the production of raspberries. Currently much of the production of organic raspberries is destined for export to several countries like United States, Japan and some places of Europe.

The present investigation was carried out in a company producing organic raspberry harvested in macro tunnel, in order to optimize its current process of implementation of Good Manufacturing Practices (BPM). The proposal was carried out analyzing the process, currently two areas of opportunity are identified; the non-standardization of the processes for the care of the security and the absence of alternative processes for the losses generated during the harvest.

With the implementation of this proposal, a higher quality is obtained in the strawberry, which allows what is currently wasted to be feasible for an alternative process such as: Juices and jellies. This research will serve as a basis for the different raspberry producing companies that wish to optimize their processes and streamline their resources.

Palabras claves: Inocuidad, higiene, estandarización, sanitización, mermas.

INTRODUCCIÓN

En México existe un importante potencial en la producción de alimentos orgánicos con una superficie cercana a 169 mil hectáreas, de las cuales se lleva un significativo avance en su certificación por parte de empresas autorizadas, de 88.3 mil hectáreas, lo que beneficia a 2.3 millones de productores. Un 85 por ciento de la producción nacional es exportada a Estados Unidos, Canadá y Europa, y el restante 15 por ciento se queda para consumo en el país. En el mercado nacional es posible encontrar a los productos orgánicos en algunos supermercados, tiendas especializadas, tiendas naturistas, hoteles, y en los 28 mercados y tianguis orgánicos que existen.

La producción de estos productos requiere características específicas para considerarse un producto orgánico, la producción de frambuesa debe cumplir normas técnicas y reglas relativas a la producción, elaboración y comercialización de sus productos y cuidado de la inocuidad, a fin de obtener la certificación orgánica y asegurar calidad para el consumidor. Actualmente la inocuidad representa una ventaja competitiva en la comercialización de productos, en ello radica la importancia de diferentes organismos que se encargan de que se cumplan las especificaciones.

La presente investigación fue realizada en una empresa productora de frambuesa orgánica, con el objetivo de identificar áreas de oportunidad en la producción de frambuesa orgánica y lograr una optimización de los procesos para su producción.

MARCO TEÓRICO

La agricultura orgánica, también conocida como ecológica o biológica se refiere a aquella que excluye el uso de agrotóxicos y prácticas contaminantes como los fertilizantes y plaguicidas de síntesis química, hormonas, aguas negras, radiación y transgénicos. Es una agricultura que mantiene y mejora la salud de los suelos, los ecosistemas y las personas. Se basa en los procesos ecológicos, la biodiversidad y los ciclos adaptados a las condiciones locales; combina tradición, innovación y ciencia para favorecer el medio ambiente, promover relaciones justas y una buena calidad de vida (IFOAM, 2012).

De acuerdo con la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (Sagarpa), los principales estados productores de alimentos orgánicos en el país son Chiapas, Oaxaca, Michoacán, Chihuahua y Guerrero, que concentran 82.8 por ciento de la superficie orgánica total (Financiero, 2014). El SAG es en la actualidad la Autoridad Competente del Sistema Nacional de Certificación de Productos Orgánicos Agrícolas regulado por la Ley N°20.089 y sus cuerpos normativos complementarios. Además de tener a cargo la misión de garantizar que el proceso de certificación orgánica se realice de acuerdo a lo indicado en la normativa vigente, ha sido un actor importante que ha contribuido al fomento y difusión de este tipo de agricultura a nivel nacional (Servicio Agrícola y Ganadero, 2017).

La producción orgánica debe cumplir normas técnicas y reglas relativas a la producción, elaboración y comercialización de sus productos y cuidado de la inocuidad, a fin de obtener la certificación orgánica y asegurar calidad para el consumidor. Para exportar al mercado exterior se debe cumplir, además, con normas orgánicas internacionales como; Reglamento (CEE) N° 2092/91, Unión Europea, Programa Orgánico Nacional (National Organic Programme-NOP), Estados Unidos, Estándares Agrícolas Japoneses (Japan Agriculture Standards-JAS), Japón, Directrices del Codex Alimentarius y Normas Básicas de IFOAM (Federación Internacional de Movimientos de Agricultura Ecológica).

La inocuidad de los alimentos es una característica de calidad esencial, por lo cual existen Buenas Prácticas de Manufactura, herramienta básica para la obtención de productos seguros para el consumo humano, que se centralizan en la higiene y forma de manipulación, son útiles para el diseño y funcionamiento de los establecimientos, y para el desarrollo de procesos y productos relacionados con la alimentación. Además Contribuyen al aseguramiento de una producción de alimentos seguros, saludables e inoocuos para el consumo humano. Son indispensables para la aplicación del Sistema HACCP (Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control), de un programa de Gestión de Calidad Total (TQM) o de un Sistema de Calidad como ISO 9000, se asocian con el Control a través de inspecciones del establecimiento (Programa Calidad de los Alimentos Argentinos, 2017).

MÉTODOS Y MATERIALES

Tabla 1. Diagrama de flujo del proceso de producción de frambuesa.

Diagrama de flujo				
	Mudas	Cantidad	Distancia Total	Tiempo Total
○	Operación	15	318m	119.60 min
➡	Transporte	5	1,021m	52 min
D	Espera	2	0m	13 min
□	Inspección	4	293m	45 min
△	Almacén	1	110m	2 min
	Total	27	1742.5m	226.65 min

Diagnóstico del proceso. En la empresa donde se realiza la investigación, en primera estancia se realizó un reconocimiento del área donde se realiza la producción de frambuesa orgánica, identificando áreas de oportunidad en base a indicadores de desempeño. Para profundizar en el estado actual del proceso de cosecha se realizó un diagrama del flujo del proceso siguiendo la metodología de Gilbreth, a continuación se presenta el resumen de todo el proceso de la cosecha que se lleva a cabo en un cultivo de 5 ha, Ver Tabla 1.v A través del análisis del diagrama, se identificó las actividades que se involucran en el proceso de cosecha de la frambuesa, se percató que algunas de ellas no se lleva a cabo con los estándares requeridos en base a las Buenas Prácticas de Manufactura, específicamente en la actividad desempeñada por el cortador (Persona realiza el corte, la selección de la frambuesa y el llenado de las cajitas).

Revisión del procedimiento del cortador. Al profundizar el proceso que realiza el cortador, se identificó que



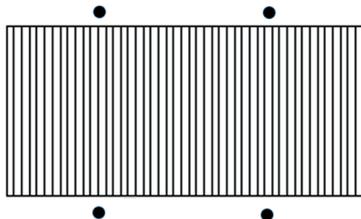
Figura 1. Trabajador encargado del corte de la frambuesa.

no existe un procedimiento documentado, y no está estandarizado el uso del equipo de seguridad e higiene (cubre bocas, guantes, cofia), así mismo como los procedimientos de Buenas Prácticas de Manufactura tales como la desinfección y cuidado de las herramientas de trabajo etc. El corte comienza con la colocación de equipo de trabajo y desinfección de manos, para posteriormente ingresar a los macrotúneles, una vez iniciado el corte el trabajador coloca las cajas de frambuesa empacada en una canastilla que trae consigo sujeta a su cuello y espalda, además de un recipiente de plástico donde coloca la frambuesa que no cumple con los estándares del mercado ya sea nacional e internacional, la capacidad de la canastilla corresponde a un total de 13 cajas de fruta, una vez llena la canastilla se indica al cajero que la canastilla está llena, el cajero va y recoge las cajas para llevarlos a la estación de pesaje y etiquetado.

Propuesta de mejora. Todo producto orgánico que se quiera exportar requiere del Certificado Fitosanitario otorgado por el SAG, que garantiza que el producto cumple con los requisitos fitosanitarios del país de destino. Una vez identificados los requisitos de las normas internacionales para el producto y exportación, se propone el diseño con nuevos procedimientos para la producción de la frambuesa. (Secretaría de Pymes, Cooperativas y Social Agropecuario, 2009)

Actualmente los procesos no están documentados y la habilitación de las cortadoras al puesto solo van a manera de plática y práctica entre el mismo puesto, por lo que se trabajó con el personal para proveer capacitación y adiestramiento, con el objetivo de estandarizar las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) en cada una de las actividades del corte y de todo el personal. Fue documentado el proceso de los cortadores así como de todo el personal, para asegurar la inocuidad y calidad de la fruta.

En el proceso actual se cuenta con y equipo de trabajo, la propuesta de esta manera la base de desinfección sea más constante. Ver figura 2.



leva a cabo la desinfección de manos los de cada extremo del macro túnel, facilitando así que el lavado de manos

Figura 2. Distribución de las estaciones sanitarias.

Para el objetivo de la eliminación de las mermas, es decir la fruta que no cumple los estándares de calidad para exportación y que actualmente es desechada, se identificó la oportunidad de negocio de otros procesos alternos ubicando que el mercado necesitaba jugos y jaleas en la cual se propuso la realización de un plan de negocios para evaluar su factibilidad y adquirir la infraestructura necesaria en una proyección futura, Por ahora, la recolección de esta fruta actualmente se aprovecha ya que se identificó un cliente requiere de esta materia prima para sus procesos productivos.

RESULTADOS

Indicadores de mejora. Por decisión de los administradores actualmente se venden las mermas, es decir, la empresa se centra en el producto óptimo para venta, en un futuro se pretende que se realice un proceso interno con estas mermas, mientras se culmina el plan de negocios y habilita la infraestructura interna la empresa, se seguirá vendiendo estas mermas a compradores que realizan productos con ella. Los resultados de esta propuesta es la implementación de Buenas Prácticas de Manufactura, documentación y estandarización del procedimiento de corte, la creación de la filosofía de calidad para la empresa donde la calidad sea prioridad el eje principal de todo, mejoramiento en la inocuidad con la implementación de 4 estaciones sanitarias para el personal y la estandarización del uso del equipo de higiene necesario para la conservación de la inocuidad.

CONCLUSIÓN

La implementación Buenas Prácticas de Manufactura en esta empresa constituye una mejora continua, puesto que gracias a la implementación de estas se tendrá mayor calidad del producto y la satisfacción del

cliente final, hoy en día existe gran auge en los productos orgánicos y la frambuesa no es la excepción, en esto radica la importancia de lograr un proceso basado en la inocuidad involucrando a todo el personal que está directamente relacionado con este, dando un plus a su producción y la obtención de mayores ganancias.

BIBLIOGRAFÍA

- Financiero, E. (2014). El Financiero. Obtenido de <http://www.elfinanciero.com.mx/economia/sector-organico-en-mexico-crecio-504-en-los-ultimos-10-anos.html>
- Gómez, L. (2013). IMAGEN AGROPECUARIA. Obtenido de <http://imagenagropecuaria.com/2013/situacion-actual-y-retos-de-la-produccion-organica/>
- Programa Calidad de los Alimentos Argentinos. (Agosto de 2017). Obtenido de <http://www.saludneuquen.gob.ar/wp-content/uploads/2014/06/Bolet%C3%ADn-de-difusi%C3%B3n-Buenas-Pr%C3%A1cticas-de-Manufactura-SAGPYA.pdf>
- SAG. (2017). Consulta de Requisitos Fitosanitarios para la exportación. Obtenido de <https://www2.sag.gob.cl/reqmercado/default.asp>
- SAGARPA. (Agosto de 2017). SAGARPA. Obtenido de http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/distritofederal/boletines/Paginas/JAC_0005-3.aspx
- Secretaría de Pymes, Cooperativas y Social Agropecuario. (2009). Microemprendimiento. Obtenido de http://www.facetvirtual.unt.edu.ar/pluginfile.php/14109/mod_resource/content/0/Caso_mermeladas_artesanales.pdf
- Servicio Agrícola y Ganadero. (Julio de 2017). Obtenido de <http://www.sag.gob.cl/ambitos-de-accion/exportacion-0>

OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE RECOLECCIÓN DE FRAMBUESA COSECHADA EN MACROTUNEL

Vázquez Zavala Diana Mariela¹ y García Torres Alicia²

RESUMEN

En la actualidad la demanda de frambuesa orgánica ha sido creciente, por lo que el cultivo en México ha sido considerado como una oportunidad en diversas regiones tales como Michoacán, Jalisco, Guanajuato principalmente, donde se ha impulsado su producción para el empaque, comercialización y exportación a diversos países generando divisas importantes.

La presente investigación fue realizada en una empresa productora de frambuesa orgánica cosechada en macrotúnel, con la finalidad optimizar su actual proceso de recolección, considerando las estrictas normas internacionales para la preservación e inocuidad del producto. La propuesta se llevó a cabo analizando el proceso actual con el objetivo de identificar las áreas de oportunidad, así como el empleo de herramientas de ingeniería. Con la implementación de esta propuesta se logró una reducción del 50% de personal en el puesto de recolector (Cajero) de frambuesa empacada, una reducción de distancia recorrida de 32% y un 81% del tiempo de transporte.

La presente investigación servirá como base para que otras empresas productoras de frambuesa la consideren para la optimización de su proceso de producción.

ABSTRACT

Nowadays the demand for organic products has been increasing, consequently the cultivate in Mexico has been considered an opportunity in several regions such as Michoacán, Jalisco, and Guanajuato, mainly, where its production for packaging, commercialization and exportation has been impelled in several countries, generating important earnings.

Current research was carried out in a company of organic products harvested in macro tunnel in order to optimize its actual harvesting process; taking into account the international standards for the conservation and the safety of the product. The proposal was carried out analyzing the current process with the objective of identifying the areas of opportunity, as well as the use of engineering tools.

With the implementation of this proposal, a reduction of 50% of personnel in the packaged raspberry collector position was achieved, a reduction of the distance traveled by 32% and 81% of the transportation time. This research will serve as a basis for other raspberry-producing companies to consider for the optimization of their production process.

Palabras claves: Optimización, recolección, mejoramiento, eficiencia

INTRODUCCIÓN

Hoy en día en México, el volumen de producción de berries (Arandano, frambuesa, mora y fresa), es de alrededor de 665.6 mil toneladas, con una Tasa Media de Crecimiento Anual (TMCA) de 14 por ciento. Las principales entidades productoras de estos productos son Michoacán, Baja California, Jalisco, Guanajuato, Estado de México y Colima, quienes aportan más del 90 por ciento de la producción nacional, sin embargo sólo el estado michoacano aporta cerca del 61 por ciento. La superficie dedicada a este cultivo es de 26.7 mil hectáreas, con crecimiento de casi dos mil hectáreas. La producción de frambuesa creció 111.15% entre enero y octubre de 2016, en comparación con el mismo lapso del año previo, con lo que el país se consolidó como el quinto productor mundial de este cultivo (SAGARPA 2017). En los últimos años ha tenido un aumento considerable su producción, con nuevas técnicas para su producción una de ellas es el macro túnel (Estructuras simples y temporales conformadas por una serie de arcos metálicos, cubiertos por una película plástica).

La presente investigación fue realizada en una empresa productora de frambuesa orgánica, con el objetivo de mejorar la eficiencia en el proceso de recolección de la frambuesa empacada.

MARCO TEÓRICO

Los macro túneles por mucho tiempo han sido empleados en la producción de hortalizas y más recientemente en berries, principalmente en los períodos fríos para el crecimiento vegetativo de estos cultivos. El uso de

macrotúneles para la producción de berries (Arandano, frambuesa, mora y fresa) está extendido por todo el mundo, debido a que estas estructuras permiten mantener la calidad de las frutas ante posibles eventos de granizo o lluvias fuertes (INTAGRI, 2017). Los macrotúneles son estructuras simples y temporales (en algunos



Figura 1. Cultivo de frambuesa en macrotúnel.

casos) conformadas por una serie de arcos metálicos, cubiertos por una película plástica. Esta estructura permite la apertura de las paredes laterales y frontales para regular la temperatura al interior, provee un nivel de protección y control del ambiente intermedio, entre la producción a campo abierto y la producción en invernadero. El cultivo de frambuesa bajo macrotúnel también permite obtener mayores rendimientos, ya que se puede manejar eficientemente la incidencia de patógenos y distanciamientos, así como otros factores que influyen en la obtención de fruta de mayor calibre y calidad, ver figura 1.

En el proceso de producción de frambuesa orgánica, la recolección es una de las fases más exigentes del proceso, tanto por tratarse de un fruto muy delicado y perecedero, como por tener que realizarse con una alta frecuencia, pero sobre todo por ser de un fruto destinado a la exportación. En la gran mayoría de los casos se recolecta a diario y, en ocasiones, hasta dos veces por día sobre la misma planta. La maduración de los frutos es escalonada y puede durar desde 4-5 semanas en el periodo de cosecha de verano (junio-julio), hasta incluso 10-12 semanas en cosecha de final de verano-otoño con algunas variedades de tipo refrlorescente. El cultivo orgánico de frambuesa, es un sistema de producción que respeta y fomenta el agro-ecosistema, la biodiversidad, los ciclos biológicos y la actividad biológica del suelo. No permite el uso de agroquímicos, solo acepta el uso de insumos autorizados para la prevención y control de plagas y enfermedades, así como también los relacionados con el manejo de la fertilidad del suelo. Este sistema de producción considera un enfoque integral del predio, protege el medio ambiente y aplica un conjunto de prácticas que permiten obtener alimentos sanos y desarrollar una agricultura sustentable. (Cruzat, 2010).

La producción orgánica debe cumplir normas técnicas y reglas relativas a la producción, elaboración y comercialización de sus productos y cuidado de la inocuidad, a fin de obtener la certificación orgánica y asegurar calidad para el consumidor. Para exportar al mercado exterior se debe cumplir, además, con normas orgánicas internacionales como; Reglamento (CEE) N° 2092/91, Unión Europea, Programa Orgánico Nacional (National Organic Programme-NOP), Estados Unidos, Estándares Agrícolas Japoneses (Japan Agriculture Standards-JAS), Japón, Directrices del Codex Alimentarius y Normas Básicas de IFOAM (Federación Internacional de Movimientos de Agricultura Ecológica).

Los medios para la recolección de Frambuesa, son dispositivos o máquinas utilizadas para posicionar o bien asistir al operario en el desprendimiento de los frutos, con el objetivo de reducir la fatiga y las pérdidas de tiempo del operario y/o eliminar la carga de fruta cosechada por parte del operario. En la Figura 2



Figura 2. Máquina LITTAU-OR.

se puede observar una Cosechadora de arándanos y frambuesas LITTAU – OR. Trabaja en plantaciones estrechas, a una velocidad estable de cosecha de hasta 2 km/hora, otro modelo puede cosechar hasta 3,5 hectáreas por día/10 horas y hasta 7 ha/día completo en predios con plena producción de frambuesa. Los frutos destinados a la industria se recogen también maduros, aunque la recolección suele ser mecánica. Las máquinas empleadas son de grandes dimensiones, trabajan a caballo de las hileras y exigen la presencia de 5-6 personas, de las que dos se dedican a la conducción de la máquina y las otras a la selección de los frutos. La hilera se peina por medio de dos altos rulos cilíndricos provistos de largos dientes metálicos que sacuden los tallos haciendo caer los frutos maduros sobre una plataforma retráctil. Mediante chorros de aire se eliminan las hojas y cuerpos extraños y los frutos llegan limpios a una larga lona móvil donde se realiza la selección. (ARMSTRONGCHILE, 2017).

MÉTODOS Y MATERIALES

Diagnóstico del proceso. En la empresa donde se realiza la investigación, en primera estancia se realizó un reconocimiento del área donde se realiza la producción de frambuesa orgánica, identificando áreas de oportunidad en base a indicadores de desempeño. Para profundizar en el estado actual en el proceso de

Tabla 1. Diagrama de flujo del proceso de producción de frambuesa.

Diagrama de flujo				
Títulos	Mudas	Cantidad	Distancia Total	Tiempo Total
	○	Operación	15	318m
⇒	Transporte	5	1,021m	52 min
□	Espera	2	0m	13 min
□	Inspección	4	293m	45 min
△	Almacén	1	110m	2 min
	Total	27	1742.5m	226.65 min

cosecha se realizó un diagrama del flujo del proceso siguiendo la metodología de Gilbreth, a continuación se presenta el resumen de todo el proceso de la cosecha que se lleva a cabo en un cultivo de 5 ha, Ver Tabla 1.

A través del análisis del diagrama, se identificó que el área significativa de oportunidad era la muda de transporte que corresponde al puesto de cajero, referente a los indicadores de distancia recorrida y tiempo, cuya función principal es la recolección de la frambuesa que ha sido empacada por los cortadores.

Revisión del procedimiento del cajero y estudio de tiempos. Al profundizar el proceso que realiza el puesto de cajero se identificó que este no cuenta con un procedimiento documentado, actualmente en el proceso de recolección se ocupan 4 cajeros en las 5ha de cultivo, los cuales se encargan de recoger las cajitas que han sido llenadas por las cortadores, cada cajero se ocupa de atender a 15 cortadores, que recorren cada macrotúnel con una distancia de 146.5m de largo. Para esta recolección el cajero utiliza una canastilla con la capacidad de 22 cajitas, el cortador llena su canastilla 3 veces durante el corte, una vez llena su canastilla le indica al

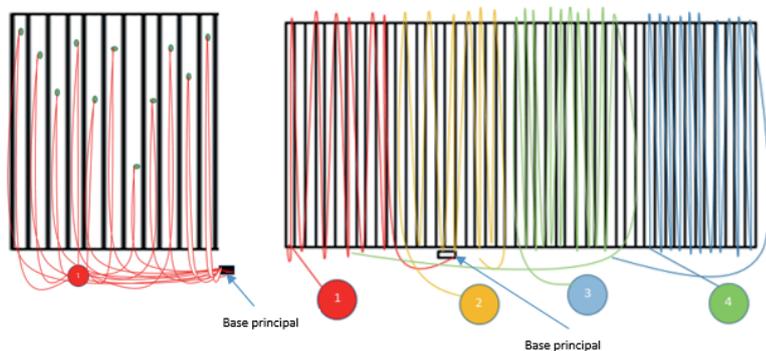


Figura 3. Diagrama de hilos de los transportes de los cajeros

cajero que pase a recoger las cajitas, y éste debe realizar un recorrido de 150.83 m en un tiempo estimado de 9 min del lugar en el que se encuentre al trabajador, y una vez ahí coloca las cajitas en su canastilla, este proceso se repite 3 veces posteriormente lo traslada a la estación principal para su pesaje, etiquetado y embalaje. La distancia total recorrida del cajero durante la jornada laboral es de 6,787.5 m con un tiempo estimado de 6.75 horas. Se apoyó en la elaboración de un diagrama de hilos para identificar los movimientos de los cajeros, ver figura 3.

En la figura 3, se observa los transportes que realizan los 4 cajeros en las 5ha cada vez que son llamados por las cortadoras, así como la ubicación alejada de la estación principal donde se lleva a cabo el pesaje y etiquetado.

Propuesta de mejora. En el proceso actual se cuenta con una base principal donde se lleva a cabo toda la recolección de cajitas para su acondicionamiento, la propuesta es implementar 6 estaciones colocadas estratégicamente en las 5 ha por los extremos de los macrotuneles, es decir, 3 de cada extremo, donde dos estarán habilitadas una de cada extremo, como estaciones principales para el acondicionamiento del fruto, quedando dos estaciones principales y cuatro alternas. Al existir solo una base se complica el traslado de las

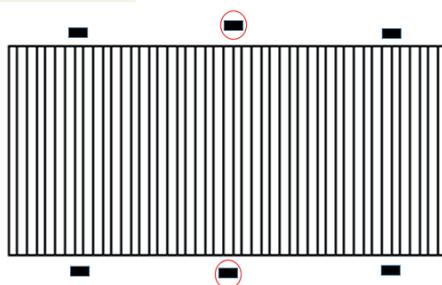


Figura 5. Ubicación de estaciones.

cajitas, haciendo esto que el proceso sea más lento y a si mismo haciendo la actividad menos productiva, la implementación de estas 6 estaciones permitirán al personal la salida de los macrotuneles y colocar las cajitas en dichas mesas, sin emplear a cajero o bien reduciendo el número de estos, optimizando con ello el proceso referente a distancias y/o el tiempo muerto del personal (cortadores) a esperar a que el cajero recoja las cajitas. En la Figura 4. Se presenta la distribución de las bases:

Las bases serán de mesas rectangulares de 100 x 80 cm, con las siguientes características: forma de mesa: rectangular, altura ajustable, es plegable, cubierta: polipropileno (plástico de alta resistencia a la abrasión e impactos), estructura metálica, el acabado de pintura en polvo (resistente a los golpes y rayaduras).

RESULTADOS



Figura 6. Gráfica de reducción de tiempo



Figura 7. Reducción de distancia

CONCLUSIÓN

El aprovechamiento de todos los recursos que intervienen en los procesos productivos es significativo en la competitividad, ya que impactan en los costos del producto. Para el caso de la producción de frambuesa orgánica para exportación los procesos son manuales, por lo que el costo de mano de obra es alto, es una oportunidad el mejoramiento continuo en el rediseño de las funciones del personal y de esta manera, eficientar los costos.

BIBLIOGRAFÍA

- ARMSTRONGCHILE. (Agosto de 2017). GLOBALFARMS. Obtenido de <http://www.globalfarms.cl/products/view/146>
- Gómez, L. (2013). IMAGEN AGROPECUARIA. Obtenido de <http://imagenagropecuaria.com/2013/situacion-actual-y-retos-de-la-produccion-organica/>
- Cruzat. (Julio de 2010). Fundación para la Innovación Agraria. Obtenido de https://www.opia.cl/static/website/601/articles-75498_archivo_01.pdf
- Financiero, E. (2014). El Financiero. Obtenido de <http://www.elfinanciero.com.mx/economia/sector-organico-en-mexico-crecio-504-en-los-ultimos-10-anos.html>
- INTAGRI. (Agosto de 2017). INTAGRI. Obtenido de <https://www.intagri.com/articulos/frutillas/manejo-de-la-frambuesa-en-macrotuneles>
- SAGARPA. (Agosto de 2017). SAGARPA. Obtenido de http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/distritofederal/boletines/Paginas/JAC_0005-3.asp
- Servicio Agrícola y Ganadero. (Julio de 2017). Obtenido de <http://www.sag.gob.cl/ambitos-de-accion/exportacion-0>

INHIBICIÓN DE CEPAS PRODUCTORAS DE XILITOL EN PRESENCIA DE PRETRATADO DE RASTROJO DE MAÍZ

Jorge Martín Barreto González¹ y Divanery Rodríguez Gómez²

RESUMEN

El mercado actual ofrece una gran variedad de edulcorantes con diferentes especificidades y beneficios, considerando aspectos energéticos, económicos y de seguridad alimentaria. Uno de los edulcorantes alternativos que ha despertado el interés de numerosos investigadores a nivel mundial es el xilitol (C₅H₁₂O₅), un azúcar alcohol que por sus múltiples ventajas se usa en las industrias de alimentos, farmacéutica y en la elaboración de productos de higiene oral. Una alternativa importante al método químico para la producción de xilitol es su producción por medio del uso de levaduras a partir de xilosa. El rastrojo de maíz puede ser potencialmente transformado, sin embargo, esta transformación depende de la aplicación de un pretratamiento efectivo que permita eliminar la lignina, pues de ello dependen la eficiencia y el costo de las etapas subsecuentes. Se utilizaron cepas productoras de xilitol, dos cepas de *Meyerozyma guilliermondii* aisladas de una planta tequilera de Jalisco, México y se compararon con dos cepas de colección: *M. guilliermondii* y *Candida mogii*. Se evaluó el crecimiento en presencia de glucosa como control y el porcentaje de inhibición en presencia del pretratado de rastrojo de maíz. Se obtuvieron resultados favorables en cuanto al crecimiento de las 3 cepas del género *M. guilliermondii* tanto en el medio de control como en el del pretratado de rastrojo de maíz. En contraste con *C. mogii* de colección que solo tuvo un crecimiento considerable en el medio de pretratado, siendo limitado el crecimiento en el control. No hubo inhibición de crecimiento de las cepas productoras de xilitol en presencia de pretratado de rastrojo de maíz.

ABSTRACT

The market offers a great variety of sweeteners with different specificities and benefits, considering aspects such as energy content, economic and food safety. Xylitol (C₅H₁₂O₅), a sugar alcohol that offers many advantages, is used in the food, pharmaceutical and oral hygiene industries. An important alternative to the chemical method for the production of xylitol is its production through the use of yeasts from xylose as substrate. Corn stover can be potentially transformed; however, this transformation depends on the application of an effective pretreatment in order to remove lignin, and it affects the efficiency and cost of subsequent stages. Xylitol-producing strains were used, two strains of *Meyerozyma guilliermondii* isolated from a tequila plant in Jalisco, Mexico were compared with ATCC strains of *M. guilliermondii* and *Candida mogii*. Growth in the presence of glucose as a control and percentage of inhibition in the presence of pretreated corn stover were evaluated. Favorable results were obtained for the growth of the three strains of the genus *M. guilliermondii* in both the control medium and the pretreated corn stover. In contrast to *C. mogii*, which only had considerable growth in the pretreated medium, control growth was limited. No growth inhibition was observed in presence of pretreated corn stover.

Palabras Clave: Xilitol, Glucosa, Pretratado de maíz

INTRODUCCIÓN

El xilitol se utiliza como edulcorante y como agente de retención humedad en cosméticos. Debido a su baja higroscopicidad y buena compresibilidad así como al bajo punto de fusión es muy útil en la preparación de alimentos y productos farmacéuticos [1]. Se obtiene convencionalmente por hidrogenación catalítica de la xilosa a alta presión, usando catalizadores de níquel o níquel Raney. El rendimiento y la calidad del proceso dependen de la pureza de la solución inicial de xilosa, ya que las impurezas interfieren en la reacción catalítica. Por este motivo se requieren operaciones previas de purificación (intercambio iónico, decoloración y fraccionamiento cromatográfico). Después de la catálisis, el catalizador se elimina por filtración e intercambio iónico. Estas etapas de purificación aumentan el tiempo de proceso y encarecen el producto [2]. El xilitol producido por procesos biotecnológicos utiliza levaduras y/o enzimas. Los hidrolizados hemicelulósicos obtenidos de residuos agroindustriales, pueden competir con los procesos químicos tradicionales. En los microorganismos, el xilitol se forma como un producto intermediario metabólico de la xilosa. Entre las levaduras que muestran elevados rendimientos en la fermentación de la xilosa a xilitol se encuentran las *Cándida guilliermondii*, *C. tropicalis*, *C. boidinii*, *C. parapsilosis* y *Pichia spp.* [3].

El proceso biotecnológico representa una alternativa más económica, ya que se realiza a presión atmosférica y la purificación del hidrolizado es menos compleja. En el caso de medios de cultivo preparados a partir de hidrolizados lignocelulósicos, los estudios se centran en la eliminación de compuestos que causan la inhibición del metabolismo microbiano y disminuyen el crecimiento celular y el rendimiento del producto [4]. Algunos

de los subproductos de la degradación de los azúcares y de la lignina pueden afectar negativamente el proceso de fermentación, porque son tóxicos para los microorganismos e inhiben su metabolismo. Los factores que afectan la producción de xilitol son: la concentración inicial del inóculo, tipo de sustrato, composición del medio de cultivo, temperatura, pH y transferencia de oxígeno [5].

Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue realizar un análisis del efecto inhibitorio del pretratado del rastrojo de maíz sobre cepas de *Meyerozyma guilliermondii* aisladas de una planta tequilera de México y realizar una comparativa con cepas de colección de los géneros *M. guilliermondii* y *C. mogii*.

MÉTODOS Y MATERIALES

Se llevaron a cabo cinéticas de crecimiento de dos cepas nombradas cepa 3 y cepa 4 de *Meyerozyma guilliermondii*, las cuales son nativas de México y de dos cepas de colección denominadas *M. guilliermondii* ATCC58070 y *Candida mogii* ATCC18364. El rastrojo de maíz molido se secó y tamizo previo al pretratamiento ácido con ácido sulfúrico al 10% durante 5 min a 120 °C. La parte sólida se separó de la líquida, la cual fue usada como medio de cultivo rico en azúcares reductores ajustado a la concentración de 10 g/l. Posteriormente se preparó el medio de cultivo que contenía la parte líquida del pretratado en matraces de 250 ml, se adicionó base de nitrógeno de levadura (YNB, 6.7 g l⁻¹) [3], el pH del medio se ajustó a 5 antes de llevarse a esterilización por autoclave. Como control se usó medio de cultivo reemplazando el pretratado por glucosa en la misma concentración. Todos los matraces se mantuvieron en agitación a 150 rpm y 30°C durante 168 h de cultivo y cada 24 h se tomaron muestras para seguimiento del cultivo. Se evaluó el pH con potenciómetro Jenway 9500. Se determinó el crecimiento por peso seco y se midió la concentración por el método de azúcares reductores con el reactivo ácido 3,5 dinitrosalicílico [6] utilizando un espectrofotómetro Cary 50. El porcentaje de inhibición se calculó tomando como 100% el máximo valor de biomasa obtenido

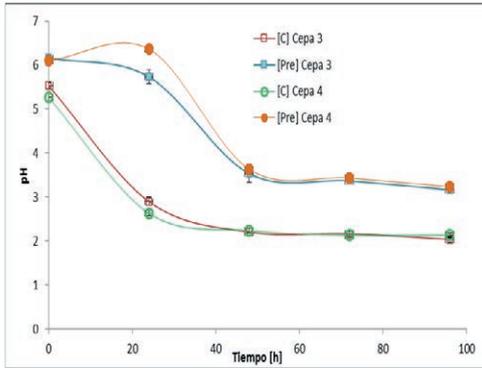


Figura 1.- Representación del pH respecto al tiempo de las cepas nativas con el control [C] y pretratado de rastrojo de maíz [pre].

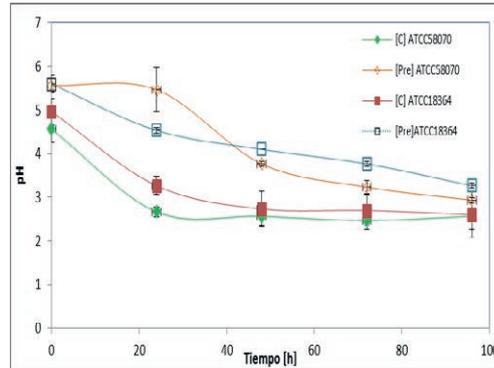


Figura 2.- Representación del pH respecto al tiempo de las cepas de colección (*M. guilliermondii*: ATCC58070 y *C. mogii* ATCC18364) con el control [C] y pretratado de rastrojo de maíz [pre].

en el medio control en cada cepa.

RESULTADOS

Se puede observar en la figura 1, que las cepas 3 y 4 de *M. guilliermondii* mantuvieron la cinética de pH similar tanto en el medio control como el que contenía pretratado de rastrojo de maíz. Por otra parte las cepas de colección no presentaron similitud en el perfil de pH del medio que contenía pretratado de rastrojo de maíz. Aunque la cepa de *M. guilliermondii* ATCC58070 presentó un comportamiento similar al de las cepas nativas. En todos los casos la tendencia del pH es a la acidificación posterior a las 48 h de cultivo.

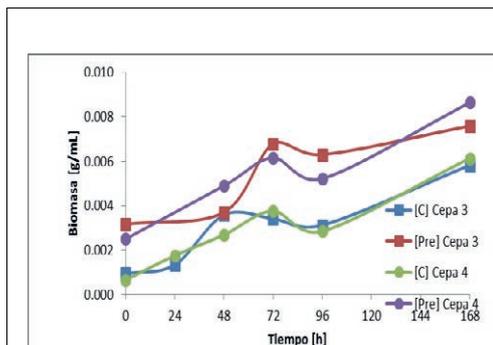


Figura 3.- Crecimiento de la biomasa con respecto al tiempo de control y pretratado de las cepas 3 y 4 nativas de México.

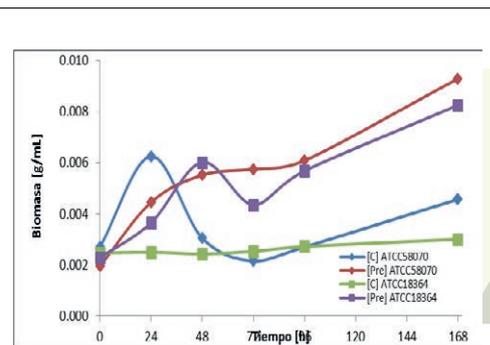


Figura 4.- Crecimiento de la biomasa con respecto al tiempo de control y pretratado de las cepas 3 y 4 nativas de México.

En las figuras 3 y 4 se puede observar el comportamiento de biomasa en [g/mL] con respecto al tiempo, mostrando en la figura 3, que las cepas nativas 3 y 4 presentaron mayor crecimiento en los medios que contenían pretratado de rastrojo de maíz que en el control, en ambas cepas. La biomasa máxima se encontró a las 72 h y posteriormente a 168 h se encontró otro pico de producción. Por otra parte, en la figura 4 se puede observar la cinética de biomasa de las cepas ATCC58070 y ATCC18364, las cuales también presentaron mejor crecimiento en presencia de pretratado que en el control, sin embargo la mayor biomasa en el pretratado se evidenció 24 h antes que en las cepas nativas (48 h de cultivo).

En la figura 5 se puede observar el porcentaje de consumo de sustrato para las diferentes cepas a las 72 horas

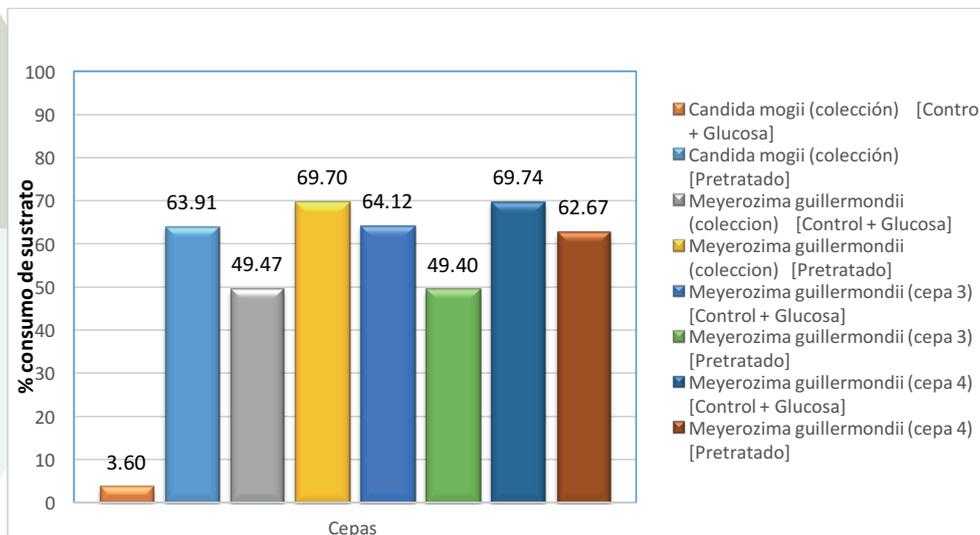


Figura 5.-Comparación del porcentaje de consumo de sustrato de las diferentes cepas usadas en cada medio de cultivo a las 72 h. de crecimiento.

de crecimiento, realizando una comparación de la biomasa y el consumo efectivamente todas las cepas tienen una preferencia por el medio formulado con pretratado de rastrojo de maíz. El consumo del sustrato en *C. mogii* corresponde a que a 72 h de cultivo no se observó crecimiento. Por lo anterior, se puede especular que

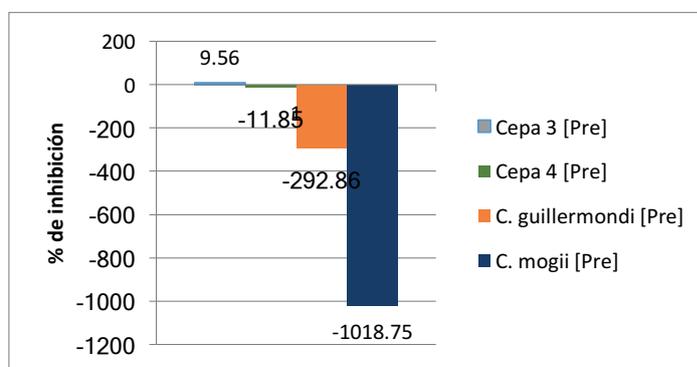


Figura 6.- Representación de los porcentajes de inhibición de cada una de las cepas tomando como referencia el crecimiento del medio control.

el pretratado tiene otros componentes (no medidos por la técnica de azúcares reductores) que favorecen el crecimiento de los microorganismos.

En la figura 6, se puede observar como el pretratamiento favoreció el crecimiento de los diferentes microorganismos, excepto la cepa 3 la cual presentó un porcentaje de inhibición bajo obteniéndose un 9.56% y la cepa que mostró un crecimiento muy favorecido fue *C. mogii*.

CONCLUSIONES

Los cuatro microorganismos presentaron un mayor crecimiento en presencia del pretratado de rastrojo de maíz en comparación con el medio control. Al no encontrarse inhibición de crecimiento de las cepas productoras de xilitol en presencia de pretratado de rastrojo de maíz se considera una opción viable para su uso dentro de una biorefinería sustentable. Las perspectivas del trabajo consisten en variar las concentraciones del pretratado en el medio de cultivo.

AGRADECIMIENTOS

PRODEP-SEP (# Proyecto: DSA/103.5/16/10541) e ITESI por el financiamiento.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Singh, A.; Mishra, P. (1995) Utilization. Current Applications in Biotechnology. Elsevier Science B.V. pp 273-299.
- [2] PARAJÓ, J. C.; DOMÍNGUEZ, H.; DOMÍNGUEZ, J. M. (1998a) "Biotechnological production of xylitol. Part I: Interest of xylitol and fundamentals of its biosynthesis". Bioresource Technology 65:191-201.
- [3] Guo C., Zhao C., He P., Lu D., Shen A., Jiang N. "Screening and characterization of yeasts for xylitol production". Journal of Applied Microbiology, 101, 1096–1104, 2006.
- [4] AMANINI, C.; OLIVEIRA HAULY, M. C. (2004) "Agro-industrial residues in biotechnological production of xylitol". Semina: Ciências Agrárias, Londrina, 25(4): 315-330.
- [5] CANILHA, L.; ALMEIDA E SILVA, J. B.; FELIPE, M. G. A.; CARVALHO, W. (2003) "Batch xylitol production from wheat straw hemicellulosic hydrolysate using *Candida guilliermondii* in a stirred tank reactor". Biotechnology Letters 25: 1811–1814.
- [6] Bello Gil D., Carrera Bocourt E., Díaz Maqueira Y. "Determinación de azúcares reductores totales en jugos mezclados de caña de azúcar utilizando el método del ácido 3, 5 dinitrosalicílico". ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar, XL, 2, 45-50, 2006.

INOCULACIÓN DE SEMILLAS DE CALABAZA CON HONGOS ENTOMOPATOGENOS

Salazar Cerrillo Juan Armando¹ y Villegas Rodríguez Fabiola²

RESUMEN

En el presente trabajo se inocularon semillas de calabaza con diferentes cepas de hongos entomopatógenos de las especies *Beauveria bassiana* (Bb09 y Bb42) y *Metarhizium anisopliae* (Ma28 y Ma25) para determinar si las plantas presentan algún efecto en el crecimiento al momento de la germinación y desarrollo de la plántula al ser inoculadas con dichos hongos. De estas cepas de hongos, dos fueron comerciales y dos fueron aisladas en el estado de Guanajuato. La germinación se realizó por 2 métodos diferentes; el primero consistió en la inoculación directa de la semilla con solución de esporas 1×10^8 UFC mL⁻¹, solo en agar bacteriológico y el otro fue la inoculación directa de las semillas en sustrato comercial para plantas. Se observó que la presencia de hongos no inhibe el crecimiento de las plántulas, al contrario se observó una tasa de germinación mayor en agar bacteriológico, al igual que un crecimiento notable de la plántula en el sustrato comercial. En el ensayo con agar bacteriológico el hongo permaneció en la planta durante su germinación y crecimiento.

ABSTRACT

In the present work pumpkin seeds were inoculated with different of entomopathogenic fungi strains of *Beauveria bassiana* (Bb09 and Bb42) and *Metarhizium anisopliae* (Ma28 and Ma25) species, to determine whether fungi with plants have any effect on growth at the time of germination and development. Of these fungal strains, two were commercial and two were isolated in the state of Guanajuato. Germination was performed by 2 different methods; the first consisted in the direct inoculation of the seed with spore solution, only in bacteriological agar and the other was the direct inoculation of the seeds in commercial substrate for plants. It was observed that the presence of fungi does not inhibit the growth of the seedlings, on the contrary a higher germination rate was observed in bacteriological agar, as well as a remarkable seedling growth in the commercial substrate, in the test with bacteriological agar the fungus remained in the plant during germination and growth.

Palabras Clave: Hongos entomopatógenos, semillas, hongos endófitos, germinación.

INTRODUCCIÓN

Los hongos entomopatógenos tienen la capacidad de sintetizar dextrinas, demetildextrina y protodextrina, las cuales son sustancias de baja toxicidad, pero de mucha actividad tóxica sobre ácaros y nematodos (Monzón, 2001) y que son utilizadas en el ciclo de las relaciones patógeno-hospedero.

El establecimiento endofítico de hongos entomopatógenos en cultivos de interés, ofrece un campo amplio y prometedor para comprender las relaciones entre plantas y hongos y los mecanismos de defensa que estos últimos pueden inducir en las plantas (Bonilla, 2012). Ocasionalmente, la mortalidad alcanza niveles elevados y provocando una notable disminución en las poblaciones de las plagas. Sin embargo, en ocasiones puede ser necesario incrementar su incidencia en forma artificial mediante la inoculación de los hongos entomopatógenos para aumentar su efecto insecticida. Por lo tanto, dentro del control biológico se plantea como una alternativa la introducción inoculativa o inundativa de éstos hongos (Vega, 2008).

Los hongos endófitos también pueden inducir mecanismos de resistencia en plantas como la producción de micotoxinas, siendo ésta independiente a los daños causados por los herbívoros (Bultman et. al, 2004). Entre los beneficios más estudiados de los hongos endófitos se encuentra la capacidad que inducen en el hospedero de mitigar el efecto de otros hongos causales de enfermedad, mediante la producción de metabolitos secundarios como los alcaloides, como es el caso de *Dechslera* sp. en el pasto *Brachiaria* (Kelemu et. al, 2001).

MARCO TEORICO

Hongo: Organismo eucarionte que pertenece al reino fungi; quimioheterótrofo [Tortora, 2007].

Hongo entomopatógeno: Grupo de microorganismos que tienen la particularidad de parasitar a diferentes grupos de insectos y otros artrópodos, como las arañas y los ácaros (Boucias y Pendland, 1998).

Hongo endófito: Organismos que viven en asociación con plantas en la mayor parte o en todo su ciclo de vida, y se encuentran en varios órganos de éstas (colonización sistémica interna). Viven en los espacios extra y, algunas veces, intracelulares de hojas, tallos, flores y hasta frutos, absorbiendo nutrientes de la planta

(Salgado-Salazar & Cepero de García, 2005).

MÉTODOS Y MATERIALES

La práctica experimental fue realizada en el laboratorio de fitopatología de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la UASLP, los hongos se obtuvieron de cultivos puros que se sembraron en agar ADS durante dos semanas. Se observó el crecimiento de esporas en la superficie de las cajas Petri, en *Metarhizium anisopliae* se observó una capa arenosa superficial de color verde militar y en *Beauveria bassiana* se observó una capa algodonosa de color blanco.

A estas cepas se les agregó una solución INEX-A® comercial al 1% estéril para liberar las esporas y poder depositarlas en vasos de precipitado estériles para usarlos como muestras madres, de estas muestras madres se tomaron 10µL para hacer un conteo en cámara de Neubauer y así determinar la concentración de cada muestra. Para la inoculación de las semillas se ajustó la concentración de las soluciones madre a 1x10⁸UFC mL⁻¹.

Antes de inocular las semillas se sometieron a un proceso de desinfección que consistió en enjuagar las semillas 3 minutos en hipoclorito de sodio comercial al 10%, seguido de 3 minutos en etanol al 70% y por último en agua destilada estéril.

Se prepararon 25 frascos de Gerber® estériles con 25 ml agar bacteriológico para depositar en ellos las semillas de calabaza. A cada frasco se le colocaron 5 semillas distribuidas en la superficie del agar a las cuales con una micropipeta se les colocaron en la superficie de la semilla 20 µL de las soluciones de esporas al 1x10⁸UFC mL⁻¹. De tal forma que quedaron 25 semillas distribuidas en 5 frascos para cada tratamiento y 5 frascos controles con 5 semillas cada uno a las cuales se les inoculó solución INEX-A® al 1%.

Los frascos se sellaron y se colocaron en una cámara climática a 25°C y 69% de humedad relativa y se monitorio el crecimiento de las semillas cada 24 horas.

Después de 15 días se retiraron las plántulas del agar y fueron separadas en raíz y parte foliar (tallo y hojas) para pesarlas en fresco, cada parte fue desecada en horno seco a 50°C durante 24 horas para posteriormente volverlas a pesar.

Las plántulas crecidas en agar bacteriológico fueron desinfectadas con hipoclorito de sodio comercial al 10% para sembrarse aleatoriamente por cada tratamiento en medio ADS y observar el crecimiento de hongos sobre las partes de la planta.

Para la inoculación en sustrato comercial, las semillas se prepararon de la misma manera que para el ensayo en agar bacteriológico. El sustrato se humedeció para colocarlo en 10 vasos térmicos por tratamiento y control, donde se colocaron las semillas y se inocularon con micro pipeta con 200 µL de las soluciones de esporas al 1x10⁸UFC mL⁻¹ directamente en la superficie de la semilla que se encuentra en el sustrato. Para esta prueba se observó el crecimiento de la plántula. Después de 23 días de la inoculación de la semilla, a la planta se le quitó el vaso térmico junto con el sustrato y se separó en raíz y parte foliar y se pesó en fresco. A cada parte se le desecó en el horno y se determinó el peso seco de las plántulas.

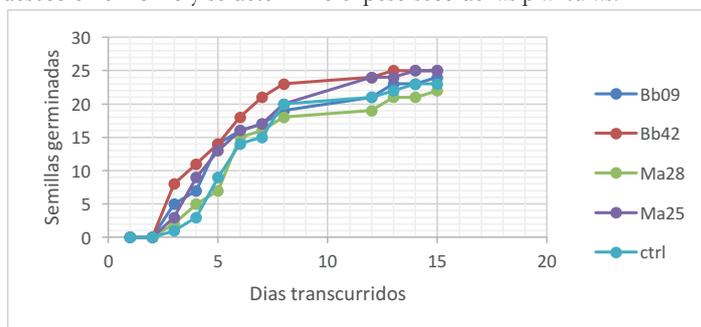


Figura 1. Germinación de semillas de calabaza tratadas con diferentes cepas de hongos entomopatógenos

RESULTADOS

En la Figura 1 se observa la germinación de las semillas de calabaza en agar bacteriológico, en el eje de entrada se muestra el tiempo transcurrido en días y en el eje de respuesta se ven las semillas germinadas. Como se observa todos los tratamientos de hongos dieron una tendencia de germinación mayor a los controles que solo se inocularon con solución INEX estéril 1% lo que nos indica que los hongos son un factor que afecta el tiempo de germinación de las semillas en un medio inerte. Especialmente con la de *Beauveria bassiana* (Bb42) que desde el tercer día tuvo una tasa de germinación superior a los otros tratamientos, seguido del

tratamiento con (Ma25) debido a que el control se quedó debajo de todos los tratamiento, el tratamiento con hongos fue factor para la germinación de las semillas.

En la Figura 2 se observa la gráfica que representa el peso promedio de las partes de la semilla que se germinó en agar bacteriológico, donde el peso de las plantas inoculadas superó el peso de los controles menos en la raíz de la muestras Ma28 1 donde el peso obtenido fue menor que los controles.

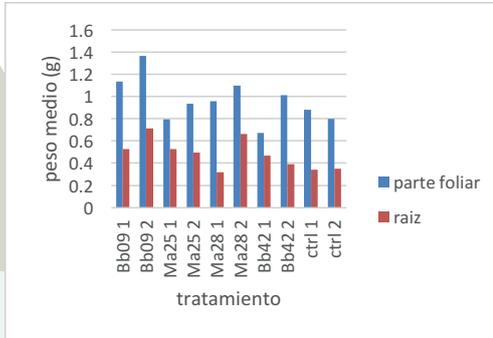


Figura 2. Peso fresco de raíz y parte foliar promedio por semilla inoculada de cada tratamiento en agar bacteriológico.

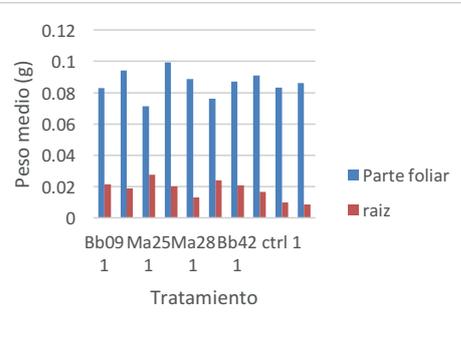


Figura 3. Peso seco de raíz y parte foliar promedio por semilla inoculada de cada tratamiento en agar bacteriológico.

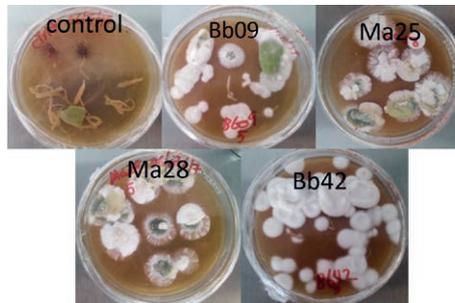


Figura 4. Crecimiento de hongos entomopatógenos a partir de plántulas germinadas en agar bacteriológico inoculadas

En la Figura 3 se observa la gráfica que representa el peso promedio seco de las partes de la semilla que se germinó en agar bacteriológico, el peso de las raíces de todos los tratamientos fueron mayores a los de los controles, el peso de la parte foliar se observaron algunos casos en donde el peso seco fue menor Ma28 2, Ma25 1 y Bb09 1.

En la figura 4 se observa el crecimiento de los hongos a partir de las plántulas crecidas en agar bacteriológico que fueron germinadas, se observó que en todas hubo presencia del hongo, esto quiere decir que el hongo

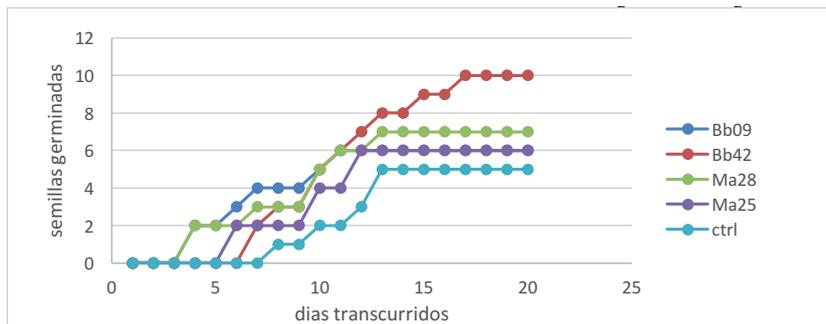


Figura 5. Germinación de las semillas de calabaza tratadas con diferentes cepas de hongos entomopatógenos en sustrato comercial.



Figura 6. Comparación del crecimiento entre plántulas obtenidas a partir de semillas inoculadas con hongos entomopatógenos.

estuvo presente durante el crecimiento de la plántula de calabaza. Se observó que la cepa Ma28 fue la que tuvo un mayor crecimiento de hongos en ADS seguido de Bb42, en ambos el hongo creció a partir de todas las partes de la plántula.

En la Figura 5 se observa la tasa de germinación de las semillas de calabaza en sustrato comercial, en el eje de entrada se muestra el tiempo transcurrido en días y en el eje de respuesta se observan las semillas a las que se les evaluó el crecimiento. Todos los tratamientos de hongos dieron una tendencia de germinación mayor a los controles que solo se inocularon con solución INEX estéril 1% lo que nos indica que los hongos son un factor que afecta el tiempo de germinación de las semillas en un sustrato enriquecido. Especialmente con la de *Beauveria bassiana* (Bb42) debido a que el control se quedó debajo de todos los tratamiento, el tratamiento con hongos fue factor para el crecimiento de las plántulas de calabaza. Y el resultado fue similar al de las semillas inoculadas en agar bacteriológico.

En la figura 6 se observa como crecieron las plantas a partir de las semillas inoculadas con hongos entomopatógenos, se puede apreciar que todos los tratamientos ayudaron al crecimiento de las plántulas en especial las tratadas con *Metarhizium anisopliae* (Ma28 y Ma25).

En la figura 7 se observa el peso fresco de las plántulas crecidas en sustrato comercial donde se observó que los tratamiento con hongos con excepción de Bb42 incrementaron el desarrollo de las plántulas en cuanto

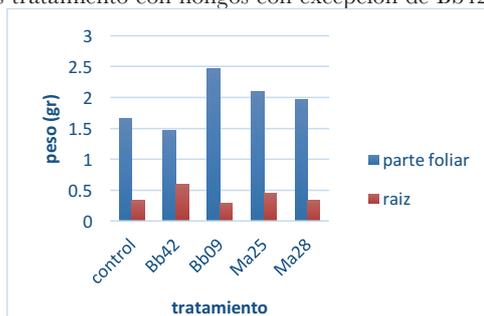


Figura 7. Peso fresco de raíz y parte foliar promedio por semilla inoculada de cada tratamiento en sustrato comercial.

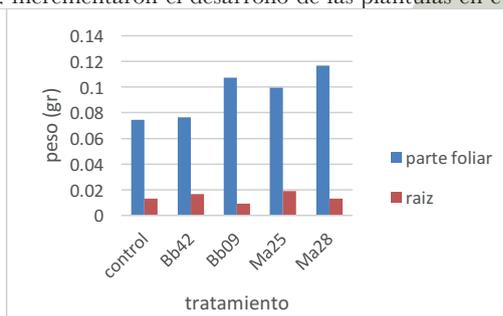


Figura 8. Peso seco de raíz y parte foliar promedio por semilla inoculada de cada tratamiento en sustrato comercial.

a la parte foliar, y en las raíces solo el tratamiento con Bb09 presento crecimiento menor que el control. En la figura 8 se observa el peso seco donde los resultados fueron similares al peso fresco de las mismas plántulas. Esto nos quiere decir que la inoculación de *Metarhizium anisopliae* en semillas de calabaza afecta el crecimiento de las plántulas en sustrato comercial

CONCLUSIONES

La germinación y el crecimiento de semillas de calabaza no son afectados por la inoculación de hongos entomopatógenos, sino al contrario con el presente experimento se demostró que con la inoculación de *Beauveria bassiana* de la cepa Bb42 las semillas mostraron mejor tasa de germinación, y un mayor crecimiento como plantas con *Metarhizium anisopliae*, además de que el hongo se mantuvo en la planta durante su crecimiento.

BIBLIOGRAFIA

- BONILLA P. M. (2012). “inoculación y establecimiento endofítico de cepas de los hongos entomopatógenos”, universidad de Valle, Santiago de Cali.
- BOUCIAS D.G. Y PENDLAND J.D. (1998). “Principles of insect pathology”. Kluwer Academic Publishers, Boston, Dordrecht, London. [537 pp.]
- BULTMAN, T.L.; BELL, G. & MARTIN, W.D. (2004). “A fungal endophyte mediates reversal of wound-induced resistance and constrains tolerance in a grass”. *Ecology* 85: [679–685 pp.]
- COSMOCEL. S.A División agrícola
- SALGADO-SALAZAR, C. & CEPERO DE GARCÍA, M.C. (2005). “Aislamiento de hongos endófitos en rosa en Bogotá”, Colombia. Centro de Investigaciones Microbiológicas CIMIC, Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia. *Revista Iberoamericana de Micología* 22: [99-101 pp].
- TORTORA G., FUNKE B., CASE L. (2007). “Introducción a la microbiología”, editorial médica panamericana
- VEGA, F. (2008). Insect pathology and fungal endophytes. *Journal of Invertebrate Pathology* 98: [277-279 pp].



ESTUDIO DE INOCUIDAD A HORTALIZAS ABONADAS CON RESIDUOS SÓLIDOS DE PTAR

Sánchez Salazar Luis Enrique¹ Y M. En C. Armas Garfias Claudia²

RESUMEN

En las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR), se busca reducir la carga microbiana así como los contaminantes que estén presentes en las aguas, en este caso municipales, para evitar de esta manera el estancamiento de este líquido el cual puede causar daños a la salud de las personas, pero, como en todo proceso existe la presencia de residuos, en el caso de las PTAR's se obtiene como desecho los "lodos residuales" los cuales son la carga orgánica presente en el agua; estos no cuentan con un posterior uso por lo cual son olvidados sin dárseles un aprovechamiento adecuado.

En este proyecto se busca ver si es viable utilizar estos "lodos residuales" como un abono orgánico, puesto que estos contienen nutrientes potenciales que pueden ser aprovechados por las hortalizas.

ABSTRACT

In wastewater treatment plants (WTP), it is sought to reduce the microbial load as well as contaminants present in the waters, in this case municipal, to avoid stagnation of this liquid which can cause damages to The health of people, but, as in all processes there is the presence of residues, in the case of WWTPs waste is obtained as "waste sludge" which are the organic load present in the water; These do not count on a later use for which they are forgotten without being given an adequate use.

This project seeks to see if it is feasible to use these "residual sludge" as an organic fertilizer, since these contain potential nutrients that can be harvested by vegetables.

Palabras clave: PTAR, Lodos residuales, contaminación del agua, biosólidos, biofertilizante.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad se han creado miles de empresas para satisfacer las necesidades de la población en México y todo el mundo. Generando siempre algún tipo de contaminación al intentar lograr su objetivo como lo son, la contaminación del suelo, la contaminación del aire y la más importante la contaminación del agua debido a estos problemas que ocasionan se ve la necesidad de crear formas de reducir o eliminar los contaminantes del ambiente, como es el caso de las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR), en las cuales se les da un tratamiento que sea el adecuado para la eliminación y reducción de estos contaminantes presentes en el agua, durante este proceso de tratamiento se van generando biosólidos denominados comúnmente como "lodos residuales" y que sirven para proporcionar materia orgánica y mejorar la estructura del suelo donde sean empleados.

La forma más utilizada de disposición final para los lodos es mediante la incineración y mediante su almacenamiento en algún relleno para este tipo de residuos generados durante un proceso de tratamiento al agua residual. Algunos países han buscado formas que no causen un gran impacto ecológico en el medio ambiente y se ha encontrado que estos llamados "lodos residuales" contienen una gran cantidad de nutrientes que pueden ser aprovechados inicialmente por el suelo para después cuando se lleve a cabo la siembra de algún cultivo puedan ser nutrientes para estos. Obteniendo así un gran beneficio ya que no causa un gran impacto ambiental como lo causaría el uso de fertilizantes químicos así como también dar un beneficio económico ya que estos no son muy caros en comparación con los fertilizantes comúnmente utilizados.

OBJETIVOS

Objetivo general:

Caracterizar microbiológicamente los lodos obtenidos a partir de una planta de tratamiento de agua residual (PTAR) así como ver si pueden ser utilizados para abonar hortalizas.

Objetivos específicos:

- Conocer la calidad de los lodos residuales mediante su análisis microbiológico.
- Mediante la caracterización determinar si pueden ser utilizados para uso agrícola.

MÉTODOS Y MATERIALES

La metodología utilizada para la caracterización de lodos durante el presente proyecto está basado en el de la NOM-004-SEMARNAT-2002.

Materiales

- Pipetas de 10ml.
- Pipetas de 1ml.
- Olla de presión.
- Espátula.
- Tubos de ensayo.
- Campanas Durham321.
- Gradilla.
- Asa bacteriológica.
- Cajas Petri.
- Microscopio.
- Parrilla de calentamiento.
- Vasos de precipitado.

Métodos

- Determinación de coliformes fecales en lodos.

El método utilizado para esta determinación debido a que son métodos algo extensos vienen en los anexos de la NOM-004-SEMARNTA-2002.

- Determinación de salmonella spp., en lodos.

El método utilizado para esta determinación debido a que son métodos algo extensos vienen en los anexos de la NOM-004-SEMARNTA-2002.

- Método para la cuantificación de huevos de helminto en lodos.

El método utilizado para esta determinación debido a que son métodos algo extensos vienen en los anexos de la NOM-004-SEMARNTA-2002.

- Método para la determinación de nitrógeno rango alto.

Este procedimiento se hizo a base del manual HANNA para la determinación de nitrógeno.

RESULTADOS

Resultados de la caracterización microbiológica de los lodos.

Tabla.1. resultados de la determinación de coliformes fecales

Prueba presuntiva con caldo lactosado					
Tubos	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
1	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
2	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
3	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
4	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
5	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Control	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Prueba confirmativa con caldo EC					
Tubos	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
1	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
2	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
3	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
4	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
5	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Control	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

Tabla.4. tabla recopilativa de los resultados obtenidos.

Determinación	Resultados			aprovechamiento
	M1	M2	M3	
Determinación de coliformes fecales. Según la NOM-004-SEMARNTA-2002	1 100 000	161 000	230 000	M1) Clase C M2) Clase C M3) Clase C
Determinación de salmonella spp. Según la NOM-004-SEMARNTA-2002	> 300	> 300	<300	M1) Fuera de los límites máximos. M2) Fuera de los límites máximos. M3) Clase C
Determinación de huevos de helminto. Según la NOM-004-SEMARNTA-2002	<1	< 1	<1	M1) Clase A M2) Clase A M3) Clase A
Determinación de nitrógeno total. A base del manual HANNA	100 mg/L	170 mg/L	100 mg/L	

Tabla.2. Límites máximos permisibles para patógenos y parásitos en lodos y biosólidos

CLASE	INDICADOR BACTERIOLÓGICO DE CONTAMINACION	PATOGENOS	PARASITOS
	Coliformes fecales NMP/ig en base seca	Salmonella spp. NMP/ig en base seca	Huevos de helmintos/ig en base seca
A	Menor de 1 000	Menor de 3	Menor de 1(a)
B	Menor de 1 000	Menor de 3	Menor de 10
C	Menor de 2 000 000	Menor de 300	Menor de 35

Tabla.3. Resultados de la determinación de salmonella spp.

En medio selenito cistina					
Tubos	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
1	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo
2	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
3	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
4	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
5	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
Control	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

Tabla.5. Aprovechamiento de biosólidos.

TIPO	CLASE	APROVECHAMIENTO
EXCELENTE	A	<ul style="list-style-type: none"> • Usos urbanos con contacto público directo durante su aplicación • Los establecidos para clase B y C
EXCELENTE O BUENO	B	<ul style="list-style-type: none"> • Usos urbanos sin contacto público directo durante su aplicación • Los establecidos para clase C
EXCELENTE O BUENO	C	<ul style="list-style-type: none"> • Usos forestales • Mejoramientos de suelos • Usos agrícolas

Expresión de resultados según la NOM-004-SEMARNAT-2002

- o Para la determinación de coliformes fecales el código es de (5 5 5)
- o $\text{NMP/g ST} = (161) \cdot (10/0.01) = 161000 = 1.6 \times 10^5$ coliformes fecales.
- o Para la determinación de salmonella spp., el código es de (5 5 5)
- o $\text{NMP/g ST} = (160) \cdot (10/0.1) = 16000 = 1.6 \times 10^4$ salmonella
- o Cuantificación de huevos de helminto
- o Resultados de la determinación de nitrógeno.
- o Determinación de nitrógeno rango alto
- o 170 mg/l de nitrógeno total.

DISCUSIÓN

Las determinaciones se realizaron en cada una de las metodologías se hicieron por triplicado, cada una de las determinaciones ya tienen establecido dentro de la norma un rango de valores que establecen si se les puede dar algún aprovechamiento al ser utilizados para hortalizas como un abono orgánico.

De acuerdo a las determinaciones realizadas y analizadas con la tabla 2 donde se marcan los límites máximos permisibles en cuanto a la determinación de coliformes fecales se puede observar que estos son de clase C por lo que pueden ser aprovechados para usos forestales, mejoramiento de suelos y usos agrícolas. Dentro de la determinación de salmonella spp. esta fuera de los límites máximos permisibles registrados por la presente norma por lo que se debe buscar alguna técnica de reducción de patógenos adecuada para reducir esta cantidad y puedan ser aprovechados para el uso agrícola que se les desea dar. La determinación de huevos de helminto demuestra que los lodos analizados son de clase A para esta determinación por lo cual son convenientes utilizar para: usos urbanos con contacto público directo durante su aplicación, usos urbanos sin contacto público directo durante su aplicación, usos forestales, mejoramiento de suelos y usos agrícolas.

Por otro lado se quiso utilizar otro método para ver si podrían ser utilizados los lodos residuales el que consistía en secar los lodos para ver si de esta forma esa carga microbiana disminuía pero desafortunadamente la carga de estos no disminuía de esta manera el contenido de salmonella spp., que es el parámetro que necesita disminuir para poder ser aprovechado adecuadamente.

CONCLUSIÓN

Durante cada una de las determinaciones realizadas para conocer si podrían ser utilizados los lodos residuales obtenidos de una planta de tratamiento de agua residual se pudo observar que varias de estas pruebas estaban dentro de los límites máximos permisibles que permitirían que fueran utilizados como un biofertilizante para el suelo en el cultivo de hortalizas, la única desventaja que presenta es en la determinación de salmonella spp., la que queda fuera de norma y por lo tanto fuera de los límites máximos permisibles para ser utilizada como biofertilizante llevándonos a la tarea de buscar técnicas que puedan ser utilizadas para la reducción de patógenos y parásitos que logren hacer que esta determinación quede dentro de norma y las que quedan dentro de norma como una clase C puedan cambiar de clase a una clase A o B.

BIBLIOGRAFIA

1. Zhang J., Zhang J., Tian Y., et al (2016). Changes of physicochemical properties of sewage sludge during ozonation treatment: Correlation to sludge dewaterability. *Chemical Engineering Journal*. 238-248.
2. Castillo E., Medina L. y Contreras A. (2016). A practical procedure for the microbiological monitoring of activated sludge plant functioning. *Water and Environment Journal*. 1-8.
3. Sreesai S., Peapung P., Tippayamongkonkun T et al (2013). Assessment of a potential agricultural application of Bangkok-digested sewage sludge and finished compost products. *Waste Management & Research*, 31(9) 925–936.
4. Staley C., Gould T., Wang P., et al (2015). Evaluation of water sampling methodologies for amplicon-based characterization of bacterial community structure. *Journal of Microbiological Methods*. 43-50.
5. Gurpreet M., Kaushik C., Mukherji A. (2016). Revelations of an overt water contamination. *MEDICAL JOURNAL ARMED FORCES INDIA*. 1-6.
6. Corvellec H. (2016). Sustainability objects as performative definitions of sustainability: The case of food-waste-based biogas and biofertilizers. *Journal of Material Culture*, Vol. 21(3) 383–401.
7. Antille D., Sakrabani R. & Godwin R. (2014). Effects of Biosolids-Derived Organomineral Fertilizers, Urea, and Biosolids Granules on Crop and Soil Established with Ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 1605-1621.
8. Effah E., Nyarko K., Adum, L. et al (2015). Perception of Peri-Urban Farmers on Fecal Sludge Compost and Its Utilization: A Case Study of Three Peri-Urban Communities in Ashanti Region of Ghana. *Compost Science & Utilization*. 267-275.
9. Bhardwaj D., Wahid M. Sahoo R. et al (2014). Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. *Microbial Cell Factories*. 1-10.
10. Yousefi Z., Aghili S., Ebrahimzadeh R., et al (2013). Investigation of Fungi in drinking water resources, as a source of contamination tap water in Sari, Iran. *Iranian journal of health Sciences*, 1(1).84-91.
11. Wuang S., Khin M., Chua P., et al (2016). Use of Spirulina biomass produced from treatment of aquaculture

- wastewater as agricultural fertilizers. *Algal Research*. 59-64.
12. Butarewicz A., Wołajko E., Wydro U., et al (2015). Changes of biological and chemical indicators in soil after dehydrated sewage sludge application. *Desalination and Water Treatment*. 1200-1212.
13. Cui F., Park S., Kim M. (2014). Characteristics of aerobic granulation at mesophilic temperatures in wastewater treatment. *Bioresource Technology*. 78-84.
14. Gurav R. & Jadhav J. (2012). A novel source of biofertilizer from feather biomass for banana cultivation. *Environ Sci Pollut Res*.
15. Hoffman T., Zitomer D., McNamara P. (2016). Pyrolysis of Wastewater Biosolids Significantly Reduces Estrogenicity. *Journal of Hazardous Materials*. 1-28.
16. Leal A., Dalzochio M., Flores T., Alves A., et al (2013). Implementation of the sludge biotic index in a petrochemical WWTP in Brazil: improving operational control with traditional Methods. *Society for industrial Microbiology and biotechnology*. 1415-1422.
17. Mahanty T., Bhattacharjee S., Goswami M., et al (2016). Biofertilizers: a potential approach for sustainable agriculture development. *Environ Sci Pollut Res*. 1-21.
18. Mekki A., Arous F., Aloui F., et al (2016). Treatment and Valorization of Agro-wastes as Biofertilizers. *Waste Biomass Valor*. 1-9.
19. Moretti G., Matteucci F., Ercole C., et al (2015). Microbial community distribution and genetic analysis in a sludge active treatment for a complex industrial wastewater: a study using microbiological and molecular analysis and principal component analysis. *Ann Microbiol*. 1-9.
20. Naidoo S., Olaniran A. (2014). Treated Wastewater Effluent as a Source of Microbial Pollution of Surface Water Resources. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 249-270.
21. Renuka N., Prasanna R. & Sood A. et al (2015). Exploring the efficacy of wastewater-grown microalgal biomass as a biofertilizer for wheat. *Environ Sci Pollut Res*. 1-13.
22. Obeidat M., Awawdeh M. and Mughaid H. (2013). Impact of a domestic wastewater treatment plant on groundwater pollution, north Jordan. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas*. 371-384.
23. Singh G., Kumar D., Sharma P. (2015). Effect of organics, biofertilizers and crop residue application on soil microbial activity in rice – wheat and rice-wheat mungbean cropping systems in the Indo-Gangetic plains. *Division of Microbiology, Indian Agricultural Research Institute, New Delhi*. 1-14.
24. Tejada M., Rodríguez B., Gómez I. et al (2016). Use of biofertilizers obtained from sewage sludges on maize yield. *Europ. J. Agronomy*. 13-19.
25. NORMA Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002, Protección ambiental.- Lodos y biosólidos.- Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final.

EVALUACIÓN DEL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE ÁRBOLES DE MEZQUITE, CAZAHUATE Y HUIZACHE, POR DOS MÉTODOS DE ESCARIFICACIÓN

Luz María Vargas Almanza¹, Francisco Alejo Iturvide² y Maria Azucena Márquez Lucio

RESUMEN

Mediante la realización de esta investigación se pudo determinar el método de esscarificación más efectivo para la germinación de las semillas de los árboles de mezquite, cazahuate y huizache, dichos árboles son nativos de la región de Irapuato, Guanajuato. Debido a la temporada en que se realizó la investigación no fue posible trabajar con las semillas del árbol de cazahuate. Se probaron dos diferentes métodos de esscarificación, el primer método fue químico el cual consistió en la inmersión de las semillas en un ácido fuerte, el cual fue ácido sulfúrico al 20% durante 15 minutos, el segundo método fue físico que consistió en la remoción de la testa de las semillas, contando en todo momento con un testigo.

Palabras Clave: semillas, mezquite, cazahuate, huizache, método de esscarificación, ácido sulfúrico.

ABSTRACT

By conducting this research it was possible to determine the most effective scarification method for the germination of the seeds of mesquite, cazahuate and huizache trees, these trees are native to the region of Irapuato, Guanajuato. Due to the season in which the research carried out, it was not possible to work with the seeds of the cazahuate tree. Two different methods of scarification were tested, the first method was chemical which consisted in the immersion of the seeds in a strong acid, which was 20% sulfuric acid for 15 minutes, the second method was physical that consisted in the removal of The covering of the seeds, counting at all times with a control.

Key words: seeds, mesquite, cazahuate, huizache, scarification method, sulfuric acid.

INTRODUCCIÓN

Las zonas áridas y semiáridas de México representan aproximadamente el 50%-60% de la superficie del país, sin embargo a pesar de que ocupan la mayoría del territorio nacional, estas zonas presentan un gran deterioro como consecuencia de las actividades humanas como la extracción de leña, el sobrepasteo, la sobreexplotación de algunas especies y los incendios. Además el factor limitante en las zonas áridas es la escasa disponibilidad del agua, al desarrollarse estos árboles en dichas zonas contribuyen a la conservación de los ecosistemas (Monroy et al., 2007). El estado de Guanajuato presenta gran diversidad de ecosistemas y gracias a esto la vegetación presente en muy diversa, existiendo una gran variedad de árboles nativos. A pesar de la diversidad dicha vegetación presenta un deterioro importante, especialmente los árboles de mezquite (mezquitales) debido a la principal actividad del estado que es la agricultura (CONABIO, 2012). Para este estudio se eligieron 3 especies de árboles importantes para el municipio de Irapuato por los beneficios tanto ecológicos como de aprovechamiento que significan. Las especies seleccionadas fueron el mezquite, el cazahuate y el huizache, debido a su presencia en el municipio de Irapuato, ejemplo de esto es que los podemos encontrar en una de las áreas protegidas del municipio: el Cerro de Arandas (López y Martínez, 2009). La sobreexplotación de dichas especies ha propiciado la búsqueda de nuevos métodos para que su siembra y conservación sea más eficiente (Monroy et al., 2014). La recolección de las semillas de mezquite se realiza en los meses de julio a septiembre y tiene un periodo de germinación de 2-3 semanas (INEEC, 2007). Mientras que las semillas de huizache se recolectan en los meses de febrero a mayo y su periodo de germinación es de 12-15 días (CONABIO) por ultimo las semillas de cazahuate se recolectan en los meses de diciembre a febrero teniendo un tiempo de germinación de 15- 20 días (INIFAP, 2009). Por lo descrito anteriormente el objetivo de la presente investigación fue evaluar el porcentaje de germinación de semillas de árboles de mezquite, cazahuate y huizache mediante dos métodos de esscarificación, uno químico y otro físico. Dicho objetivo no se pudo cumplir en su totalidad debido que no fue posible conseguir las semillas del árbol de cazahuate porque no es temporada de que dicho árbol produzca su fruto (vainas) el cual contiene las semillas.

MÉTODOS Y MATERIALES

Recolección y procesamiento de semillas

Las semillas de los árboles de mezquite y huizache se recolectaron en el municipio de Irapuato, las cuales provienen de vainas que contienen de 8-12 semillas cada una. Para la extracción de las semillas se hizo un corte transversal a la vaina y posteriormente se obtuvo la semilla, descartándose aquellas que presentaron perforaciones, tamaño muy pequeño y otras irregularidades.



Figura 1. Vainas del árbol de mezquite



Figura 2. Vainas del árbol de huizache

Como se puede observar en la Figura 1 y 2 al momento de recolectar las semillas estas estaban verdes por lo cual fue necesario exponerlas al sol hasta que secaran por completo.

Método de escarificación química

Para el método de escarificación química se utilizó ácido sulfúrico (H₂SO₄) con una concentración del 20%. Las semillas de cada especie de árbol fueron sumergidas en el ácido por 15 minutos, posteriormente se sembraron en suelo.

Método de escarificación física

Para el método de escarificación física se removió por completo la testa de las semillas seguido de esto se sembraron en suelo.

Además se consideró un grupo de semillas control sin tratamiento de escarificación.

RESULTADOS

Germinación de las semillas de mezquite

Las semillas de mezquite tratadas con el método de escarificación química alcanzaron un 10% de germinación, mientras que las tratadas con el método de escarificación física alcanzaron un 100% de germinación. La Figura 3 muestra la comparación de la germinación de las semillas de mezquite, mientras que las semillas del tratamiento control germinaron el 100%.

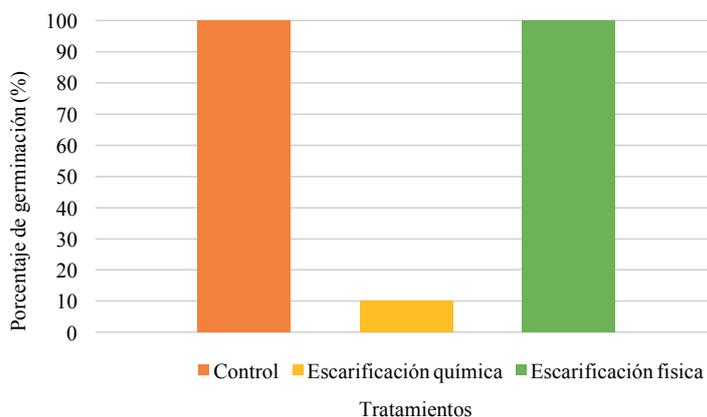


Figura 3. Evaluación del porcentaje de germinación de semillas de mezquite con los diferentes métodos de escarificación

Germinación de semillas de huizache

Las semillas de huizache tratadas con el método de escarificación química no germinaron, mientras que las tratadas con el método de escarificación física alcanzaron un 70% de germinación, las semillas control alcanzaron un 90% de germinación. La Figura 4 muestra la comparación de la germinación de las semillas de huizache.

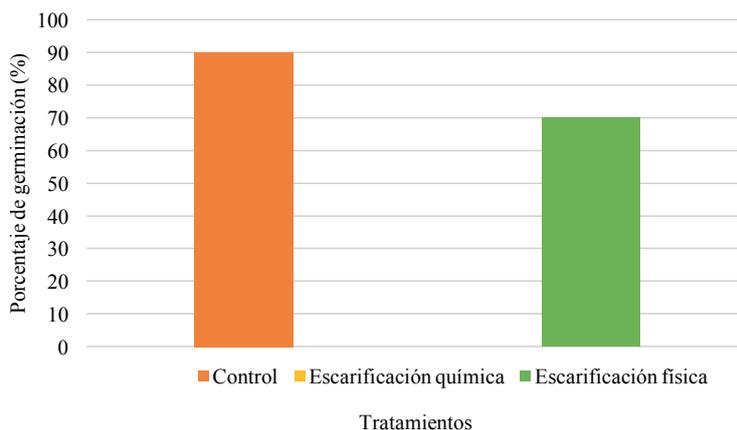


Figura 4. Evaluación del porcentaje de germinación de semillas de huizache con los diferentes métodos de escarificación

En ambos casos (semillas de huizache y de mezquite) la germinación mediante el método de escarificación química no obtuvo buenos resultados, ya que esta fue muy poca o nula, lo cual se debe a que la concentración de ácido sulfúrico no fue suficiente para que este lograra disolver o dañar la testa de la semilla facilitando así la germinación de las mismas como lo menciona (Maldonado, 2009). En el método de escarificación física donde se removió por completo la testa de las semillas se esperaba obtener un 100% de germinación en ambos casos ya que de acuerdo a (Coa et al., 2014) la ausencia de la testa de la semilla aumenta la germinación esta, sin embargo también aumenta la vulnerabilidad de la misma a las condiciones ambientales y posibles plagas, recordemos que la función de la testa es proteger al embrión.

En ambos casos (semillas de huizache y de mezquite) la germinación mediante el método de escarificación química no obtuvo buenos resultados, ya que esta fue muy poca o nula, lo cual se debe a que la concentración de ácido sulfúrico no fue suficiente para que este lograra disolver o dañar la testa de la semilla facilitando así la germinación de las mismas como lo menciona (Maldonado, 2009). En el método de escarificación física donde se removió por completo la testa de las semillas se esperaba obtener un 100% de germinación en ambos casos ya que de acuerdo a (Coa et al., 2014) la ausencia de la testa de la semilla aumenta la germinación esta, sin embargo también aumenta la vulnerabilidad de la misma a las condiciones ambientales y posibles plagas, recordemos que la función de la testa es proteger al embrión.

CONCLUSIONES

El método de escarificación más eficiente para la germinación de semillas de huizache y mezquite es la escarificación física en este caso la remoción por completo de la testa alcanzando un 100% y 90% respectivamente. Para la escarificación química con ácidos el ácido debe tener una concentración alta para brindar resultados óptimos. Sin embargo las semillas de ambos árboles no requieren someterse a ningún método de escarificación ya que el mayor porcentaje de germinación se obtuvo en las semillas control.

BIBLIOGRAFIA

- COA, M.; MENDEZ, J.; SILVA, R.; MUNDARAIN, S. (2014) "Evaluación de métodos químicos y mecánicos para promover la germinación de semillas y producción de fosforitos en café (*Coffea arabica*) var. Catuaí Rojo" en IDESIA, Núm. 1, Vol. 32, Enero-Febrero, [pp. 43-53].
- COMISIÓN NACIONAL PARA EL CONOCIMIENTO Y USO DE LA BIODIVERSIDAD (CONABIO), (2012) "La biodiversidad en Guanajuato: Estudio de Estado" en Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO)/Instituto de Ecología del Estado de Guanajuato (IEE). Consultado en <http://www.conabio.org> (fecha de consulta 10-08-2017).
- CONABIO, "Acacia farnesiana" en CONABIO. Consultado en http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/38-legum4m.pdf (fecha de consulta 10-08-2017).
- INSTITUTO NACIONAL DE ECOLOGÍA Y CAMBIO CLIMÁTICO (INEEC), (2007) "Cultivo". Consultado en <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones2/libros/72/cultivo.html> (fecha de consulta 10-08-2017).
- INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES FORESTALES, AGRICOLAS Y PECUARIAS (INIFAP), (2009) "Catalogo de plantas con potencial ornamental de la selva baja caducifolia del estado de Morelos" en INIFAP. Consultado en <http://biblioteca.inifap.gob.mx:8080/jspui/bitstream/handle/123456789/2868/CATALOGOPLANTACIONES.pdf?sequence=1> (fecha de consulta 10-08-2017).
- LÓPEZ, L.; MARTÍNEZ, M. (2009) "Estudio florístico y de la vegetación del cerro de Arandas en Irapuato, Guanajuato" en Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ). Consultado en http://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2009/11VCRC_46/E6_Lopez_Jimenez.pdf (fecha de consulta 10-08-2017).
- MALDONADO, F. (2015) "Evaluación de la germinación de *Vachellia macracantha* usando métodos de escarificación" en Universidad San Francisco de Quito (USFQ). Consultado en <http://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/5030> (fecha de consulta 10-08-2017).
- MONROY, A.; ESTEVEZ, J.; GARCÍA, R.; RÍOS, R. (2007) "Establecimiento de plantas mediante el uso de micorrizas y de islas de recursos en un matorral xerófilo deteriorado" en Boletín de la Sociedad Botánica de México, Núm. 80, Vol. Sup, Junio, [pp. 49-57].
- MONROY, L.; MONREAL, D.; VALDEZ, R.; OVIEDO, T. (2014) "El mezquite (*Prosopis laevigata*) alternativa económica para el valle del mezquital" en Universidad Nacional Autónoma de México. Consultado en http://vinculacion.dgire.unam.mx/Congreso-Trabajos_pagina/PDF/Congreso%20Estudiantil%202014/Proyectos%202014-%20C3%81rea/3%20Ciencias%20Sociales/geografia/5.2%20CIN2014A30021-%20Geograf%C3%ADa%20Humana.pdf (fecha de consulta 10-08-2017).

EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE CONTROL BIOLÓGICO DE PATÓGENOS DE SUELO EN PLÁNTULAS DE TOMATE BAJO CONDICIONES CONTROLADAS.

Miguel Ángel Araujo Álvarez y Francisco Alejo Iturvide

RESUMEN.

En orden jerárquico las bacterias y los hongos encabezan la lista de patógenos en cuanto a daño económico en cultivos. Por lo cual se realizó un muestreo en cultivos del municipio de Salvatierra, Guanajuato, con el objetivo de aislar patógenos y evaluar el control biológico de los mismos tanto in vitro como en condiciones controladas de invernadero. Se realizaron 2 pruebas in vitro, una de ellas realizando resiembras de los hongos en puntos opuestos de una caja de Petri y realizando la confrontación y otra con un extracto del microorganismo, en el cual se realizó colocando discos de agar con el microorganismo en medio líquido el cual se colocó sobre papel filtro para realizar la confrontación del extracto contra el patógeno. Como resultado de primer ensayo de inhibición de los patógenos in vitro de 3 tratamientos probados con 2 repeticiones cada uno, todos mostraron actividad biocontroladora, en el caso de los extractos de dichos hongos 4 de 6 hongos presentaron actividad biocontroladora. Mientras tanto en el experimento realizado en plantas bajo condiciones controladas un total de 100% de los 6 tratamientos aplicados [T1: H1/Combinación de Alternaria y Fusarium, T2: H2 Combinación de Alternaria y Fusarium, T3: H3 Combinación de Alternaria y Fusarium, T4: H1, H2, H3, Combinación de Alternaria y Fusarium, T5: Combinación de Alternaria y Fusarium, T6: Testigo (Sin microorganismos)] mostraron en su mayoría actividad biocontroladora, aunque por escasos de tiempo se debería continuar con el trabajo para obtener mejores resultados.

Palabras clave: biocontrol, Alternaria, Fusarium, in vitro.

ABSTRACT

In a hierarchical order, bacteria and fungi top the list of pathogens in economic damage to crops. For this reason we decided to do a sampling in crops of the municipality of Salvatierra, Guanajuato, with the objective of isolating pathogens and evaluating the biological control of these pathogens in vitro and in controlled conditions of greenhouse. Two tests were carried out in vitro, one of which performed the replication of the fungi at opposite points of a Petri dish and carried out the confrontation and another with an extract of the microorganism, in which it was carried out by placing agar discs with the microorganism in liquid medium Which was placed on filter paper to carry out the confrontation of the extract against the pathogen. As a result of the first in vitro pathogen inhibition trial of 3 treatments tested with 2 replicates each, all showed biocontrol activity, in the case of extracts of said fungi 4 of 6 fungi had biocontrol activity. Meanwhile in the experiment performed in plants under controlled conditions a total of 100% of the 6 treatments applied (T1: H1 / Combination of Alternaria and Fusarium, T2: H2 Combination of Alternaria and Fusarium, T3: H3 Combination of Alternaria and Fusarium, T4: H1, H2, H3, Combination of Alternaria and Fusarium, T5: Combination of Alternaria and Fusarium, T6: Witness (No microorganisms)) they almost showed biocontrol activity, although due to time constraints, work should continue to obtain better results.

Key words: Biocontrol, Alternaria, Fusarium, in vitro.

INTRODUCCIÓN.

Las enfermedades en los cultivos son provocadas por agentes bióticos que alteran las funciones fisiológicas de las plantas, afectando su normal funcionamiento, reduciendo generalmente los rendimientos y en casos extremos provocándoles la muerte. Los agentes bióticos causales de enfermedades son conocidos como patógenos (Lastres y Soza, 2009). Si señalan los más importantes, en orden decreciente en cuanto a daño económico que puedan causar estos serían: hongos, bacterias y virus. Adicionalmente existen otros patógenos de importancia secundaria como son los fitoplasmas y los viroides (Lehmann-Danzinger, 2004).

Las enfermedades provocadas por patógenos constituyen uno de los elementos limitantes dentro de la producción de cualquier cultivo. De aquí que su control, sea un factor a tener presente desde la siembra o trasplante hasta la cosecha (Manners, 1993).

Para combatir esto en una alternativa sostenible una opción son los microorganismos benéficos para las plantas, los cuales pueden inhibir o retener el proceso patógeno de los microorganismos. Entre los microorganismos benéficos están aquellos que fijan nitrógeno atmosférico, descomponen desechos y residuos orgánicos, desintoxican el suelo de pesticidas, incrementan el reciclaje de nutrientes y aquellos en los cuales este trabajo se enfoca, los que suprimen enfermedades de plantas y patógenos de suelo así como también pueden producir componentes bioactivos como vitaminas, hormonas y enzimas que estimulan su crecimiento (Higa, 1998).

En el presente trabajo se evaluará la actividad fisiológica de plantas de tomate en acción de microorganismos con actividad benéfica a confrontación con microorganismos patógenos que afecten a estas.

METODOLOGÍA.

Se realizó un muestreo en campos de cultivo del municipio de Salvatierra, Guanajuato, en la cual se visitaron campos de cultivos en los cuales se extrajeron plantas completas con síntomas de patogenicidad el material seleccionado es representativo de los síntomas detectados.

A partir de los signos se aislaron los microorganismos presentes en la planta en medio PDA. De los aislados se identificaron los géneros de los microorganismos por morfología microscópica utilizando manuales de identificación. Se identificaron 5 géneros distintos, de los cuales se seleccionaron 2; *Fusarium* y *Alternaria*, ya que según la literatura, estos son potencialmente son patógenos al tomate. La selección se hizo para posteriormente llevar a cabo una confrontación in vitro, con los microorganismos con potencial acción benéfica obtenidos de cepas previamente aisladas nombradas como H1, H2 y H3.

Las confrontaciones in vitro se llevaron a cabo de 2 maneras, la primera fue sembrar discos de agar de una caja de Petri a otra, de un lado se colocaba el patógeno y de otro lado el hongo benéfico y se realizaba la confrontación, mientras que la otra se llevó a cabo haciendo una preparación del extracto del hongo benéfico, este se hizo para conocer si en dicho extracto iba implícito el metabolito que realizaba la acción de biocontrol, este se llevó a cabo preparando medio líquido, en el cual se colocaron 10 discos de agar y se agitó vigorosamente, el medio líquido, ya con el extracto de los hongos, se colocó en un extremo de la placa sobre papel filtro, mientras que del otro extremo se colocó el patógeno sembrado directamente de una placa a otra.

A partir de estas confrontaciones se seleccionaron las cepas que tenían potencial de acción benéfica para evaluar su comportamiento en la plántula de tomate bajo condiciones controladas y observar la reacción fisiológica que tiene esta. En este experimento los 3 hongos nombrados H1, H2 y H3 inhibían el crecimiento de los hongos aislados del género *Alternaria* y *Fusarium*.

Alternó a ello se sembraron, para realizar el inóculo de los microorganismos, alrededor de 100 plántulas de tomate en condiciones de invernadero para llevar a cabo el experimento. Se regaron y dejaron crecer por una semana y media a partir del brote para que tuvieran un tamaño considerable al realizar el experimento. A partir de las muestras ya aisladas tanto de los microorganismos benéficos como de los microorganismos patógenos se realizaron extracciones para preparar los inóculos, se realizaron tal como la segunda prueba; colocando discos de agar con los microorganismos en medio papa dextrosa líquida.

Se realizó un conteo de conidios de cada una de los hongos a utilizar para saber el número de estos por cada ml. de agua, a las que presentaban más de 1000 conidios/ml, que era la cantidad de conidios por ml. deseada se les realizaba una dilución hasta tener el número de conidios deseados.

Se le inocularon a las plantas, realizando 6 tratamientos con 3 repeticiones por cada uno de ellos. Los tratamientos constaron en:

1. Tratamiento 1: H1 y Combinación de *Alternaria* y *Fusarium*
2. Tratamiento 2: H2 y Combinación de *Alternaria* y *Fusarium*
3. Tratamiento 3: H3 y Combinación de *Alternaria* y *Fusarium*
4. Tratamiento 4: H1, H2, H3 y Combinación de *Alternaria* y *Fusarium*
5. Tratamiento 5: Combinación de *Alternaria* y *Fusarium*
6. Tratamiento 6: Testigo (No se le aplica ningún tipo de microorganismo).

Se colocaron en un tipo acomodo llamado completamente aleatorio, el cual consta en ponerlos de una manera totalmente al azar para que el estar el contacto o no con plantas de similares condiciones no afectara su desarrollo o influyera en su crecimiento, todo se llevó a cabo en condiciones de invernadero para finalmente observar la respuesta fisiológica de las plantas con la presencia de los microorganismos.

RESULTADOS.

Se obtuvieron 6 muestras de 4 especies distintas de plantas de los cultivos del municipio de Salvatierra, Gto, en los que se realizó el muestreo; se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1: Muestras obtenidas y síntomas observados.

Número de muestra.	Especie.	Síntomas observados	Coordenadas.
1	<i>Triticum sp.</i> (Trigo)	Manchones amarillentos. Esporas de hongos presentes en la lámina de la hoja.	N: 20°13'1'' O: 100°59'35''
2	<i>Triticum sp.</i> (Trigo)	Planta completamente amarillenta.	N: 20°13'2'' O: 100°59'20''
3	<i>Hordeum vulgare</i> (Cebada).	Amarillamiento de la planta desde la base.	N: 20°15'28'' O: 101°1'28''
4	<i>Phaseolus vulgaris</i> (Frijol)	Amarillamiento en hojas bajas.	N: 20°15'45'' O: 101°0'59''
5	<i>Physalis ixocarpa</i> (Tomate)	Amarillamiento. Poco desarrollo de la planta.	N: 20°14'31'' O: 100°56'53''
6	<i>Allium cepa</i> (Cebolla).	Hojas con manchones naranjas.	N: 20°14'0'' O: 100°56'19''

De cada una de las muestras se tomó una parte de ella para aislarse en medio PDA para observar si presentaban crecimiento de algún hongo patógeno (Véase Figura 1). Todas presentaron crecimiento, pero, sólo fueron seleccionados 2; el género *Fusarium* y el género *Alternaria* que son posibles patógenos para las plántulas de tomate.

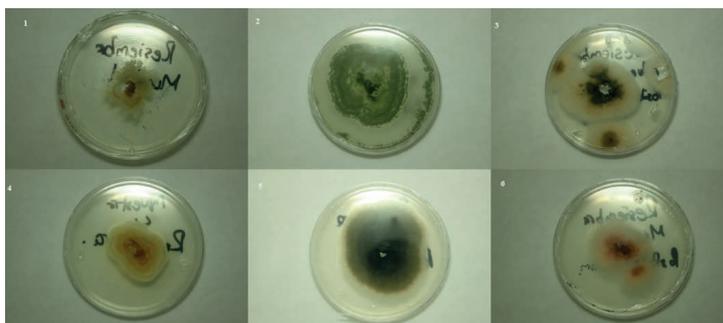


Figura 1: Hongos obtenidos de la siembra de cada una de las especies muestreadas.

En las confrontaciones in vitro con hongos de acción potencialmente benéfica nombrados como H1, H2, H3 se obtuvo 100% de efectividad en confrontación de resiembra de discos de agar y en la confrontación del extracto de hongos benéficos con resiembra de discos de agar se presentó un 66.6% de efectividad, donde 2 de las 6 pruebas no tuvieron actividad de biocontrol, en las siguientes tablas se observan dichos resultados (Ver Tabla 2 y 3):

Tabla 2: Resultados de confrontación directa.

Confrontación directa. (Resiembra v resiembra)	Resultado.
H1- <i>Fusarium sp.</i>	Actividad de biocontrol
H1- <i>Alternaria sp.</i>	Actividad de biocontrol
H2- <i>Fusarium sp.</i>	Actividad de biocontrol
H2- <i>Alternaria sp.</i>	Actividad de biocontrol
H3- <i>Fusarium sp.</i>	Actividad de biocontrol
H3- <i>Fusarium sp.</i>	Actividad de biocontrol

Tabla 3: Resultados de confrontación con extracto.

Confrontación con extracto de hongo benéfico (Extracto v resiembra)	Resultado.
H1- <i>Fusarium sp.</i>	Actividad de biocontrol.
H1- <i>Alternaria sp.</i>	Actividad de biocontrol.
H2- <i>Fusarium sp.</i>	Actividad de biocontrol.
H2- <i>Alternaria sp.</i>	No presenta actividad de biocontrol.
H3- <i>Fusarium sp.</i>	Actividad de biocontrol.
H3- <i>Fusarium sp.</i>	No presenta actividad de biocontrol.

En el caso del experimento en plántulas de tomate bajo condiciones de invernadero se realizaron 6 tratamientos que se aplicaron distintas plantas. Los resultados obtenidos para cada uno de los tratamientos se pueden observar en la Tabla 4:

Tabla 4: Tratamientos aplicado en plántulas de tomate bajo condiciones de invernadero y los resultados obtenidos.

Tratamiento.	Resultado
H1 y combinación de <i>Alternaria</i> y <i>Fusarium</i> .	Presentó actividad de biocontrol en un 88.8%, en el cual 1 plántula de las 6 utilizadas para el tratamiento presentaba marchitamiento y un menor crecimiento en comparación a las plántulas inoculadas con el mismo tratamiento.
H2 y combinación de <i>Alternaria</i> y <i>Fusarium</i> .	Presentó actividad de biocontrol en un 88.8%, en el cual 1 plántula de las 6 utilizadas para el tratamiento presentaba marchitamiento y un menor crecimiento en comparación a las plántulas inoculadas con el mismo tratamiento.
H3 y combinación de <i>Alternaria</i> y <i>Fusarium</i> .	Presentó una actividad de biocontrol en un 100%, en el cual todas las plántulas crecieron con un tamaño promedio.
H1, H2, H3 y combinación de <i>Alternaria</i> y <i>Fusarium</i> .	Presentó una actividad de biocontrol en un 100%, en el cual todas las plántulas crecieron con un tamaño promedio.
Combinación de <i>Alternaria</i> y <i>Fusarium</i> .	El 77.7% presentó un crecimiento promedio, en el cual 2 plántulas de las 6 utilizadas para el tratamiento presentaban señales de marchitamiento y un menor crecimiento en comparación a las plántulas inoculadas con el mismo tratamiento.
Tratamiento testigo (No se le aplicó ningún microorganismo).	No presentó cambio, teniendo un 100% de crecimiento promedio.

DISCUSIÓN.

El control biológico ha demostrado ser efectivo en el control de enfermedades postcosecha; han sido aplicados con éxito frente a distintos tipos de organismos, como se demostró en el presente trabajo al ser biocontroladores de hongos fitopatógenos.

Se confirma que es un microorganismo benéfico o antagonista al patógeno ya que para poder ser considerado un microorganismo como antagonistas deben interrumpir o alterar alguna etapa de la enfermedad o ciclo de vida del patógeno y esto se realiza mediante diferentes mecanismos. Tal como se observó en el presente trabajo, los microorganismos antagonistas tienen la capacidad de ejercer un efecto de control biológico sobre diferentes patógenos de interés, en diversos trabajos se han empleado para controlar diversas enfermedades en frutos y vegetales (De Costa y Erabadupitiya, 2005) en este particular caso se pudo demostrar su uso en plántulas de tomate.

Investigaciones relacionadas con este tema han reportado resultados similares. Galletti et al. (2008) midieron la incidencia de la mortalidad de plántulas de remolacha azucarera provocada por *P. ultimum* y observaron que el mayor control de la enfermedad se logró cuando la biofumigación se aplicó en combinación con un hongo benéfico; *Trichoderma* spp. Valdivia en 1990 realizó un estudio sobre el control biológico del tizón, causado por *Alternaria solani*, mismo género de un microorganismo patógeno aislado en el presente proyecto, en su trabajo se llevaron a cabo igualmente 2 fases, la fase in vitro en la cual se aislaron algunas bacterias y se confrontaron contra *Alternaria solani*, y una fase de invernadero donde igualmente se confrontaron, pero esta ocasión in vivo, como resultado la planta de tomate donde se inocularon las bacterias antagonistas se observó una clara disminución de incidencia de la enfermedad, al igual que en el presente trabajo.

CONCLUSIÓN.

El uso de microorganismos para el control de patógenos que causan enfermedades en cultivos es una opción viable si se demuestra su efectividad. En el actual trabajo se demostró su efectividad en un porcentaje muy alto, tanto en los experimentos in vitro, tanto en los experimentos llevados a cabo en las plántulas de tomate en condiciones controladas. A pesar de ello se requiere más tiempo para poder continuar con el actual proyecto ya que las plantas fueron evaluadas por un periodo corto, de alrededor de 2 semanas, además de que los distintos tratamientos que fueron preparados únicamente se demostró su efectividad en condiciones controladas de invernadero, faltaría, probablemente, demostrar su efectividad en condiciones de campo o in situ.

BIBLIOGRAFÍA.

- De Costa, D.M., and Erabadupitiya, H.R.U.T. (2005). "An integrated method to control postharvest diseases of banana using a member of the *Burkholderia cepacia* complex". *Postharvest Biology and Technology*.
- Galletti, S.; Sala, E.; Leoni, O.; Burzi, P. L.; Cerato, C. (2008). "Trichoderma spp. tolerance to Brassica carinata seed meal for a combined use in biofumigation". *Biological Control*. 319-327 pp.
- Higa, T. (1998). "Microorganismos benéficos y efectivos para una agricultura y medio ambiente sostenible". Okinawa Japón. Universidad de Ryukyus.
- Lastres, L. y Soza F. (2009). "Manual de conservación de suelos: Sanidad vegetal". Escuela Agrícola Panamericana. 30-42pp.
- Lehmann-Danzinger, H. (2004). "Diseases and pests of tea: overview and possibilities of integrated pests and disease management". *J. Agric. Trop*
- Manners, G y Pfister, James. (1993). "Phytochemical analyses". Volume 4. 1-48 pp.
- Valdivia-Rodríguez, G. (1990). "Control biológico de tizón temprano (*Alternaria solani*) en tomate con bacterias epífitas". Universidad Nacional Agraria. Escuela de producción vegetal. 1-6 pp.

BIOLOGÍA, PRODUCCIÓN, BIOTECNOLOGÍA Y BIORREMEDIACIÓN DE MICROALGAS NATIVAS DE MÉXICO.

Turella Lucía Mendoza Manríquez¹, Alberto Ayala Islas²

RESUMEN

La bioprospección es la recolección de material biológico y la explotación de su contenido molecular, bioquímico y / o genético para el desarrollo de un producto comercial. Se basa en la dotación de una fuente biológica. Este es un proceso que requiere mucho tiempo, donde se deben identificar nuevos productos y mercados y se debe descubrir un compuesto que cubra las demandas comerciales y las necesidades sociales. Las algas son omnipresentes y han estado evolucionando como productores de biomasa primaria en la Tierra durante miles de millones de años. Explorar esta forma de vida existente, autónoma y diversa ofrece una base rica para las innovaciones biotecnológicas mundiales. Las especies nativas están bien adaptadas a los factores abióticos y bióticos regionales, y otras cepas locales proporcionan una plataforma ideal para la mejora y la optimización del proceso. La identificación de las algas unicelulares y filamentosas requiere observación microscópica y, su localización, depende de la disponibilidad de nutrientes, de las longitudes de onda de la luz y de la superficie sobre las cuales crecen. El presente trabajo tiene como prioridad el realizar curvas de crecimiento de microalgas con potencial biotecnológico utilizando Medio basal de Bold (BBM) , a partir de muestras tomadas de Los Azufres, Michoacán y Yuriria, Guanajuato, estimando su crecimiento exponencial desde un tiempo cero, utilizando fotobiorreactores para su desarrollo, evaluando los factores que influyen en el crecimiento de éstas, por medio del pH y nutrientes para su mejor desarrollo, así como una medición de la biomasa planctónica o béntica por medio de pruebas como peso seco.

ABSTRACT

Bioprospecting is the collection of biological material and the exploitation of its molecular, biochemical and / or genetic content for the development of a commercial product. It is based on the endowment of a biological source. Bioprospecting is a time-consuming process where new products and markets must be identified and a compound must be discovered that meets commercial demands and social needs. Algae are ubiquitous and have been evolving as primary biomass producers on Earth for billions of years. Exploring this existing, autonomous and diverse way of life offers a rich basis for global biotechnological innovations. Indigenous species are well adapted to regional abiotic and biotic factors, and other local strains provide an ideal platform for process improvement and optimization. The identification of unicellular and filamentous algae requires microscopic observation and their location depends on the availability of nutrients, the wavelengths of light and the surface on which they grow. The present work has as a priority the development of microalgae isolation techniques for the production of biomass, from samples taken from Los Azufres, Michoacán and Yuriria, Guanajuato, Los Azufres is a volcanic hydrothermal system of biphasic type, with acidic pH's and especially a high concentration of sulfur, estimating its exponential growth from a zero time, using photo reactors for its development, Evaluating the factors that influence the growth of these, by means of the pH and nutrients for their better development, as well as a measurement of the biomass to by means of tests like dry weight

INTRODUCCIÓN

Las algas están ampliamente presentes en los ambientes de agua dulce, tales como lagos y ríos, donde están típicamente presentes como microorganismos visibles sólo con la ayuda de un microscopio óptico, tienen una gran importancia en el medio ambiente de agua dulce, tanto en términos de ecología fundamental como en relación con el uso humano de los recursos naturales. La palabra “algas” proviene de la palabra latina para algas marinas y ahora se aplica un amplio conjunto de organismos que pueden definirse tanto en términos de morfología y fisiología general. Son simples organismos, sin diferenciación en raíces, tallos y hojas y sus órganos sexuales no están cerrados dentro de los revestimientos protectores, en términos de fisiología son fundamentalmente autotróficos (Tuchman, 1996). El término “alga” en singular, no es exactamente un taxonómico, pero se utiliza como una etiqueta inclusiva para una serie de diferentes filos que se ajusta a la amplia descripción anterior (Bellinger G., Sigeo C., 2015). La identificación de las algas unicelulares y filamentosas requiere observación microscópica y su localización en la columna de agua, depende de la disponibilidad de nutrientes, de las longitudes de onda de la luz y de la superficie sobre las cuales crecen. Las algas son las principales responsables de la producción de la biomasa en la tierra desde hace millones de años. (Taylor and Francis Group, 2013). Las algas son un grupo diverso de organismos que pueden realizar la fotosíntesis de manera eficiente. Sobre la base de la morfología y el tamaño, las algas pueden ser subdividido y clasificado en dos categorías principales: macroalgas y microalgas. Las microalgas son un grupo extremadamente diverso de productores primarios presentes en casi todos los ecosistemas en tierra, que van desde marinas, agua fresca, las arenas del desierto y las aguas termales, la nieve y el hielo (Guschina y Harwood, 2006). Son organismos coloniales o unicelulares que han atraído cada vez más atención e interés para fines industriales. Los cuatro grupos de algas más importantes en términos de abundancia son las algas verdes (Chlorophyceae), las diatomeas (Bacillariophyceae), las algas verde-azul (Cyanophyceae) y las algas doradas (Chrysophyceae) (Khan et al 2009). Existen otros 6 grupos, Euglenoides (Euglenophyta), Algas de

color amarillo verdoso (Xanthophyta) Dinoflagelados (Dinophyta), Criptomonas (Cryptophyta), Algas rojas (Rhodophyta) y Algas marrones (Phaeophyta) (Bellinger G., Sigee C., 2015).

Una alternativa biológica para el tratamiento de la vinaza es la fitorremediación, que consiste en la descontaminación de suelos y la purificación de las aguas a través del uso de plantas vasculares, macro y microalgas, permitiendo la remoción y transformación de la contaminación, incluyendo nutrientes y compuestos extraños para el ser humano, presentes en las aguas residuales, además del CO₂ presente en el aire (Olguín et al., 2003). Este tipo de alternativas pueden aplicarse en procesos de remoción de nitrógeno y fósforo en aguas residuales y efluentes con elevadas concentraciones en materia orgánica, así como con trazas de metales y ácidos, además de la captura de CO₂, la transformación y degradación de xenobióticos y la identificación de compuestos tóxicos utilizando sensores a base de algas (Costa et al., 2000; Olguín et al., 2001). Uno de los beneficios de emplear las microalgas se encuentra que pueden crecer fotosintéticamente por lo que la adición de una fuente de carbono al medio no es requerida para su crecimiento, convirtiéndose además en grandes captadores de CO₂ (Abhay et al., 2010).

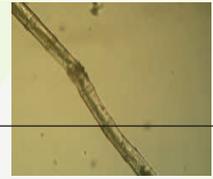
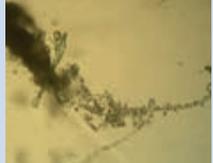
El presente trabajo tiene como prioridad el realizar curvas de crecimiento de microalgas con potencial biotecnológico utilizando Medio basal de Bold (BBM) , a partir de muestras tomadas de Los Azufres, Michoacán y Yuriria, Guanajuato, estimando su crecimiento exponencial desde un tiempo cero, utilizando fotobioreactores para su desarrollo, evaluando los factores que influyen en el crecimiento de éstas, por medio del pH y nutrientes para su mejor desarrollo, así como una medición de la biomasa planctónica o béntica por medio de pruebas como peso seco.

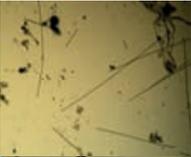
MÉTODOS Y MATERIALES

Como primera instancia se realizó un revisión detallada sobre las algas y su alcance biotecnológico y de biorremediación, así como las características que hacen posible que estos microorganismos resulten ser óptimos para este tipo de desarrollo tecnológico. Se recolectaron muestras de microalgas de varias zonas de Los Azufres y de la laguna de Yuriria, al tomarse las muestras se midieron parámetros para un mejor control de las condiciones en las que se encontraban y así poder replicarlas de ser necesario, en la tabla 1 se muestran los parámetros medidos por zona .

Posteriormente las muestras recolectadas fueron observadas al microscopio óptico y con cámara digital para poder identificar la presencia de diferentes algas en cada muestra, esta identificación se realizó mediante guías dicotómicas y con la observación realizada con los microscopios anteriormente mencionados. El paso siguiente fue preparar y montar los fotobioreactores, para este proceso se montaron 4 fotobioreactores con capacidad de litro previamente sanitizados y en condiciones asépticas, primero se realizó un conteo celular para así poder tomar un volumen de muestra que contenía 100000 células por mililitro promedio, y completar a un volumen de 700 ml con BBM, el cual contiene sales que ayudan al mejor crecimiento de las microalgas, en el caso de la muestra ZK se le adicionó silicato de sodio como una sal extra por la presencia de diatomeas; los fotobioreactores contenían un filtro y una bomba de aire. Al día siguiente se empezó a realizar conteo celular por medio de una cámara de Neubauer y una dilución 1:10 y algunas veces 1:40, con estos datos obtenidos por día se realizó una curva de crecimiento, a la par se observó el cambio de pH por medio de tiras pH. Para poder determinar la biomasa planctónica o béntica obtenida por semana, se realizaron pruebas de peso seco mediante un filtro con poros de 1 micra y 4.5 cm de diámetro, una termobalanza y un embudo de plástico para membranas de filtración en un volumen de 20 ml.

Tabla 1. Parámetros de cada zona

ZONA	POSICIÓN	HORA	pH	TEMPERATURA	O.Dppm	ALGAS	IMAGEN
YA	20°13'40" N/101°08'9.8" O 1726 m sobre el nivel del mar	7:46 a.m.	7.03	22.7°C	0.87	microcystis, scenedesmus acuminatus	
ZC	19°49.343' N/100°40.095' O 2830 m sobre el nivel del mar	10:58 a.m.	4.15	37.5°C	3.15	Glueocapsa, Mougeotia, Oedogonium.	
ZE	19°49.319' N/100°40.105' O 2836 m sobre el nivel del mar	11:04 a.m.	6.40	46.2°C	*	Phormidium autumnak, Elakatothrix	

ZI	19°49.304' N/100°40.17' O 2806 m sobre el nivel del mar	12:22 p.m.	6.63	37.6°C	1.45	Oscillatorias rubescens, Euglenas	
ZK	19°49.322' N/100°40.095' O 2799 m sobre el nivel del mar	11:18 a.m.	6.55	44.3°C	26.5	Diatomeas	

RESULTADOS

Se tomaron muestras de microalgas de zonas como Yuriria y Los Azufres; para empezar a trabajar se identificaron estos consorcios de microalgas mediante las reglas dicotómicas provenientes del libro Bellinger G., Sigee C., 2015. Con base en las muestras tomadas en las diferentes zonas de Los azufres como en Yuriria así como la identificación morfológica de las especies de algas encontradas en cada una de ellas, se montaron 4 fotobiorreactores conteniendo en ellos medio BBM e inoculó de las zonas correspondientes (YA, ZC, ZI y ZK), cabe destacar que este inóculo agregado son consorcios de microalgas procedentes de las zonas de toma de muestra. El contenido de estos fotobiorreactores se estableció con base a la capacidad de éstos, de este modo haciendo cálculos se determinó la proporción del inóculo y del medio agregado. De esta forma se hizo crecer en ellos estos consorcios, mediante un conteo celular se pudo determinar la cinética de cada uno de estos fotobiorreactores, las cuales se pueden observar en la figura 1

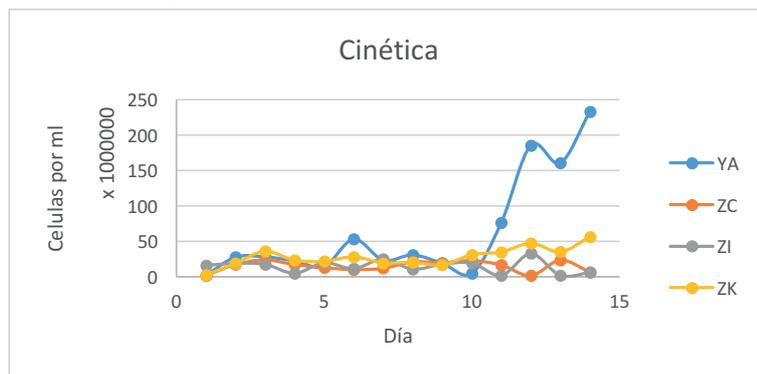


Figura 1. Gráfica de las cinéticas obtenidas de cada fotobiorreactor

Mientras se analizaba el comportamiento de los consorcios contenidos en estos fotobiorreactores, se observó una disminución en los primeros días por factores como un cambio en el pH o por falta de nutrientes como es el caso de la muestra ZK en la cual se encontró la presencia de diatomeas por lo cual se al medio ya preparado se le agregó silicato de sodio para el mejor desarrollo de estas, con esto aumentó la concentración de células por mililitro, por otra parte, se evaluó el cambio de pH que habían sufrido los consorcios por medio de tiras pH en días al azar. Estos resultados se muestran en la figura 2.

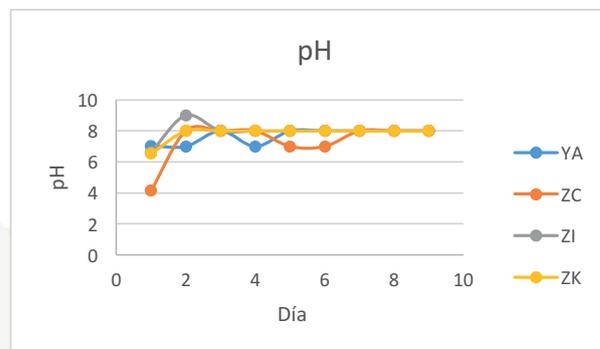


Figura 2. Relación del pH en diferentes días

Para poder determinar la biomasa que se empezaba a obtener se realizó la prueba de peso seco obteniendo así las cantidades reportadas en la tabla 2.

Tabla 2. Determinación de biomasa

muestra	Día 5 g/L	Día 10 g/L	Día 17 g/L
YA	0,1	0,15	0,9
ZC	0,15	0,2	0,25
ZI	0,05	0,15	1,85
ZK	0,15		0,2

CONCLUSIONES

Con la realización de este trabajo de investigación podemos concluir la gran aportación tecnológica de la biomasa a partir de microalgas nativas, aun cuando diferentes especies de algas pueden encontrarse en una misma toma de muestra y a las mismas condiciones iniciales, al traspasarlas al fotobioreactor, con condiciones para que se desarrollen de manera favorable, pueden no ser las mismas para algún tipo de alga que se encuentre en el mismo consorcio y resulte en un decrecimiento en el conteo celular por algunos días en lo que las algas que resultan beneficiadas con estas nuevas condiciones crecen a la par; al adicionar una sal extra para que se desarrolle mejor, varias especies resultan beneficiadas y no solo la esperada. Los resultados son relativamente inmediatos al ver el nivel microscópico y macroscópico, Para la determinación de la biomasa obtenida en cada toma, se pudo observar que en ZI aumenta porque estas algas crecen benticamente, por lo cual la agitación vigorosa para la extracción de muestra es de suma importancia para poder tener un resultado confiable.

BIBLIOGRAFÍA

- Taylor & Francis group, (2015), *Biotechnological Applications of Microalgae: Biodiesel and Value-Added Products*, Faizal Bux, CRC Press.
- Bellinger, Edward G., (2015), *Freshwater algae: identification, enumeration and use as bioindicators*. Wiley Blackwell. New Delhi, India.
- Tuchman, N., (1996) the role of heterotrophy in algae. In Stevenson, R.J. ed. *Algal Ecology*. New York, academic Press. Pp.299-318.
- Guschina, I A., and Harwood, J.L. (2006) Lipids and lipid metabolism in eukaryotic alga *Progress in Lipid Research*, 4 160-186
- Khan, S.A., Raslimi, M.Z., Hussain, Prasad, S., and Banerje, U.C. (2009). Prospects of bio- diesel production from microalgae in India. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 13(9): 2361-2372.
- Olguin, E.J. (2003). Phycoremediation: Key issues for cost-effective nutrient removal processes. *Biotechnology Advances*, 22(1-2), 81–91.
- Olguin, E.J., Galicia, S., Angulo-Guerrero, O., Hernández, E. (2001). The effect of low light flux and nitrogen deficiency on the chemical composition of *Spirulina* sp (*Arthrospira*) grown on digested pig waste. *Bioresource Technology*, 77(1), 19–24.
- Costa, R. Medri, W., & Perdomo, C.C. (2000) High-rate pond for treatment of piggery wastes. *Water Sci. Technol.* 42(10): 357–362.

FORMACIÓN, EVALUACIÓN Y SELECCIÓN DE HÍBRIDOS EXPERIMENTALES CON GERMOPLASMA GENERADO EN EL PROGRAMA DE MEJORAMIENTO GENÉTICO DE MAÍZ DE LA UAAAN-UL

Hernández Vázquez Alex Edray y Espinoza Banda Armando

RESUMEN

En la Comarca Lagunera, el maíz se siembra bajo ciclos bien definidos (primavera y verano), pero contrastantes en cuanto a las condiciones climáticas. Una característica climática determinante en el comportamiento agronómico y rendimiento del maíz en estos ciclos, es la temperatura. El ciclo primavera, presenta temperaturas más frescas en contraste con el ciclo de verano con temperaturas más elevadas. Por esta razón resulta conveniente contar a nivel regional con híbridos que obtengan buenos rendimientos en ambos ciclos. En esta investigación se desarrolló con el objetivo de evaluar en el ciclo primavera, formar dos series de híbridos con base a 2 grupos de líneas de origen diferentes y en el ciclo verano, evaluar los híbridos en al menos una localidad. Con base a la evaluación, seleccionar los mejores en rendimiento y características agronómicas. El diseño experimental utilizado fue de bloques al azar con tres repeticiones. Los resultados obtenidos del análisis combinado indicaron diferencia altamente significativos en la hembras y machos, tanto en la cruzas y en los genotipos.

Palabras clave: Maíz, mejoramiento genético, floración, interacción genotipo-ambiente

ABSTRACT

In the Comarca Lagunera, maize is planted under well defined cycles (spring and summer), but contrasting with regard to climatic conditions. A decisive climate feature in the agronomic behavior and performance of maize in these cycles, is the temperature. The spring, temperatures in contrast with the summer cycle with higher temperatures. For this reason it is desirable to have at the regional level with hybrids to obtain good yields in both cycles. In this research was developed with the aim to evaluate in the spring, forming two series of hybrids on the basis of two groups of different source lines and in the summer cycle, evaluate the hybrids in at least one locality. Based on the assessment, selecting the best in performance and agronomic characteristics. The experimental design used was randomized blocks with three replications. The results of the combined analysis showed highly significant difference in females and males, both in the Cross and in the genotypes.

Key words: Corn, breeding, flowering, genotype-environment interaction

INTRODUCCIÓN

En México, el maíz (*Zea mays* L.) es el cultivo alimenticio más importante del pueblo (Zepeda et al., 2002; Sierra et al., 2004), además es el centro de domesticación y uno de los centros de diversidad del maíz (Ortiz et al., 2013); posee, por lo tanto, una amplia variabilidad genética expresada en una gran cantidad de poblaciones, de las cuales algunas muestran alta capacidad de rendimiento per se o en combinación con otras, por lo que son consideradas un valioso recurso fitogenético (Acosta et al., 2013).

A principios de la década de los noventa, el 52 % de los agricultores utilizaban materiales mejorados y el resto usaba variedades criollas y ocasionalmente semilla de generaciones segregantes procedentes de híbridos (Gutiérrez et al., 2002); en la actualidad se estima que 93% de ellos usa semilla mejorada. Es necesario entonces aumentar la calidad y productividad de este cultivo, mediante la caracterización de los mejores híbridos a través de técnicas que permitan determinar los efectos genéticos involucrados en los materiales de estudio y, por consiguiente, brindar a los productores más alternativas de genotipos de alto rendimiento (Silva et al., 2009).

El mejoramiento genético es un proceso continuo en la formación de nuevas variedades e híbridos comerciales; el conocimiento de los diversos tipos de acción génica y la importancia de éstos en la determinación de caracteres de interés, es básico para lograr avances rápidos en un programa destinado a la obtención de híbridos (Beltrán et al., 2003; Malacarne y San Vicente, 2003). Se han desarrollado sistemas de apareamiento o diseños genéticos para conocer la acción génica de caracteres cuantitativos, determinar la aptitud combinatoria de los progenitores, seleccionar los mejores y diseñar los métodos de mejoramiento más eficientes (Comstock y Robinson, 1948; Comstock y Robinson 1952 y Griffing, 1956). En el mejoramiento de líneas a través de diferentes métodos tales como cruzas y retrocruzadas, selección genética o mejoramiento convergente, la aptitud combinatoria es la que determina el valor de las mismas para utilizarlas como progenitores de híbridos comerciales (silva et al., 2009). Para determinar este valor es necesario el uso de

probadores y dentro de éstos las cruzas simples ofrecen la posibilidad de que las combinaciones híbridas más sobresalientes puedan utilizarse como híbridos a escala comercial. La capacidad de una línea para transmitir información a su progenie híbrida se conoce como aptitud combinatoria que puede ser general si mantiene su comportamiento medio en una serie de combinaciones híbridas o específica cuando se refiere al comportamiento de dos líneas en determinada cruce (Rincón, 1997).

Se ha definido a la interacción genotipo-ambiente como “el comportamiento relativo diferencial que exhiben los genotipos cuando se les somete a diferentes medios ambientales” (Márquez, 1992). Para evaluar el comportamiento agronómico de los cultivares, generados de los programas de mejoramiento genético de cualquier rubro agrícola, es necesario medir la estabilidad relativa de los genotipos sometidos a la totalidad de los ambientes predominantes en una región potencial de adaptación. La ocurrencia a menudo de interacción genotipo ambiente ($G \times A$) en este tipo de ensayos exige la realización de estudios adicionales con el propósito de precisar la selección de individuos con adaptabilidad general y específica. La interacción $G \times A$ es frecuentemente descrita como la inconsistencia del comportamiento entre genotipos desde un ambiente a otro, y cuando ésta ocurre en gran proporción reduce el progreso genético de la selección (Silva et al., 2009).

El estudio de algunos parámetros genéticos del germoplasma evaluado, así como la estimación de los componentes de varianza y de sus interacciones con el medio ambiente permiten describir en cierto grado el complejo genético ambiental que afecta a un carácter dado (Gaytán y Mayek, 2010). El desarrollo del genotipo es influenciado por causas genéticas y no genéticas, y que estos dos factores no actúan independientemente, esto es lo que se conoce como interacción genotipo ambiente. Uno de los factores importantes de esta interacción es que se reduce la correlación entre el fenotipo y genotipo con el resultado que las inferencias se vuelven más complicadas (Comstock y Moll, 1963). La expresión fenotípica depende de los efectos genéticos ambientales y de su interacción, por lo tanto, es importante estudiar el efecto de los factores ambientales en las respuestas de las plantas. Considerando que el crecimiento, desarrollo y producción de una planta depende de procesos fisiológicos y estos a su vez dependen de interacciones complejas entre el estado de la planta, estado de la atmósfera circundante y la propia naturaleza de los mecanismos o procesos fisiológicos y físicos de la planta, es solo que a través del mejor entendimiento de las respuestas fenológicas y fisiológicas de los cultivos al ambiente físico, y de las interacciones genotipo ambiente, se podrá contribuir a mejorar la eficiencia del proceso productivo de las plantas y de su mejoramiento genético (Livera, 1992).

La limitación hídrica afecta adversamente el crecimiento, el desarrollo y el rendimiento del maíz durante las etapas reproductivas. En general, la limitación de agua provoca en las plantas una caída en la presión de turgencia y el cierre estomatal para reducir la pérdida de agua en el tejido. Un decremento en el potencial hídrico interno, produce hojas enrolladas, lo que reduce la superficie expuesta, disminuyendo la fotosíntesis y finalmente el crecimiento. Visualmente, la limitación hídrica se manifiesta como una reducción en la altura y rendimiento en biomasa. En las etapas reproductivas subsiguientes, una limitación en la disponibilidad de agua resulta en la quemadura y arrugamiento de las hojas (Granados y Sarabia, 2013).

Las etapas de desarrollo a floración (VT-R1), son períodos particularmente vulnerables para el crecimiento y el rendimiento final de la planta de maíz (Granados y Sarabia, 2013). Con cuatro días de marchitez visible en las etapas previas a VT (antesis), el rendimiento puede reducirse hasta en un 25%, mientras que la marchitez durante cuatro días entre las etapas finales V y R2, puede producir hasta un 50% de baja en rendimiento (Silva et al., 2009). Un mecanismo importante por el que la sequía (agobio o estrés hídrico a nivel de la planta) reduce el rendimiento, es porque impide la floración sincrónica. Los rendimientos óptimos dependen de que la maduración de estigmas femeninos (silking, R1), ocurra a unos días de la emergencia de la espiga masculina (antesis); la sincronía se considera como una medida del intervalo entre ambos tipos de floración (ASI, por anthesis-silking interval).

La estimación de la aptitud combinatoria de una línea endogámica es fundamental para la formación de híbridos y variedades sintéticas. Inicialmente, la aptitud combinatoria fue un concepto general, utilizada para la clasificación de una línea en relación con su comportamiento en cruces, actualmente se estima en familias, variedades, cruces simples o cualquier material que se use como progenitor (Martínez, 1983). El análisis de la aptitud combinatoria tiene mayor uso en programas de mejoramiento que son diseñados para explotar heterosis mediante la producción de híbridos F1. Estos análisis también proveen información acerca del tipo de acción génica que está presente en la población base, lo cual ayuda en la selección del material progenitor para ser usado en la producción de cruces y poblaciones segregantes (Meredith, 1984). La Aptitud Combinatoria General (ACG) es el desempeño promedio de una línea pura en algunas combinaciones híbridas, y además proporciona información sobre las líneas con alto grado de endogamia que deben producir los mejores híbridos (Jugenheimer, 1990). Se define como Aptitud Combinatoria Específica (ACE), como el comportamiento de las combinaciones específicas de líneas en relación al comportamiento de las líneas que la forman. Es el resultado del efecto conjunto de dos líneas en particular, por lo que a diferencia de la aptitud combinatoria general, ésta es medida como la desviación de la suma de la media general más las aptitudes combinatorias de los progenitores. Esta medida no es característica de cada línea en particular, sino de una combinación especial de pares de líneas (Sprague y Tatum, 1942). En base a lo anterior, los objetivos de esta investigación fueron, en el ciclo primavera 2016, formar dos series de híbridos con base a 2 grupos de líneas de origen diferentes y en el ciclo verano del 2016, evaluar los híbridos en al menos una localidad. Con base a la evaluación, seleccionar los mejores en rendimiento y características agronómicas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó durante el ciclo verano 2017, en terrenos del Campo Experimental de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna, los híbridos experimentales programados fueron 147 incluyendo los testigos regionales. El diseño experimental utilizado fue en Bloques completos al Azar con tres repeticiones del G1 y un látice 6x6 para la cruz del G1xG2. El tamaño de la parcela y el número de repeticiones estará de acuerdo al número de semillas que se cosechen de cada híbrido.

La parcela constó de veinte siete surcos separado, se utilizó a cada lado de la melga bordos de dos surcos sembrando chojo (criollo), la densidad de plantas en promedio fue de siete plantas por metro lineal y una planta por mata, se fertilizó con la fórmula 180N-100P-00K utilizando urea como fuente de nitrógeno y ácido fosfórico como fuente de fósforo. Se aplicó en cuatro oportunidades: con cuarenta seis unidades de nitrógeno y la mitad del ácido fosfórico a la siembra, y las otras tres divididas en dos aplicaciones de urea en la segunda aplicación se aplicó todo el resto de ácido fosfórico. Se aplicó un riego después de la siembra. Cuando las plantas ya tuvieron una buena estatura se estuvo regando con agua rodada para así poder ahogar algunas plagas, después de que empezaron las floraciones se estuvo regando por sistema de riego por goteo dejándolo cinco horas para que así quedaran completamente húmedas en la parte de la raíz de la planta.

Para la maleza se controló manualmente, para el control de plagas se utilizaron clorpirifós seetil al 5% granulado, Arquía 18 CE con dosis de 100 ml/ha (mililitros/hectárea), Bombasil 500 gr/ha, Coragen 75 ml/ha estos productos se utilizaron para plagas de follaje (gusano cogollero, araña roja y pulgón de la espiga), se controlaron cada vez que en el muestreo se obtuvieran la aparición de estas plagas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante las etapas de floración las líneas se polinizaron para obtener semillas, para lo cual por las tardes se cubrieron las espigas para que no suceda una contaminación de otros pólenes no deseados. Los jilotes deben de tener mínimo de 4 a 6 centímetros de largo de los estilos para poder cubrir con glácines para que no suceda una fecundación de otro polen (figura 1).

Figura 1. Autopolinización.



En la tabla 1 se presenta el ANOVA combinado de los dos grupos de líneas evaluadas. En la interacción macho por hembra se observó diferencia significativa ($p < 0.01$) en la floración masculina (FM) y floración femenina (FF). Por otra parte se observó que en las fuentes de variación de macho, hembra, cruzas y en la líneas diferencias significativas ($p < 0.01$) para el rendimiento de forraje verde (RFV), rendimiento en forraje seco (RFS), floración masculina (FM), floración femenina (FF). Según Silva et al., (2009) mencionan que esto se debe a las diferencias en el origen genético de cada línea, por otra parte Gutiérrez et al., (2002) mencionan que las condiciones climáticas afectan en el desarrollo del cultivo. Se puede apreciar que en los resultados del testigo fueron estadísticamente iguales, es decir, que no hubo ninguna diferencia significativa.

Tabla 1. Análisis de varianza combinado del porcentaje de materia seca (%MS), rendimiento de forraje verde (RFV), rendimiento de forraje seco (RFS), floración masculina (FM), floración femenina (FF) evaluados en dos grupos de líneas de maíz.

F.V.	G.L.	Cuadrados medios				
		% MS	RFV	RFS	FM	FF
REP	2	142.7**	10840.41**	129.25	10.54**	4.36
GENOTIPO	48	46	7200.03**	645.47**	37.76**	32.54**
TESTIGOS	1	0.14	303.41	14.52	1.5	0.17
LINEAS	11	36.94	3886.81**	379.84**	19.29**	17.94**
CRUZAS	34	39.86	5679.77**	618.84**	15.84**	17.12**
MACH	5	30.88	4745.43**	788.25**	40.06**	41.55**
HEM	5	77.53	20751.03**	1593.92**	38.35**	38.78**
MACH*HEM	24	33.47	2400.4	345.98	5**	7.07**
ERROR	95	40.71	1765.21	308.78	2.16	2.17
TOTAL	145					
C.V. (%)		24.16	24.14	38.22	2.03	1.98

F.V.: Fuente de variación, G.L.: Grados de libertad, ** altamente significativo al 1% de probabilidad del error, C.V.: Coeficiente de variación

CONCLUSIONES

El análisis combinado mostró diferencias altamente significativas para los genotipos evaluados, lo que confirma la variación genética que existe entre ellos. Las variables menos afectadas fueron los testigos, en la floración masculina se apreciaron que todos son significativos tanto en machos y hembras de igual forma en la floración femenina donde se obtuvo un valor más alto fue en la floración del macho.

BIBLIOGRAFIA

- Acosta R, A R Colomer L, H Ríos L y M Martínez C (2013) Evaluación morfoagronómica de una población de maíz (*Zea mays*, L.) en condiciones de polinización abierta en el municipio batabanó, Provincia Mayabeque. Volumen 34, número 2, pp 52-60.
- Beltrán F. J, J. M Ribaut, D Beck, D González de León. 2003. Genetics diversity, specific ability, and heterosis in tropical maize under stress and non; stress environments. *Crop Sci.* 4: 707-806.
- Comstock R. E y H. F. Robinsón. 1948. The components of genetic variance in populations of biparental progenies and their use in estimating the average degrees of dominance. *Biometrics.* 4:254-266.
- Comstock R. E. y R. N. Moll. 1963. Genotype environment interactions. *Symposium on statistical genetics and plant breeding.* Was-NPC pub. Pp. 164-165.
- Gaytán B R y M Pérez N (2010) Heterosis en híbridos de maíz producidos de cruzamientos entre progenitores de Valles Altos x Tropicales. Número 48. Enero-abril, pp 4-8
- Granados R R y A A Sarabia R (2013) Cambio climático y efectos en la fenología del maíz en el DDR-Toluca. Volumen 4, número 3, 01 de abril- 15 de mayo, pp 435-446.
- Griffing, B. 1956. Concept of general specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Aust. J. Biol. Sci.* 9: 463-493.
- Gutiérrez del R. E., A. Palomo G., A. Espinoza B. E. de la Cruz L. 2002. Aptitud combinatoria y heterosis para rendimiento de líneas de maíz en la Comarca Lagunera, México. *Rev. Fitotec. Méx.* 25 (3): 271-277.
- Jugenheimer, W. R. 1990. Maíz: variedades mejoradas, métodos de cultivo y producción de semillas. Trad. Piña, G. editorial LIMUSA. Cuarta reimpresión. México. 841pp.
- Livera M. M. 1992. Micrometeorología aplicada al fitomejoramiento: su enseñanza en el CP. XIV Congreso Nacional de Fitogenética SOMEFI. Tuxtla Gutiérrez, Chis. P. 50.
- Malacarne M. F. y F. M San Vicente G. 2003. Patrones heteróticos de líneas tropicales blancas de maíz. *Crop Sci.* 39: 368-371.
- 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 G. A. 1983. Diseños y análisis de experimentos de cruza dialélicas. Segunda edición. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. p. 252.
- Meredith W.R. Jr. 1984. Quantitative genetics. In R. R. J. Kohel and C. F. Lewis (eds). *Cotton Amer. Soc. Agron. Monograph* 24 Madison, Wis. USA.
- Ortiz Torres Enrique, Antonio López Pedro, Gil Muñoz Abel, Guerrero Rodríguez Juan de Dios, López Sánchez Higinio, Taboada Gaytán Oswaldo R. Hernández Guzmán J. Arahón, Valdez Ramírez Mario. 2013. Rendimiento y calidad de elote en poblaciones nativas de Maíz de Tehuacán, Puebla. Volumen 19, número 2, mayo-agosto, pp 225-238.
- Rincón S. F. 1997. Calidad fisiológica de semillas y comportamiento agronómico de líneas de maíz. XVIII Congreso Nacional, SOMEFI. Sociedad Mexicana de Fitogenética 2000. p279.
- Sierra M M, E N Becerra L, A Palafox C, S Barrón F, O Cano R, A Zambada M, A Sandoval R y J Romero M (2004) Caracterización de Híbridos de Maíz (*Zea mays* L.) con Alta Calidad de Proteína por su Rendimiento y Tolerancia a Pudrición de Mazorca en el Sureste de México. Volumen 22, número 2, pp 268-276.
- Silva D W, Y Alfaro J y R Jiménez A (2009) Evaluación de las características morfológicas y agronómicas de cinco líneas de maíz amarillo en diferentes fechas de siembra. Volumen 9, número 4, pp 743-755.
- Sprague G. F and L. Tatum, A. 1942. A general vs specific combining ability in single crosses of corn. *J. Am. Soc. Agron.* 34:923-932.
- Zepeda B R, Y Carballo J y R Jiménez A (2009) Evaluación de las características morfológicas y agronómicas de cinco líneas de maíz amarillo en diferentes fechas de siembra. 5, número 4, pp 419-426.

SEROPREVALENCIA DE FASCIOLA HEPATICA EN BOVINOS DE LOS MUNICIPIOS DE IRAPUATO Y DOCTOR MORA, GUANAJUATO

Ana Erika Castaño Santoyo¹, Jonathan Emmanuel Ortega-Palomares y Cesar Andrés Ángel Sahagún¹

RESUMEN

La fasciolosis hepática es una zoonosis causada por el parásito *Fasciola hepatica*, trematodo que afecta a animales mamíferos herbívoros y, eventualmente, al hombre. Causa de las grandes pérdidas productivas y económicas en el ganado, principalmente el ovino y el bovino. El objetivo del presente estudio fue determinar si existen sueros de bovinos de los municipios de Irapuato y Doctor Mora positivos para *F. hepatica*. Sueros de bovinos de entre 3 meses y 12 años de los municipios de Irapuato y Doctor Mora fueron colectados directamente de la vena coccígea, se centrifugó el suero y se almacenó a -20°C hasta su uso. Para realizar el análisis del suero se utilizó el kit *Fasciolosis Verification* (IDEXX) siguiendo las recomendaciones del fabricante. Posteriormente las muestras fueron analizadas con un espectrofotómetro x Mark (BIO RAD) y se realizó el análisis de los resultados con el software *Microplate manager software* (BIO RAD). Se muestreó 45 bovinos, 23 de Irapuato y 22 de Doctor Mora. La prevalencia general de los animales muestreados fue del 11.1% (5/45). Con respecto a los animales muestreados en Irapuato el porcentaje de prevalencia general fue del 13.03%, y en Doctor Mora fue de 9.09%.

ABSTRACT

Hepatic fasciolosis is a zoonosis which is caused by the parasite *Hepatic Fasciola*, trematode that affects herbivorous mammals and, eventually, humans. Reason of the great productive losses and economic in cattle, mainly the ovine and bovine. The objective of the present research was to determine if exist bovine serum of the towns Irapuato and Doctor Mora positives for *Hepatic Fasciola*. Bovine serum between 3 months and 2 years of age of Irapuato and Doctor Mora were collected directly from the coccygeal vein, the serum was centrifuged and stored at -20°C until use. To perform the serum analysis was used the *Fasciolosis kit Verification* (IDEXX) following the manufacturer's recommendations. Later the samples were analyzed with a spectrophotometer x Mark (BIO RAD) and realized the analysis of results with the *Microplate manager software* (BIO RAD). We sampled 45 bovines, 23 of Irapuato and 22 of Doctor Mora. The overall prevalence of the sampled animals was 11.1% (5/45). With regard, the animals that was sampled on Irapuato the percentage of overall prevalence was 13.03%, and on Doctor Mora was 9.09%.

Palabras Clave: Zoonosis, Parasito, Suero, Prevalencia

INTRODUCCIÓN

México tiene una extensión territorial de aproximadamente 2 millones de km² de la cual el 11% está destinada al uso de la agricultura, el 57 para agostaderos y no cultivables, el 26 a uso forestal y el 6 restante se destina a otros usos. Aproximadamente el 25% del territorio mexicano cuenta con clima árido, el 20 templado, el 15 es tropical seco y el 12 tropical húmedo. Esta gran variedad de climas deriva en una amplia diversidad de recursos genéticos animales y vegetales. En el país existen alrededor de 197 millones de hectáreas, de las cuales la ganadería en sus diferentes modalidades ocupa el 58%, por lo que esta actividad representa el principal uso de suelo en el territorio. Según datos de la encuesta nacional agropecuaria del 2014 el país cuenta con alrededor de 28,415,337 cabezas de ganado bovino de las cuales 6,938,730 son destinadas a engorda de bovinos. El engorde de bovinos se realiza en México bajo tres sistemas de producción: extensivo, intensivo y semi-intensivo. En México se desarrollan principalmente las ganaderías bovina, porcina, ovina, caprina, aviaria, caballar y asnar. La ganadería bovina es explotada para la obtención de carne y leche principalmente, aunque también se emplea como fuerza de trabajo y genera subproductos para las industrias zapatera y peletera (SAGARPA, 2012; Financiera Rural, 2012; INEGI, 2014).

En 2014 Guanajuato se colocó como el tercer lugar en producción de carne de bovino y porcino, lo que indica la importante aportación que tiene la entidad en el mercado del país. En el 2014, se produjeron 509 mil 958 toneladas de carne en canal de ganado bovino, de las cuales Guanajuato aportó el 9.1 % del total, sólo fue superada por Jalisco cuya contribución fue de 17.9 y por Michoacán con 9.7 % (Marvella, 2015).

Para que la ganadería como tal, genere un ingreso importante tanto al país como a los productores, es necesario tener un buen manejo y dentro de ello llega la necesidad de lograr tener un buen control de enfermedades, y las parasitosis no son una excepción. El tener un control de parásitos internos se hará con la finalidad de poder alimentar también con pastura al ganado. Sin embargo, se debe tener en cuenta que los niveles de parásitos no son el mismo en todos los pastizales o en todo el ganado. Pasturas que se sobrecargan de animales, generalmente tienen una carga del parásito más alta que las pasturas en las que entra menor número. El ganado en una engorda probablemente tendrá menor incidencia de parásitos internos que aquéllos en las pasturas. El ganado joven tendrá, típicamente, más parásitos que el ganado más viejo, por consiguiente, deben desarrollarse los métodos de controlar parásitos internos. La desparasitación estratégica

empieza con entender el ciclo de vida del parásito problema. Un programa exitoso de desparasitación, junto con un buen manejo y control de otras enfermedades, aumentará la producción de carne y leche en las vacas y por eso al destete un aumento de peso de los terneros. Pueden separarse los efectos de parasitismo en dos tipos el subclínico y clínico. Las pérdidas en la productividad animal (la producción de leche, la ganancia de peso, la composición del cadáver alterado, la proporción de concepción, entre otros) es todo lo que parasitismo subclínico provoca; considerando que, la presencia de una enfermedad visible, como los síntomas (la aspereza del pelo, anemia, el edema, la diarrea) son los efectos clínicos. Los efectos del subclínico son de importancia económica mayor al productor (Hidalgo, 2015).

La fasciolosis hepática es una zoonosis parasitaria causada por *Fasciola hepatica*, trematodo que afecta a animales mamíferos herbívoros y, eventualmente, al hombre. Se han realizado algunas estimaciones que permiten ubicarla como la segunda parasitosis en importancia desde el punto de vista veterinario, a causa de las grandes pérdidas productivas y económicas que provoca en el ganado, principalmente el ovino y el bovino. Se le considera una de las tres más importantes zoonosis que afecta al hígado. La fasciolosis fue considerada antiguamente como una enfermedad secundaria en el hombre; sin embargo, en los últimos años se ha convertido en una infección parasitaria de gran impacto en humanos. Se estima que existe entre 2 y 17 millones de personas y 51 países en el mundo parasitados por *F. hepatica*. En la actualidad se le considera como la enfermedad parasitaria con la más amplia distribución latitudinal, longitudinal y altitudinal a nivel mundial; además se ha encontrado que las más importantes regiones endémicas de fasciolosis humana están localizadas en América del sur (Escalante et al., 2011).

En América la fasciolosis es causada solo por *F. Hepatica* principalmente transmitidos por caracoles anfibios del género *Lymnaea* y distribuidos en todas partes, desde Canadá en el norte hasta Chile y Argentina en el sur; aunque la fasciolosis humana ha sido reportada en muchos países de Latino América. En México se observó que la infección humana por *Fasciola hepática* era esporádica, con solo cinco casos reportados hasta la segunda mitad del siglo 20, incluido el primer caso reportado en Atlixco en el estado de Puebla. Los casos humanos fueron reportados de los estados de México, Veracruz, Tabasco, Chiapas, Hidalgo, Morelos, Oaxaca, San Luis Potosí y Sinaloa, con el estado de Puebla como el único con reportes humanos frecuentes. Desafortunadamente, se plantea la cuestión de la situación real de fasciolosis humana hoy en día, debido a que no es una enfermedad de declaración obligatoria, la falta de encuestas en áreas de pobreza y alta infección animal, y un hecho bien conocido es que los niños en situación rural usualmente no acuden a los hospitales de diagnóstico (Zumaquero-Ríos et al., 2013).

En 2005 en la provincia de Huancavelica, Perú se realizó un estudio en base a una entrevista seroepidemiológica a 842 escolares de educación secundaria se colegios estatales escogidos al azar y a 532 vacunos aleatorios criados por la familia del escolar. En ambos casos se realizó la prueba serológica de FAS2-ELISA. El análisis de datos se realizó por tipo de zona (urbana o rural). La prueba fue positiva en 33 estudiantes y en 123 vacunos. No hubo asociación entre infección escolar y animal. Un 45% de escolares refirió conocer la enfermedad (28% en zona urbana y 56,5% en zona rural); los escolares de zona rural tuvieron más respuestas correctas sobre fasciolosis. El conocimiento sobre el daño hepático de la fasciolosis fue más frecuente que sobre su transmisión y prevención (Valencia et al., 2005).

Años atrás en el estado de Guanajuato se presentaron algunos casos de decomiso de hígados en el rastro TIF. Durante el periodo de 1979 a 1987, se sacrificaron 64,198 bovinos, con un decomiso de 7,760 hígados con un 12.08% de fasciolosis (Castellanos, 1992). En este mismo rastro, pero en el periodo de enero a diciembre de 2004, se sacrificaron 79,626 bovinos con 1,618 hígados decomisados, con un peso de 8,090Kg, una pérdida de \$163,910.1 y 3.0% de fasciolosis (Castañeda, 2006).

De acuerdo con los datos anteriores y a que la fasciolosis, además de provocar pérdidas, es una zoonosis, se busca determinar la seroprevalencia de *F. hepatica* en sueros de bovinos de los municipios de Irapuato y doctor Mora de entre 1 y 12 años de edad.

MÉTODOS Y MATERIALES

Sitios de estudio

El estudio comprendió dos etapas: la primera fue la toma de muestras de campo que se realizó en el municipio de Irapuato y de Doctor Mora, Guanajuato, México, ubicados a una altura sobre el nivel del mar de 1730 m; 20° 40' latitud norte y 101° 21' longitud este y 2129 metros sobre el nivel del mar; 21°08' latitud norte y 100°19' longitud oeste, respectivamente. La segunda etapa se realizó en el laboratorio de parasitología de la Universidad de Guanajuato ubicado en ex Hacienda el Copal.

Muestras comprendidas

El estudio fue transversal y comprendió el análisis de 45 sueros (pareados) de una prueba de ELISA (Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas) que utiliza una enzima como marcador para mediar la formación de complejos antígeno-anticuerpo (Guzmán-Vázquez, 2004).

Inicialmente se colectó sangre de bovinos de entre 3 meses y 12 años durante el periodo comprendido de mayo – junio del 2017, en el laboratorio se separó el suero sanguíneo del paquete celular con una centrifuga a 800rpm por 10 minutos y se colocaron en tubos Ependorf de 10µl, después fueron congelados a -20°C y almacenados hasta su análisis.

Para realizar el análisis del suero se utilizó el kit Fasciolásis Verification (IDEXX) para la detección de anticuerpos de Fasciola hepática y se siguió el protocolo indicado por el fabricante. Posteriormente las muestras fueron analizadas con un espectrofotómetro x Mark (BIO RAD) y se realizó el análisis de los resultados con el software Microplate manager software (BIO RAD).

Análisis de información

Una vez realizada la lectura en el espectrofotómetro se tabularán los resultados con ayuda del software Microsoft Excel 2016, se tomarán en cuenta las edades de los bovinos muestreados, así como la procedencia, para obtener un porcentaje de prevalencia por edades y municipios.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente estudio se logró muestrear 45 bovinos, 23 del municipio de Irapuato y 22 del municipio de Doctor Mora. La prevalencia general de los animales muestreados fue del 11.1% (5/45), cabe mencionar que los positivos fueron agrupados en positivos fuertes 2.2% y positivos débiles 8.9 % (Figura 1).

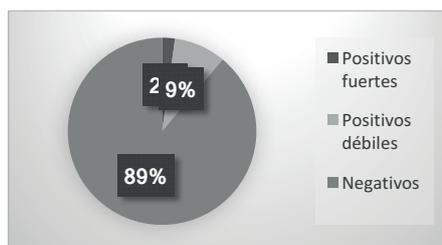


Figura 1. Gráfica de prevalencia general de *F. hepática*

Con respecto a los animales muestreados en el municipio de Irapuato el porcentaje de prevalencia general fue del 13.03%, teniendo como positivo fuerte un solo animal y positivo débil dos (Figura 2).

En el municipio de Doctor Mora el porcentaje de prevalencia general fue de 9.09%, presentando únicamente casos de positivos débiles (Figura 3).

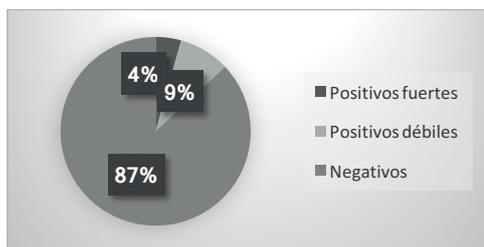


Figura 2. Gráfica de prevalencia de *F. hepática* en el estado de Irapuato

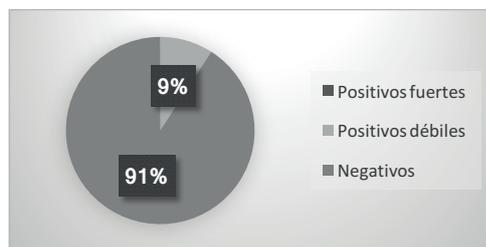


Figura 3. Gráfica de prevalencia de *F. hepática* en el estado de Doctor Mora

En ambos municipios tres de los casos positivos se presentaron en becerros menores de un año y solamente un caso fue positivo en una vaca de dos años resultando así baja seroprevalencia en ambos municipios.

Maddison (1991) señala que las detecciones de anticuerpos a través de técnicas serológicas son muy importantes en el diagnóstico temprano de enfermedades parasitarias, así como una herramienta de gran utilidad en estudios epidemiológicos.

Pero en este caso se debe tener en cuenta la edad de los animales en los que se presentaron casos positivos, ya que como menciona Campero (2010), el ternero recibe los anticuerpos maternos acumulados en la ubre de la vaca en la primera ingesta de calostro, pudiendo dar resultados falsos positivos por anticuerpos maternos (Gómez, 1995).

Pudiendo disminuir aún más la prevalencia del presente estudio ya que dos de los becerros se encuentran dentro del rango de edad que mencionan estos autores.

Otro factor que cabe resaltar para explicar la baja prevalencia sería que los hábitats permanentes de Lymnaea son lagos, lagunas, ríos tranquilos, áreas pantanosas y terrenos sedimentares cubiertos con gramíneas con agua todo el año (Javitt, 2012).

Lo que hace poco factible la presencia de este caracol en el territorio de los municipios de Irapuato y Doctor Mora, ya que, según datos del INEGI (2017), el clima en estos municipios está catalogado en cálido subhúmedo, y seco y semiseco respectivamente, y sin presencia importante de cuerpos de agua.

En los municipios de Irapuato y Doctor Mora en Guanajuato existe una prevalencia mínima de Fasciola hepática en bovinos (11.1%).

CONCLUSIONES

Se concluye que existe sueros de rumiantes de los municipios de Irapuato y Doctor Mora positivos a *F. hepatica*. El kit utilizado permitió identificar animales positivos al antígeno de *F. hepatica*. El presente estudios también permite concluir que el kit permite identificar animales positivos de diferentes edades.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al comité del 19° Verano Regional de la Ciencia de la Región Centro, por darme la oportunidad de participar en el programa, al doctor Horacio Hernández Hernández por alentarme a enviar mi solicitud. Al doctor Cesar Andrés Ángel Sahagún y a los MVZ Aarón Abraham Hernández Rangel y Jonathan Emmanuel Ortega Palomares por su apoyo durante toda la estancia; así como a los compañeros que me acompañaron en el laboratorio Ángel Isaac Hernández, Fátima Ruiz, Ismael Montiel, Paola Nahaivi Rodríguez Castillo, los MVZ Víctor Manuel Carrasco Baeza y Luis Flores García y el ingeniero Juan Augusto Ruano. También a mis padres Ricardo Castaño y Ana María Santoyo, mi abuela Juana Mejía y mis hermanos Britany Castaño y Luis Flores por confiar en mí y apoyarme en todo momento mientras estuve lejos de casa, así como a mis amigos MVZ Aimée Calzadilla Quezada e Iván Castellanos, y alguien muy importante en mi vida Fernando Alfredo Olvera Barrón.

BIBLIOGRAFIA

- CAMPERO, C. (2010) "Vacunación en bovinos" en *Visión Rural*. Núm. 1, Vol LXXXI, [pp. 1-8].
- CASTAÑEDA, V. (2006) "Principales causas del decomiso de hígados de bovino, así como las pérdidas económicas en establecimientos tipo inspección federal de enero a diciembre de 2004, a nivel nacional y estatal". (tesis de licenciatura) México (D.F) México: UNAM.
- CASTELLANOS, H; ESCUTIA, S; QUIROZ, R. (1992) "Frecuencia de fasciolosis hepática en bovinos sacrificados en las plantas tipo inspección federal en México de los años 1979 a 1989". *Veterinaria México*. Núm.23, [pp.339-342].
- FINANCIERA RURAL (2009) "Bovino y sus derivados" México: 29
- GOMÉZ, M; MORA, R. (1995) "Garantía de calidad en el diagnóstico serológico de la infección de la inmunodeficiencia humana" en Organización Panamericana de la Salud.
- GÚZMAN-VÁZQUEZ, E. (2004) "V. Las pruebas de ELISA" en *Gaceta Médica México*, Núm. 3, Vol. CXL, [pp. 48].
- HIDALGO, F. (2015) "El control de parásitos (internos y externos) del ganado bovino", en BM editores Consultada en bmeditores.mx/control-parasitos-internos-externos-del-ganado-bovino/ (fecha de consulta 25/06/2017).
- INEGI (2014) "Encuesta Nacional Agropecuaria" en Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Consultada en <http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/proyectos/encuestas/agropecuarias/ena/ena2014/> (fecha de consulta 29/06/2017).
- INEGI (2017) "Clima de Guanajuato" en Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Consultada en <http://www.cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/gto/territorio/clima.aspx?tema=me&e=11> (fecha de consulta 06/08/2017)
- JAVITT, M; TRUJILLO, N; CÁRDENAS, E; PEDROMO, R; MARTÍN, J; RODRÍGUEZ, R. (2012) "Presencia de moluscos del género *Lymnaea*, hospedadores intermediarios de *Fasciola hepática*, en el parque Recreacional Los Arrollos" en el municipio Agua Blanca del estado Portuguesa" en *Revista del colegio de médicos veterinarios del estado de Lara*, Núm. 1, [pp.23-27].
- MADDISON, S. (1991) "Serodiagnosis of parasitic diseases" en *Clin.Microbiol.Rev*, Núm 4 [pp. 457-469].
- MARVELLA, C. (2015) "Guanajuato, tercer lugar en producción de carne de bovino y porcino", en *El financiero* Consultada en <http://www.elfinanciero.com.mx/bajio/guanajuato-tercer-lugar-en-produccion-de-carne-de-bovino-y-porcino.html> (fecha de consulta 28/06/2017).
- SAGARPA. Programa Nacional Pecuario (2007-2012) México:42
- VALENCIA, N; PARIONA, A; HUAMÁN, M; MIRANDA, F; QUINTANILLA, S; GONZÁLEZ, A. (2005) "Seroprevalencia de fasciolosis en escolares y en ganado vacuno en la provincia de Huancavelica, Perú" en *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, Núm. 22, Vol. 2, [pp. 92-102].
- ZUMAQUERO-RÍOS, J; SARRACENT-PEREZ, J; ROJAS-GARCIA, R; ROJAS-RIVERO, L; MARTINEZ-TOVILLA, Y; VALERO, M; MAS-COMA, S. (2013). "Fascioliasis and intestinal parasitoses affecting schoolchildren in Atlixco, Puebla state, México; Epidemiology and treatment with Nitazoxanide" en *PLOS Neglected tropical diseases*, Núm. 11, Vol. VII, Noviembre, [pp. 6-14].

PREDADORES Y PARASITOIDES NATIVOS: INSECTOS CON POTENCIAL USO EN CONTROL BIOLÓGICO DE PLAGAS EN LA COMARCA LAGUNERA

Bismar Bibiano Rodríguez y Fabián García Espinoza

RESUMEN

Durante junio y julio de 2017, se llevó a cabo un estudio en los municipios de Torreón y Matamoros, Coahuila, ambos municipios se encuentran dentro de la región conocida como Comarca Lagunera. Se realizaron colectas con el fin de identificar entomofauna con potencial uso en el control biológico de plagas. Se lograron identificar especímenes pertenecientes a seis órdenes con hábitos predadores y parasitoides, entre ellos están Diptera, Coleoptera, Hymenoptera, Hemiptera, Mantodea y Neuroptera; así mismo, se recolectaron especímenes de otros órdenes de fauna nativa como Odonata, Lepidoptera y Mantodea.

Palabras Clave: Plaga, control biológico, entomofauna nativa, Coahuila.

ABSTRACT

During June and July 2017, a study was carried out in the municipalities of Torreón and Matamoros, Coahuila, both municipalities belong to the region known as Comarca Lagunera. Collecting was carried out in order to identify entomofauna with potential use in biological control of pests. It was possible to identify specimens from 6 orders with predatory and parasitological habits. Diptera, Coleoptera, Hymenoptera, Hemiptera, Mantodea and Neuroptera were the orders identified mainly; likewise, specimens from other orders of native fauna such as Odonata, Lepidoptera and Mantodea were collected.

Key words: Pest, biological control, native entomofauna, Coahuila.

INTRODUCCION

El control biológico es una forma de manejar poblaciones de animales o plantas; consiste en el uso de uno o más organismos para reducir la densidad de una planta o animal que causa daño al hombre. Así, el control biológico puede definirse como el uso de organismos benéficos (enemigos naturales) contra aquellos que causan daño (plagas) (Nicholls, 2008).

Según Nicholls (2008), un organismo indeseable puede eliminarse localmente o, lo que resulta mejor, su población puede reducirse a una escala que no cause daño económico. La erradicación completa de plagas resulta ambiciosa y en la mayoría de los casos trae problemas ecológicos. Si un enemigo natural elimina completamente a una plaga, éste quedaría sin alimento para continuar su desarrollo. El control biológico busca reducir las poblaciones de la plaga a una proporción que no cause daño económico, y permite una cantidad poblacional de la plaga que garantiza la supervivencia del agente controlador.

Fischbein (2012) plantea la pregunta de el por qué una especie se convierte plaga, la respuesta es que las poblaciones de la mayoría de las especies están bajo la influencia de un control natural. Dicho de otro modo, las poblaciones de organismos están reguladas por la acción natural de sus depredadores, parásitos, parasitoides, patógenos y competidores; un fenómeno ecológico que mantiene a las especies en un estado de equilibrio. El problema surge cuando estas especies invaden o son transportadas accidental o intencionalmente a nuevas áreas donde sus enemigos naturales (que normalmente las controlan) no están presentes. Consecuentemente, las poblaciones de especies introducidas aumentan, en algunos casos, de tal modo, que pueden causar daños económicos y/o ecológicos severos convirtiéndose en plagas.

Los principales depredadores, en cuanto a insectos se refiere, se encuentran en los siguientes órdenes: Coleoptera, Hemiptera, Neuroptera, Diptera, Hymenoptera, Dermaptera, Mantodea y Odonata (Viñuela y Jacas, 1993; Nájera y Souza, 2010; Arias, 2012), mismos que requieren de estrategias de conservación y refugios naturales para prosperar o aumentar su población.

El principal objetivo del presente trabajo radica en la identificación de enemigos naturales de insectos plaga que se encuentran ya bien establecidos en la Comarca Lagunera, así como de los diversos parasitoides y depredadores de plagas emergentes o exóticas de la región; se cree que en la Comarca Lagunera existe una diversidad de insectos con potencial de ser utilizados como agentes de control biológico.

MATERIALES Y METODOS

El presente estudio se llevó a cabo en la región denominada Región Lagunera del estado de Coahuila y Durango, misma que se encuentran circunscrita en el área biogeográfica del desierto chihuahuense. Los municipios en los cuales se llevaron a cabo las colectas son: Torreón y Matamoros, Coahuila. Las áreas en las que se llevaron a cabo colectas fueron asignadas al azar, sin embargo, se consideraron prioritariamente

aquellas zonas que cuenten con zonas de producción agrícolas. Las zonas con historial agrícola y que en la actualidad son parcelas abandonadas o en recuperación y las zonas circundantes con vegetación nativa también fueron consideradas en la recolección de especímenes.

Las recolectas se realizaron en períodos quincenales en las zonas previamente establecidas, estas se llevaron a cabo mediante el uso de redes entomológicas; también se realizó la recolección de especímenes con el uso de pinzas y pinceles para coleccionar especímenes de menor tamaño y de esta manera no dañar sus estructuras. Los especímenes recolectados se preservaron en etanol al 70% y se transportaron al laboratorio de Parasitología de la UAAAN UL para su posterior identificación (Figura 1).



Figura 1. Los especímenes se recolectaron con redes entomológicas y fueron preservados en frascos con etanol al 70%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las colectas se llevaron a cabo en 4 localidades de los municipios de Torreón y Matamoros, Coahuila. En Torreón se recolectaron insectos en Torreón (cabecera municipal) y en el Ejido Jalisco, mientras que en Matamoros las colectas se llevaron en los sitios de La Cueva del Tabaco y El Puerto del Perico.

Después de realizar la identificación de los especímenes con las claves de Triplehorn y Johnson (2005), se reportan 8 familias repartidas en 6 órdenes de insectos (Cuadro 1). Además de los seis órdenes de hábitos predadores y parasitoides, se lograron recolectar insectos nativos de órdenes como Odonata, Lepidoptera, Phasmatodea, entre otros.

De acuerdo con (Viñuela y Jacas, 1993; Nájera y Souza, 2010; Arias, 2012), Los principales depredadores, en cuanto a insectos se refiere, se encuentran en los órdenes: Coleoptera, Hemíptera, Neuróptera, Diptera, Hymenoptera, Dermaptera, Mantodea y Odonata, lo cual concuerda en gran medida con los resultados obtenidos en esta investigación, como se muestra en el cuadro 1.

Cuadro 1. Órdenes y familias de insectos con hábitos predadores y parasitoides.

Orden	Familias	Nombre común
Mantodea	Sin identificar	
Hemíptera	Reduviidae	Chinche asesina
Coleoptera	Coccinellidae	Catarinas, vaquitas, mariquitas
Neuróptera	Chrysopidae	Crisopas
Hymenóptera	Apidae, Vespidae, Formicidae, Trichogrammatidae	Abejas, avispas, hormigas, tricogramas
Diptera	Tachinidae, Syrphidae	Taquipinidos y sírfidos

CONCLUSIONES

Durante la investigación logramos coleccionar entomofauna con hábitos predadores y parasitoides pertenecientes a los órdenes Hymenóptera Diptera, Mantodea, Hemíptera, Coleoptera y Neuróptera, así como insectos nativos de órdenes como Odonata, Lepidoptera, Phasmatodea.

De acuerdo a las investigaciones y a los resultados obtenidos se concluyó que la Comarca Lagunera, específicamente en los municipios de Torreón y Matamoros, Coahuila, se alberga entomofauna con potencial uso para el control biológico de plagas.

BIBLIOGRAFIA

- Arias R., F. 2012. Refugios para enemigos naturales de plagas insectíles: Selección inicial de plantas para condiciones de El Zamorano. Tesis de licenciatura. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Departamento de Ingeniería Agronómica. Zamorano, Honduras. 27 pp.
- Fischbein, D. 2012. Introducción a la teoría del control biológico de plagas. En: Serie técnica: "Manejo Integrado de Plagas Forestales". Villacide, J.M. y J.C. Corley (eds.). Cuadernillo no. 15. INTA EEA Bariloche. 21 pp.
- Nájera R., M.B. y Souza, B. 2010. Insectos benéficos. Guía para su identificación. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Uruapan, Michoacán. 75 pp.
- Nicholls E., C.I. 2008. Control biológico de insectos: un enfoque agroecológico. Ciencia y Tecnología, Editorial Universidad de Antioquía. Medellín, Colombia. 278 pp.
- Triplehorn, C.A., y N.F. Johnson. 2005. Borror and Delong's Introduction to the study of insects. 7th edition. Thompson Learning Inc. United States of America. 864 p.
- Viñuela, E. y Jacas, J. 1993. Los enemigos naturales de las plagas y los plaguicidas. Hojas divulgadoras. Núm. 2/93 HD. Unidad de Protección de Cultivos. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Madrid, España. 24 pp.

FOMENTO DE LA EXPORTACIÓN DE LA CEBOLLA, EN MÉXICO

Francisco López, Claudia Elizabeth¹ y Cárcamo Solís María de Lourdes²

RESUMEN

Este trabajo explicará la importancia de exportación de cebolla hacia el extranjero. Se mostrarán los principales productores de este cultivo y las variables independientes de la comercialización de la cebolla a nivel internacional. El estudio se desarrolla a partir de una regresión lineal múltiple de 30 datos trimestrales para el análisis del comportamiento de las exportaciones de cebolla. Se considera como la variable dependiente el volumen de exportación que está relacionado con diversas variables independientes, tales como: El precio de exportación unitario, el valor de exportación en toneladas, el tipo de cambio de la moneda Peso - Dólar y la producción total en toneladas en México. Este artículo tiene como objetivo identificar cuáles son las principales intenciones de exportación de los cultivadores en México y fomentar la exportación de la cebolla bola.

ABSTRACT

This work will explain the importance of export of onion towards the foreigner. There will appear the principal producers of this culture and the variables independent from the commercialization of the onion worldwide. The study develops from a linear multiple regression of 30 quarterly information for the analysis of the behavior of the exports of onion. Is considered to be the dependent variable the volume of export that is related to diverse independent, such variables as: The unitary price of export, the value of export in tons, the type of change of the currency peso - Dollar and the total production in tons in Mexico. This article has as aim(lens) identify which are the principal intentions of exportation from croppers in the foreign and to foment the onion ball exportation.

Keywords: Onion ball crop, multiple linear regression, success factors of exportation, Policy of exportation.

INTRODUCCIÓN

La cebolla es un cultivo importante en México, es una hortaliza cultivada en los ciclos otoño-invierno y primavera verano, ofreciendo producto fresco en todo el año abasteciendo el consumo demandado. La cebolla está presente principalmente en las centrales de abastos nacionales para su comercialización y en mercados externos. Los productores en su mayoría dependen de las ventas de esta hortaliza para mejorar sus condiciones económicas y calidad de vida. La mayor parte de la producción total nacional de la Cebolla de bola grande –primero se comercializa en los mercados internos, datos del Servicio de información agroalimentaria y pesquera (SIAP), reportó en el mes de marzo 2017 los principales estados productores de cebolla son: Aguascalientes, Baja California, Baja California Sur, Coahuila, Chiapas, Chihuahua, Durango, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, México, Michoacán, Morelos, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora, Tamaulipas, Tlaxcala y Zacatecas, siendo los mayores productores: Tamaulipas y chihuahua. (Mapa 1). El proceso de la comercialización de este producto en el mercado internacional localizado depende del volumen de producción, situación económica del productor, precios en el mercado, los ingresos obtenidos y el tipo de cambio (FAO). El objetivo de este trabajo de investigación es analizar cuál ha ido el comportamiento de las exportaciones de cebolla de bola e identificar cuáles son los factores de los cuales depende el fomento de su exportación.

Mapa 1. Entidades federativas de la República Mexicana



Fuente: mapas de Google.

MARCO TEÓRICO

La producción de cebolla es una de los principales cultivos a nivel mundial, ya que forma parte de diversos usos y forma parte de platillos alimenticios de las personas, siendo así China con 22,345 miles de toneladas como el primer productor de cebolla a nivel mundial, en el 2015, en comparación con México que fue de 2,018.80 miles de toneladas, por ello es importante mejorar la sustentabilidad de este producto e incentivar las exportaciones y buscar la forma de contrarrestar los problemas que muchos de los productores presentan como la baja rentabilidad, elevados costos de producción y manejo inadecuado de la calidad. Las investigaciones de producción e innovación ayudan a incrementar la productividad, la calidad del producto y lograr bajar costos de producción para obtener mayor participación en el mercado.

La mayor parte de las unidades de producción (agroempresas) que integran los Sistemas de Producción Localizados (SPL) son de origen local y se basan en la movilización de los recursos propios por los Habitantes del territorio (Carbajal, 2011). Debido a los efectos de la globalización de los mercados alimentarios y del incremento de la concentración de las cuotas de mercado en los mayores empresas alimentarios y de distribución, en las décadas recientes ha tenido lugar un proceso a escala internacional en el cual se decreta la parte de la cadena de valor del producto que se genera en los espacios rurales. Mientras que las estrategias dominantes de liderazgo en precios parecen estar reservadas cada vez más a las grandes firmas, los productos diferenciados tienen un margen mayor de incorporación de valor en comparación con los indiferenciados. Abandonar la producción exclusiva de commodities se convierte, por tanto, en una condición necesaria para agregar valor en los espacios rurales (Sanz, 2010). Por otro lado, el patrimonio natural y cultural de los territorios rurales constituye una importante fuente potencial de diversidad alimentaria susceptible de generar valor. Existe una pluralidad de vínculos entre el territorio y los productos alimentarios típicos o específicos, incluidos tanto los que están relacionados con el medio físico –clima, suelo, ecosistemas, etcétera– como con el medio social y humano –cultura, historia o economía locales, saber hacer y técnicas locales, procesos de construcción social y más–. Como resultado de estos vínculos, los productos alimentarios identitarios presentan una serie de atributos específicos que se agrupan en torno al binomio de “calidad y territorio”, combinando en cada caso de forma variable atributos tales como la calidad organoléptica, la tipicidad, la relación con las gastronomías locales, la seguridad alimentaria o el respeto por el medio ambiente, entre otros aspectos (Sanz, 2010). Para poder fomentar la exportación se puede acudir a las empresas crediticias que otorga financiamiento y orientación a la exportación como Pequeñas y medianas empresas (PYME) o acudir a los apoyos del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), de la Secretaría de Hacienda y Crédito Público (SHCP) y del Instituto Nacional del Emprendedor (INADEM), quienes extienden convocatorias para realizar proyectos productivos.

La importancia de las exportaciones se refleja en el incremento del Producto Interno Bruto (PIB) de la economía, de tal manera que genera beneficios para la sociedad. Algunas Acciones de productores hacia la exportación son las siguientes:

- 1) La producción nacional necesita ser mejorada (por adopción de variedades de alto rendimiento y las prácticas agrícolas modernas) con la consistencia, por lo que la exportación de cebolla se puede hacer de manera regular. Porque, exportando de manera regular ayuda a aumentar los volúmenes y los agricultores también obtener precios remunerativos.
- 2) Los agricultores necesitan apoyo (además de apoyo existentes) para el desarrollo de instalaciones de almacenamiento, para la mejora de período de Almacenamiento.
- 3) La agricultura por contrato, hay que adoptar para la exportación (Castaño, 2011), lo cual presupone ciertas acciones de los productores como: conocimiento y mejoramiento de la calidad, disminución de costos a través de tecnologías y apoyos o financiamiento, es decir, una política gubernamental de apoyo real a la producción y exportación de cebolla de bola al resto del mundo.

MÉTODOS Y MATERIALES

La metodología aplicada para este trabajo fue de naturaleza exploratoria y correlacional de promoción de la exportación de hortalizas, usando datos numéricos en series trimestrales en los censos económicos del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), Sistema nacional de información e integración de mercados (SNIIM), Secretaría de agricultura, Ganadería Desarrollo rural Pesca y Alimentación (SAGARPA) y del Banco de México (BANXICO). Se recopilaron 30 datos en series trimestrales a partir del 2009- 2017, el análisis se realizó con una regresión lineal múltiple, en donde la dependiente es el volumen de exportación (VX) y las independientes son producción total nacional en toneladas (Pn), el valor de la exportaciones total en pesos (Vt), precio de exportación (Px), tipo de cambio peso dólar (Cb). Para correr el modelo se utilizó el software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS por sus siglas en inglés) el resultado muestra el grado de significancia que tienen las variables y capacidad para explicar la ecuación y hacer pronósticos. Se calcularon las pruebas T de Student, el valor de significancia, la Prueba F de Fisher y análisis del Factor de Inflación de la varianza (FIV).

Para el análisis de este modelo se establece las siguientes Hipótesis:

Hipótesis nula $H_0 = \beta_1, \beta_2, \beta_3$ y β_4 no tiene significancia, y no aporta al modelo.

Hipótesis alternativa $H_a = \beta_1, \beta_2, \beta_3$ y β_4 son significativas por lo tanto explican el modelo.

RESULTADOS

Como resultado de la regresión múltiple podemos observar que las variables son altamente significativas y predictivas, al obtener un coeficiente de determinación ajustado (R²) del 98% que indica que el 98% de los datos incluidos en el modelo explican a las exportaciones de cebolla de bola (Tabla 2). Si analizamos las pruebas de hipótesis, concluimos que las variables del tipo de cambio Peso Dólar, el valor de las exportaciones en pesos, el precio de exportación y la producción nacional de cebolla rechazan la hipótesis nula, lo cual se evidencia analizando el estadístico T de Student al obtener valores calculados mayores a los tabulados. También, se demuestra con el valor de significancia, que en casi todos los casos fue de 0.000 < 0.05 (Tabla 1). En cuanto al estadístico F de Fisher al nivel de la regresión en su conjunto se obtuvo un valor calculado mayor al tabulado (646.639 > 2.317) que corrobora que el modelo en su conjunto es altamente significativo, también ratificado por el valor de significancia = 0.000 (Tabla 2).

El análisis de los estadígrafos T, F y los niveles de significancia nos permiten determinar que el modelo aquí propuesto acepta la hipótesis alternativa de que las variables independientes contribuyen a explicar la exportación de cebolla de bola. Sin embargo, es importante que los SPL se deslignen del control del mercado internacional mediante los commodities que permitan una mayor generación de valor en la cadena de valor que representa la producción de cebolla de bola en cada una de las entidades productoras de la República Mexicana. En cuanto al factor de inflación de la varianza, se puede observar que las 4 variables independientes tienen este indicador por debajo de 4 lo cual nos indica la no existencia de multicolinealidad. Ecuación del modelo teórico de Regresión lineal Múltiple Propuesto.

Tabla 1. Modelo de regresión y pruebas de hipótesis

	Coefficientes tipificados	T	Sig.	FIV
	Beta			
(Constante)		16.728	0.000	
Cambio de moneda Peso-Dólar (Cb)	-.190	-5.227	.000	3.400
Valor total de exportación(pesos) (Vt)	1.095	29.994	.000	3.486
Precio de exportación (Px)	-.347	-16.958	.000	1.095
Producción Nacional en toneladas (Pn)	.044	2.021	.053	1.263

Fuente: Elaboración Propia con datos recopilados de la investigación.

Tabla 2: Resultados ANOVA

Resultados ANOVA			
Prueba F calculada	Prueba F tabulada	Valor de F	R cuadrado ajustado
646.639	> 2.317	0.000 < 0.05	98%

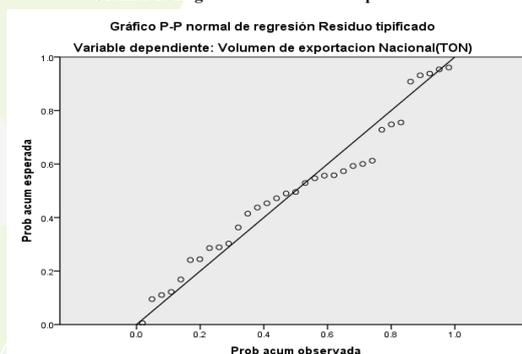
Fuente: Elaboración Propia con datos recopilados de la investigación.

$$VX = 0.190 + 1.095Vt + 0.044Pn - 0.347Px - 0.190Cb$$

Se esperaba que la variable del volumen de exportación depende positivamente de la producción y del valor total de las exportaciones en pesos, y tiene una relación negativa con el precio de exportación y tipo de cambio de la moneda peso-dólar, lo cual es perfectamente comprensible, ya que a menor precio de exportación y un tipo de cambio devaluado aumentan las exportaciones de cebolla de bola, dado que estas variables fomentan el aumento de las exportaciones. Por el contrario, cuando el precio de exportación aumenta y el tipo de cambio se aprecia, las exportaciones disminuyen.

La gráfica 1 muestra el comportamiento de los residuos tipificados derivado del análisis del modelo de regresión múltiple, así mismo muestra la forma en que se distribuyeron los residuos en relación a la distribución normal, señalando la frecuencia acumulada por los residuos con la probabilidad esperada bajo el supuesto de normalidad.

Gráfica 1: Regresión de Residuos Tipificados.



Fuente: Elaboración Propia con datos obtenidos de la investigación.

CONCLUSIONES

El análisis de los datos refleja que existe relación entre el volumen de exportación que ofrecen los productores y las principales variables de valor de exportación, producción nacional así pues las alternativas estratégicas dependerá del tamaño de producción, si se cuenta con capital y talento humano para buscar la mejor opción de comercialización de Exportación a otros mercados de ingresos reales significativos. Las opciones pueden ser obteniendo financiamiento, crear asociaciones y alianzas estratégicas para incrementar la producción, desarrollarse para buscar líneas de investigación para el aprovechamiento de proyectos que otorgan los organismos gubernamentales. Sin embargo, una limitante en las asociaciones es que podría ser que no haya distribución equitativa entre los socios, pero si hay mayor ventaja de participación en los mercados internacionales, en este caso, sería en el impulso a las Exportaciones, así como también dependería las relaciones de solidaridad y colaboración que se tejieran en el seno de la organización socioeconómica de las empresas sociales agrícolas que por naturaleza fomentan una economía social y solidaria (Coraggio, 2011), lo cual contribuiría a una mejor distribución de los ingresos agrícolas. El modelo también nos indica de manera razonable que el precio de exportación y el tipo de cambio impactan negativamente a la exportación. El resultado de las pruebas de hipótesis nos arroja que todas las variables independientes son altamente significativas, ya que contribuyen a explicar la variable dependiente, claro está no está incluida la política promotora de las exportaciones de cebolla bola, que aumentaría evidentemente las exportaciones al otorgar los apoyos tecnológicos, al agregar valor a la cadena productiva de la cebolla, fortaleciendo los SPL, significando el rescate del patrimonio natural y cultural que significa la producción del cultivo en las distintas entidades federativas y diversificando sus exportaciones a mercados internacionales que no sometan a los famosos commodities el precio internacional del cultivo en cuestión.

BIBLIOGRAFÍA

- Castaño A. G. (2011). Dominios .Onion. Universidad Mayor de San Andrés.
- Coraggio J.L. (2011). Economía Social y Solidaria, El trabajo antes que el capital . Quito, Ecuador : Flacso Ecuador, Universidad Politécnica Salesiana. Visto en <http://www.coraggioeconomia.org/jlc/archivos%20para%20descargar/economiasocial.pdf>
- Banco de México (varios años) ver [www. Banxico.org.mx](http://www.Banxico.org.mx)
- Gujarati D. N. (2000). Econometría. Colombia: Ed. McGraw Hill.
- Guzmán L.A. (2014). Tesis: Evaluación de la calidad de los servicios restauranteros: caso de estudio "Restaurant Familiar los Fresnos". Universidad de Guanajuato.
- INEGI (varios años) ver [http:// www.inegi.org.mx](http://www.inegi.org.mx)
- Martin C. L.M., Estrada, R.S. y Padilla H.S.(2011). A propósito Sistema Sectorial, de innovación en la agroindustria Mexicana.. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo: Secretaria de difusión cultural.
- Sanz C.J. (2010). Los sistemas agroalimentarios locales: calidad, territorio y acción colectiva. Periódico: La Jornada del Campo, 13 de febrero de 2010, número 29.

CARACTERÍSTICAS DEL POTENCIAL AGRONÓMICO, CALIDAD FORRAJERA Y DE GRANO DE COLECTAS DE MAÍZ DEL BANCO DE GERMOPLASMA DEL CIMMYT.

Elmer Adair Sanchez Retama¹ y Oralía Antuna Grijalva²

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar las características morfológicas y agronómicas de 6 colectas de maíz (*Zea mays* L.), fueron establecidos en el campo experimental de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Se utilizó un diseño de bloques al azar con dos repeticiones. La parcela experimental consistió de un surco de 3m de largo con una distancia de 0.20m entre planta y 0.75m entre surcos. Se caracterizaron 5 plantas al azar por parcela tomando diferentes variables: Floración femenina (FF), Floración masculina (FM), Altura de planta (AP), diámetro de mazorca (DM), Longitud de mazorca (LM), Número de hileras (NH), Número de granos por hilera (NGP), Rendimiento de mazorca (RM) y Rendimiento de grano (RG).

ABSTRACT

With the objective of evaluating the morphological and agronomic characteristics of 6 maize (*Zea mays* L.) collections, they were established in the experimental field of the Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. A random block design with two replicates was used. The experimental plot consisted of a furrow of 3m long with a distance of 0.20 m between plant and 0.75 between furrows. a total of 5 plants were randomized per plot, taking different variables: female flowering (FF), male flowering (FM), plant height (AP), ear diameter (DM), ear length(LM), number of rows (NH), number of grains per row (NGP), ear yield (RM) and grain yield (RG).

Palabras Clave: caracterización, colectas, maíz blanco, rendimiento.

INTRODUCCIÓN

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 y tecnológicas de los productores, poseen características que les permiten responder a sus gustos alimenticios y preferencias. Wellhausen et al. (1951) con base en características morfológicas y fisiológicas describieron la diversidad en 25 razas diferentes de maíz, tres subrazas y mencionaron siete tipos de maíz poco definidos. Hernández y Alanís (1970) describieron cinco razas adicionales de la Sierra Madre Occidental. McClintock et al. (1981), realizando análisis citogenéticos de más de 40 razas de Mesoamérica, encontraron una gran variación en número cromosómico (al presentarse el cromosoma denominado 10 anormal y los cromosomas B, así como diferencias en la frecuencia y el tamaño de los nudos cromosómicos. Ortega et al. (1991) identificaron 41 razas de las partes altas del centro y norte del país. Sánchez et al. (2000a) reportaron 59 razas considerando a todas las anteriores. Actualmente, incluidos los trabajos realizados por diferentes instituciones, se estima la existencia de un número superior a 65 razas en México

La caracterización de cultivares tiene una aplicación práctica importante en el mejoramiento vegetal, tanto para la identificación de genotipos comerciales como para la estimación de relaciones genéticas (Bonamico et al., 2004). Tradicionalmente, numerosos caracteres morfológicos son usados para describir líneas e híbridos de maíz, los cuales son evaluados en distintas etapas de crecimiento de las plantas. La precisión en la evaluación de estos caracteres va a depender del grado de interacción con el ambiente y de los mecanismos genéticos que controlan la expresión de esos caracteres (Smith y Smith, 1989), los cuales no siempre pueden ser interpretados de modo que pueda hacerse una valoración correcta de las diferencias genéticas (Galovic et al., 2006).

Pecina-Martínez et al., (2009) señalan que en la evaluación del germoplasma introducido de maíz se deben considerar los efectos ambientales sobre las características fenológicas y morfológicas del cultivo, y no sólo sus características productivas.

El objetivo del presente trabajo fue tomar las variables más importantes para posteriormente evaluar las características morfológicas, agronómicas y rendimiento de grano.

MÉTODOS Y MATERIALES

El trabajo se realizó en el campo experimental de la Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro" Unidad Laguna. Se encuentra ubicada en las coordenadas geográficas 103°25'57" de longitud oeste del Meridiano de Greenwich y 25°31'11" de latitud norte, con una altura de 1,123 msnm (Díaz, 2015). El material genético consistió en 6 colectas de maíz. Para el establecimiento del experimento se utilizó un diseño de bloques al azar con dos repeticiones. La parcela experimental consistió de un surco de 3m de largo con una distancia de 0.20 m entre planta y 0.75 entre surcos.

Se midieron las variables de: Floración femenina (FF), Floración masculina (FM), Altura de planta (AP), diámetro de mazorca (DM), diámetro de mazorca (DM), Longitud de mazorca (LM), Número de hileras (NH), Número de granos por hilera (NGP), Rendimiento de mazorca (RM) y Rendimiento de grano (RG). Para el análisis de datos se utilizó un diseño de bloques al azar con dos repeticiones, bajo el modelo lineal:

$$Y_{ijkl} = \mu + R_j + T_k + \varepsilon_{ijk}$$

donde: Y_{ijkl} = observación en la i -ésima observación de la j -ésima repetición en el k -ésimo tratamiento, μ = media general, T_k = k -ésimo tratamiento, R_j = j -ésima repetición y ε_{ijk} = error experimental.

RESULTADOS

Análisis de varianza

En el análisis de varianza (Cuadro 4.1) se observó diferencia estadística ($P < 0.05$) en la fuente de variación colectas de las variables FM, AP, NGP y las variables FF, AM presentaron diferencias altamente significativas ($P > 0.01$). En el resto de las variables no se presentaron diferencias significativas al igual que en la fuente de variación bloques.

Cuadro 1. Cuadros medios y niveles de significancia de caracteres agronómicos de maíces nativos.

Variables	FV				CV (%)
	Colecta	Bloque	Error	Total	
gl					
FM	200.53*	0.01ns	0.0	1002.66	0.01
FF	246.93**	0.01ns	0.00	1234.67	1.44
AP	0.05*	0.005ns	0.002	0.29	2.10
AM	0.06**	0.0003ns	0.002	0.35	3.44
DM	4.77sn	0.76ns	2.36	36.45	3.56
LM	1.68sn	1.76ns	2.03	20.38	9.50
NH	3.09sn	0.03ns	1.55	23.25	8.21
NGP	76.55*	0.45ns	8.93	427.90	9.09
RM	2.01ns	0.85ns	1.23	17.13	15.40
RG	3.98sn	0.81ns	1.26	27.06	34.13

*, **Significativo al 0.01 y 0.05 de probabilidad; ns: no significativo. = FM: floración masculina; FF: floración femenina; AP: altura de planta; AM: altura de mazorca; DM: diámetro de mazorca; LM: longitud de mazorca; NH: número de hileras por mazorca; NGP: número de granos por hilera; RM: rendimiento de mazorca; RG: rendimiento de grano.

Promedio de variables

El tratamiento T3 fue el que presentó mayor días a floración femenina FM o el más tardío con 105 días y para el tratamiento con menor días o más precoz en comparación de los demás tratamientos fue el T2 con 90 días de floración femenina, comportándose todos de una forma diferente refiriéndose a que todos los materiales presentan diferencia significativa.

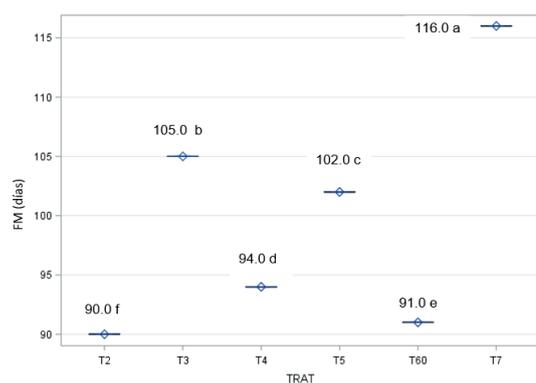


Figura 1. Días a floración masculina

El tratamiento T3 fue el que presentó mayor días a floración femenina FF o el más tardío con 113 días y para el tratamiento con menor días o más precoz en comparación de los demás tratamientos fue el T6 con 96 días de floración femenina, comportándose todos de una forma diferente refiriéndose a que todos los materiales presentan diferencia significativa.

Dentro de los tratamientos utilizados, el de mayor altura de planta fue T3 con 2.81m y T5 con 2.71, los cuales son estadísticamente iguales metros colocándose por encima de los demás tratamientos, el de menor altura fue T6 y T7 que se comportaron de una forma similar y como se puede observar no presentan diferencia significativa entre estos.

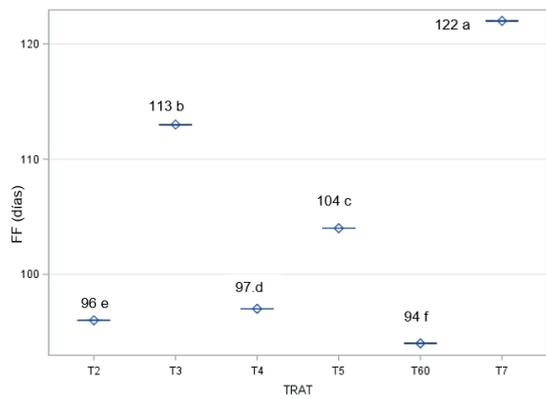


Figura 2. Días a floración femenina

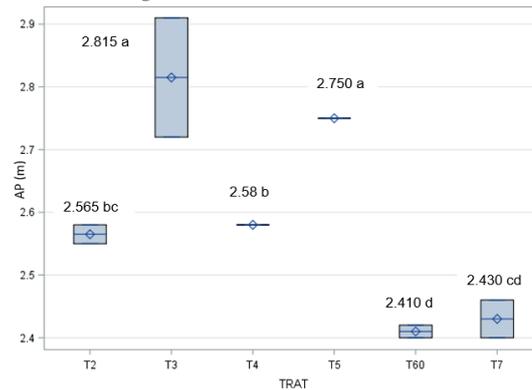


Figura 3. Altura de planta

En cuanto a los tratamientos para altura de mazorca el tratamiento con mayor altura fue el T3 con una altura de uno punto siete metros, sobre saliendo de los demás materiales, y el tratamiento con menor altura de mazorca fue T60 con un punto dos metros seguido de T7, T5, T4, T3 los cuales no presentan estadísticamente diferencia.

El tratamiento con mayor grosor fue el T7 con 45.5 milímetros de diámetro con el cual sobresale de los demás tratamientos, seguido de T60, T5 Y T2 los cuales son estadísticamente iguales, el tratamiento de menor diámetro fue el T4 con 40.8 milímetros y el cual es estadísticamente diferente a los demás.

En general los tratamientos tuvieron un promedio de 15.17 cm. En cuanto a la longitud de mazorca, la que resulto con mayor tamaño es el T2 con una longitud de 16.25cm y con la de menor tamaño fue T5 con 13.68cm. Todos los tratamiento presentan un similar comportamiento respecto a la media por ello no presenta diferencias significativas.

El material que resulto con la mayor cantidad de número de hilera fue el T3 con una cantidad de 18 hileras resultando este diferente a los demás materiales y con menor número de hileras se encuentra el T2 con 12 hileras siendo este diferente a los demás. Lo demás tratamiento presentan un promedio de 14 hileras lo cual los hace estadísticamente iguales.

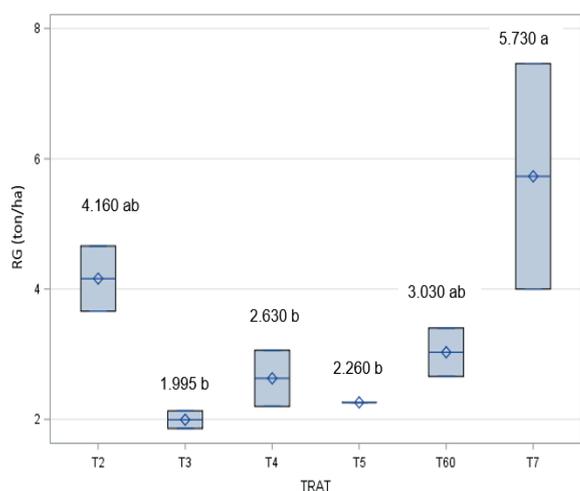


Figura. 10 Rendimientos de grano

El tratamiento con mayor número de granos por hilera fue T60 con 40 granos por hilera posicionado por encima de los demás tratamientos siendo significativamente diferente, el T3 fue el que presenta menor número de grano por hilera con 24 granos, siendo estadísticamente diferente. Para los demás tratamientos T2, T4, T5, Y T7 no hay una diferencia estadística notable todos son similares y por ello se agrupan de manera igual. En cuanto a rendimiento de mazorca, la mayor producción fue por el tratamiento T60 con 8.8 t ha-1. En contraste el tratamiento de menor rendimiento fue T3 con 6.3 t ha-1, seguido por los tratamientos T4, T5 Y T7 estas últimas no presentan diferencia estadística. Los tratamiento en promedio produjeron 7.2 t ha-1. Respecto a rendimiento de grano los tratamientos obtuvieron un promedio de 3.2 t ha-1. Con la mayor producción obtenida fue el T7 con 5.7 t ha-1 colocándose estadísticamente diferente a los demás tratamiento y con la menor producción de grano fue el T3 con 1.9 t ha-1 con lo que consigue colocarse por debajo de todos los tratamientos y ser estadísticamente diferente a ellos.

CONCLUSIONES

- De acuerdo con los resultados se puede concluir que las colectas fueron estadísticamente diferentes.
- La colecta t60 fue el que reflejo el mayor rendimiento de mazorca
- La colecta t7 fue la de mejor rendimiento de grano

BIBLIOGRAFIA

- Bonamico, N.; J. Aiassa, M. Ibañez, M. Di Renzo, D. Díaz y J. Salerno. 2004. Caracterización y clasificación de híbridos simples de maíz con marcadores SSR. *Revista de Investigaciones Agropecuarias* 33 (2): 129-144.
- Galavić V.; S. Mladnovic D., J. Navalusić and M. Zlokolica. 2006. Characterization methods and fingerprinting of agronomically important crop species. *Genetika* 38 (2): 83-96.
- Hernández X., E. y G. Alanís F. 1970. Estudios morfológicos de cinco nuevas razas de maíz de la Sierra Madre Occidental de México- implicaciones filogenéticas y fitogeográficas. *Agrociencia* 5:3-30.
- Ortega R. Y Dzib L. 1992 Recursos genéticos de maíz para la milpa en: Zizumbo et al. (eds) *La modernización de la milpa en Yucatán: utopía o realidad* CICY pp 135-145
- Pecina Martínez, J. A.; M. C. Mendoza Castillo, J. A. López Santillán, F. Castillo González y M. Mendoza Rodríguez. 2009. Respuesta morfológica y fenológica de maíces nativos de Tamaulipas a ambientes contrastantes de México. *Agrociencia* 43 (7): 681-694.
- Sánchez G. J. J.; M. M. Goodman and C. W. Stuber. 2000a. Isozymatic and morphological diversity in the races of maize of Mexico. *Econ. Bot.* 54(1): 43-59.
- Smith, I. S. C. and O. S. Smith. 1989. The description and assessment of distance between inbred lines of maize: I. the use of morphological traits as descriptors. *Maydica*. 34: 141-150.
- Wellhausen, E. J.; L. M. Roberts y E. Hernández X. (en colaboración con P.C. Mangelsdorf). 1951. *Razas de Maíz en México. Su Origen, Características y Distribución.* Folleto Técnico No. 5. Oficina de Estudios Especiales. Secretaría de Agricultura y Ganadería. México, D.F. 239 p.

PREDICCIÓN DE CRUZAS DOBLES Y TRIPLES DE CRUZAS SIMPLES DE MAÍZ

Erick Jonathan Ortiz López¹ y Armando Espinoza Banda¹.

RESUMEN

El maíz ha tomado relevancia desde 1991 con la caída del cultivo del algodón y el surgimiento de la actividad pecuaria en la Comarca Lagunera. Actualmente el 90% del maíz sembrado para grano en la Comarca Lagunera proceden de híbridos comerciales desarrollados para otras regiones del país por compañías multinacionales. Este trabajo se desarrolló en el campo experimental de la UAAAN UL, durante los ciclos primavera y verano de 2017 en condiciones de riego. El material genético utilizado fueron seis líneas endocriadas, de las cuales tres son procedentes del Centro Internacional de Maíz y Trigo (CIMMYT) y tres del programa de mejoramiento de maíz de la UAAAN UL. Se realizó 15 cruzas y los seis progenitores se evaluaron en el Campo Experimental mencionado. La siembra de primavera y verano se realizó el 09 de abril y el 04 de junio respectivamente. Las 15 cruzas posibles se generaron de acuerdo al diseño-II de Griffing. De acuerdo a las 15 cruzas simples utilizadas para la predicción de cruzas triples como dobles, en teoría se generan 60 cruzas triples y 360 dobles. Las cruzas triples en promedio superan en rendimiento a las cruzas dobles.

ABSTRACT

The corn has taken relevance since 1991 with the fall of cotton crop and the rise of the livestock production in the Comarca Lagunera. Actually the 90% of the seeded corn for grain in the Comarca Lagunera come from the commercial hybrids grown for other regions of the country by multinational companies. This work was developed in the experimental station of the UAAAN UL, during spring and summer cycles of 2017 in irrigation conditions. The genetic material used was six inbred lines, three of which were from the Centro Internacional de Maíz y Trigo (CIMMYT) and three from the breeding process corn from the UAAAN UL. It was performed 15 crosses and the six progenitors were evaluated in the experimental station before mentioned. The sowing period of spring and summer took place on April 9th and June 4th respectively. The 15 crosses possible were generated according the design-II Griffing's. according to the 15 simple crosses used for the prediction of triple crosses as double, theoretically are generated 60 triple crosses and 360 double. The triple crosses on average surpass in performance to the double crosses.

Palabras clave: Endocriada, craza doble, craza triple, craza simple y agromorfológicas.

INTRODUCCION

En la Comarca Lagunera, el maíz ha tomado relevancia desde 1991 con la caída del cultivo del algodón y el surgimiento de la actividad pecuaria en la región. Por año se siembran en promedio 45 mil hectáreas en los ciclos primavera y verano. El 90% se siembra con híbridos comerciales para grano de compañías multinacionales desarrollados para otras regiones del país. Por lo general se considera que los híbridos altamente productores de grano son también los mejores en calidad de forraje (Peña et al. 2003), por lo que un alto porcentaje de mazorca o un alto índice de cosecha favorecen los incrementos en la calidad del forraje. De acuerdo a Núñez et al., (2006), la producción en el ciclo primavera es mayor que en verano, lo que se atribuye a las condiciones climáticas que prevalecen en dichos ciclos y, en especial la temperatura, la cual es en promedio 2.6°C más alta en verano (CONAGUA, 2011). De acuerdo a Kumar and Wigge (2010) las plantas son altamente sensibles a la temperatura y pueden percibir una diferencia de hasta un grado centígrado. Aún bajo condiciones óptimas de manejo, el rendimiento se puede reducir hasta 4 por ciento por cada 1°C que aumente la temperatura media debido al acortamiento del período de llenado del grano (Stapper y Fischer, 1990). Por lo anterior, se justifica la generación de híbridos que produzcan bien en ambos ciclos en la Comarca Lagunera. En un programa de mejoramiento cuya finalidad sea la obtención de híbridos, la aptitud combinatoria específica (ACE) es más importante que la aptitud combinatoria general (ACG) ya que con la ACE se puede hacer mejor uso de los efectos no aditivos como la dominancia y la epistasia. Con base a la información de las cruzas simples derivados de un sistema de cruzas dialelicas, es posible predecir las mejores cruzas triples ó trilineales y las cruzas dobles. En principio se planteó el uso como hembras las cruzas simples y alguna otra línea y/o una craza simple como machos, lo que da origen a las cruzas triples y dobles respectivamente (Jones, 1918). La predicción de todas las cruzas posibles triples y dobles, resulta impráctico por el número que resulta. Con 6 líneas, se generan 15, 60 y 360 cruzas simples, triples y dobles respectivamente, por lo que se han generado diversos métodos predictivos. Los más utilizados son los cuatro propuestos por Jenkins (1934) para cruzas dobles.

En el presente trabajo se utilizaron los datos provenientes de un dialelico 6x6 evaluados en dos ambientes con tres líneas del CIMMYT y tres del programa de mejoramiento de maíz de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna, con el objeto de predecir las cruzas triples y dobles más sobresalientes de las 15 cruzas simples.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se desarrolló en el campo experimental de la UAAAN UL, durante los ciclos primavera y verano de 2017 en condiciones de riego. Se usaron seis líneas endocriadas, tres provenientes del Centro Internacional de Maíz y Trigo (CIMMYT) y tres del programa de mejoramiento de maíz de la UAAAN UL, Cuadro 1.

Cuadro 1. Número, descripción y pedigrí de las líneas.

No	Línea	Pedigrí
24	CML-506 (A)	[92SEW2-77/[DMRESR-W]EarlySel-#I-2-4-B/CML386]-B-11-3-B-2-#-BB
25	CML-508(A)	[89[G27/TEWTSRPool]#-278-2-XB/[COMPE2/P43SR//COMPE2]F#-20-1-1]-B-32-2-B-4-#-2-BB
26	CML-509(B)	[92SEW1-2/[DMRESR-W]EarlySel-#L-2-1-B/CML386]-B-22-1-B-4-#-1-BB
23	AN-77-185	P60xAN6-77-185-#-12-5-1
27	AN-82-190	P68xAN7-82-190-#-20-2-1
28	AN-78-186	P64xAN2-78-186-#-18-4-1

Las 15 cruzas y los seis progenitores se evaluaron en el Campo Experimental de la UAAAN-UL en los ciclos agrícolas de primavera y verano del 2017. La siembra de primavera y verano se realizaron el 09 de abril y el 04 de junio respectivamente. Ambas fechas son recomendadas para maíz en la región (SAGARPA, 1999). Las 15 cruzas posibles se generaron de acuerdo al diseño-II de Griffing (1956), Cuadro 2. Además del rendimiento, se tomaron variables agromorfológicas las cuales se excluyen del presente trabajo. El rendimiento de grano se utilizó para la predicción de las cruzas dobles y triples. Para la predicción se utilizaron el método 2 propuesto por Jenkins (1934). Este mes es el más exacto y real para predecir satisfactoriamente el comportamiento de las cruzas dobles (Doxtator y Johnson, 1936; Anderson, 1938; Hayes et al., 1946) además aprovecha la acción génica aditiva y no aditiva (Eberhart et al., 1964).

Cuadro 2. Aptitud combinatoria general (ACG) de las seis líneas y rendimiento (Kg/ha) de las 15 cruzas simples.

	24	25	26	27	28	ACG
23	8213	6633	5680	7014	7245	100.37
24		7268	7858	7315	4639	435.64
25			5977	6604	7265	174.25
26				7219	6617	-187.5
27					4036	-182.86
28						-339.9

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo a las 15 cruzas simples utilizadas para la predicción de cruzas triples como dobles, en teoría se generan 60 cruzas triples y 360 dobles. Estos números son imposibles de evaluar por lo que con base a la ACG, se predijeron las mejores cruzas triples y dobles, consignadas en los cuadros 3 y 4.

En el Cuadro 3, se enlistan las 10 cruzas dobles predichas con los rendimientos más sobresalientes. Los valores medios oscilaron de 7483 a 6841.3 Kg/ha para la craza (23x26)x(24x28) y (23x25)x(24x28) respectivamente. La mejor craza fue (23x26)x(24x28), donde se combinan dos líneas (23 y 24) con valores altos y positivos de ACG y adicionalmente, estas líneas provienen de germoplasma diferente; la línea 23 es germoplasma de la UAAAN y la línea 24 proviene del germoplasma tropical del CIMMYT, pues de acuerdo con De La Cruz et al., (2002) y Ramírez et al., (2007) los mejores resultados heteróticos se obtienen cuando se cruzan líneas no relacionados.

Respecto a la predicción de cruzas triples, en teoría se pueden generar 60 posibles cruzas, sin embargo, en el cuadro 4 se presentan 16 de las mejores cruzas predichas. Los rendimientos de grano en las cruzas más sobresalientes oscilan de 6934.5 a 8035.5 kg/ha. La craza triple predicha 24(23x26) es la más sobresaliente de acuerdo al método B de Jenkin (1934). En la predicción de esta craza intervienen las combinaciones de germoplasma diferente (23x24) y, en el caso de 23x26, ambas líneas del CIMMYT pero de diferente grupo heterótico.

Cuadro 3. Rendimiento medio (Kg/ha) de las cruzas dobles más sobresaliente predichas por el método "B" de Jenkins (1934).

Cruza Doble	CS†	REN‡	Cruza Doble	CS	REN
(23x26)x(24x28)	23x24	8213	(23x24)x(26x27)	23x26	5680
	23x28	7245		23x27	7014
	24x26	7858		24x27	7315
	26x28	6617		24x26	7858
	Media	7483.3		Media	6966.8
(25x26)x(24x28)	24x25	7268	(27x28)x(25x26)	25x27	6604
	25x28	7265		26x27	7219
	24x26	7858		25x28	7265
	26x28	6617		26x28	6617
	Media	7252		Media	6926.3
(23x24)x(25x27)	23x25	6633	(25x26)x(27x28)	25x27	6604
	23x27	7014		25x28	7265
	24x27	7315		26x27	7219
	24x25	7268		26x28	6617
	Media	7057.5		Media	6926.3
(23x25)x(27x28)	23x27	7014	(23x24)x(25x26)	23x25	6633
	23x28	7245		23x26	5680
	25x27	6604		24x25	7268
	25x28	7265		24x26	7858
	Media	7032.0		Media	6859.8
(23x26)x(27x28)	23x27	7014	(23x25)x(24x28)	23x24	8213
	23x28	7245		23x28	7245
	26x27	7219		24x25	7268
	26x28	6617		24x28	4639
	Media	7023.8		Media	6841.3

†Cruza simple

‡Rendimiento

Cuadro 4. Rendimiento medio (Kg/ha) de las cruzas triples más sobresaliente predichas por el método "B" de Jenkins (1934).

Cruza Triple	CS†	REN‡	Cruza Triple	CS	REN
24(23x26)	23x24	8213	23(27x28)	23x27	7014
	24x26	7858		23x28	7245
	Media	8035.5		Media	7129.5
24(23x27)	23x24	8213	24(25x27)	24x25	7268
	24x27	7315		24x27	7315
	Media	7764.0		Media	7291.5
24(23x25)	23x24	8213	25(24x28)	24x25	7268
	24x25	7268		25x28	7265
	Media	7740.5		Media	7266.5
23(24x28)	23x24	8213	25(23x24)	23x25	6633
	23x28	7245		24x25	7268
	Media	7729.0		Media	6950.5
23(24x27)	23x24	8213	25(23x28)	23x25	6633
	23x27	7014		25x28	7265
	Media	7613.5		Media	6949.0
24(26x27)	24x26	7858	23(24x26)	23x24	8213
	24x27	7315		23x26	5680
	Media	7586.5		Media	6946.5
24(25x26)	24x25	7268	23(25x28)	23x25	6633
	24x26	7858		23x28	7245
	Media	7563.0		Media	6939.0
23(24x25)	23x24	8213	25(27x28)	25x27	6604
	23x25	6633		25x28	7265
	Media	7423.0		Media	6934.5

†Cruza simple,

‡Rendimiento

CONCLUSIONES

De acuerdo a la predicción de las cruzas dobles y triples generadas con el método “B” de Jenkins (1934):

Las mejores cruzas dobles fueron: (23x26)x(24x28), (25x26)x(24x28) y (23x24)x (25x27), con rendimientos de 7483.3, 7252 y 7057.5 kg/ha respectivamente.

La mejores cruzas triples predichas fueron: 24(23x26), 24(23x27) y 24(23x25) con rendimientos 8035.5, 7764.0 y 7740 Kg/ha.

Las cruzas triples en promedio superan en rendimiento a las cruzas dobles.

BIBLIOGRAFÍA

- Anderson, D C (1938) The relation between single and double cross yield in corn. *Jour. Am. Soc. Agron.* 30:209-211.
- Doxtator C W and IJ Johnson (1936) Prediction of double cross yields in corn. *J. Am. Agron.* 28: 460-462.
- Eberhart S A, Penny L. H. and Sprague G F (1964) Intraplot competition among maize single crosses. *Crop Sci.* 4: 467-471.
- Griffing B J (1956) Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Aust. Biol. Sci.* 9: 463-493.
- Hayes H K, Rinke E H and Tsiang Y S (1946) Experimental studies on conversant and backcrossing in corn. *Minn. Agric. Exp. Stat Tech. Bull.* 172: 3-4.
- Jenkins M T 1934. Methods of estimating the performance of double in corn. *J. Amer. Soc. Agron.* 26:199-204.
- Jones, D.F. 1918. The effects of inbreeding and cross-breeding upon development. *Conn. Agric. Exp. Sta. Bull.*, 207: 5-100.
- Kumar S V and Wigge P A (2010) H2A.Z-Containing Nucleosomes Mediate the Thermosensory Response in Arabidopsis. *Cell*, 140, 136-140.
- La Cruz L L de, J Ron P, J L Ramírez D, J J Sánchez G, M M Morales R, M Chuela B, S A Hurtado P, S Mena M (2003) Heterosis y aptitud combinatoria entre híbridos comerciales y germoplasma exótico de maíz en Jalisco, México. *Rev. Fitotec. Mex.* 26 (1): 1-10.
- Núñez H G, A Peña R, F González C, R Faz C (2006) Características de híbridos de maíz de alto rendimiento y calidad nutricional de forraje. In: *Maíz Forrajero de Alto Rendimiento y Calidad Nutricional*. J G Martínez R, Y I Chew M, I Reyes J, G Núñez H (eds). Libro Científico Núm. 3. INIFAP-CIRNOC- CELALA. pp:45-97.
- Peña RA, Núñez HG, González CF (2003) Importancia de la planta y el elote en poblaciones de maíz para el mejoramiento genético de la calidad forrajera. *Téc. Pecu. Méx.* 41(1): 63-74.
- Ramírez D J L, M Chuela B, V A Vidal M, J Ron P y F Caballero H (2007) Propuesta para formar híbridos de maíz combinando patrones heteróticos. *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 30 (4): 453 - 461.
- SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural). 1999. Paquetes tecnológicos y costos de producción de los principales cultivos de la Comarca Lagunera. Ciudad Lerdo, Durango, México.

POLISACÁRIDOS ESTRUCTURALES DE BROTES FLORALES (TUNITAS) Y NOPALITOS DE NOPALEA COCHENILLIFERA

Fernando Elías Navarro-Campos y Cristian López-Palacios

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo la extracción y cuantificación de polisacáridos estructurales de cladodios jóvenes de nopal (nopalitos) y brotes florales (tunitas) de cuatro estadios de desarrollo diferentes de *Nopalea cochenillifera*. Se recolectaron nopalitos y tunitas de consumo alimentario en Rioverde, S.L.P. y se desespinaron, liofilizaron y molieron en mortero. La extracción, purificación y cuantificación de los polisacáridos se hizo en secuencia por medio de extractos acuosos. El diseño experimental empleado fue completamente al azar y prueba de comparación múltiple de medias de Tukey. El estadio 2 del brote floral tuvo mayor abundancia de mucílago y hemicelulosas débilmente unidas ($p \leq 0.05$). No hubo diferencias significativas en el contenido de pectinas de las muestras ($p > 0.05$). El estadio 4 del brote floral tuvo mayor contenido de hemicelulosas fuertemente unidas ($p \leq 0.05$). Se encontró mayor contenido de celulosa en los estadios 1, 2 y 4 ($p \leq 0.05$). Los brotes florales tuvieron mayor presencia de polisacáridos estructurales y fibra alimentaria en contraste con los nopalitos.

ABSTRACT

The aim of this work was the extraction and quantification of structural polysaccharides from edible young cladodes (nopalitos) and floral buds (tunitas) of *Nopalea cochenillifera* at four growth stages. Nopalitos and tunitas of alimentary use in Rioverde, S.L.P. were collected. After were cut, freeze-dried and crushed in a mortar. The extraction, purification and quantification of structural polysaccharides was done by sequential extraction with aqueous solvents Completely randomized design and Tukey test was used. Growth stage 2 of floral bud had the greater mucilage and hemicelluloses loosely bound content ($p \leq 0.05$). The content of pectins was not significantly different among the samples ($p > 0.05$). Growth stage 4 of the floral bud had the greater hemicelluloses tightly bound content ($p \leq 0.05$). The growth stages 1, 2, and 4 had the higher content of cellulose ($p \leq 0.05$). The floral buds had the higher content of structural polysaccharides and dietary fiber in contrast with nopalitos.

Palabras clave: estadio de desarrollo, *Nopalea cochenillifera*, nopalito, polisacáridos estructurales, tunita

INTRODUCCIÓN

El cultivo del nopal es de gran importancia por su consumo como alimento y como materia prima para elaborar medicamentos, cosméticos, y otros productos (Pérez, 1998). *Nopalea cochenillifera* es uno de los hospederos del insecto cochinilla (*Dactylopius coccus*) de donde se obtiene un tinte rojo natural del que deriva su nombre científico (Chávez, 2011). La distribución de *N. cochenillifera* aumentó a finales del siglo XV, cuando se introdujo como cultivo comercial para la cría de insectos cochiniles, así como para proporcionar forraje o como plantas ornamentales en los países mediterráneos y en las regiones tropicales de América del Sur, El sudeste de Asia, las islas del Pacífico y el África subsahariana (Puente-Martínez, 2006; Chávez, 2011; Lim, 2012). En México, los cladodios jóvenes (nopalitos) y los brotes florales (tunitas) de *N. cochenillifera* se consumen como hortalizas, sus cladodios maduros se utilizan como forraje en varias partes del mundo y las plantas como cercas vivas y ornamentales (Puente-Martínez, 2006). En la literatura existen descripciones de los cladodios así como estudios sobre su producción en nopalitos del género *Opuntia* (López-Palacios et al., 2010). Sin embargo, no existen estudios de estos compuestos en *Nopalea*. Asimismo, el consumo de los brotes florales o tunitas en el municipio de Rioverde, S.L.P. y la composición de fibra alimentaria del mismo no se ha documentado.

El uso múltiple de los nopales es, en parte, debido a su contenido u obtención a partir de ellos de vitaminas, minerales, antioxidantes, fibra alimentaria, hidrocoloides y colorantes naturales (Sáenz, 2002 y 2004). Es posible que, en parte, una de las propiedades del nopal la que lo ubica entre los alimentos catalogados como funcionales por su riqueza en polisacáridos estructurales (fibra alimentaria) (Álvarez y Peña-Valdivia, 2009). La fibra alimentaria está conformada principalmente por polisacáridos, de los cuales los denominados estructurales, son componentes importantes de los vegetales pues al formar parte de las paredes celulares cumplen funciones estructurales, y proporcionan rigidez y firmeza a los tejidos (Álvarez y Peña-Valdivia, 2009). Los frutos de *Nopalea* tienen claras desventajas con respecto a los frutos de *Opuntia*, que son altamente valorados en diferentes partes de México y otros países. Por lo tanto, el consumo y la venta de frutos de *Nopalea* es poco conocido, y aparentemente sólo ocurre antes de que los frutos de *Opuntia* maduren. Esta es la razón por la cual los frutos de *N. cochenillifera* han recibido poca atención.

Por tal motivo, el objetivo del trabajo fue la extracción y cuantificación de los polisacáridos estructurales en nopalitos y cuatro estadios de desarrollo de brotes florales (tunitas) de *N. cochenillifera* de consumo alimentario en Rioverde, S.L.P. La hipótesis fue que hay mayor contenido de polisacáridos estructurales solubles en los brotes florales que en los nopalitos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Nopalitos y brotes florales (tunitas) de *N. cochenillifera* fueron cosechados de una plantación de solar del municipio de San Ciro de Acosta, S.L.P (21° 39' N y 99° 49' O) durante el mes de julio de 2016. Las tunitas se seleccionaron en cuatro estadios de desarrollo de acuerdo al su tamaño, mientras que los nopalitos fueron de tamaño comercial. Se trasladaron en hielera a los laboratorios de Ingeniería Agroindustrial en la Unidad Académica Multidisciplinaria Zona Media, se desespinaron, se cortaron, se envolvieron en papel aluminio, se sometieron a congelación y posteriormente se liofilizaron (Labconco modelo freezone 2.5; EE.UU.) posteriormente se molieron en mortero de porcelana; las muestras maceradas se colectaron en tubos de 50 ml para centrifuga.

Para la extracción de los polisacáridos se empleó la técnica descrita por Álvarez y Peña-Valdivia (2009) y probadas por López-Palacios et al. (2012). En la cual se realizó una extracción en secuencia con solventes acuosos (H₂O, C₂H₈N₂O₄ al 0.5 %, KOH al 5 y 24 %) para mucílagos, pectinas y hemicelulosas débilmente y fuertemente unidas, respetivamente. A partir de un peso conocido de polvo de nopalito se extrae el mucílago, mediante ebullición de la muestra en agua destilada. El tejido sin mucílago se separa de la fase acuosa (que contiene al mucílago) por centrifugación (4500 rpm) y es utilizado para solubilizar las pectinas en una solución quelante de oxalato de amonio al 0.5 %, la extracción de ambos polisacáridos se hace en baño María. Las pectinas en la fase acuosa son separadas por centrifugación (4500 rpm). Las hemicelulosas débilmente unidas (HDU) y las hemicelulosas fuertemente unidas (HFU) son disueltas en secuencia, con soluciones acuosas de KOH al 5 % y al 24 %, respectivamente, del residuo sólido (sin mucílago ni pectinas) con al menos 12 horas de agitación constante (500 rpm) en agitador orbital. Finalmente, la celulosa se obtiene por lavado acuoso del residuo del tejido sin mucílago, pectinas ni hemicelulosa. Todas las extracciones se realizan por triplicado. Los polisacáridos (mucílago, pectinas y hemicelulosas) en cada una de las soluciones acuosas son precipitados al mezclar cada solución con etanol frío (mantenido previamente en el congelador -20 °C). Para asegurar que todos los polisacáridos precipiten, las mezclas etanólicas deben permanecer al menos 12 h en refrigeración. Los polisacáridos respectivos, una vez precipitados por acción del etanol, son concentrados mediante centrifugación a 4500 rpm y aislados después de eliminar el sobrenadante. Los polisacáridos así obtenidos y la celulosa son purificados por diálisis en membrana (Spectra de 1.8 mm de espesor) contra agua de 72 a 96 h.

Después de la diálisis, los polisacáridos son secados en estufa a 65 °C (Thermo Scientific Heratherm APS Mechanical Oven; EE.UU.). Las muestras ya secas fueron pesadas en una balanza analítica (Ohaus ex324/ad; EE.UU.) y se contabilizaron como gramos por 100 g de materia seca (g 100 g⁻¹ MS).

El diseño experimental fue un completamente al azar con tres repeticiones en donde un nopalito y una tunita fueron una unidad experimental. Los datos se sometieron a ANDEVA, comparación múltiple de medias con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) con el software InfoStat.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El contenido de mucílago en el brote floral del estadio de crecimiento 2 tuvo diferencias significativas ($p < 0.05$) con respecto al estadio de crecimiento 4 y el nopalito. En los otros estadios florales no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$). Las pectinas no mostraron diferencias significativas entre los brotes flores ni con los nopalitos ($p > 0.05$). En HDU y HFU el estadio de desarrollo 2 de los brotes florales tuvo el mayor contenido respecto al resto a los nopalitos ($p < 0.05$). La celulosa no tuvo diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los brotes florales de los estadios 1, 2 y 4 mientras que entre el estadio 3 y el nopalito tampoco se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Contenido de polisacáridos estructurales (g 100 g⁻¹ MS) en cuatro estadios de desarrollo de tunitas y nopalitos de tamaño comercial de *N. cochenillifera*. Letras diferentes en columna indican diferencias significativas (Tukey, $p < 0.05$).

Estadio	Mucílago	Pectinas	HDU	HFU	Celulosa
Botón 1	7.43ab	6.20a	3.13b	2.20ab	12.80a
Botón 2	9.83a	5.47a	11.67a	2.50ab	13.53a
Botón 3	8.03ab	6.00a	7.37ab	3.30ab	8.33ab
Botón 4	5.60c	8.13a	5.83ab	4.43a	13.90a
Nopalito	1.90c	5.10a	5.47ab	1.77b	5.53b

Los órganos de la planta mostraron diferencias significativas en el contenido de polisacáridos estructurales, los atributos contenidos se infiere que varían de acuerdo al tipo de órgano y a la etapa fenológica. Los resultados obtenidos fueron similares a los obtenido por López-Palacios et al (2012) para nopalitos de cinco especies. Cabe mencionar que probablemente la concentración mayor de polisacáridos estructurales se encuentra en los brotes florales debido a que en la etapa de fecundación, amarre y llenado de fruto la planta transporta los nutrientes necesarios para la buena formación del fruto, por lo que el transporte de agua se dirige a este órgano y por ende el contenido de polisacáridos estructurales que puedan dar estructura al fruto.

La fibra alimentaria se divide en fibra insoluble (FI), soluble (FS) y total (FT). La FI está constituida por las HFU y la celulosa mientras que la FS por el mucílago, las pectinas y las HDU. La fibra alimentaria total es el resultado del conjunto de polisacáridos estructurales. Los resultados obtenidos mostraron que la FI fue más abundante en los estadios 2 y 3 de los brotes florales en comparación de la FS. En tanto que en los estadios 1 y 4 el contenido promedio de la FI y FS fueron muy similares ($p > 0.05$). Para el caso de nopalito (NOP) se encontró que tuvieron el menor contenido de fibra alimentaria tanto soluble como insoluble (Figura 1).

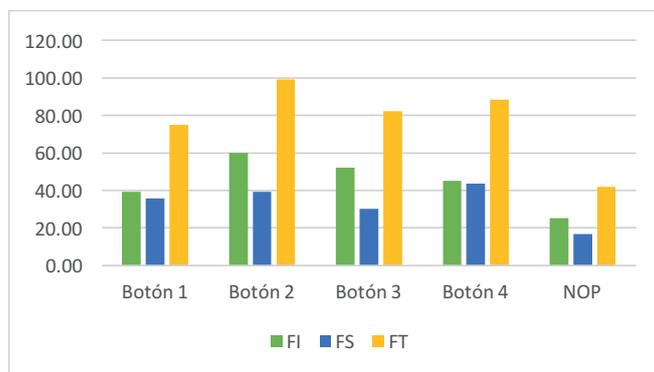


Figura 1. Contenido de fibra alimentaria insoluble (FI), soluble (FS) y total (FT) (g 100 g⁻¹ MS) de cuatro estadios de desarrollo de tunitas y nopalitos de *N. cochenillifera*.

CONCLUSIÓN

La cantidad de polisacáridos estructurales es mayor en brotes florales (tunitas) de *N. cochenillifera* en comparación con los cladodios jóvenes (nopalitos) de la misma especie. Esto se puede atribuir a que es mayor la formación estructural del fruto y del transporte de nutrientes hacia este. Se ha encontrado que la planta produce más FS cuando es sometida a sequía por lo tanto se infiere que al estar en etapa reproductiva acelera el metabolismo para la generación de frutos es por ello que podemos encontrar variabilidad de contenido de polisacáridos de acuerdo con la etapa fenológica.

BIBLIOGRAFÍA

- ÁVAREZ, A. & PEÑA-VALDIVIA, C. (2009) Structural polysaccharides in xoconostle (*Opuntia matudae*) fruits with different ripening stages. *J of the Prof Assoc for Cactus Develop.* 11: 26 – 44.
- CHÁVEZ, C., TECANTE, A., CASA, A. & CLAPS, E. (2011) Distribution and habitat in Mexico of *Dactylopius costa* (Hemiptera; Dactylopiidae) and their cacti hosts (Cactaceae: Opuntioideae). *Neotrop. Entomol.* 40: 62–71.
- LIM, K. (2012) Edible medicinal and non-medicinal plants. Fruits. Springer, Germany
- LÓPEZ-PALACIOS, C., PEÑA-VALDIVIA, C.B., REYES-AGÜERO, J.A. & RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, A.I. (2012) Effects of domestication on structural polysaccharides and dietary fiber in nopalitos (*Opuntia* spp.). *Gen Resour Crop Evol* 59: 1015-1026.
- LÓPEZ-PALACIOS, C., REYES-AGÜERO J.A., RAMÍREZ-TOBIAS H.M., JUÁREZ-FLORES, B.I. y AGUIRRE-RIVERA J.R., YAÑEZ-ESPINOSA, L. & RUIZ-CABRERA, M.A. (2010) Evaluation of attributes associated with the quality of nopalito (*Opuntia* spp. and *Nopalea* sp.). *Ital. J. Food Sci.* 22: 423–43
- PÉREZ, F. (1998.) Tecnología para el procesamiento del nopal. Equipo para el desespinao del nopal verdura. *Industria Alimentaria* 20: 10-11.
- PUENTE-MARTINEZ, R. (2006) Hummingbirds and prickly-pears: flower adaptations in the genus *Nopalea*. *Son. Quarterly.* 60:4–6.
- PUENTE-MARTINEZ, R. & PINKAYA, D. (2002) Taxonomic revision and phylogeny of *Nopalea* (Cactaceae-Opuntioideae). In: *Proceedings of the Fifth Annual Baja California Botanical Symposium* (J. Reberman, ed.), pp. 4–5. San Diego Natural History Museum. San Diego.
- SÁENZ, C. (2002) Cactus pear fruits and cladode: a source of functional components for foods. *Acta Horticulturae* 581: 253-263.
- SÁENZ, C. (2004) Compuestos funcionales y alimentos derivados de *Opuntia* spp. In: G. Esparza F., R. D. Valdés C. S. De J. Méndez G (eds). *El nopal. Tópicos de actualidad.* Universidad Autónoma de Chapingo-Colegio de Postgraduados. Pp.211-222



EFECTOS DE LA ACTIVIDAD BIOQUÍMICA EN SUELOS ENMENDADOS CON BIOSOLIDOS

Hernández Bautista Laura Lidia¹ y Conde Bajaras Eloy²

RESUMEN

La actividad bioquímica de los suelos está constituida por una serie de reacciones catalizadas por enzimas, esta se ve afectada por la temperatura, humedad, y disponibilidad de nutrientes para su metabolismo, aunado a esto se ha buscado mejorar la calidad de los suelos. El uso de enmiendas orgánicas para mejorar sus propiedades, en este caso el suelo a estudiar se ha enmendado con biosólidos, los cuales cumplen con los requisitos solicitados en NOM 004, para ser usados como mejoradores de suelo, de igual manera se tiene que tomar en cuenta como los biosólidos afectan o benefician las propiedades de los suelos. El suelo presentó un cambio en su textura aumentando su contenido de arena por lo tanto incrementó el contenido de poros y mejoró el % CRA, por lo tanto, se observaron cambios muy notorios que igual pudieron verse afectados por el ciclo del cultivo del maíz.

Palabras clave: Biosólido, Actividad enzimática, Biomasa microbiana

ABSTRACT

The biochemical activity of soils is constituted by a series of reactions catalyzed by enzymes, this is affected by the temperature, humidity, and availability of nutrients for their metabolism, in addition to this has sought to improve the quality of soils. The use of organic amendments to improve their properties, in this case the soil to be studied has been amended with biosolids, which meet the requirements requested in NOM 004, to be used as soil improvers, just as it has to be taken in Counts how biosolids affect or benefit the properties of soils. The soil presented a change in its texture increasing its sand content therefore increased the pore content and improved % CRA, therefore, very remarkable changes were observed that could also be affected by the maize crop cycle.

Key words: Biosolids, Enzymatic activity, Microbial biomass

INTRODUCCIÓN

La actividad bioquímica del suelo está constituida por una serie de reacciones catalizadas por enzimas, producidas por los organismos del suelo, principalmente los microorganismos. La importancia de las enzimas del suelo radica en los procesos naturales del suelo como es la fertilidad, productividad, mineralización de nutrientes y su relación con los ciclos biogeoquímicos como el del carbono y nitrógeno (Nannipieriet al., 1995). El suelo a estudiar fue enmendado con biosólidos provenientes de una planta de tratamiento de aguas residuales domésticas, que ha sido sometido a procesos de estabilización y que por su contenido de materia orgánica, nutrientes y características adquiridas después de su estabilización, puedan ser susceptibles de aprovechamiento (NOM-004-SEMARNAT-2002). Actualmente, la utilización de los biosólidos en la agricultura ha dado beneficios a los agricultores, como efecto se ha demostrado ampliamente que las enmiendas orgánicas incrementan la actividad microbiana en el suelo y por ende la actividad enzimática (Fraser et al., 1988; Martens et al., 1992; Perucci, 1992). La descomposición de la materia orgánica y la disponibilidad de nutrientes en los suelos son controlados por las enzimas presentes en el suelo por lo cual estas pueden ser utilizadas como indicadores de calidad del suelo (Lakhdaret al., 2010; Singh et al., 2012; Srivastava et al., 2014).

Las diferentes actividades humanas producen aguas residuales, las cuales después de un proceso de tratamiento, contienen grandes cantidades de sólidos orgánicos e inorgánicos suspendidos, los cuales después del proceso de estabilización pueden ser utilizados como mejoradores de suelos y se conocen como biosólidos (Coker et al., 1991). El problema de los biosólidos se ha enfocado a la generación de grandes volúmenes y a su adecuada disposición, ya que en la actualidad son enviados a los rellenos sanitarios reduciendo la vida útil de estos, además de que se pueden generar lixiviados y gases de efecto invernadero (Jokela et al., 1990).

La aplicación de lodos residuales reduce costos de fertilización, además de mejorar las propiedades químicas y físicas del suelo, por contener buena cantidad de nitrógeno, fósforo, materia orgánica y micronutrientes esenciales en la nutrición vegetal que ayudan a incrementar el rendimiento de los cultivos debido a que varios de estos no están disponibles en cantidades suficientes en los suelos (Hue, et al., 1998; Williamson, et al., 2000). Las principales formas de aplicar los biosólidos residuales al suelo son semilíquido o deshidratado, el semilíquido posee altos contenidos de amonio disponible en un 60 % el primer año, con buenos resultados en el rendimiento de los cultivos, el 40 % restante se libera lentamente durante dos o tres años. En el lodo deshidratado, la materia orgánica se descompone más lentamente, liberando al nitrógeno en un 20 % en el primer año y el restante en los cinco años posteriores (Bingham, et al., 1996).

La velocidad de la reacción catalizada por una enzima depende del pH, de la fuerza iónica, de la temperatura y de la presencia o ausencia de inhibidores (Burns, 1982). La actividad enzimática del suelo es importante porque refleja el estado en el que se encuentran sus poblaciones microbianas y su relación con la biología del suelo, la producción de biomasa, la degradación de contaminantes y la conservación de ecosistemas (Doran, 2002; Gianfreda y Ruggiero, 2006).

En agricultura, la actividad enzimática y otros indicadores biológicos, como la biomasa microbiana, se emplean como una medida de la fertilidad y del impacto de esta actividad en los suelos (García-Ruiz et al., 2008); en análisis ambiental, como un indicador de contaminación (Schinneret al., 1993), y en biotecnología, como medida de la eficiencia de los tratamientos biológicos para remediar suelos impactados por diferentes contaminantes, como los hidrocarburos o metales pesados (Margesinet al., 2000). Las enzimas del suelo más estudiadas son las oxidorreductasas (en particular, deshidrogenasas, catalasas y peroxidasas) y las hidrolasas (sobre todo fosfatasa, proteasa y ureasa); menos estudios se han llevado a cabo sobre otras enzimas del tipo transferasas o liasas.

El objetivo de este trabajo es comparar que cambios presenta un suelo enmendado con biosólidos en sus propiedades fisicoquímicas y biológicas antes y después de la enmienda con biosólidos.

MÉTODOS Y MATERIALES

El suelo a estudiar se ubica en el municipio de Celaya del estado de Guanajuato, México se encuentra a una altura de 1750 msnm con una temperatura promedio de 20 °C, y una precipitación pluvial de 603 mm por año cerca de la planta tratadora de agua del municipio con coordenadas N 20° 30.441', W 100° 52.000'. Se realizaron 2 muestreos, el primero fue antes de agregar el biosólido y el segundo fue a los 120 días después de anexarlos. Los biosólidos se obtuvieron de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Urbanas, ubicado en coordenadas 100° 51.3838' Longitud Oeste 20° 30.4655' Latitud Norte y una altitud de 1750 msnm.

El muestreo se realizó a una profundidad de 0 – 25 cm y se hizo una división en 3 subparcelas (A, B y C) cada una de 30 m por 30 m, se efectuó un muestreo en zigzag con 9 puntos en cada zona, obteniéndose muestras compuestas de 10 kg. Las muestras obtenidas se trasladaron al laboratorio para sus análisis, se dejaron secar al aire por 10 días, se tamizaron a 2 mm y se refrigeraron a 4°C hasta su correspondiente análisis.

Las propiedades fisicoquímicas que se determinaron fueron: Textura mediante el método de Bouyoucos, conductividad eléctrica (C.E.) y pH mediante el método potenciométrico en una suspensión de suelo- agua 1:2.5 (Thomas, 1996), humedad por gravimetría, capacidad de retención de agua (CRA) (Nannipieri, 1955), estos dos últimas determinaciones son fundamentales para poder medir otros parámetros, así también se calculó el porcentaje del carbono orgánico total (%COT) por el método de Walkley y Black (1934). De igual manera se calculó el nitrógeno inorgánico: nitratos (NO₃-), nitritos (NO₂-) y amonio (NH₄⁺) por método colorimétrico.

Las propiedades biológicas y bioquímicas que se evaluaron fueron: carbono de la biomasa microbiana (C-BM), actividad microbiana mediante la técnica de hidrólisis de la fluoresceína diacetato (FDA), ureasa y la actividad de 19 enzimas mediante el kit APYZIM®. Primeramente se pre incubaron 20 g de suelo y se ajustó al 40% de su CRA por 7 días en la oscuridad para activar a los microorganismos presentes, se usó NaOH 1M para capturar el CO₂. El C-BM se determinó mediante el método respiración inducida por sustrato (SIR por sus siglas en inglés) siendo para este caso glucosa el sustrato y el resultado se reporta mg de Cmic kg⁻¹ de suelo seco (Anderson y Domosh, 1978). La actividad microbiana se evaluó mediante la hidrólisis FDA por diferentes enzimas, como son las proteasas, lipasas y esterases dando como resultado la fluoresceína, la cual es medida a través de un espectrofotómetro a 490 nm (García y Hernández, 2004). La actividad ureasa se basa en la determinación de amonio liberado en las muestras de suelo incubado con solución de urea durante 2 h a 37°C, la determinación del amonio producido es mediante espectrofotómetro a 690 nm (Alef y Nannipieri, 1998; Quintero-Lizaola et al., 2005). La ureasa es una exoenzima que cataliza la reacción de hidrólisis de la urea, el principal producto celular nitrogenado de la degradación de las proteínas y los ácidos nucleicos, el cual es más fácil de eliminar que otras formas de nitrógeno (como el amoníaco) porque es soluble en agua y menos tóxico (Quintero-Lizaola et al., 2005). Los microorganismos del suelo se alimentan de la orina del animal, produciendo ureasa para transformar la urea en amoníaco, que es entonces fácilmente accesible a las plantas (García et al., 2003). La determinación de 19 enzimas entre las que destacan la familia de fosfatasa, esterases, amino peptidasas, proteasas y glicosil hidrolasas por el kit APYZIM® se realizó mediante la obtención de un extracto enzimático con la metodología de Boluda et al. (2014) y la lectura de los valores obtenidos fue mediante la carta de colores establecida por el proveedor bioMérieux.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Dentro de los resultados obtenidos en la Tabla 1 se observan las propiedades fisicoquímicas, la textura del suelo presentó un cambio de arcilloso a franco esto se debe a que los biosólidos aportan una gran cantidad de partículas de arena aumentando el espacio de los poros y disminuyendo la proporción de las arcillas con respecto a las otras partículas, lo cual representa un beneficio para la penetración de las raíces de los cultivos y mejorando el manejo de los suelos para fines agrícolas. De igual manera la CRA presentó un incremento de 17 %, este resultado parece contrario a lo esperado ya que al incrementar el contenido de arena y disminuir

el contenido de arcilla en la distribución de las partículas del suelo, aumentan el espacio poroso y por lo tanto la filtración del agua debe ser más rápida y debería disminuir la CRA, sin embargo, este incremento se puede atribuir al proceso de estabilización de los biosólidos ya que poseen un floculante derivado de una sal de acrilato que puede ser el causante de la retención de humedad en el suelo (Guerrero et al., 2001). El pH no presentó cambios manteniendo su valor en el correspondiente a suelo neutros, con respecto a la C.E. aumento 50% con la aplicación de los biosólidos esto era de esperarse, ya que los biosólidos por si solos presentan una C.E. elevada (6.5 dS/m). La MO incremento un 92% lo cual era de esperarse con la adición de los biosólidos, sin embargo es necesario realizar estudios de mineralización de C para poder establecer si materia orgánica del biosólido tiene un efecto positivo o negativo en el suelo de estudio. Por último, para las fuentes de nitrógeno inorgánico (NO₃⁻, NO₂⁻ y NH₄⁺) presentaron un incremento mayor al 100 %, lo cual es benéfico al tratarse de un suelo agrícola, ya que los cultivos pueden aprovechar estos como nutrientes y así

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas de suelo sin biosólido (día 0) y suelo con biosólido (día 120)

Día	Textura	CRA (%)	pH	C.E. (dS/m)	M.O (%)	COT (%)	N-NH ₄ ⁺	N-NO ₃ ⁻	N-NO ₂ ⁻
0	Arcilloso	103.64 (2.16)	6.83 (1.52)	0.67 (0.17)	2.67 (0.65)	1.55 (0.38)	20.57 (1.99)	23.12 (4.07)	0.47 (0.08)
120	Franco	121.27 (9.11)	6.80 (0.13)	1.01 (0.16)	5.13 (2.73)	2.98 (1.59)	193.18 (70.20)	164.03 (36.85)	1.81 (0.61)

* Las unidades de estos parámetros son mg N kg⁻¹ suelo seco. El valor entre paréntesis es la desviación estandar

se obtendrá mayor rendimiento y productividad de estos sin empobrecer el suelo, ya que el ciclo del cultivo posiblemente influye de manera directa en el ciclo de los nutrientes, o la disponibilidad de los mismos. El contenido de C-BM presentó un decremento de 23% coincidiendo con la actividad enzimática FDA, que disminuyó un 77% a los 120 días. Esto puede tener diversas explicaciones como que la actividad enzimática depende de la disponibilidad de sustratos para la reacción que cataliza en el suelo, el estado del cultivo que se tiene en el suelo al momento del muestreo y también puede deberse a la disminución de las partículas arcillosas según lo establecido por Green et al. (2006), encontraron una asociación positiva entre FDA y contenido de arcillas, ya que en un suelo con alto contenido de arcilla (57 %), presentó mayor actividad FDA en comparación con otros que no superaban el 21%. Por otro lado, la actividad ureasa incrementó, así también la producción de amonio y nitratos aumenta correlacionando positivamente la actividad ureasa con las fuentes de nitrógeno y así se puede confirmar que la actividad ureasa es beneficiada si el suelo cuenta con suficiente nitrógeno.

Tabla 2. Propiedades bioquímicas de suelo sin biosólido (día 0) y suelo con biosólido (día 120)

Día	C-BM (mg C _{mic} /kg suelo seco)	FDA (mg Fluoresceína/kg suelo seco/h)	Ureasa (mg N-NH ₄ ⁺ /kg suelo seco/h)
0	665.13 (153.31)	20.79 (5.43)	206.08 (20.56)
120	512.28 (120.25)	4.69 (0.83)	1540.6 (98.71)

La actividad enzimática determinada por el kit APIZYM® mostró que la actividad fosfatasa ácida y la fosfohidrolasa incrementa con el biosólido mientras que la fosfatasa alcalina disminuye, lo cual puede correlacionarse con el pH del suelo el cual es un suelo neutro, pero el valor del pH se encuentra por debajo de 7 siendo ligeramente ácido. Además se observa que la actividad de las enzimas esterasa-lipasa y Lipasa también disminuyeron coincidiendo con la actividad FDA que es una medida indirecta de estas, sin embargo, la actividad Esterasa incrementó, de igual manera las enzimas Leucina y Valinaarilamidasa también aumentan a los 120 días mientras que la Cisteína arilamidasa ya no presenta actividad. Por último, las proteasas (Tripsina y α-Quimiotripsina) y la mayoría de las glucosidasas presentan baja actividad antes de la adición del biosólido y a los 120 días de adición ya no presentaron actividad, con excepción de β-Glucoronidasa y α-Manosa que no presentan actividad con y sin biosólidos y la β-Galactosidasa y β-Glucosidasa que su actividad no presenta cambios.

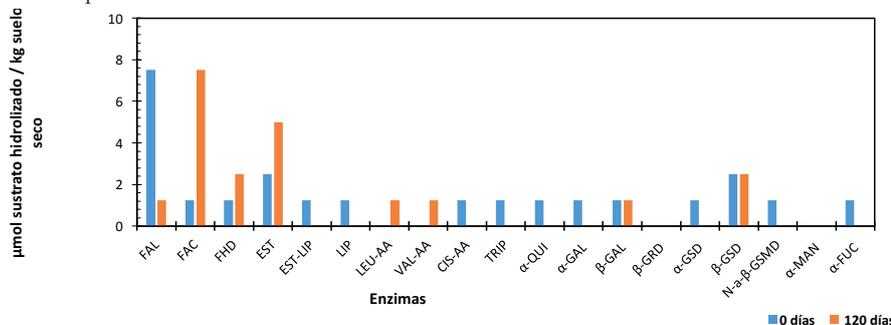


Figura 1. Actividad enzimática determinada mediante kit APIZYM® (FAL: Fosfatasa alcalina; FAC: Fosfatasa ácida; FHD: Fosfohidrolasa; EST: Esterasa; EST-LIP: Esterasa-lipasa; LIP: Lipasa; LEU-AA: Leucina arilamidasa; VAL-AA: Valinaarilamidasa; CIS-AA: Cisteína arilamidasa; TRIP: Tripsina; α-QUI: α-Quimiotripsina; α-GAL: α-Galactosa; β-GAL: β-Galactosidasa; β-GRD: β-Glucoronidasa; α-GSD: α-Glucosidasa; β-GSD: β-Glucosidasa; N-a-β-GSMD: N-Acetil-β-D-Glucosaminidasa; α-MAN: α-Manosa; α-FUC: α-Fucosidasa).

CONCLUSIONES

Respecto a las observaciones de la actividad enzimática se puede deducir que se vio afectada debido a que no conserva valores cercanos a los del inicio, por lo tanto se recomienda hacer un estudio de cómo influye el ciclo del cultivo durante estos procesos y realizar muestreos por periodos de tiempo más corto donde se pueda apreciar los altibajos de la actividad enzimática.

Como se mencionó al inicio se notó un cambio en algunas de las características fisicoquímicas como la conductividad eléctrica, que incremento debido a las sales disueltas del biosólido. Sin embargo, en el pH no se encontró variación. Durante los análisis del suelo algunas zonas presentaron un mayor contenido de COT, los datos nos dan a entender que los biosólidos nos son distribuidos de manera correcta por tanto, se tiene que mejorar la forma de aplicación, quizá con una dispersión equitativa de ciertas toneladas por hectáreas, así como también se podría implementar un subsuelo profundo para obtener un mejor mezclado de suelo. La actividad enzimática del suelo presento variaciones significativas en algunas de las enzimas como fue en la familia de las fosfatasas, FDA y ureasa, es importante resaltar que la actividad enzimática es sensible a las alteraciones producidas por la adición de un sustrato rico en materia orgánica y además también es sensible al manejo del suelo como pueden ser el sistema de labranza y la rotación de cultivo.

La enmienda orgánica tienen impacto positivo tanto el COT y en el carbono de la biomasa microbiana. La materia orgánica del suelo aumenta la resistencia mecánica de los suelos, ya que actúa como ligante entre las partículas.

BIBLIOGRAFIA

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 & Biochemistry*. 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 E., Cardenas M., Ponce-Mendoza A., Luna-Guido M.L, Cruz-Mondragón C., Dendooven L. (2005) The Impacts of inorganic application on mineralization de 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 Jing Chun 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 amended 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.
- Acosta Y., Paolini J. (2005), Actividad de la enzima deshidrogenasa en un suelo local ciorthidsenmendado con residuos orgánicos, *Agronomía Trop.* 55 (2): 220-221.
- Ramos E. V., Zúñiga D. D. (2008), Efecto de la humedad, temperatura y ph del suelo en la actividad microbiana a nivel de laboratorio, *Ecol. Vol.* 7 Nos(1, 2): 125-126.
- Martínez E., Fuentes J. P., Acevedo E. (2008), Carbono orgánico y propiedades del suelo, *R.C. Suelo Nutr. Veg.* 8 (1): 82-85.
- Paz, J. F. (2006) “Propiedades bioquímicas de suelos de prado de Galicia” CSIC Editorial, 19-53.
- Guacaneme S., Barrera J. I (2007) Efecto de la aplicación de biosólidos, como enmienda orgánica, en la recuperación de un suelo disturbado por actividad extractiva en la cantera de Soratama, localidad de Usaquén, Bogota; *Revista de la Facultad de Ciencias Edición especial II*, Vol. 12: 90-95.
- González E. F., Tornero M. C., Sandoval E., Pérez A., Gordillo A. (2011) Biodisponibilidad y fraccionamiento de metales pesados en suelos agrícolas enmendados con biosólidos de origen municipal, *Rev. Int. Contam. Ambie.* 27(4): 295-299.
- Gómez Y. G. (2004) Actividad de las fosfatasas ácidas y alcalinas (extracelulares e intracelulares) en hongos de la rizosfera de *Arachis hypogaea* (Papilionaceae), *Rev. Biología tropical. Trop.* 52(1): 290.

RENDIMIENTO DE FORRAJES Y CALIDAD FISIOLÓGICA DE SEMILLAS DE HÍBRIDOS DE MAÍZ EN SURCOS CONVENCIONALES Y ESTRECHOS

Guzmán Roblero Mareni y Antuna Grijalva Oralia

RESUMEN

El material genético consistió en cinco híbridos comerciales de maíz: Alicante, Canguro, Cimarrón, Garañón y Guepardo. La siembra se realizó el 30 de marzo de 2017 en el ciclo primavera, en el campo experimental de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna, Torreón Coahuila, México, el cual se encuentra localizada en las coordenadas geográficas 25°31'11" de latitud norte y 103°25'57" de longitud oeste. La parcela experimental consistió en dos surcos de 5 m de longitud con una distancia entre surcos de 0.75 m, 0.60 m y 0.40 m, para así obtener una densidad de 100,000 plantas por hectárea con un distanciamiento entre planta y planta de 13.2 cm, 16.6 cm y 25 cm. Se evaluó la relación de surcos convencionales y estrechos en la calidad fisiológica de la semilla. Se realizaron pruebas de calidad fisiológica de la semilla mediante la prueba de germinación estándar, longitud media de plúmula (LP), índice de velocidad de emergencia (IVE), peso de mil semillas (PMS), peso volumétrico (PV). Los resultados mostraron diferencias en calidad fisiológica en las variables de peso volumétrico y peso de mil semillas entre los híbridos, se puede atribuir tal vez al manejo agronómico del lote experimental, mientras el distanciamiento entre surcos no afectó la eficiencia fisiológica de la semilla en las variables de germinación, longitud media de plúmula e índice de velocidad de emergencia.

Palabras clave: Híbrido, germinación, semillas.

ABSTRACT

The genetic material consisted of five commercial hybrids of maize: Alicante, Canguro, Cimarrón, Garañón y Guepardo. The planting was held on 30 March 2017 at the spring, in the experimental field of the Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Drive Laguna, Torreon, Coahuila, Mexico, which is located in the coordinates 25°31'11" north latitude and 103°25'57" west longitude. The experimental plot consisted of two rows of 5 m in length with a distance between furrows of 0.75 m, 0.60 m and 0.40 m, in order to obtain a density of 100,000 plants per hectare with a distancing between plants and plant of 13.2 cm, 16.6 cm and 25 cm. We evaluated the relationship of conventional and narrow furrows in the physiological quality of the seed. Tests were conducted of physiological quality of the seed through the standard germination test, average length of plumule (LP), emergency speed index (EVI), weight of one thousand seeds (TDC), volumetric weight (PV). The results showed differences in physiological quality in the variables of volumetric weight and weight of one thousand seeds among the hybrids. Can be attributed perhaps to the agronomic management of the experimental, while the distance between furrows did not affect the physiological efficiency of the seed in the variables of germination, average length of plumule and index of emergency speed.

Key words: Hybrid, germination, seeds.

INTRODUCCIÓN

En la Comarca Lagunera, la industria lechera demanda incrementar el rendimiento de maíz forrajero sin disminuir su calidad. Una alternativa de manejo agronómico es la siembra en surcos estrechos, con un distanciamiento menor al convencional (76 cm). Esta práctica permite incrementar el rendimiento de materia seca por unidad de superficie debido, principalmente, a una intercepción de radiación solar durante el ciclo de crecimiento (Barbieri et al., 2013). En la medida en que se reduce la distancia entre surcos e incrementa la distancia entre plantas se mantiene constante la densidad de plantación y es posible incrementar de 7 a 20% el rendimiento de grano (Murphy et al., 1996).

Otro factor importante además de la calidad de forraje de maíz, es la calidad de la semilla ya que es importante para los agricultores y la industria semillera, de ello depende el número de plantas existentes en un área determinada de cultivo, es decir, prefiere aquellas que muestran alto vigor (Delouche y Cadwell, 1960). Para la industria es trascendente la calidad de la semilla por la gran variación en tipo de grano que exhiben las variedades e híbridos de maíz. Por lo anterior el objetivo del presente trabajo de investigación fue evaluar la relación de surcos convencionales y estrechos en la calidad fisiológica de la semilla.

MATERIALES Y MÉTODOS

El material genético consistió en cinco híbridos comerciales de maíz: Alicante, Canguro, Cimarrón, Garañón y Guepardo. La siembra se realizó el 30 de marzo de 2017 en el ciclo primavera, en el campo experimental de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna, el cual se encuentra localizada en las coordenadas geográficas 25°31'11" de latitud norte y 103°25'57" de longitud oeste. El diseño experimental utilizado fue un bloques al azar con un arreglo factorial 5x3, para el factor A se colocaron los cinco híbridos de maíz y el factor B fueron los tres distanciamientos entre surcos. La parcela experimental consistió en dos surcos de 5 m de longitud con una distancia entre surcos de 0.75 m, 0.60 m y 0.40 m, para así obtener una

densidad de 100,000 plantas por hectárea con un distanciamiento entre planta y planta de 13.2 cm, 16.6 cm y 25 cm, respectivamente. La parcela útil se determinó con la siguiente fórmula:

$$SC = \text{número de surcos} * \text{largo de surco cosechado} * \text{ancho de surco cosechado}$$

Dónde: SC = superficie cosechada

Germinación estándar (GE)

Se evaluó la de calidad fisiológica de la semilla mediante la prueba de germinación estándar. Se utilizó el método “entre papel” siguiendo las normas establecidas por la International Seed Testing Association (Moreno, 1996). Se cuantifico el número de semillas germinadas que desarrollaron plántulas normales. El porcentaje de germinación se determinó con la siguiente fórmula:

$$GE = \frac{PN}{NS} * 100 \quad (1)$$

Dónde: PN = plántulas normales y NS = número de semillas utilizadas en el ensayo.

Longitud media de plúmula (LP)

Consistió en medir la longitud de la plúmula de 25 plántulas. Se calculó el vigor y el resultado se clasifico por la escala propuesta por Peretti (1994).

$$LP = \frac{1n + 3n + 5n + 7n + 9n + 11n + 13n}{ns} \quad (2)$$

dónde: LP: longitud de plúmula, n = número de plántulas normales y ns = número de semillas utilizadas en el ensayo.

Índice de velocidad de emergencia (IVE)

Se llevaron a cabo conteos diarios del número de plántulas emergidas, considerando como primer día aquél en que se observó la primera plántula emergida; el final del conteo fue a quince días después del establecimiento del experimento. El IVE se calculó de acuerdo a la propuesta de Maguire (1962).

$$IVE = \sum \left(\frac{n_i}{\sum t_i} \right) \quad (3)$$

Dónde: n_i : número de plántulas procedentes de semillas germinadas durante el intervalo t_i , $\sum t_i$ tiempo desde la siembra hasta el conteo de germinación t_i .

Peso de mil semillas (PMS) Se tomaron ocho repeticiones de 100 semillas y se registró su peso en gramos.

Peso volumétrico (PV)

Se colocó la semilla en un recipiente volumen conocido y se tomó el peso de cada una de las repeticiones. Posteriormente se registró el peso en kilogramos hectolitro.

$$PV = \left[\frac{P}{\frac{1000}{V}} \right] \quad (4)$$

Dónde: P= peso de la semilla y V= volumen del recipiente

Diseño estadístico

Para el análisis de datos se realizó un diseño de bloques al azar con arreglo factorial 5x3. El modelo lineal fue el siguiente: $Y_{ij} = \mu + \beta + \text{Factor A} + \text{Factor B} + \text{Factor A} * \text{Factor B} + \varepsilon_{ij}$

Dónde:

Y_{ij} = Representa la observación correspondiente al nivel (i) del factor A y al nivel (j) del factor B, μ = Efecto constante denominado media global, β = efecto producido por el nivel j-ésimo del factor B= efecto producido por la interacción entre AXB y ε_{ij} = efecto del error experimental.

RESULTADOS Y DISCUSION

En el análisis de varianza (Cuadro 1) se observó diferencia estadística ($p < 0.05$) para la fuente de variación híbridos en PV, PMS. Asimismo, se presentó diferencia ($p < 0.05$) entre los híbridos en distancia en las variables: PMS y IVE. En la interacción V*D no se presentaron diferencias significativas.

Cuadro 1. Cuadros medios de calidad fisiológica de semilla de cinco híbridos comerciales de maíz. UAAAN-UL 2017.

FV	gl	GE (%)	LP (cm)	PV (kg hL ⁻¹)	PMS (g)	IVE (d)
Híbridos	4	19.200ns	1.265ns	17.668*	25.392*	4.188ns
Distancia	2	0.533ns	0.570ns	9.048ns	245.116**	33.873**
V*D	8	9.200ns	0.836ns	2.952ns	6.262ns	2.837ns
Bloque	1	0.533ns	1.348ns	10.644ns	7.076ns	8.490ns
Error	14	6.247	0.977	2.530	7.150	2.329
Total	29					
CV%		2.536	8.716	3.101	9.272	16.265

*, ** Los valores significativos al 0.05 y 0.01% ns= no existe significancia, GE= Germinación, LP= Longitud de Plúmula, PV= Peso Volumétrico, PMS= Peso de Mil Semillas e IVE= Índice de Velocidad de Emergencia

Los coeficientes de variación oscilaron de 2.5 a 16.2%, donde la variable IVE fue el de mayor con 16.2% esto se debe al manejo que se le dio a las plántulas en el invernadero. Las demás variables presentan valores confiables de acuerdo con De la Cruz et al., (2007) quienes afirman que los coeficientes de variación se consideran confiables, cuando es menor al 15 %.

Germinación. El comportamiento promedio (Figura 1) de Germinación (GE), señala que los híbridos más sobresalientes fueron Alicante, Guepardo y Cimarrón con valores de: 100% y 99.33%. En general los híbridos presentaron un buen comportamiento en los diferentes distanciamientos entre surcos. El acortamiento entre surcos no afectó la germinación, esto quiere señalar que se puede sembrar a una distancia menor entre surco sin afectar la capacidad de la semilla para producir plántula normal.

Longitud media de plúmula (LP)

Los híbridos Guepardo, Cimarrón y Canguro (Figura 2) presentaron la mayor longitud media de plúmula (11.8 cm y 11.3 cm) con respecto a los demás. Se observa que los materiales se expresaron igual en cada distanciamiento. La emergencia de las plántulas no se vio afectada por los distanciamientos de surcos, ya que los resultados obtenidos en el ensayo nos indican que los materiales cuentan con plántulas de alto vigor (Peretti, 1994).

Peso Volumétrico (PV)

En cuanto a la variable de peso volumétrico (Figura 3), los híbridos Canguro, Guepardo y Alicante acumularon el mayor valor con 53.8 kg hL-1, 52.1 kg hL-1 y 50.9 kg hL-1 respectivamente. Los híbridos se expresaron mejor en el distanciamiento de 0.40 m con una media de 52.0 kg hL-1, para los demás distanciamientos de 0.60 m y 0.75 m, con medias de 51.59 kg hL-1 y 50.22 kg hL-1. El peso volumétrico se vio afectado por el distanciamiento ya que no se encuentra dentro de los estándares de calidad de semilla reportados por Moreno (1996) quien señala que semilla de maíz de buena calidad registran un peso volumétrico de 75 kg hL-1.

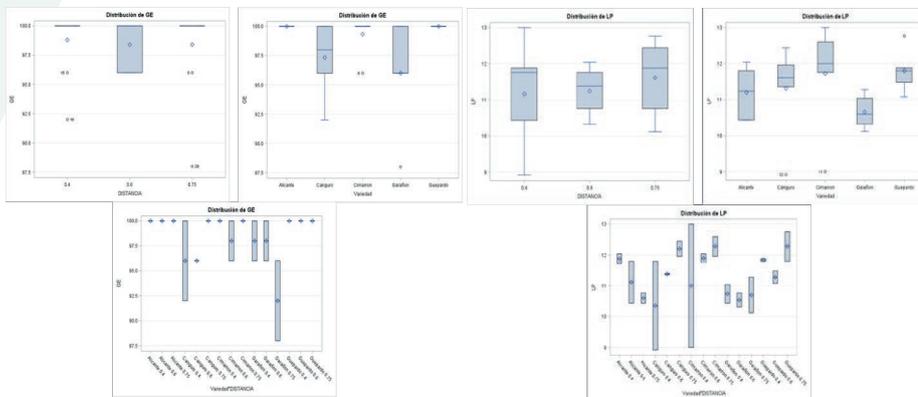


Figura 1. Promedio de Germinación (GE) de cinco híbridos comerciales de maíz. UAAAN-UL 2017.

Figura 2. Promedio de Longitud media de plúmula (LP) de cinco híbridos comerciales de maíz. UAAAN-UL 2017.

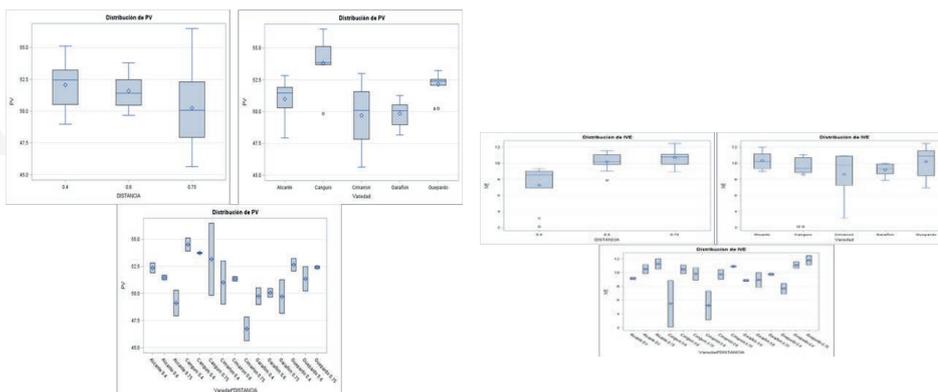


Figura 3. Promedio de Peso Volumétrico (PV) de cinco híbridos comerciales de maíz. UAAAN-UL 2017.

Figura 4. Promedio de Índice de Velocidad de Emergencia (IVE) de cinco híbridos comerciales de maíz. UAAAN-UL 2017.

Peso de Mil Semillas (PMS)

El peso de mil semillas (Figura 4) se vio afectado por el distanciamiento ya que no se registra como semilla de buena calidad dentro del rango reportado por Peretti (1994) quien indica que semillas de maíz de calidad poseen un peso absoluto de 250g a 400 g. Los híbridos más sobresalientes fueron Guepardo, Garañón y Canguro con las siguientes medias 32.0 g , 28.8 g y 28.5 g, los híbridos se expresaron mejor en el distanciamiento de 0.40 m con una media de 34.40 g.

Índice de Velocidad de Emergencia (IVE). Los híbridos más sobresalientes en índice de velocidad de emergencia (Figura 4), fueron Alicante, Guepardo y Garañón, con las siguientes medias 10 días, 10 días y 9 días, los híbridos se expresaron mejor en el distanciamiento de 0.40 m con una media de 7 días, para los demás distanciamientos de 0.60 m y 0.75 m, con medias de 10 días respectivamente. El acortamiento entre surcos aumenta la velocidad de emergencia, ya que la semilla emergió en menor tiempo y sin afectar su calidad.



Figura 5. Campo experimental UAAAN-UL 2017. Surcos convencionales y estrechos.

CONCLUSIONES

El distanciamiento entre surcos no afectó la eficiencia fisiológica de la semilla en las variables de germinación, longitud media de plúmula e índice de velocidad de emergencia. Las diferencias en calidad fisiológica en las variables de peso volumétrico y peso de mil semillas entre los híbridos, se puede atribuir tal vez al manejo agronómico del lote experimental.

BIBLIOGRAFIA

- Barbieri, P. A., Echeverría, H. E., Rozas, H. R. S., & Andrade, F. H. (2013). Nitrogen status in maize grown at different row spacings and nitrogen availability. *Canadian Journal of Plant Science*, 93(6), 1049-1058.
- De la Cruz-Lázaro, E., Rodríguez-Herrera, S. A., Palomo-Gil, A., López Benítez, A., Robledo-Torres, V., Gómez-Vázquez, A., & Osorio-Osorio, R. (2007). Aptitud combinatoria de líneas de maíz de alta calidad de proteína para características forrajeras. *Universidad y Ciencia*, 23(1).
- Delouche, J.C.; Caldwell, W.P. (1960). Seed vigor and vigor tests. *Proceedings of the Association of Official Seed Analysts* 50: 124-129.
- Moreno, M. E. (1996). Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. 3a edición. Instituto de Biología. UNAM. México. D.F. 393 p.
- Murphy, S. D., Yakubu, Y., Weise, S. F., & Swanton, C. J. (1996). Effect of planting patterns and inter-row cultivation on competition between corn (*Zea mays*) and late emerging weeds. *Weed science*, 865-870.
- Peretti, A. (1994). Manual para análisis de semillas. INTA. Editorial Hemisferio Sur SA 281 pp.

EVALUACIÓN DE LA INDUCCIÓN DE RESISTENCIA A ESTRÉS BIÓTICO EN PLANTAS DE CHILE (*CAPSICUM ANNUM L.*)

María Patricia García Castro¹ y Laura Mejía Teniente²

RESUMEN

El "chile" es una hortaliza de gran importancia en México, debido a que está incluida en nuestra dieta diaria y cultura, actualmente se ha observado una reducción en sus rendimientos debido a las plagas y enfermedades que posteriormente no se pueden controlar de una manera eficaz, debido al mal uso de los plaguicidas. Actualmente el mercado está demandando productos libres de residuos dañinos para la salud, por ello es necesario enfrentarnos a la problemática de cómo combatir las plagas y enfermedades de una manera sustentable, en la búsqueda de nuevas alternativas para poder afrontar la problemática se realizó el siguiente trabajo en el cual se busca determinar si de las aplicaciones de peróxido (H_2O_2) como elicitores en la Resistencia Sistémica Inducida es factible, para potencializar la resistencia ante geminivirus. Evaluando la Altura, Diámetro de tallo y Área foliar es decir la visualización del virus Geminivirus sobre el hospedero después de la aplicación del elicitores Peróxido.

ABSTRACT

The "chile" is a vegetable of great importance in Mexico, because it is included in our daily diet and culture, has currently observed a reduction in yields due to pests and diseases that can not subsequently be controlled effectively, Due to the misuse of pesticides. Currently the market is demanding products that are free of harmful residues for health, so it is necessary to face the problem of how to fight pests and diseases in a sustainable way, in the search for new alternatives to be able to tackle the problem the following work was carried out In which it is sought to determine if the peroxide (H_2O_2) applications as elicitor in the Induced Systemic Resistance is feasible, to potentiate resistance to geminiviruses. Evaluating the height, thickness of the stem and leaf area ie the visualization of the virus Geminivirus on the host after the application of the peroxide elicitor.

Palabras Clave: Elicidores, Peróxido, *Capsicum annuum*, Geminivirus

INTRODUCCIÓN

El chile, es el ingrediente más singular, característico, de nuestra cocina, no solo se cultiva en prácticamente en todo el país, sino que en muchas regiones se han desarrollado razas o cultivos de esa área. (Lesur, 2006). El chile (*Capsicum annuum L.*) es la segunda hortaliza de mayor importancia en México (Acosta y Chávez, 2003), con una producción de 2.24 millones de toneladas (alrededor de 147,000 Ha sembradas) que presentan un valor comercial de 8 mil millones de pesos, (SAGARPA, 2010), por ello la importancia del buen manejo de esta hortaliza para así poder obtener los mejores rendimientos y calidad en el mercado. Dentro del género *Capsicum*, la especie *C. annuum* es la de mayor distribución e importancia en el mundo, debido a los diferentes usos en que se emplea y a la excelente adaptación que presenta (Long-Solís, 1986; Pickersgill, 1997; Ulloa, 2006).

Entre los problemas fitopatológicos que afectan el rendimiento de este cultivo, son las enfermedades de origen viral que representan en la actualidad uno de los retos más serios e imponentes en los sistemas de producción de las plantas cultivadas en México y el mundo. (Anaya-Romero, 2007). Los virus fitopatógenos son agentes infecciosos que causan mucho daño a los cultivos ya que causan pérdidas en la producción desde un 20% hasta el 100% (Barrera-Pacheco, 2008). Una de las formas de propagación de los virus es por acción de los insectos, y dentro de estos los principales insectos vectores de los virus son la mosquita blanca *Bemisia tabaci*, la cual ataca más de 200 cultivos y los pulgones. (Pineda, 2013).

Generalmente, los mecanismos de defensa de las plantas están basados en la prevención, tolerancia o resistencia (Thakur, 2017), pero las plantas tratadas con elicitores generalmente desarrollan resistencia en el hospedero, debido a que la aplicación de estos sobre la superficie de la planta activa múltiples vías de señalización de defensa intracelular (Ođjacova y Hadjivanova, 2001) La defensa inducible sostenible es una alternativa en el uso de plaguicidas, (Mejía, 2014) por ello se evaluó el elicitores Peróxido (H_2O_2), con la finalidad de generar estrategias de control que permitan aumentar los rendimientos y un mejor equilibrio en el costo- beneficio de este producto hortícola.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del experimento:

El trabajo experimental se realizó en la Universidad de Guanajuato en la Sede Mutualismo del Campus Celaya-Salvatierra.

Descripción del experimento:

En este experimento se evaluó, la efectividad de Peróxido como elicitores en plantas de chile poblano ante

Geminivirus las cuales fueron tratadas a diferentes dosis.

La aplicación de peróxido fue asperjado conforme a la fenología de las plantas de Chile a las 6 hojas verdaderas cuando el cultivo ya estaba establecido, se realizó una aplicación más en el momento que se sembró el geminivirus con 12 hojas verdaderas.

Fueron asperjadas con un rociador manual y las dosis del producto fue medido con una micro pipeta.

Se utilizó agua destilada como vehículo del material comercial.

Las aplicaciones del producto se realizaron durante la tarde cuando las temperaturas eran frescas y la radiación baja.

Se realizaron las mediciones de Altura, Diámetro de tallo y Área foliar. Utilizando como herramientas una cinta métrica y vernier.

Material Vegetal

Se utilizaron plantas de Chile poblano (*Capsicum annuum* L.) adquiridas en invernadero; las mismas se pasaron a una maceta.

Manejo Agronómico

El trasplante se realizó a una maceta con medida de 30cm de diámetro y 25 cm de altura donde se usó como sustrato PEAT MOSS combinado con suelo estándar, en cada maceta se colocaron tres plantas, el día 12 de junio del 2017 alrededor de las 9 de la mañana para evitar un estrés mayor, se colocaron a una distancia de 10cm y fueron etiquetadas conforme a los tratamientos.

El riego se realizó cada tercer día, manual, durante la etapa de adaptación se regó con 500ml por maceta acompañado de una fertilización con Multi-NPK (soluble) (13-2-44) con una dosis de 1.2gr/ litro, pasado de una semana se cambió la dosis de fertilización a 2g/litro y la adición de Urea (00-00-44) al sustrato en la parte central con 10g por maceta, de igual manera la cantidad de agua se modificó a 1L por maceta, el agua utilizada fue potable.

Manejo Fitosanitario

Aplicaciones de extracto de ajo:

150 ml por 1L de agua, la aplicación se realizó de manera foliar, con un atomizador cada 3er día.

Se realizaron trampas amarillas de 20 x 20 cm, cubiertas con aceite comestible, para el control de mosca blanca. Se colocaron a 20 cm de la planta en áreas estratégicas para un mejor resultado.

Diseño del experimento

Se usó un diseño en parcelas divididas con 4 tratamientos, 3 repeticiones.

Primera aplicación

T1: Aplicación de 0 mm/mol de Peróxido, 6 hojas verdaderas

T2: Aplicación de 6mm/mol de Peróxido, 6 hojas verdaderas

T3: Aplicación de, 14mm/mol de 6 hojas verdaderas

T4: Aplicación de 18mm/mol de 6 hojas verdadera

Segunda aplicación siembra de Geminivirus

T1: Aplicación de 0 mm/mol

T2: Aplicación de 6mm/mol

T3: Aplicación de, 14mm/mol

T4: Aplicación de 18mm/mol

Variables a evaluar

Altura, Grosor de tallo y Área foliar .Visualización del virus Geminivirus sobre el hospedero después de la aplicación del elicitor Peróxido

RESULTADOS

Los datos recolectados de los tratamientos fueron analizados en un diseño factorial, con un total de 4 tratamientos de cada uno se establecieron 3 repeticiones, considerando una maceta (con 3 plantas) como repetición, alcanzando 24 unidades experimentales. Además, se utilizaron las pruebas de Tukey ($\alpha = 0.05$) en el programa SAS versión 9.0

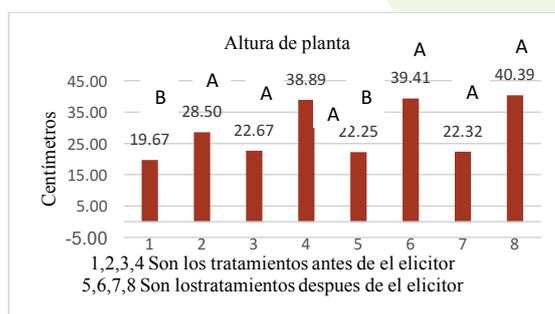


Figura 1. Resultados de medias de cada tratamiento para la variable altura de planta con las pruebas de Tukey ($\alpha=0.05$).

Como podemos ver en la agrupación de tukey existe diferencia entre los tratamientos, antes y después de la aplicación del elicitor el testigo en ambas aplicaciones muestra la diferencia ya que este pertenece al grupo B en una dosis de 0 mm/mol, mientras que los tratamientos a diferentes dosis se encuentran en el grupo A. La altura no se ve muy afectada por las diferentes dosis ya que todas pertenecen al mismo agrupamiento, pero estadísticamente $P = <0.05$ y en esta variable $P = 0.9578$, existe diferencia significativa.

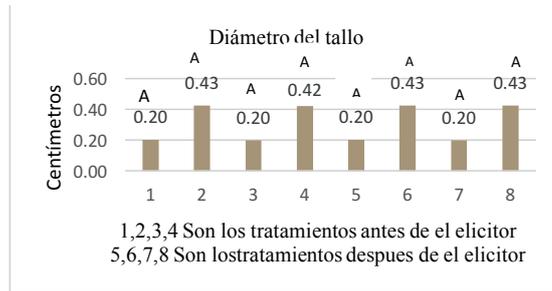


Figura 2. Resultados de medias de cada tratamiento para la variable diámetro del tallo de planta con las pruebas de Tukey ($\alpha=0.05$)

Para la interacción A*B, como $P < 0.05$, en esta variable $P = 0.9578$ por lo que no existe una diferencia significativa entre los tratamientos incluyendo el testigo. Por ello los agrupamientos son pertenecientes a. Como el ataque del virus se manifiesta en las hojas cabe la probabilidad que por ello el tallo no es afectado de ninguna manera directamente, pero si posee el virus ya que estos se encuentran en el ADN de toda la planta

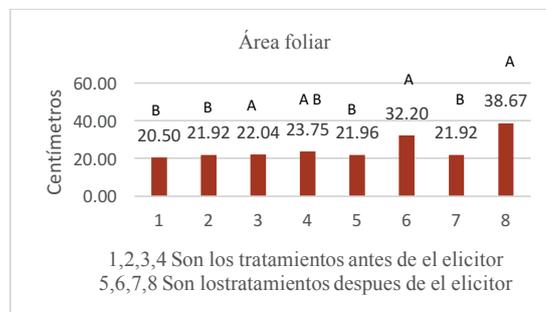


Figura 3. Resultados de medias de cada tratamiento para la variable área foliar de planta con las pruebas de Tukey ($\alpha=0.05$)

Para la interacción A*B, como $P < 0.05$, en esta variable $P = 0.0066$ por lo que existe una diferencia significativa estadísticamente en el área foliar de los tratamientos el testigo se encuentra en el mismo grupo es decir se encuentran en el mismo rango, mientras que T4 sobresale en ambos muestreos previo y posterior a la aplicación.



Figura 4. Hoja de chile poblano infectada con genivirus, tratamiento testigo



Figura 5. Sintomas de genivirus después de 13 días, tratamiento ...

Como podemos observar los síntomas se hicieron presentes después de la inyección del virus, estos empezaron a aparecer después de 13 días se empezó a notar pequeñas manchas amarillentas entre las nervaduras de las hojas un tipo moteado, esto indica que el elicitor actuó de la manera mayor posible para contra restar el ataque. Podemos observar en la figura izquierda una mayor sintomatología, mientras que en la derecha se nota un poco menos la sintomatología, esta se presentó en ambos casos a los 13 días después de la inyección del virus.

CONCLUSIÓN

Los elicitores, pueden ser una gran herramienta para la agricultura ya que nos encontramos nuevos retos y sobretodo compromisos con los consumidores y el medio ambiente para poder llevar a la mesa productos saludables y no contaminantes para nuestro entorno es necesario adquirir nuevas tecnologías para seguir produciendo esta hortaliza de una manera más sustentable. En este trabajo pudimos observar como el Peróxido (H_2O_2) si tiene efecto en potencializar la defensa inducible sostenible en plantas de chile poblano, los resultados fueron favorables debido que fenotípicamente la agresividad con la que el virus ataco a las

plantas fue menor a la de las plantas con peróxido, la dosis óptima no se observó debido a que existió una similitud entre ello a excepción del área foliar que se notó como la mayor cantidad de peróxido 18 mm/mol ayudo a que la planta no dejara de crecer.

Existe la probabilidad que en el genotipo, se obtenga la dosis óptima recomendada, porque los genes muestran con mayor exactitud como influyo el peróxido ante el genivirus. Sin embargo con base a este trabajo, podemos aplicar el peróxido a un cultivo de chile poblano con la seguridad de que responda de una manera efectiva en campo.

BIBLIOGRAFÍA

- Lesur, L.,(2006), Manual del cultivo del chile, México, Editorial Trillas
- Barrera-Pacheco, A., A de J. Joaquín-Ramos, I. Torres-Pacheco, M. González-Chavira, M. Pérez-Pérez, L. Guevara-Olvera, y R. Guevara-González. 2008. Análisis de la expresión transcripcional inducida bajo condiciones de estrés biótico y abiótico en *Capsicum chinense* BG-3821. *Agrociencia* 42:95-106. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952008000100010&Ing=en&nrm=iso. Fecha de consulta: [08 de Agosto 2017].
- Acosta R., G. F.; Chavez S., N. 2003. Arreglo topológico y su efecto en rendimiento y calidad de la semilla de chile jalapeño. *Agricultura Técnica en México* 29: 49-60.
- SAGARPA. 2010. Anuario estadístico de la producción agrícola de los Estados Unidos Mexicanos. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. México. http://reportes.siap.gob.mx/aagricola_siap/icultivo/index.jsp. (Consultado: 08 de agosto 2017).
- Long, S.J. 1986. *Capsicum* y cultura: la historia del chili. Fondo de Cultura Económica. México, D. F. 181 p.
- Pickersgill, B. 1997. Genetic resource and breeding of *Capsicum* spp. *Euphytica* 96:129-133.
- Anaya S., & Romero j., (2007). *Hortalizas plagas y enfermedades*, México, Trillas 1999 (reimp. 2007)
- Pineda, C. M. *Virus Fitopatógenos del Chile en México*.
- Thakur, M., and Bacic A. (2005). Host Plant Resistance to diseases: Potential and Limitations. *Indian Journal of Plant Protection*. Vol. 35 No.1:17-21
- Odjacova, M., and Hadiivova. C. (2001). The complex of pathogen defense in plants. *Bulg. J. Plant Physiol.* 27:101-109
- Mejía, T.L. Aplicación de elicitores as, quitosan y H₂O₂ en *Capsicum annum* y su efecto de respuesta a estrés biótico

PRODUCCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DE LA NUEZ EN SALTILLO, COAHUILA.

Mayte Rodríguez Sánchez¹ y Gregorio Castro Rosales²

Resumen

Este estudio de comercialización se realizó con el propósito de conocer y al mismo tiempo determinar el mejor canal de comercialización de la nuez en Saltillo. La herramienta utilizada para la realización del estudio fue una encuesta. Los resultados obtenidos son una herramienta analítica importante para tomar decisiones económicas volviendo más eficiente y eficaz el proceso de comercialización de la nuez de manera que se reduzca los costos y se maximicen las ganancias de los agentes participantes. La realización de este estudio permitió obtener el canal de comercialización más adecuado y rentable para los agentes participantes, de manera que todos salgan beneficiados.

Abstract

This marketing study was conducted with the purpose of knowing and at the same time determining the best marketing channel of the walnut in Saltillo. The tool used to carry out the study was a survey. The results obtained are an important analytical tool for making economic decisions, making the nut marketing process more efficient and efficient in a way that reduces costs and maximizes the profits of participating agents. The realization of this study made it possible to obtain the most suitable and profitable channel of commercialization for the participating agents, so that all benefit.

Palabras Clave: Producción, Comercialización, Canales, Eslabones.

Introducción

De acuerdo a la revista Mexicana de Ciencias Agrícolas (2013), el cultivo de nuez pecanera en México es una actividad en amplio crecimiento, sobre todo en los estados del norte, debido a la amplia adaptación climática y edafológica, así como por las consideraciones de mercado y atractiva rentabilidad que presenta al canalizarse a los Estados Unidos de America (EUA).

En cuanto a las variedades de nuez predominantes en el estado de Coahuila son: Western, Wichita, Mahan, Sioux, Choktaw, San Saba, Cherokee, Pawnee, son nueces de tamaño mediano a grande de cascara delgada y blanda. Las nueces “criollas” denominadas así por venir de árboles que no son injertados o prendidos con material vegetativo identificado como nativo

Tabla 1. Producción de Nuez en el Estado de Coahuila por Distritos.

	Municipio	Sup. Sembrada (Ha)	Sup. Cosechada (Ha)	Sup. Siniestrada (Ha)	Producción (Ton)	Rendimiento (Ton/Ha)	PMR (\$/Ton)	Valor Producción (Miles de Pesos)
1	Arteaga	106	96	0	112.03	1.17	80,330.92	8,999.47
2	Ramos Arizpe	494	395	0	440.43	1.12	71,234.00	31,373.59
3	Saltillo	727	727	0	799.7	1.1	68,970.00	55,155.31
4	General Cepeda	1,075.00	792	0	997.13	1.26	70,543.00	70,340.54
5	Parras	2,162.00	2,147.00	0	2,576.40	1.2	69,876.00	180,028.53
				4,564.00	4,157.00	0	4,925.69	1.18

Fuente: Elaboración Propia con datos del SIAP.

En el municipio de Saltillo, el nogal ha representado una fuente importante de ingresos para los productores, ya que dadas las características del fruto, el producto puede ser vendido en forma gradual durante el año, ya sea en hueso o en almendra.

Sin embargo, uno de los principales problemas que afrontan los productores, es precisamente el relacionado con la comercialización de la nuez, por lo que se consideró relevante la realización de un estudio encaminado a identificar los canales a través de los que se lleva a cabo la comercialización así como las funciones que realizan los agentes participantes, lo que nos permitiría identificar los canales más convenientes para los productores de nuez.

Por último, presentaremos la información recolectada sobre los canales de comercialización, así como los agentes que participan en la red de valor de la nuez, creando así una ruta donde se analicen desde el primer eslabón que participa hasta llegar al consumidor final.

Marco Teórico

En este apartado se consideraron los conceptos básicos que dan soporte a la investigación y que permiten identificar los aspectos y variables que es necesario analizar para llevar a cabo un estudio de canales de comercialización. Se analiza el concepto de comercialización y sus elementos así como la función que cumple cada uno de ellos durante el proceso de la comercialización.

Al mismo tiempo se exponen los principales conceptos relacionados con la producción y las principales variables de la producción agrícola, así como aspectos generales relacionados con la producción de nuez.

Teoría de la producción

De acuerdo con Gerónimo (2011), la producción es el proceso de creación de los bienes y servicios que la población puede adquirir para consumirlos y satisfacer sus necesidades, comúnmente este proceso se lleva a cabo en empresas las cuales se encuentran integradas en ramas productivas y éstas en sectores económicos. La teoría de la producción permite analizar las diversas formas en que los empresarios pueden combinar sus recursos o insumos para producir bienes o servicios, de tal forma que les resulte económicamente conveniente, es la relación que se encuentra entre la cantidad máxima de producción que se puede obtener con la cantidad de recursos o factores utilizados por la empresa en un tiempo determinado.

Producción agrícola

La agricultura es el conjunto de técnicas y conocimientos para cultivar la tierra, dentro de los sectores económicos se clasifica en el sector primario, junto a actividades como la ganadería, silvicultura, caza y pesca. (SAGARPA – SIAP, 2010)

De acuerdo a la FAO4 (2002), la comercialización puede ser definida como todas las actividades necesarias para vender los productos de la firma, siendo la gestión a través de la cual la empresa se vende a sí misma tanto como la gama de sus productos.

Para Gilberto Mendoza la comercialización es un mecanismo que coordina la producción, la distribución y el consumo. Comprende tanto la transferencia de derecho de propiedad o actos de comercio, como el manejo físico de traslado y preparación para el consumo.

Los diferentes autores coinciden en señalar que la comercialización es un mecanismo a través del cual se añade valor a la producción, al darle utilidad de lugar, de tiempo, de forma o de posesión.

Métodos y Materiales

Para la realización del presente estudio se utilizaron métodos de investigación exploratoria, recurriendo a la realización de entrevistas no estructuradas con algunos agentes de la cadena de comercialización a la observación en campo. La muestra de agentes entrevistados no tiene un carácter estadístico, por lo cual los resultados obtenidos no pueden ser generalizados y solamente tienen un carácter indicativo de la forma en que se estructuran los canales de comercialización. La información obtenida en campo fue complementada con información obtenida de fuentes secundarias, la cual permite contextualizar el análisis y comprender de la mejor manera los resultados. La información secundaria utilizada en la investigación proviene de distintos documentos y estudios referentes a la producción y comercialización de nuez y de estadísticas publicadas en los anuarios sobre la producción agrícola de la Delegación Coahuila de la SAGARPA y de datos de ASERCA, SIACON y SIAP3 disponibles en la Internet.

La población objetivo que se consideró en esta investigación fue la de Saltillo, la cual según INEGI cuenta con 807537 habitantes especificándose en ciertas colonias de la zona sur que contando con 29,9898 habitantes, de los cuales solo se tomaron en cuenta adultos de 18 a más años.

Se eligió la población del municipio de Saltillo debido a los datos consultados sobre la producción de 122,714.05 toneladas de nuez a nivel nacional, de esta cantidad el 65% se exporta a los mercados internacionales y solo el 35% se destina al consumo nacional, decidimos tomar como población objetivo a el municipio de Saltillo zona sur.

Se realizaron entrevistas directas con 10 productores, dos intermediarios y 20 consumidores finales, lo que nos permitió darnos cuenta de la función que tiene cada eslabón de la cadena de comercialización.

A partir de la información obtenida en las entrevistas de los distintos agentes se fueron identificando las relaciones que se establecen entre ellos, lo que permitió ir construyendo un canal de comercialización.

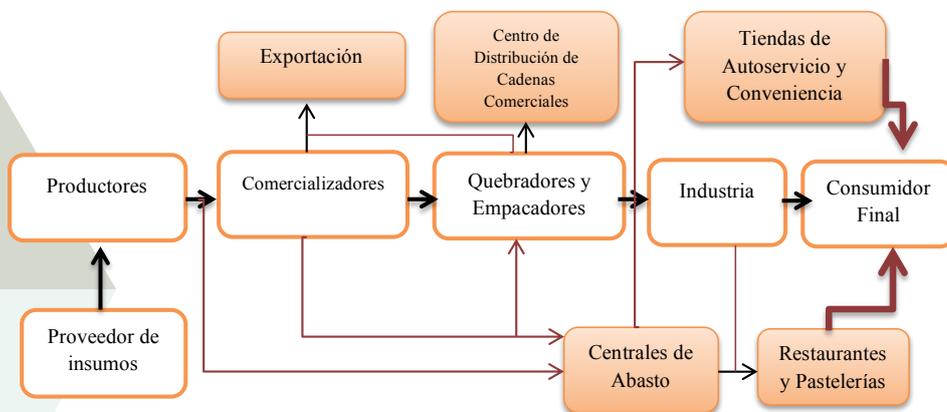
Resultados

En este apartado se presentan los datos obtenidos a partir del trabajo de campo, mismo que consistió en la aplicación de encuestas a productores, intermediarios y a consumidores finales. Su propósito es la

identificación de los canales de comercialización con la finalidad de conocer si el canal que están utilizando los productores es el más adecuado.

De las entrevistas realizadas con distintos tipos de agentes participantes en la comercialización de nuez se deduce que los canales que utilizan los pequeños y los grandes productores para la comercialización de la nuez en hueso son los que se describen en la Figura 1.

Figura 1. Cadena de Valor de la Nuez en Coahuila



Fuente: Elaboración Propia con información de Cristian Irving Guzmán Méndez.

Cuando la nuez sale del huerto toma diferentes destinos, donde se transformará, empaquetará y comercializará, o venta de forma directa a intermediarios, descascaradoras o para los almacenistas.

Este último, el almacenamiento, puede ser una oportunidad de asignar valor agregado al producto en forma de tiempo.

De manera general la compra y venta de la nuez en hueso o descascarada se hace de acopiadores locales, huertas, descascaradoras que se dirigen hacia las centrales de abasto. El estudio realizado se centra en la Región Sureste ya que la mayor parte de lo que se produce se realiza en estos municipios. Las principales zonas a las que va dirigido el producto que se queda en el país son las centrales de abasto como la de México, Monterrey y Guadalajara que se abastecen por las zonas del norte del país y una parte por la importación. El cual tiene como destino las agroindustrias para que la nuez sea transformada en productos con alto valor agregado que tiene destino los supermercados, tiendas de conveniencia.

Ahora bien, de manera particular para el municipio de Saltillo, el productor vende su producción a intermediarios, acopiadores o mini industrias elaboradoras de dulce, los cuales centralizarán el producto a otros agentes como descascaradoras, quebradoras, o transformadoras ya sean locales o dirigidas hacia Chihuahua, donde pasa a la etapa donde se le hace la agregación de valor para finalizar teniendo el producto que va dirigido al mercado local o nacional.

Respecto a la comercialización, se estima que alrededor del 55% de lo producido en el estado se exporta a Estados Unidos de América en presentación con cascara, esto se realiza por bróker estadounidenses. Un 30 % se destina al mercado nacional y el resto es para el mercado interno del Estado.

Conclusiones

Saltillo es un municipio que cuenta con las condiciones climatológicas y físicas que permiten el establecimiento de huertos de nogales para la producción de nuez. El clima es idóneo para tener este producto, la cantidad de agua necesaria es la suficiente para mantener los árboles en pie, y si es requerido tecnificar los sistemas de riego, pero el nogal podría perder el producto si excede las capacidades de agua requerida.

Centrales de Abasto

El principal eslabón de la cadena de comercialización es el productor, ya que de él dependerá la oferta dada, para el caso de la nuez en el municipio de Saltillo los precios ofrecidos a los productores son relativamente bajos, ocasionando problemas de inversión y al mismo tiempo aumento en los costos de producción. La causa principal de la existencia de los problemas tanto de producción como de comercialización de la nuez en el municipio de Saltillo es la falta de organización de los mismos productores ya que cada uno trabaja de manera individual y vende su producción de la misma manera, por lo regular lo hacen a intermediarios que acuden incluso a los huertos o a acopiadores del mismo municipio lo cual ocasiona que el precio de venta sea bajo. Se propone que los productores se organicen en una asociación para trabajar como grupo y de esa manera tener acceso a apoyos, programas o financiamientos que les faciliten la adquisición de maquinaria y equipo para de esa manera disminuir sus costos de producción y al mismo tiempo aumentar sus ganancias.

Otro beneficio que los productores tendrían al organizarse como grupo es que aumentarían su volumen de venta y por lo tanto tendrían mayor capacidad de negociación con los intermediarios o incluso podrían establecer un contacto con el siguiente eslabón de la cadena de la red de valor. El gobierno tiene las posibilidades de proteger el mercado de nuez en Coahuila mediante programas de apoyo a los proveedores. Existen programas de innovaciones tecnológicas apoyadas al mejoramiento de suelos. En si la situación de la nuez en Saltillo es que tiene precios bajos, su volumen de producción se encuentra en un nivel medio respecto a los otros municipios productores. Y por el lado de la cadena de comercialización podemos observar que la falta de organización repercute en mejorar de manera eficiente la cadena productiva.

Bibliografía

- Centro de Investigación Regional Norte Centro. (2002). Tecnología de la Producción en Nogal Pecanero. La Laguna, Matamoros.
- Ecarrect. (s.f). Simposio Internacional de Nogalicultura . Universidad de Economía y Negocios.
- Ignacio Orona Castillo. (2013). Producción y Comercialización de Nuez Pecanera en el Norte de Coahuila, México. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, 461-176. consultada en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v4n3/v4n3a10.pdf>
- MORALES, M. N. (2008). CANALES Y MÁRGENES DE COMERCIALIZACIÓN DE LA NUEZ PECANERA . Saltillo, Coahuila, México : UAAAN.
- Ramos, D. O. (2016). La producción y Comercio Exterior de la nuez en México. Saltillo: UAAAN.
- Retes López, R., Nasaimea Palafox, A. R., Moreno Medina, S., Denogean Ballesteros, F. G., & Martín Rivera, M. (2014). ANÁLISIS DE RENTABILIDAD DEL CULTIVO DE NOGAL PECANERO EN LA COSTA DE HERMOSILLO . Revista de Agronegocios, 872-882. consultada en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=14131514021>

PLAGAS DE MALVÁCEAS SILVESTRES Y CULTIVADAS EN LOS MUNICIPIOS DE TORREÓN Y MATAMOROS, COAHUILA

Nancy Puebla Valles¹ y Fabián García Espinoza²

RESUMEN

Durante el verano del 2017 se llevó a cabo el presente proyecto con el fin de recolectar insectos pertenecientes a las familias Aleyrodidae, Pseudococcidae (Hemiptera) y Curculionidae (Coleoptera) en seis municipios de la Comarca Lagunera, las colectas se realizaron en las planas pertenecientes a la familia Malvaceae (cultivadas y silvestres), posteriormente se procedió a identificar los especímenes recolectados y construir una base de datos. Las áreas en las que se llevó a cabo las colectas sistemáticas fueron asignadas al azar, considerando áreas de producción agrícola y vegetación nativa de los valles y sierras de la región. Los especímenes recolectados fueron preservados en etanol al 70% y transportados al laboratorio de Parasitología de la UAAAN UL para su posterior identificación.

ABSTRACT

During the summer of 2017 the present project was carried out in order to collect insects belonging to the families Aleyrodidae, Pseudococcidae (Hemiptera) and Curculionidae (Coleoptera) in six municipalities of the Comarca Lagunera, the collections were made in the plans belonging to the family Malvaceae (cultivated and Wild), later mind proceeded to identify the collected specimens and build a database. The areas in which systematic collections were carried out were allocated randomly, considering areas of agricultural production and native vegetation of the valleys and Sierras of the region. The collected specimens were preserved in 70% ethanol and transported to the Parasitology laboratory of the UAAAN UL for later identification.

Palabras Clave: colectas, coordenadas, identificación, conservación, base de datos.

INTRODUCCION

La familia Malvaceae incluye más de 100 géneros y alrededor de 2000 especies, principalmente en los trópicos y subtropicos, con algunas especies en las regiones templadas (Ferrer-Gallego et al., 2016). Las malváceas pueden ser plantas herbáceas, arbustos o árboles, frecuentemente con pubescencia estrellada, raíces fibrosas o leñosas, los tallos erectos o procumbentes, a veces rastreros. Tanto las hojas como las flores son muy diversas en formas y colores, estando mayormente distribuidas en regiones tropicales y subtropicales (Fryxell, 1992; Taia, 2009).

Las plantas de la familia Malvaceae conforman un grupo muy diverso y variado, siendo estas algunas cultivadas y muchas de ellas silvestres, representando así una marcada importancia económica (Fryxell, 1992; Guillot, 2010). Por citar algunas especies de importancia económica se pueden mencionar a *Gossypium hirsutum* (algodonero) e *Hibiscus sabdarifa* (Jamaica) que son de importancia agrícola y otras como *Hibiscus syriacus* e *Hibiscus rosa-sinensis* de mucho valor comercial como plantas de ornato (Obregón y Jones, 2001; Guillot, 2010; Sáyo-Ayerdi y Góñi, 2010).

Las malváceas además de su valor comercial, agrícola u ornamental, son especies importantes ya que al haber especies silvestres se constituyen en refugio o reservorio excelente para muchos insectos plaga (Heinz et al., 2013). De acuerdo con lo anterior, se han consignado especies de malváceas como hospedantes de plagas cuarentenarias como el picudo del algodonero (*Gossypium hirsutum*) y de la cochinilla rosada del hibisco (*Maconellicoccus hirsutus*), (Bodegas et al., 1977; Echevoyén y González, 2010; Stadler, 2010), así como de otras plagas (Kim, 2013).

1 Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna. Departamento de Fitomejoramiento. Boulevard Fidel Velásquez #210, colonia Fidel Velásquez, C.P. 27059, Torreón Coahuila de Zaragoza. nancy_pueblavalles@hotmail.com.

2 Departamento de Parasitología. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro – Unidad Laguna. Periférico Raúl López Sánchez S/N. Torreón, Coahuila, México. C. P. 27054. garcia-espinoza@hotmail.com

Dentro de la lista de plagas reglamentadas del algodonero, se encuentra el picudo del algodonero (*Anthonomus grandis* Boheman) (SENASICA, 2014), misma especie que ha sido colectada y reportada en malváceas silvestres en el sur y noreste de México (Jones, 1992; Jones, 1998; Obregón y Jones, 2001).

La historia de la Comarca Lagunera no podría entenderse sin la explotación del cultivo del algodonero o *Gossypium hirsutum* L. (Malvaceae), ya que siendo esta zona del país, tierra de emigrantes, varios de ellos lo introdujeron, lo que ocasionó que desde 1851 se esté produciendo en la región. Este cultivo en la Comarca Lagunera fue el gran impulsor económico de la región en los inicios de su historia; sin embargo, ha sufrido una disminución considerable en lo que se refiere a la superficie sembrada y cosechada en los últimos veinte años, ocasionada por varios factores; sin embargo, algunos municipios de dicha región siguen explotándolo, por lo que es conveniente que aprovechen las oportunidades de comercialización que se le presentan (Miranda, 2008).

La Comarca Lagunera es una zona importante actividad agrícola, donde se cultivan cereales y forrajes, además de textiles como el algodón y diversas hortalizas solanáceas y cucurbitáceas; tal como se pone de manifiesto, las plantas de la familia Malvaceae pueden alojar plagas claves o potenciales que atacan a gran cantidad de familia de plantas cultivadas, es por ello que el objetivo de este estudio es hacer colectas dirigidas sobre esta familia de plantas para poder determinar y dar a conocer las especies que albergan tanto de hemípteros (Aleyrodidae y Pseudococcidae) como de Coleoptera (Curculionidae).

METODOLOGIA

Ubicación de la zona de estudio. El estudio se llevó a cabo en seis municipios de la Comarca Lagunera del estado de Coahuila (Torreón y Matamoros)

La Comarca Lagunera se encuentra circunscrita en el área biogeográfica del desierto Chihuahuense. Esta presenta lluvias muy escasas durante el año, siendo así de ambiente árido a semiárido con temperaturas que oscilan alrededor de los 40° C.

Épocas de estudio. Las colectas se realizaron durante la época de Verano, esto con el fin de poder hacer un estudio comparativo sobre la prevalencia y variabilidad en cuanto a la diversidad de especies colectadas.

Procedimiento experimental y sitios de estudio. Durante, se abarcaron los dos municipios donde se llevó a cabo el estudio. Dos sitios por municipio por época del año se designaron, quedando de esta manera 4 sitios en total para muestrear. Las áreas en las que se llevó a cabo colectas sistemáticas fueron asignadas al azar, considerando áreas de producción agrícola y vegetación nativa de los valles y sierras de la región.

Se tomaron las coordenadas con un aparato GPS para precisar la ubicación de los sitios de colecta.

Método de recolección de especímenes. Las colectas se llevaron a cabo mediante el uso de redes entomológicas, aspiradores y trampas pegajosas. Se aplicaron técnicas de captura pasiva y activa.

También se realizaron la recolección de especímenes con el uso de pinzas y pinceles y de esta manera no dañar sus estructuras.

Conservación, separación e identificación de especímenes. Los especímenes recolectados fueron preservados en etanol al 70% y transportados al laboratorio de Parasitología de la UAAAN UL para su posterior identificación.

En un primer ejercicio, los insectos recolectados fueron identificados a nivel orden, familia, género y/o especie; posteriormente, se seleccionaron muestras para ser enviadas con fines de identificación con expertos en los grupos colectados.

Manejo y presentación de datos. Los datos obtenidos se concentraron en una base, registrando las especies, coordenadas, fecha, localidad, hospedera sobre la cual fue colectada, redundando esto en información útil para las autoridades fitosanitarias de la región. Se hicieron análisis comparativos de diversidad entre municipios y por época del año.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se muestrearon en este estudio un total de 4 sitios, los cuales fueron, Torreón y Ejido Jalisco en el municipio de Torreón, así como, Cueva del Tabaco y Puerto del Perico en el municipio de Matamoros.

Durante la época de verano se inspeccionaron malváceas tanto silvestres como cultivadas y ornamentales, de las muestras obtenidas se identificó el orden de Hemiptera incluyendo las familias; Aleyrodidae (mosca blanca), pseudococcidae (piojos harinosos) y hormigas asociadas a piojos harinosos (formicidae).

Siendo estos especímenes obtenidos, de gran importancia debido a los altos índices de daño que ocasionan en cultivos de importancia económica en esta región.

Además de las plagas encontradas se observaron organismos benéficos de las familias coccinellidae, tachinidae, trichogrammatidae, entre otras, los cuales ayudan a reducir el uso de agroquímicos que llegan a ser agresivos con el medio ambiente, además que su uso en el área agrícola es mucho más económico y utilizado a tiempo llega a ser muy efectiva.



Figura 1. coccinellidae encontrado en planta de algodón, alimentándose de insectos plaga. Foto de Fabián García Espinoza

Rummel et al. (1978), Wen et al. (1994), Lambkin (1999) y Vejar-Cota et al. (2009) reportan especies de la familia

Malvaceae como hospedantes de hemípteros, en especial de la familia Aleyrodidae.

Se han consignado especies de malváceas como hospedantes de plagas cuarentenarias como la cochinilla rosada del hibisco, *Maconellicoccus hirsutus* (Pseudococcidae) así como de otras plagas (Echegoyén y González, 2010; Kim, 2013).

Las malváceas además de su valor comercial, agrícola u ornamental, son especies importantes ya que al haber especies silvestres se constituyen en refugio o reservorio excelente para muchos insectos plaga (Heinz et al., 2013). De acuerdo con lo anterior, se han consignado especies de malváceas como hospedantes de plagas cuarentenarias como el picudo del algodón (Gossypium hirsutum) y de la cochinilla rosada del hibisco (*Maconellicoccus hirsutus*), (Bodegas et al., 1977; Echegoyén y González, 2010; Stadler, 2001), así como de otras plagas (Kim, 2013)

CONCLUSIONES

Con las colectas realizadas se obtuvieron insectos del orden hemiptera de la cual se obtuvieron las familias; Aleyrodidae (mosca blanca), pseudococcidae (piojos harinosos) y hormigas asociadas a piojos harinosos (formicidae), por lo tanto se deduce que las plantas de la familia malvácea son hospederas y excelentes fuentes de alimento para las plagas encontradas en ellas de importancia económica en cultivos de esta región.

Sin embargo es necesario hacer más investigaciones, así como estudios que indiquen y compruebe si la incidencia de estos insectos, para así determinar un mejor manejo a este tipo de plantas para evitar cualquier infestación que pueda causar.

BIBLIOGRAFIA

- Fryxell, P.A. 1992. Flora de Veracruz. Malvaceae. Fascículo 68. Instituto de Ecología, A.C. Xalapa, Veracruz, México. 50 p.
- Taia, W.K. 2009. General view of Malvaceae Juss. S.L. and taxonomic revisión of genus *Abutilon* Mill. in Saudi Arabia. Journal Of King Abdul Aziz University. Science Journal 21(2):349-363. Ferrer-Gallego P. P., Ferrando I. y Laguna E. 2016, Sobre la presencia de *abutilon arboreum* (L. f.) sweet (malvaceae) en la flora valenciana. Flora Montiberica 63: 82-85 (V-2016). ISSN: 1138-5952, edic. digital: 1988-799X.
- Guillot O., D. 2010. Claves para los taxones y cultones del género *Hibiscus* L. (Malvaceae) cultivados y comercializados en la Comunidad Valenciana (E. España). Quad. Bot. Amb. Appl. 21:77-83.
- Sáyago-Ayerdi, S. y I. Goñi. 2010. *Hibiscus sabdarifa* L. fuente de fibra antioxidante. Archivos latinoameiricanos de nutrición 60(1):79-84
- Bodegas, V.P.R., R. Flores G. y M.E. de Coss F. 1977. Aspectos de interés sobre las hospederas alternantes del picudo del algodón *A. grandis* y avances en la investigación respectiva en el Soconusco, Chiapas, Mexico. Centro de Investigaciones ecológicas del sureste. OEA CONACYT. Tapachulas, Chiapas, Mexico. Boletín de Información 3, 14 p.
- Echegoyén, R., P.E. y H. González H. 2010. Plan de contingencia ante un brote de cochinilla rosada del hibisco (*Maconellicoccus hirsutus*) en un país de la región del OIRSA. Organismo Internacional Regional De Sanidad Agropecuaria – OIRSA. San Salvador, El Salvador, mayo de 2010. 165 p.
- Stadler, T. 2001. Reporte Técnico n° 16. Manejo Integrado del Picudo del Algodonero en Argentina, Brasil

- y Paraguay. CFC/ICAC/04. SENASA. Fondo Comun Para Productos Basicos. 47 P.
- Jones, R.W. 1998. Hospederas silvestres y origen del picudo del algodonoero: implicaciones para su control biológico. *Vedalia* 5:71-84.
- Jones, R.W., J.r. Cate, E. Martínez H. y R. Treviño N. 1992. Hosts and seasonal activity of the boll weevil (Coleoptera: Curculionidae) in tropical and subtropical hábitats of northeastern Mexico. *Journal of Economic Entomology* 85(1):74-82.
- Obregón A., I., y R.W. Jones. 2001. Ecology and phenology of the boll weevil (Coleoptera: Curculionidae) on an unusual wild host, *Hibiscus pernambucensis*, in southeastern Mexico. *Journal of Economic Entomology* 94(6):1405-1412.
- Miranda, W.R. 2008. Caracterización de la producción del cultivo de algodonoero (*Gossypium hirsutum* L.) en la Comarca Lagunera. *Revista Mexicana De Agronegocios*. Cuarta Época. Año XII. Volumen 23:696- 705.
- Rummel, D.R., J.R. White y G.R. Pruitt. 1978. A wild host of the boll weevil in west Texas. *The Southwestern Entomologist* 3(3):171-175.
- Wen, H.C., T.C. Hsu y C.N. Chen. 1994. Supplementary description and host plants of the spiralling whitefly, *Aleurodicus dispersus* Russell. *Chinese Journal of Entomology* 14:147-161.
- Lambkin, T.A. 1999. A host list for *Aleurodicus dispersus* Russell (Hemiptera: Aleyrodidae) in Australia. *Australian Journal of Entomology* 38:373-376.
- Kim, Y., Y. Cho, Y.K. Kang, M. Choi y S.H. Nam. 2013. A study of the major insect pest communities associated with *Hibiscus syriacus* (Columniferae, Malvaceae). *Journal of Ecology & Environment* 36(2):125-129.
- Vejar-Cota, G., L.D. Ortega-Arenas y V.E. Carapia-Ruiz. 2009. Primer registro de la mosca blanca de los cereales *Aleurocybotus occidius* Russell (Hemiptera: Aleyrodidae) y su impacto potencial como plaga de gramíneas en el norte de Sinaloa. *Acta Zoológica Mexicana* (n.s.) 25(1):33-48.
- Echegoyén, R., P.E. y H. González H. 2010. Plan de contingencia ante un brote de cochinilla rosada del hibisco (*Maconellicoccus hirsutus*) en un país de la región del OIRSA. Organismo Internacional Regional De Sanidad Agropecuaria – OIRSA. San Salvador, El Salvador, mayo de 2010. 165 p.

EFECTO EN GERMINACIÓN DE SEMILLAS CON ACTINOMICETOS DE SUELOS DE ÁREAS NATURALES PROTEGIDAS (ANP) EL CERRO DEL CULIACÁN, GUANAJUATO.

Alberto Antonio Lomelí Bernal¹ y Dra. Blanca Estela Gómez Luna²

Resumen

Algunas bacterias forman relaciones simbióticas con algunas plantas en el medio natural, algunas de ellas pertenecen al grupo de los actinomicetos, las cuales son un grupo bastante abundante en los suelos y tienen un papel importante en la descomposición de la materia, se ha estado investigando las relaciones simbióticas que forma con las plantas, se han aislado y caracterizado algunas de ellas con el objeto de obtener la cepa con la que se obtenga una mejor respuesta y así obtener un biofertilizante que no produzca residuos dañinos. Con el objetivo anterior se realizaron múltiples pruebas una de ellas es la del presente trabajo la de la germinación.

Abstract

Some bacteria make symbiotic relationships with some plants in natural media, some of them belong to the phylum of the actinomycetes, this group is so abundant in on the floor and they have an important rol in the decomposition of matter, has been investigating the symbiotic relationships which forms with plants, has been isolated and characterized some of them with the objective of obtaining the best strain that have the best answer and then obtain a biofertilizer which don't let polluting waste. With this objective multiple tests were carried out one of them is the one of the present work the one of the germination

Palabras clave: Semillas, germinación, actinomicetos, suelo

Introducción

Anteriormente se habían estado evaluando otros asilados microbianos de otras áreas naturales protegidas con diversas pruebas para lograr caracterizar y ver los mecanismos que usan al momento de hacer simbiosis con las plantas. Se han logrado aislar y caracterizar múltiples cepas bacterianas las cuales pertenecen al filo de los actinomicetos que son un grupo de bacterias muy parecidas a los hongos, ya que tienen micelio radical, pero sus características morfológicas son muy parecidas a las células bacterianas (CIAT, 2010), por lo anterior es muy fácil identificarlas al microscopio.

Una prueba muy importante para la verificación de la mejora de la planta con las baterías es la germinación, ya que esta es un factor importante para la agricultura, durante el verano se analizaron los porcentajes de germinación de las semillas de rábano y lenteja, que son dos semillas importantes para la agricultura pero también se analizaron los porcentajes de semillas de plantas que son comunes en el cerro del Culiacán, Guanajuato. Para esto se extrajeron y se caracterizaron previamente un grupo de cepas, que se extrajeron del suelo de esta ANP.

Metodología

Las bacterias se aislaron de suelo del Cerro del Culiacán, Guanajuato. Se tomaron muestras de dos puntos del mismo árbol, en varios árboles de encino. Las muestras de suelo se pasaron por un tamiz malla 20 serie Tyler, posteriormente se colocaron 15 gr de suelo en 90 ml de agua estéril. Las alícuotas con suelo y agua se utilizaron en el equipo de siembra Spiral plater en medio selectivo para aislados con actividad de ACC desaminasa, en la tabla 1 se muestra la composición del medio. Se contaron las colonias después de 48 horas y se picaron para sembrarlas en medio ACC y medio PDA.

Tabla 1. Preparación del medio ACC (1- Acido carboxílico, 1- aminociclo propano)

Compuesto	Concentración al Litro	10x	Concentración a 250 ml
KH ₂ PO ₄	4 g	-	1 g
NaHPO ₄	6 g	-	1.5 g
MgSO ₄	0.2 g	-	0.05 mg
FeSO ₄	10 mg	100 mg/L	25 µl
H ₃ BO ₃	50 mg	500 mg/L	25 µl
MnSO ₄	10 mg	100 mg/L	25 µl
CuSO ₄	50 mg	500 mg/L	25 µl
MoO ₃	10 mg	100 mg/L	25 µl
MgSO ₄	70 mg	700 mg/L	25 µl
Glucosa	0.2%	-	0.5 g
Ácido gluconico	0.2%	-	500 µl
Ácido cítrico	0.2%	-	0.5g
Agar Bacteriologico	2%	-	5g
ACC	303.3 gr/mol	-	72.52mg

Se utilizaron 10 ml de PDA en caldo en tubos falcón de 15 ml, a los cuales se les sembraron las bacterias, se agitaron los tubos con la bacteria durante 30 minutos, se pusieron a incubar después de 24 horas se procedió a agitarlos durante otros 30 minutos. Para las pruebas de germinación, primero se desinfectaron las semillas agitándolas en soluciones de cloro al 3%, alcohol etílico al 70% y agua destilada durante 1 minuto encada solución, las semillas utilizadas fueron: lenteja, rábano, trompeta, ciruelillo y gongora (Agelica archangelica) agitando el tubo falcón con las semillas durante 30 minutos. Las semillas se pasaron del medio con bacterias a cajas Petri con tres capas de sanitas humedecidas con agua estéril, y por último se revisó el porcentaje de germinación cada 24 horas.

Resultados y discusión

Los aislados bacterianos que se obtuvieron son capaces de crecer en el medio ACC, lo cual indica que estos son capaces de metabolizarlo para poder seguir sobreviviendo en el medio, por lo cual son capaces de desviar la ruta del etileno y promover de esta manera la geminación de la semilla (Luna et al, 2013). Además estas bacteria promueven el crecimiento de la planta produciendo Acido Indolacético mediante una ruta alternativa que depende del triptófano proveniente de los exudados de la raíz (Palacio-Rodríguez et al, 2016) con esto estas bacterias degradadoras de ACC ayudan a la germinación de las semillas y a su crecimiento. Como se puede observar en la tabla 2, 3 y 4 la germinación del rábano y la lenteja fue rápida, ya que desde el día siguiente a la infección de las semillas hubo germinación, sin embargo la mayoría no supera al control sino hasta el día 2 y 3 y como se puede observar el desarrollo del control es pobre comparado con algunas de las cepas microbianas como la 121 y 258 en rábano y 254 en lenteja que desde las 24 horas ya casi todas las semillas habían germinado, además de la 256 que en los siguientes días mostró una mejoría en el porcentaje. Por otro lado la Góngora hasta el día 11 para germinar siendo la mejor cepa la 263 esto por la acción de la ACC desaminasa y del Ácido indolacético que actúa sobre la división, el crecimiento y la diferenciación de las células (Escaso Santos, Martínez Guitarte & Planelló Carro, 2010)

Tabla 2. Porcentaje de germinación del rábano

Cepa	Germinación Día 1			Germinación Día 2			Germinación Día 3		
	Total	%		Total	%		Total	%	
113	8	57%	14	11	79%	13	14	93%	
121	14	93%	15	15	100%	15	15	100%	
125	12	80%	15	15	100%	15	15	100%	
210	13	87%	15	15	100%	15	15	100%	
254	4	27%	15	9	60%	11	15	73%	
256	7	47%	15	13	87%	14	15	93%	
257	7	47%	15	13	87%	13	15	87%	
257,1	8	57%	14	11	79%	12	14	86%	
258	14	93%	15	15	100%	15	15	100%	
263	11	73%	15	12	80%	14	15	93%	
263,1	11	73%	15	14	93%	14	15	93%	
264	5	36%	14	13	93%	13	14	93%	
264,1	8	53%	15	14	93%	14	15	93%	
265	11	85%	13	12	92%	13	13	100%	
265,1	6	40%	15	14	93%	14	15	93%	
266	10	67%	15	14	93%	15	15	100%	
269	13	87%	15	14	93%	14	15	93%	
302	6	40%	15	14	93%	15	15	100%	
303	10	67%	15	14	93%	15	15	100%	
304	9	60%	15	14	93%	14	15	93%	
Control	11	73%	15	13	87%	13	15	87%	



Imagen 1. Día 0, mejores resultados (control, 210, 258 y 121)

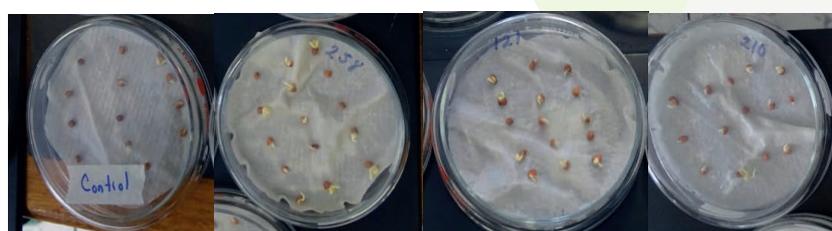


Imagen 2. Día 1, mejores resultados (control, 258, 121 y 210)

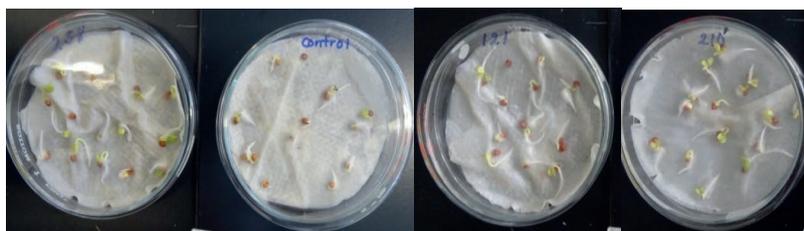


Imagen 3. Día 2, mejores resultados (258, control, 121 y 210)

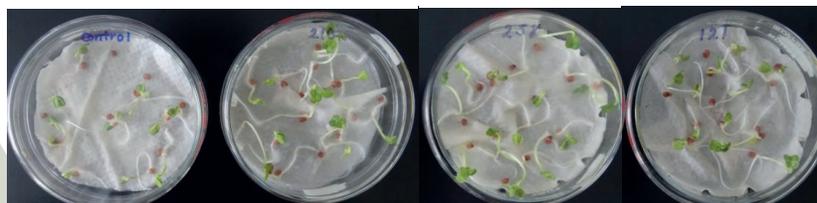


Imagen 4. Día 3, mejores resultados (control, 210, 258 y 121)

Tabla 2. Porcentaje de germinación de la lenteja

Cepa	Germinación			Germinación			Germinación		
	Día 1	Total	%	Día 2	Total	%	Día 3	Total	%
113	9	25	36%	23	25	92%	24	25	96%
121	13	25	52%	24	25	96%	25	25	100%
125	13	25	52%	24	25	96%	23	25	92%
210	13	25	52%	24	25	96%	25	25	100%
254	13	24	54%	24	24	100%	24	24	100%
256	20	20	100%	20	20	100%	20	20	100%
257	5	24	21%	20	24	83%	18	24	75%
257,1	17	25	68%	22	25	88%	22	25	88%
258	18	25	72%	24	25	96%	25	25	100%
263	22	25	88%	24	25	96%	24	25	96%
263,1	13	26	50%	25	26	96%	25	26	96%
264	14	25	56%	24	25	96%	25	25	100%
264,1	9	25	36%	25	25	100%	22	25	88%
265	16	23	70%	23	23	100%	23	23	100%
265,1	12	25	48%	24	25	96%	25	25	100%
266	20	25	80%	22	25	88%	24	25	96%
269	16	25	64%	23	25	92%	22	25	88%
302	22	24	92%	23	24	96%	23	24	96%
303	15	25	60%	24	25	96%	24	25	96%
304	7	25	28%	21	25	84%	21	25	84%
Control	16	24	67%	23	24	96%	23	24	96%

Tabla 3. Porcentaje de germinación de la Góngora (no hubo germinación hasta el día 11)

Cepa	Germinación			Germinación			Germinación		
	Día 11	Total	%	Día 12	Total	%	Día 13	Total	%
113	0	15	0%	0	15	0%	0	15	0%
121	1	13	7.7%	1	13	7.7%	1	13	7.7%
210	0	15	0%	2	15	13.3%	2	15	13.3%
254	2	15	13.3%	2	15	13.3%	2	15	13.3%
256	3	15	20%	3	15	20%	3	15	20%
257	4	15	26.6%	4	15	26.6%	4	15	26.6%
257,1	4	15	26.6%	5	15	33.3%	7	15	46.6%
258	1	15	6.6%	1	15	6.6%	1	15	6.6%
263	4	14	28.5%	8	14	57.14%	10	14	71.42%
263,1	2	15	13.3%	3	15	20%	3	15	20%
264	1	15	6.6%	2	15	13.3%	2	15	13.3%
264,1	0	15	0%	1	15	6.6%	1	15	6.6%
265	0	13	0%	3	13	23.07%	3	13	23.07%
265,1	1	15	6.6%	4	15	26.6%	4	15	26.6%
266	1	15	6.6%	1	15	6.6%	3	15	20%
269	0	15	0%	2	15	13.3%	2	15	13.3%
302	1	15	6.6%	2	15	13.3%	2	15	13.3%
303	1	14	6.6%	5	14	35.71%	5	14	35.71%
304	4	15	26.6%	5	15	33.3%	5	15	33.3%
Control	6	15	40%	6	15	40%	7	15	46.6%
Ctrl H ₂ O	0	10	0%	0	10	0%	0	10	0%

Las semillas de trompeta y ciruelillo no alcanzaron a germinar porque se contaminaron con hongos a pesar de que se les realizó una desinfección superficial esto con el objetivo de dañar lo menos posible a la semilla y eliminar los microorganismos (Abdelnour- Esquivel & Escalant, 1994), sin embargo estas semillas se encontraban cubiertas por una superficie protectora que puede que también halla protegido a los microorganismos y en el caso del ciruelillo darles una fuente de azúcares. A pesar de que los actinomicetos protegen a las plantas de los patógenos activando mecanismos de defensa de las plantas, produciendo antibióticos (Palacio-Rodríguez et al, 2016) es muy posible que el hongo le allá ganado en tiempo a la bacteria inhibiendo su respuesta por el corto tiempo que tuvo para responder.

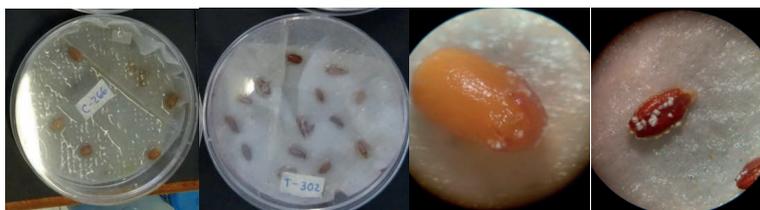


Imagen 5. Semillas de ciruelillo y trompetilla contaminadas.

Conclusiones

Con esta prueba se pretende a futuro ver si es posible hacer un bifertilizante con las mejores bacterias que se obtuvieron del cerro del Culiacán, Guanajuato, las cuales fueron 121 y 258 para rábano, 256 para lenteja y 263 para Góngora, con este último se pretende ayudar a la reforestación del cerro del Culiacán, Guanajuato ya que es una planta endémica de esta zona y seguir estudiando con más pruebas estos aislados microbianos.

Agradecimientos

Quisiera agradecer al programa del verano de la ciencia región centro por dar esta oportunidad a jóvenes estudiantes como yo para acercarlos a la investigación científica, a la doctora Blanca Estela Gómez Luna por aceptarme en el laboratorio e introducirme a estas investigaciones que se están haciendo sobre estas bacterias, a mis padres por apoyarme en este viaje a lo desconocido y a mis compañeros de laboratorio por ayudarme en el trabajo del laboratorio y hacer que todos mis días fueran divertidos.

Bibliografías

- Centro Internacional de Agricultura Tropical (2010). Producción eco-eficiente del arroz en América Latina, Cali, Colombia: CIAT
- Luna, M., Martínez, R. A., Hernández, M., Arvizu, S.M. y Pacheco, J.R. (2013). “Caracterización de rizobacterias aisladas de tomate y su efecto en el crecimiento de tomate y pimiento” en *Fitotecnia Mexicana*, Num. 36 Vol. I, [pp.63 – 69].
- Palacio-Rodríguez, R., Patricia Ramos, B., Coria-Arellano, J. L., Nava Reyes, B. & Sáenz-Mata, J. (2016) “Mecanismos de las PGPR para mitigar el estrés abiótico de plantas” en *Arido-ciencia*, Num. 1, Vol I, [pp. 4-11].
- Escaso Santos, F., Martínez Guitarte, J. L. & Planelló Carro M.R. (2010). *Fundamentos básicos de fisiología vegetal y animal*, Madrid, España: Pearson.
- Abdelnour-Esquivel, A. & Escalant, J. (1994). *Conceptos Basicos Del Cultivo de Tejidos Vegetales*, Turrialba, Costa Rica: IICA.

ANÁLISIS DE LAS PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS EN HÍBRIDOS DE MAÍZ POLIEMBRIÓNICO

Armida Nallely Domínguez Almaráz¹, Mariela R. Michel Michel
y Raúl Rodríguez Herrera²

RESÚMEN

La Poliembriónía en Maíz (*Zea mays*) es un fenómeno de interés debido a que dos o más embriones por semilla pueden conferir un mayor contenido de nutrientes importantes para la industria, además de cubrir una mayor demanda de semillas. En este trabajo se estudiaron las propiedades físicas (PMG, tamaño, composición porcentual, densidad, e índice de flotación) y las propiedades químicas (Humedad y grasa cruda) de 15 genotipos de granos de BP y 4 genotipos de Híbridos; proporcionados por UAAAN (Universidad Autónoma Antonio Narro); el ensayo experimental fue establecido por el Laboratorio de Biología Molecular de la UA de C (Universidad Autónoma de Coahuila). Los resultados mostraron mayores atributos físicos, además de un alto contenido de grasa cruda en Híbridos de Maíz Poliembriónico.

ABSTRACT

Polyembryony in Maize (*Zea mays*) is a phenomenon of interest because two or more embryos per seed can attribute a higher content of important nutrients for industry, in addition to meeting higher demand of seeds. In this study, the physical properties (PMG, size, percentage composition, density, and flotation index) and the chemical properties (Moisture and crude fat) of 15 genotypes of BP grains and 4 hybrid genotypes were studied; the vegetal material was provided by UAAAN (Antonio Narro Agrarian Autonomous University). The experimental assay was established in the Molecular Biology Laboratory of the UA of C (Autonomous University of Coahuila). The results showed higher physical attributes as well as a high crude fat content in Polyembryonic Maize Hybrids.

Palabras Clave: Poliembriónía, Genotipos, *Zea mays*, BP (baja poliembriónía), PMG (peso de mil granos)

INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays*) es el cereal que más se produce y consume a nivel mundial, le siguen el arroz y el trigo. En 2013 se menciona que Estados Unidos de Norte América es el principal productor de maíz, seguido por China, tercer lugar Brasil, México ocupa la cuarta posición (Mejía & FAO, 2017). También en el mismo año, en México, el consumo per cápita es de 318.74 gr diarios, según (FAO O. d., 2017). Por su amplia capacidad de adaptación, su rendimiento, así como fácil manipulación de mejoras genéticas, hacen del maíz (*Zea mays*) uno de los cultivos más prometedores para afrontar la amenaza del hambre en el mundo. Los beneficios del mejoramiento genético van dirigidos a la selección de genes que expresen idealmente alguna característica de interés (Ramírez, Velázquez, Vázquez, Gallegos, & Castillo, 2008). La poliembriónía (PE) en semillas de maíz (*Zea mays*) es una herramienta natural que permite mejorar el rendimiento del grano además de seleccionar el mismo por su valor nutritivo (Espinoza, Vega, Navarro, & G, 1998).

La calidad del grano 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 así poder determinarlos a sus respectivos fines comerciales. Por lo tanto, obtener las características físicas y químicas del grano es una ventaja ya que nos proporciona la información necesaria para mejorar la calidad en la nutrición humana (Campos, 2011). La calidad física es indicadora de la calidad de un lote de granos, así mismo los análisis para determinar esta juegan un papel importante en la aptitud de los granos para su posterior procesamiento. (Godoy, 2010). El objetivo de este estudio fue la identificación de algunos de los aspectos físicos y químicos que determinan la calidad de granos de Maíz de Baja Poliembriónía e Híbridos de Maíz Poliembriónico.

MÉTODOS Y MATERIALES

Se trabajó con 15 genotipos de Maíz de Baja Poliembriónía y con 4 genotipos de Híbridos de Maíz Poliembriónico; cada muestra fue sembrada en campo bajo diferentes condiciones ambientales. Estas muestras fueron proporcionadas por la UAAAN (Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro). El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en dos etapas: Etapa I. Propiedades Físicas (PMG, tamaño, composición porcentual, densidad, e índice de flotación) y Etapa II. Propiedades Químicas (contenido de humedad y grasa cruda); lo mismos fueron en el Laboratorio de Biología Molecular de la UA de C. (Universidad Autónoma de Coahuila).

Estudio I. Propiedades Físicas

-Se determinó PMG; de manera que, en 100 granos pesados en balanza analítica, y el resultado fue multiplicado por 10, ya que se contaba con poca muestra.

-Para el análisis tamaño de grano, la medición de las dimensiones (largo, ancho y espesor) se realizó con un Vernier Digital Mitutoyo. Para esta prueba se seleccionaron 10 granos al azar de cada población en estudio; cada una de las tres dimensiones fue obtenida en milímetros.

-Se obtuvo la composición porcentual del grano colocando 5 granos en remojo con agua destilada en tubos de 50 ml durante 6-8 horas. Previamente transcurrido este tiempo, con ayuda de un bisturí, se fraccionó el grano en pericarpio endospermo y germen, pesándose cada fracción por separado.

-La densidad del grano consistió en determinar la masa del grano por unidad de volumen.

-Para el índice de flotación se preparó una solución de NaNO_3 al 40%, se depositaron 25 granos de cada población agitándolos durante 1 minuto con un agitador de vidrio, se dejó reposar y se contaron los granos que flotaron.

Estudio II. Propiedades Químicas

-El contenido de humedad fue realizado en una estufa a 70°C ; se pesaron en cajas Petri (previamente llevadas a peso constante), 3 gramos de muestra exactos dejando 3 horas a 70°C , transcurrido este tiempo se pesaron las cajas nuevamente para conocer la pérdida de humedad.

-Para obtención de grasa cruda se colocaron los frascos en la incubadora a $80-105^\circ\text{C}$ durante la noche para mantenerlos a peso constante. Después se pesaron 0.250 gr de cada una de las muestras, agregando 10 ml de hexano y colocando en agitación por 4 horas. Por decantación se transfirió el extracto etéreo a los frascos que se mantuvieron a peso constante. Se dejó evaporar el solvente con una parrilla de calentamiento entre $60-70^\circ\text{C}$. Finalmente se pesa el frasco y su contenido seco; el cual se dividió entre el peso de la muestra inicial multiplicado por 100.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los 2 tipos de granos analizados: granos de Maíz Híbridos y granos de Maíz de Baja Poliembriónía se sometieron al estudio de peso de mil granos (PMG). Se analizaron 4 conjuntos de muestras, observándose diferencia significativa entre ambos tipos de granos, el Maíz Híbrido presentó mayor peso en todas las muestras por encima de los granos de Maíz de Baja Poliembriónía (Figura 1). Los valores de tamaño de grano se evaluaron en 3 diferentes parámetros (ancho, largo y espesor), siendo de mayores dimensiones el grano de maíz híbrido (figura 2). La relación de tamaño de grano y PMG está directamente relacionada al observarse valores mayores en ambas pruebas por parte del grano de Maíz Híbrido. En estudios similares (Zamudio, y otros, 2015) los granos de Maíz Híbrido presentaron menor peso en la prueba PMG, debido a condiciones ambientales y recolección, de la misma manera el tamaño de los granos Híbridos presentó valores por debajo de la media en comparación con los analizados en ese estudio.

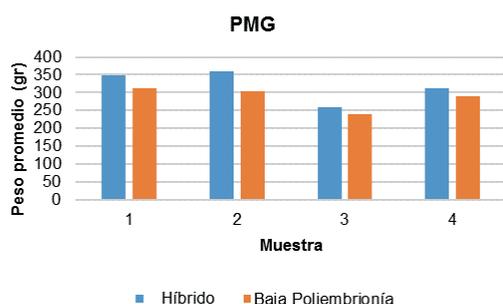


Figura 1. Peso Promedio de mil granos para Maíz Híbrido y Maíz de Baja Poliembriónía.

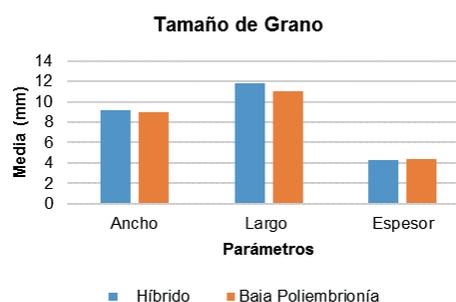


Figura 2. Dimensiones del grano tipo Híbrido y Baja Poliembriónía.

La dureza, como una característica de la textura de los granos de maíz, debe ser considerada como el resultado de la contribución de varias propiedades que incluyen a los compuestos químicos individuales, así como a sus interacciones, y a los arreglos moleculares dentro del gránulo de almidón y el grano de maíz. Otras características importantes son: densidad (gravedad específica), contenido de germen, porcentajes de endospermo y pericarpio, y tamaño del gránulo de almidón (Cárdenas, y otros, 2013). En base a los resultados obtenidos se puede observar que la diferencia de porcentaje en la composición porcentual, en este caso, no representa un factor determinante de la calidad física de los granos, ya que su proporción es semejante (Figura 3-4), por tanto, como menciona el autor, esta característica será proporcionada por la composición de cada grano, así como el acomodo molecular del mismo.

Composición Porcentual en Maíz de Baja Poliembriónia

■ PERICARPIO ■ EMBRIÓN ■ ENDOSPERMO

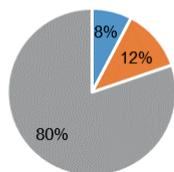


Figura 3. Distribución porcentual de las partes principales de los granos de Maíz de Baja Poliembriónia.

Composición Porcentual en Maíz de Baja Poliembriónia

■ PERICARPIO ■ EMBRION ■ ENDOSPERMO

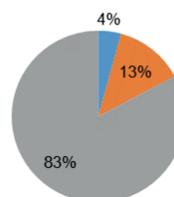


Figura 4. Distribución porcentual de las partes principales de los granos de Maíz de Híbrido.

La densidad del maíz tiene importancia para el almacenamiento y transporte, dado que determina las dimensiones de los contenedores para ambas finalidades. El índice de flotación está relacionado con la dureza del endospermo que corresponde a su vez al tipo y cantidad de almidón, y nivel proteína depositada en el grano. Los granos duros presentan bajos índices de flotación, mientras que los maíces suaves presentan índices altos (Cárdenas, y otros, 2013). Esto coincide con los resultados obtenidos (Figura 6), ya que los granos de maíz híbrido contienen un menor índice de flotación medio en comparación con los granos de Maíz de Baja Poliembriónia; lo que indica estas semillas obtuvieron un mayor valor en el análisis PMG por lo tanto estos granos presentan mayor dureza y menor el índice de flotación. El contenido de humedad y la densidad están relacionados mutuamente; cuanto más elevado sea el nivel de humedad, menor será la densidad (FAO O. d., 2017); como se muestra en la Figura 5, los granos de maíz híbrido resistirán más las condiciones de almacenamiento ya que su densidad es más alta en comparación con los de baja poliembriónia, lo que indica un menor contenido de humedad, menor respiración, por tanto mayor conservación de almacenamiento.

Densidad

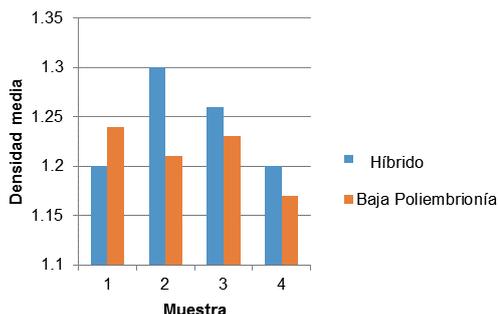


Figura 5. Densidad media en granos de Maíz Híbridos y de Baja Poliembriónia.

Índice de Flotación

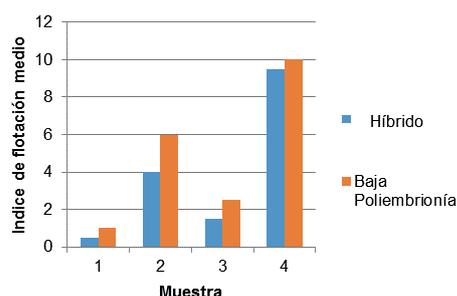


Figura 6. Índice de flotación medio en granos de Maíz Híbridos y de Baja Poliembriónia.

Los granos con un contenido de humedad bajo respiran muy lentamente y por esa razón es muy poco el consumo de su propia biomasa, muy pequeñas las cantidades de humedad y poco calor producido que puedan afectarlos sensiblemente (Lizarza & Torres, 1972). En base a los resultados obtenidos en la Tabla 1, los granos de Maíz Híbrido presentan una menor pérdida de humedad; esto proporciona un beneficio al generar un mejor control para su conservación al momento de su almacenamiento ya que demasiada humedad genera una mayor respiración y poca humedad genera el quiebre del grano. Por otro lado, en la Tabla 2 indica el porcentaje de grasa cruda obtenido, donde claramente se observa que se obtiene casi el doble de grasa cruda en los granos de maíz híbrido a diferencia de los granos de maíz que presentan Baja Poliembriónia. El germen se caracteriza por un elevado contenido de grasas crudas (FAO O. d., 2017) sin embargo se la composición porcentual en maíz híbrido (Figura 4) indican que el embrión abarca un 4% aproximadamente del grano total, lo que es una proporción menor a la que presentan los granos de baja poliembriónia (8%); esto quiere decir que el aceite del grano de maíz esta determinado genéticamente, tal y como lo menciona (FAO O. d., 2017).

Tabla 1. Contenido de Humedad Media.

Muestra	Maíz Híbrido	Maíz de Baja Poliembriónia
1	0.06 +/- 0.004	0.16 +/- 0.001
2	0.07 +/- 0.009	0.19 +/- 0.01
3	0.07 +/- 0.004	0.16 +/- 0.01
4	0.06 +/- 0.0007	0.17 +/- 0.02

Humedad media con su desviación estándar para 4 muestras analizadas de Maíz Híbrido y Maíz de Baja Poliembriónia.

Tabla 2. Porcentaje de Grasa Cruda.

Muestra	Maíz Híbrido	Maíz de Baja Poliembriónia
1	5.4 +/- 0.001	3 +/- 0.28
2	4.6 +/- 0.001	2.6 +/- 0.84
3	5.4 +/- 0.001	3.2 +/- 0.5
5	4.4 +/- 0.001	2.8 +/- 0.5

Porcentaje de grasa cruda con su desviación estándar extraída de 4 muestras de Maíz Híbrido y Maíz de Baja Poliembriónia.

CONCLUSIONES

La calidad en granos de maíz está determinada por su potencial genético más que por su calidad física o química. Los Híbridos de Maíz Poliembriónico presentaron diferencias bastante significativas en cada uno de los análisis realizados en este estudio, siendo que en las pruebas de PMG, tamaño de grano, composición porcentual, índice de flotación, densidad; resultaron a favor de los granos de híbridos de maíz poliembriónico ya que son determinantes en la para la conservación y almacenamiento de los mismos. El mayor porcentaje obtenido en el análisis de grasa cruda fue de un 5.4% aumentando el nivel de grasa cruda por encima del promedio conocido en el maíz común. De igual manera el contenido de humedad en los granos de Maíz Híbrido presento pérdida de menos de 0.1 g de humedad mientras que los granos de Maíz de Baja Poliembriónia presentaron más del 0.15 g llegando casi hasta el doble de pérdida en las mismas condiciones. El uso y consumo de Híbridos de Maíz Poliembriónico, representa grandes beneficios tanto para la salud humana como para los diferentes sectores agrícolas y agroindustriales. Sin embargo, será importante realizar más estudios sobre más propiedades en los diferentes granos y así realizar una comparación más contundente de los beneficios que estos aportan.

BIBLIOGRAFIA

- Campos, E. O. (2011). Análisis de los Atributos Físicos y Químicos de Poblaciones de Maíz Criollo. Saltillo, Coahuila, México.: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- Cárdenas, J. d., González, D. E., Sánchez, A. M., Taba, S., Martínez, M. G., Medina, J. J., . . . Cuevas, F. A. (2013). Propiedades Físicas del Grano y Calidad de los Grupos Raciales de Maíces Nativos (Criollos) de México. *Fitotecnia Mexicana*, 305-314.
- Espinoza, J., Vega, M. C., Navarro, E., & G, A. B. (1998). Poliembriónia en maíces de porte normal y enano. *Agronomía Mesoamericana*, 83-88.
- FAO, O. d. (10 de Agosto de 2017). Estadísticas Sobre Seguridad Alimentaria. Obtenido de <http://faostat.fao.org/site/609/DesktopDefault.aspx?PageID=609>.
- FAO, O. d. (10 de Agosto de 2017). FAO 2017. Obtenido de <http://www.fao.org/docrep/T0395S/T0395S03.htm#Capitulo2> Composición química y valor nutritivo del maíz
- Godoy, J. B. (2010). Calidad Fisiológica de Semillas en Genotipos de Maíz Poliembriónico de Alto Contenido en Aceite Comparada con Materiales Comerciales. Saltillo, Coahuila, México: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- Lizarza, L. J., & Torres, H. A. (1972). Curso de Comercialización y Manejo de Granos para Técnicos del Ministerio de la Producción del Ecuador. Quinto, Ecuador: Ica Cira.
- Mejía, D., & FAO, O. d. (10 de Agosto de 2017). FAO 2017 (Maize Post-harvest Operations). Obtenido de <http://www.fao.org/in-action/inpho/crop-compendium/cereals-grains/es/>: <http://www.fao.org/3/a-av007e.pdf>
- Ramírez, N. M., Velázquez, J. E., Vázquez, V. M., G. J., & Castillo, H. d. (2008). Características de Plántulas en Familias Derivadas de una Población de Maíz Poliembriónico. *Fitotecnología México*, 399-402.
- Zamudio, A., C., M., R., J., D., J., M., A., R., & A., F. (2015). Producción de híbridos y variedades me maíz para grano en siembra a doble hilera. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 1491-1505.

DHIPAAK Y EL MAÍZ EN LA COSMOVISIÓN TEENEK

Natalia Xunaaxy Silva Delgado¹ y Ruth Verónica Martínez Loera²

RESUMEN

Teenek es el nombre que recibe el pueblo indígena de descendencia maya que habita en la región de la huasteca, tanto en su porción veracruzana como en la potosina. La cultura de este pueblo originario cuenta con un rico patrimonio de leyendas transmitidas por tradición oral; una de ellas es la historia de Dhipaak, la deidad del alma del maíz. En su discurso es posible acercarse a una de las múltiples formas en que se expresa uno de los grupos originarios de México y, así, comprender la riqueza y diversidad cultural del país a través de su cosmovisión y sus representaciones artísticas y culturales que nos permite adentrarnos al mundo de relaciones de dicho pueblo indígena con la naturaleza.

ABSTRACT

Teenek is the name that receives the indigenous group of Mayan descent that lives in the region of the Huasteca, in its veracruzana portion and in the potosina portion. The culture of this original town has a rich heritage of legends transmitted by oral tradition; one of them is the story of Dhipaak, the soul deity of maize. In his speech it is possible to approach one of the many ways in which one of the original groups of Mexico is expressed and thus understand the richness and cultural diversity of the country through its cosmovision and its artistic and cultural representations that allows us to enter to the world of relations of that indigenous people with nature.

Palabras clave: teenek, maíz, Dhipaak, cosmovisión, naturaleza.

INTRODUCCIÓN

La Huasteca es una región que abarca porciones de los estados de San Luis Potosí, Hidalgo, Veracruz, Querétaro, Puebla y Tamaulipas. Los teenek son un pueblo indígena mayense que habita en dicha región, en las porciones veracruzana y potosina. Según lo que indican los especialistas, la Costa del Golfo estuvo habitada desde hace 3500 años por grupos de origen maya, y “debido a diversas migraciones a lo largo de varios siglos, uno de esos grupos quedó aislado del resto de su familia lingüística: los hablantes de teenek” (Gallardo, 2004). Así como los teenek se distinguen de otros pueblos mayenses, los grupos teenek veracruzanos y potosinos son distintos entre sí debido a los siglos de historia diferenciada que los han ido alejando, pues los huastecos potosinos quedaron aislados de las comunidades ubicadas en la llanura costera y mantuvieron relaciones con otros grupos del norte, propiciando un peculiar intercambio cultural.

El término teenek, según los hablantes de dicha lengua, significa: “los que viven en el campo, con su lengua, y comparten ‘el costumbre’” (Gallardo, 2004). Los teenek potosinos habitan principalmente en los municipios de Aquismón, Tamlajás, Tampacán, Ciudad Valles, Huehuetlán, San Antonio y Tancanhuitz de Santos. Se relacionan de manera comercial, política y cultural con mestizos y con grupos indígenas nahuas y pames. Se gobiernan de manera autónoma, eligiendo a sus autoridades en una asamblea comunitaria. Sus viviendas están escondidas en la sierra, entre la maleza, los árboles y la vegetación; por lo general son pequeñas casas de otate, madera, bambú y varas, con techo de palma o lámina. Su alimentación se basa principalmente en el maíz, con el que elaboran tortillas, enchiladas, bocoles, tamales, zacahuil, entre otros platillos. Una de sus actividades económicas más importantes es la agricultura, dedicada al cultivo del maíz, frijol, ajonjolí, chile y tomate.

Hay numerosos aspectos de la comunidad que resultan interesantes de conocer, sin embargo, en el presente artículo me enfocaré únicamente a la siguiente cuestión: lograr un acercamiento a las formas de pensamiento del pueblo teenek potosino a partir de una de sus leyendas más importantes, la de Dhipaak y el origen del maíz, la cual resulta ser una expresión identitaria de dicha colectividad y que nos da cuenta de la significación del maíz como un elemento sagrado de la naturaleza y sustento de la comunidad. De esta manera, podremos aproximarnos a la cosmovisión de uno de los pueblos mesoamericanos que han habitado el país desde la antigüedad y que, a pesar de los cambios que sufrieron durante el proceso de la conquista y colonización, conservaron algunos de sus rasgos originales.

MARCO TEÓRICO

Sin duda alguna, una de las características más significativas de México es la gran riqueza cultural que posee. Es un país en el que la diversidad cultural es patente e incuestionable. En él coexisten diversos pueblos y comunidades indígenas, miembros de distintas etnias y población mestiza, lo que le da un carácter multicultural. Ahora bien, México, el México profundo “está formado por una gran diversidad de pueblos, comunidades y sectores sociales que constituyen la mayoría de la población del país. Lo que los une y los distingue del resto de la sociedad mexicana es que son grupos portadores de maneras de entender el mundo y organizar la vida que tienen su origen en la civilización mesoamericana, forjada aquí a lo largo de un dilatado y complejo proceso histórico” (Bonfil, 1990).

Esas maneras de entender el mundo y organizar la vida pueden comprenderse bajo el término de “cosmovisión”. Cada grupo cultural tiene una cosmovisión propia, es decir, una forma única de ver el mundo y de darle significado. En el caso de los pueblos indígenas provenientes de la civilización mesoamericana, sus diferentes cosmovisiones han sufrido transformaciones a lo largo de la historia debido a la integración de elementos ajenos, a la mezcla de lo nuevo con lo viejo y de lo propio con lo otro, y al proceso de combinación y reinterpretación de distintos símbolos que se han ido introduciendo en su cultura, lo que da lugar a un complejo sincretismo. Mediante este sincretismo, los pueblos indígenas han podido “reorganizar sus relaciones sociales, sus creencias y ritos, articulándolos con las nuevas instituciones de la sociedad mayor y [...] mantener dentro de este abigarrado mundo de la aculturación forzada, una fuerte identidad propia” (Broda, 2003) Ahora bien, uno de los modos de conservar la identidad propia es a través de la narrativa oral, la cual comprende los géneros de cuentos, leyendas y mitos. A través de ellos, es posible acceder al conocimiento de una cultura, identificar sus creencias, sus modos de sentir, de pensar y de concebir su universo y, a la vez, es posible difundir y preservar todos esos saberes.

METODOLOGÍA

Para obtener información sobre la comunidad indígena teenek, se revisaron diversos textos, estudios y documentales encaminados a describir los diferentes aspectos de la vida de dicha comunidad: alimentación, vivienda, gobierno, indumentaria, religión, leyendas, etc. Asimismo, se consultaron datos de la Comisión Nacional para el Desarrollo de los Pueblos Indígenas, del Sistema de Información Cultural y del Instituto Nacional de Estadística y Geografía. También se hicieron visitas a museos importantes de la ciudad de San Luis Potosí en los que se pudieron conocer artesanías, esculturas y diversos objetos que reflejaran la cosmovisión del pueblo en tiempos prehispánicos, tales como el Museo Regional de San Luis Potosí, el Museo Francisco Cossío y el Museo Nacional de la Máscara, entre otros.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La comunidad teenek potosina presenta ciertos rasgos y características particulares que van conformando su identidad como pueblo indígena. Su vestimenta, su alimentación, su modo de vivienda, su forma de gobierno, sus ritos y creencias religiosas son factores importantes para comprender su situación y las relaciones que mantienen con su entorno. No obstante, hay que tener en cuenta que entre los teenek antiguos y los actuales huastecos existen varias diferencias, las cuales encuentran su origen tanto en el proceso de conquista y colonización como en el cambio y transformación de su medio y valores culturales. A pesar de ello, aún hay dentro de la cosmovisión de los teenek actuales, mitos y deidades antiguos que son fundamentales en la manera en que entienden su mundo, la naturaleza y sus relaciones con ella. Y es gracias a las narrativas orales y a la tradición oral de este grupo, que la información sobre sus divinidades antiguas y sus relatos cosmogónicos, teogónicos y antropogénicos ha podido rescatarse. Este es el caso de la leyenda de Dhipaak y el origen del maíz.

Esta leyenda tiene diversas versiones, no obstante, en todas podemos encontrar elementos compartidos e ideas principales que se repiten en cada una de ellas. Según la versión que refiere Ángela Ochoa en “Las aventuras de Dhipaak o dos facetas del sacrificio en la mitología de los teenek (huastecos)” (2000), Maam, la deidad principal, preocupado por alimentar a los hombres, envió un zanate a la Tierra que llevaba un grano de maíz en su pico para que fuera sembrado. El grano cayó en la boca de una muchacha soltera que estaba bañándose en un arroyo; de esta forma, la joven quedó embarazada y dio a luz a Dhipaak.



Figura 1. La madre de Dhipaak bañándose mientras cae el grano de maíz de la boca del zanate. Elaborada por Christian Govea Morales.

La abuela de Dhipaak lo despreciaba por ser un niño ilegítimo, así que planeó deshacerse de él. Lo cortó, lo molió y lo tiró, pero de sus restos nacieron las matas de maíz. Lo cortó nuevamente, pero volvieron a brotar las matas y hubo mazorcas. Con ellas hizo atole y tamales, pero al comerlos le hicieron daño, así que los tiró al mar. Ahí, el corazón del maíz estuvo a punto de ser devorado por peces, pero les pidió que no lo comieran. Los peces juntaron todos los restos que encontraron y reconstruyeron a Dhipaak, quien se quedó viviendo en el mar durante mucho tiempo hasta que Maam le ordenó que regresara a la Tierra. Eligió primero al

camarón para que lo trajera, pero no pudo salir del agua. Después eligió a un pez, pero no tenía piernas para venir. Finalmente eligió a la tortuga, que tiene un grueso caparazón sobre el que Dhipaak dibujó durante su trayecto de vuelta. Es así como Dhipaak, el alma del maíz, volvió a la Tierra y trajo consigo ese alimento sagrado.



Figura 2. Dhipaak regresando a la Tierra en la tortuga elegida por Maam. Elaborada por Francisco J. Díaz y Natalia Xunaaxy Silva Delgado.

En todas las versiones, la madre de Dhipaak es una virgen joven que fue fecundada mientras se bañaba, la abuela aparece representada como una mujer malvada que quiere eliminar a Dhipaak y éste, siendo un infante, siempre triunfa y supera los obstáculos que su abuela le pone. Dhipaak es apenas un niño, que simboliza el corazón del maíz. Hay una identificación entre ambos. Dhipaak es el maíz mismo, pero esta identificación va más allá, pues también se hace entre el hombre y el maíz: “Dhipaak es el que trajo el maíz. Por eso el maíz ahora existe. O sea que el maíz nunca se va a acabar. El maíz va a haber siempre, mientras el hombre exista, porque el hombre es el mismo maíz, el maíz es el hombre, o sea esa es la vida” (Ochoa, 2000). El maíz es un elemento de carácter divino, no es solamente un alimento. Es sustento de la vida en la comunidad teenek, pero también es un principio rector, un eje de ordenamiento de la cosmogonía y de la vida misma, pues con él comenzó la vida del hombre. El hombre no puede vivir sin el maíz. Este alimento, enviado por los dioses para que la humanidad sobreviviera, es una parte fundamental de la interpretación del mundo que rodea a los teenek. Gracias al maíz existe el pueblo teenek. Es esencial en su vida: es la base de su alimentación, su cultivo es una de las principales actividades económicas de la región, se le utiliza en fiestas y rituales y simboliza la instauración del orden en el mundo al evitar la carencia de alimento.

La figura de Dhipaak, el corazón del maíz, se encuentra presente en varios cuentos y leyendas que forman parte del rico acervo de narrativas orales de la comunidad y que mediante la tradición oral, preserva las creencias originales acerca del valor de este recurso natural y recuerda a sus miembros la importancia de su protección y cuidado. A partir de las lecturas y del análisis de estas leyendas, podemos darnos cuenta de la manera en que los hombres teenek se conciben a sí mismos y de cómo su patrimonio cultural refleja la íntima relación que existe entre la sociedad y la percepción de la naturaleza como algo sagrado. La naturaleza y especialmente en este caso, el maíz, es un organismo vivo, que siente, que tiene un alma y que además sufre y se sacrifica para poder alimentar al ser humano.

CONCLUSIONES

Uno de los factores más considerables para hablar de México como un país multicultural, es la presencia de diversos grupos originarios que tienen una cosmovisión propia, la cual ha podido sobrevivir y perdurar a pesar de la introducción de distintos elementos culturales ajenos mediante el proceso de conquista y colonización y las constantes transformaciones del contexto en el que viven. Una de las formas en que se ha podido conservar la identidad propia y la cosmovisión de estos pueblos, es la narrativa oral, mediante los cuentos, leyendas y mitos que se han transmitido por tradición oral, de generación a generación. Entre las narrativas más importantes del pueblo teenek, se encuentra la de Dhipaak y el origen del maíz. Gracias a ella, pudimos comprender una parte de la configuración de la cosmovisión de los huastecos potosinos y, asimismo, adentrarnos al mundo de relaciones de dicho pueblo indígena con la naturaleza.

BIBLIOGRAFÍA

- BONFIL, G. (1990). México profundo, una civilización negada, México: Grijalbo-CONACULTA.
- BRODA, J. (2003). “La ritualidad mesoamericana y los procesos de sincretismo y reelaboración simbólica después de la conquista” en *Graffylia*, Núm. 2, [pp. 14-28].
- GALLARDO, P. (2004). Huastecos de San Luis Potosí, México: CDI-PNUD.
- OCHOA, Á. (2000). “Las aventuras de Dhipaak o dos facetas del sacrificio en la mitología de los teenek (huastecos)”, en *Dimensión Antropológica*, Vol. 20, [pp. 101-123]. Consultada en: <http://www.dimensionantropologica.inah.gob.mx/?p=951> (04/07/17).



CARACTERIZACIÓN DEL PROCESO DE CONCENTRACIÓN Y DESHIDRATACIÓN DE JUGO NATURAL DE NARANJA

Sandra Marina Zúñiga López¹ y Christian Michel Cuello²

RESUMEN

La industria de jugos y néctares se ha mostrado en los últimos años como uno de los sectores económicos más dinámicos y como una de las más importantes dentro del segmento de conservas alimenticias, sin embargo, los procesos térmicos afectan la composición de la naranja, principalmente el ácido ascórbico, por lo que se utilizará el proceso de liofilización para deshidratar el producto; utilizando naranjas de la variedad Valencia; se tuvieron diferentes muestras de jugo, gajos, semillas y cáscara; finalizando el deshidratado cuando el valor de r era menor a 0.97. Obteniendo que el proceso de liofilizado en jugo de naranja es ideal para mantener las características originales de éste, sin embargo no es recomendable para los productos con gran cantidad de materia seca como las semillas y cáscara, en relación a los gajos de naranja deshidratan más rápido los que no tienen membrana a los que sí la tenían.

ABSTRACT

The juices and nectars industry has shown itself in recent years as one of the most dynamic economic sectors and as one of the most important in the segment of preserved food, however, thermal processes affect the composition of orange, mainly ascorbic acid, whereby the lyophilization process was used to dehydrate the product; using oranges of the variety Valencia; we had different samples of juice, orange segments, seeds and orange peel; the dehydration was ended when the value of r was less than 0.97. Obtaining that lyophilization in orange juice is ideal to maintain the original characteristics of it, however it's not recommended for products with large amount of dry material such as seeds and peel, relative to the orange segments they dehydrate faster those who have no membrane to those who did.

INTRODUCCIÓN

La naranja es el fruto del naranjo dulce, árbol que pertenece al género Citrus de la familia de las rutáceas. Es una fruta con escaso valor calórico, con un aporte interesante de fibra soluble (pectinas). En su composición también cabe destacar la elevada cantidad de ácido ascórbico o vitamina C (FEN, s/a). Las características que se ocupan para cultivarlo son temperaturas de 24 a 32°C, precipitación de 1200 a 1500 mm/año y alturas variables de nivel del mar a 1500 m.s.n.m. (SEMARNAT y CONAGUA).

La producción de naranjas prevista para 2010 es de 66.4 millones de toneladas, con una tasa de crecimiento anual del 1.12%. La producción se utiliza como productos frescos (36.3 millones de toneladas) y como productos elaborados (30.1 millones de toneladas) (FAO, 2004).

Las variedades cultivadas en México son la valencia, navel-lane-late y la navelina. La producción nacional fue de 4,104,556 toneladas de naranja, de las cuales 414,906 toneladas fueron producidas en el estado de San Luis Potosí, esto significa el 10.1% del total (SIAP, 2009). El 90% de la superficie productiva del estado se localiza en la región de la Huasteca, donde se obtiene un rendimiento de 8t/ha, ésta producción es de la variedad valencia (INIFAP, 2003).

La industria de jugos y néctares se ha mostrado en los últimos años como uno de los sectores económicos más dinámicos y como una de las más importantes dentro del segmento de conservas alimenticias. Dicho dinamismo se ha visto acompañado con una mayor diversidad de productos; su crecimiento en ventas ha sobresalido en la economía mexicana al mostrar una tasa de crecimiento anual del 6.7% entre 1996 y 2002 (CENAM, s/a).

El consumo de bebidas (con y sin gas) representa el gasto corriente de los hogares mexicanos destinado a alimentos, bebidas y tabaco; de éste gasto total las familias gastan en promedio 8.7% en jugos y el gasto promedio fuera del hogar el 2.3% en este mismo producto. En cuanto al rubro de precios, este sector se caracteriza por ofrecer productos con un valor asequible al bolsillo de los consumidores en general (CENAM, s/a).

El mercado de exportación de los jugos mexicanos se compone de 67 países, siendo el más importante lo Estados Unidos de América con el 78% de las exportaciones para el año 2004 (CENAM, s/a).

El agua es un componente importante de los alimentos. Ella contribuye a la estructura y textura, y su interacción con otros componentes determina la estabilidad relativa durante el almacenamiento. La actividad de agua o a_w puede ser interpretada como el agua disponible para que ocurran las reacciones del deterioro, no solo de crecimiento microbiano, sino también aquellas asociadas al deterioro químico del alimento, como las pérdidas del valor nutrimental, la rancidez, los cambios de coloración y otras (Díaz, 2005).

Se utilizarán dos procesos para este proyecto que son deshidratación y concentración. El primero consiste en la extracción del agua en condiciones controladas (Gil, 2010); se considera que un alimento está deshidratado si no contiene más de 2.5% de agua; con ello se consigue una mejor conservación microbiológica, además de retardar muchas reacciones indeseables. Aunque esta conservación del alimento tiene una gran importancia, con la deshidratación también se logran disminuir los costes de envasado, manejo, almacenado y transporte, ya que se disminuye el peso del alimento, y en algunos casos el volumen. Sin embargo el proceso de secado de alimentos no sólo rebaja su contenido de agua, sino que puede afectar otras características físicas y químicas de los mismos, como son destrucción de nutrientes, reacciones enzimáticas y no enzimáticas (Ibarz y Barbosa-Cánovas, 2005); además estos productos tienen el peligro de su alta higroscopicidad, y el almacenamiento en lugares húmedos puede favorecer el desarrollo de hongos y levaduras (Gil, 2010).

La concentración se basa en la reducción parcial del agua del alimento mediante ebullición, evaporación al vacío, etc. (Gil, 2010); esto para facilitar su conservación y transporte. El problema es que muchas soluciones alimentarias son termolábiles y pueden quedar afectadas si son expuestas a una temperatura demasiado elevada (Ibarz, et al., 2005), y que los productos derivados de este tratamiento, poseen un aw alto, por lo que requieren otros tratamientos de conservación adicionales para dar estabilidad al producto (Castro, 2011).

Los procesos de concentración y deshidratación son una alternativa viable para la conservación e industrialización de jugo natural de naranja; por lo que se desea establecer las condiciones iniciales para la conservación de jugo natural de naranja por medio de concentración y deshidratación, utilizando liofilizado y rotavapor.

MARCO TEÓRICO

La liofilización es un proceso de secado mediante sublimación (Orrego, 2008). La sublimación sólo puede conseguirse si la temperatura y la presión parcial del agua (hielo) son inferiores a las del punto triple del agua. En la figura 1 se representa la presión de vapor del agua en función de su temperatura, se puede apreciar el punto triple del agua se sitúa a la presión de 610 Pascal (4.58 Torr = 4.58 mmHg), para una temperatura de 0.01 °C (Casp y Abril, 2003).

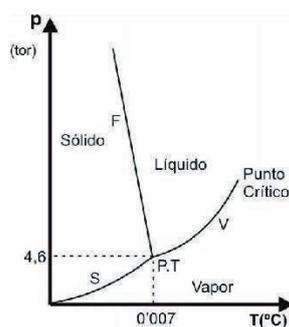


Figura 1. Diagrama de fases del agua. Punto triple del agua

Estos valores corresponden al agua pura, pero en los alimentos no existe agua pura, sino disoluciones más o menos concentradas de sólidos en agua, en consecuencia el punto triple se desplaza hacia temperaturas más bajas, según la concentración de estos sólidos (Casp, et al., 2003).

Cuando se realiza el secado mediante liofilización se distinguen tres etapas que se muestran en la figura 2.



Figura 2. Etapas del proceso de liofilización

Fase 1: Llamada etapa conductiva. Inicialmente, por el calentamiento de la muestra, la velocidad de sublimación crece rápidamente hasta llegar a un máximo. El tiempo para agotar esta fase es relativamente corto, entre un 10 y 15% del tiempo total del proceso (Orrego, 2008). Este calor debe aplicarse cuidadosamente para no llevar la temperatura del producto por encima del punto de fusión (Casp, et al., 2003).

Fase 2: Primera etapa difusiva. Muestra un descenso importante de la velocidad de sublimación debido a la formación de una capa porosa de material seco que opone resistencia creciente al flujo de calor y al vapor a medida que procede el secado.

Estas dos fases se denominan como secado primario; en ellas se lleva a cabo la mayor parte de remoción de agua del producto (entre un 75-90%) (Orrego, 2008). El tiempo típico de la desecación primaria para un espesor de 10 mm de un material simple es de alrededor de 6 horas, con una estructura favorable de los cristales de hielo y unas condiciones óptimas de temperatura y presión en la cámara de secado (Casp, et al., 2003).

Fase 3: Segunda etapa difusiva, llamada también secado secundario. La velocidad de sublimación continúa decreciendo de forma que se aproxima a cero. Esto debido a que el calor necesario para retirar el agua ligada es más alto que el calor de sublimación. Es posible en esta etapa incrementar la temperatura de la calefacción y del producto hasta valores del orden de 50°C, dependiendo del material que se trate (Orrego, 2008), ya que si la parte sólida está demasiado caliente la estructura colapsa, lo que se traduce en una disminución e la velocidad de sublimación de hielo en el producto (Ibarz, et al., 2005).

La concentración es una operación unitaria en la que un solvente volátil (normalmente agua) es eliminado por ebullición de un alimento líquido, hasta que su contenido de sólidos alcance la concentración deseada. Los requisitos para conseguir una evaporación óptima incluyen:

1. Transferencia de calor adecuada. La velocidad en la transferencia de calor determina el tiempo requerido para conseguir una buena evaporación. La transferencia de calor depende de tres factores tales como el tipo de alimento a concentrar (propiedades físicas), el tipo de evaporador utilizado (eficiencia del diseño) y el tamaño de la superficie de transmisión de calor.

2. Eficiencia de la separación vapor-líquido. La separación del vapor en ebullición, del líquido es crucial para la eficiencia del diseño del evaporador.

3. Uso eficiente de energía. El evaporador debe hacer un perfecto uso del calor disponible y de las fuentes de energía (Casp, et al., 2003).

Muchos alimentos líquidos contienen componentes aromáticos de mayor volatilidad que el agua, y que por lo tanto la acompañarán durante la evaporación, perdiéndose aromas a la vez que el agua. La pérdida de aromas es importante en muchos alimentos líquidos, pero es fundamental en la concentración de zumos de fruta. Entonces si la evaporación separa de forma cuantitativa dichos compuestos volátiles, estos deben volver a incorporarse al producto de alguna forma. Para prevenir los daños por calor y la oxidación de compuestos aromáticos diluidos, el proceso de separación se lleva a cabo a vacío y los vapores se condensan a bajas temperaturas (Casp, et al., 2003).

El aumento del punto de ebullición de una solución (alimento líquido) se define como el punto de ebullición sobre el agua pura, a una determinada presión (Casp, et al., 2003), ya que el agua hierve a una temperatura determinada, siempre que la presión permanezca constante. Si la presión varía, la temperatura de ebullición también. Para soluciones acuosas, la temperatura de ebullición ya no sólo depende de la presión, sino también de la cantidad de soluto que contienen. De tal forma que la presencia de soluto hace que la temperatura de ebullición aumente (Ibarz, et al., 2005).

MÉTODOS Y MATERIALES

La investigación fue desarrollada en dos partes: la primera deshidratación de productos y la segunda la concentración del jugo.

Para ambos procesos se utilizaron naranjas de la variedad Valencia, donde se obtuvo el jugo de manera manual eliminando semillas que se presentaban. Los gajos se cortaron de manera manual, las semillas y cáscaras que quedaban de la obtención de éstos se guardaron para deshidratarlos igualmente.

Para el liofilizado de jugo se tuvieron cuatro muestras con 75 ml cada uno, en las muestras de gajos de naranja fueron dos con membrana (vaso 1 y 2) y dos sin membrana (vaso 3 y 4); en los dos vasos con semillas se pusieron cinco en cada uno y la cáscara fue 5 gramos por cada vaso, todas las muestras se cubrieron con film plástico y se congelaron en un refrigerador convencional por un mínimo de 12 horas.

Una vez finalizado el proceso de deshidratación, el cual se dio por terminado cuando el valor de r era menor a 0.97; todos los productos se guardaron en el congelador cubiertos con film plástico.

RESULTADOS

Los cítricos ocupan un lugar importante en la producción mundial por sus vitaminas, fibra, sabores y aromas. Las frutas como las naranjas se deterioran rápidamente por su alto contenido de humedad, por consiguiente, para su conservación se emplean diferentes técnicas de deshidratación (Mosquera, et al., 2012).

Para cada producto (jugo, gajos con y sin membrana; semillas y cáscara de naranja) se determinaron las curvas de secado, a partir de los datos experimentales (masa vs. tiempo) obtenidos en las distintas corridas.

Los datos experimentales obtenidos del procesado a vacío del jugo de naranja se muestran en la siguiente gráfica (figura 3), en la que se observa que la curva se mantiene estable en las cuatro muestras, por lo que secaron a una misma velocidad. El mayor porcentaje de agua eliminada se produce en las primeras 3 horas, haciéndose mínima la variación cuando se alcanzan 16 horas de tratamiento

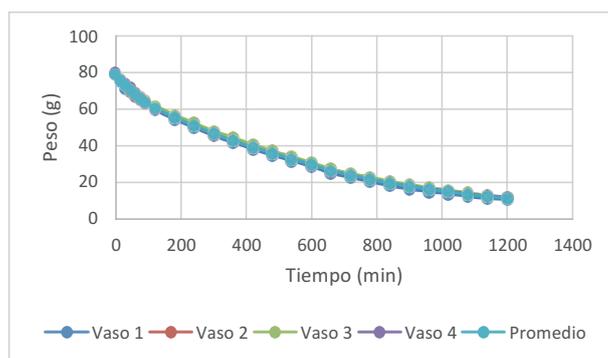


Figura 3: Curva de deshidratación de jugo de naranja

Las siguientes gráficas (figura 4 y 5) muestran los datos de los gajos de naranja donde a pesar de haber una pequeña diferencia el peso inicial, de igual forma que en el experimento anterior, deshidrataron a la misma velocidad; cabe resaltar que los gajos sin membrana secaron en menor tiempo que los que si la tenían.

Las siguientes gráficas (figura 4 y 5) muestran los datos de los gajos de naranja donde a pesar de haber una pequeña diferencia el peso inicial, de igual forma que en el experimento anterior, deshidrataron a la misma velocidad; cabe resaltar que los gajos sin membrana secaron en menor tiempo que los que si la tenían.

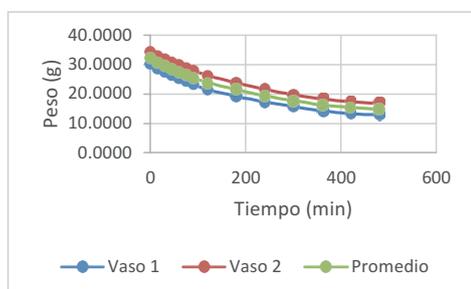


Figura 4: Curva de deshidratación de gajos de naranja con membrana

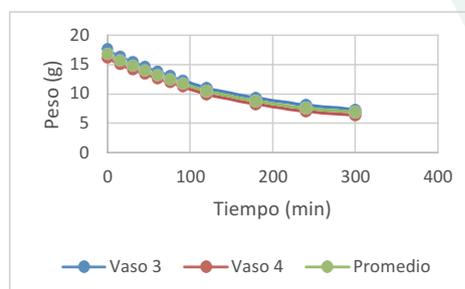


Figura 5: Curva de deshidratación de gajos de naranja sin membrana

En la figura 6 se observa la curva de secado para las semillas de naranja, éste proceso no es conveniente para este producto ya que deshidrata en muy poco tiempo, teniendo en cuenta que el liofilizado es un proceso caro, se podrían utilizar otros métodos para obtener un resultado similar y con menor gasto monetario

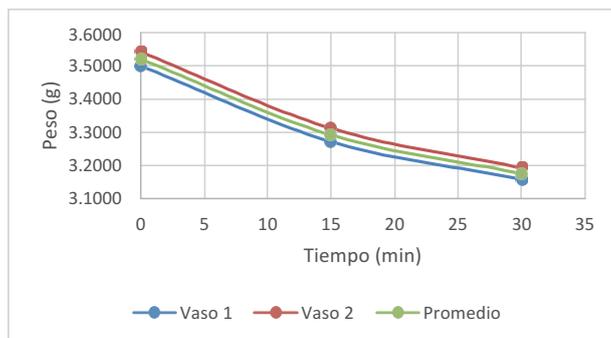


Figura 6: Curva de deshidratación de semillas de naranja

Una de las características más importantes de los alimentos liofilizados es la estructura porosa afectada por el tamaño de los cristales de hielo formados en la etapa de congelación (Mosquera, et al., 2012), debido a que la composición físico química de la cáscara de la naranja es 90% materia seca (Arroyo, 2002), no hubo una gran cantidad de agua congelada y por lo tanto que retirar por lo que, como se observa en la figura 7, no baja significativamente el peso de las muestras.

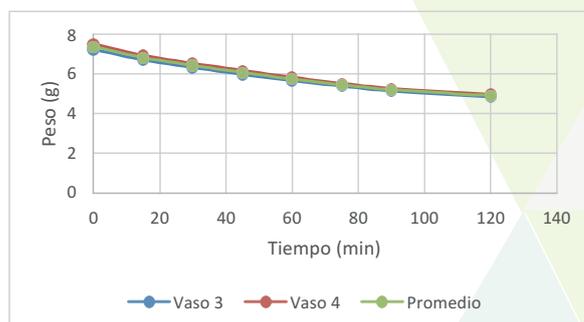


Figura 7: Curva de deshidratación de cáscara de naranja

CONCLUSIONES

- Debido a la gran producción de naranja en Rioverde, San Luis Potosí y a la baja vida de anaquel del producto, deshidratar el jugo de éste es una solución factible.
- Utilizar la operación de liofilizado es lo ideal para mantener las características originales del jugo de naranja.
- Durante el procesado al vacío del producto, se observó que el mayor porcentaje de agua eliminada del jugo sucede en las primeras horas de tratamiento.
- Otra observación fue que los gajos de naranja sin membrana deshidratan más rápido que los que sí la tienen.
- Por último podemos concluir que es rentable deshidratar productos con gran cantidad de materia seca como las semillas y cáscara.

BIBLIOGRAFÍA

- Agenda Tecnológica de San Luis Potosí (2a ed.) (2015). México: SAGARPA, INIFAP, CIMMYT y UACH.
- ARROYO ORBEGOSO, A. G. (2002) Producción de Enzimas Pectinasas por Actomycetos en Cultivo sumergido utilizando Pectina y Cáscara de Naranja, Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- CASP VANACLOCHA, A. y ABRIL REQUENA, J. (2003). Procesos de conservación de alimentos (2a ed.), Madrid: Ediciones A. Madrid Vicente y Ediciones Mundi-Prensa.
- CASTRO RÍOS, K. (2011) Tecnología de alimentos, Bogotá: Ediciones de la U.
- DÍAS TORRES, R. (2005). Conservación de los alimentos. Cuba: Editorial Félix Varela.
- GIL, A. (2010). Tratado de Nutrición. Tomo II. Composición y calidad nutritiva de los alimentos. (2a ed.), Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- IBARZ, A. y BARBOSA-CANÓVAS, G. V. (2005). Operaciones unitarias en la ingeniería de alimentos, España: Ediciones Mundi-Prensa.
- La importancia de la industria de jugos y néctares en México. (s/a). México: CENAM.
- Mercado Saludable de los Alimentos: Naranja (s/a). España: FEN.
- MOSQUERA, E. S.; AYALA, A. A. y OCHOA, C. I. (2012). “Influencia de la Congelación con Nitrógeno Líquido sobre el Secado de Naranja por Liofilización” en Vitae, Núm. 1, Vol. 19, Enero-Abril, [pp. S204-S206].
- ORREGO ALZATE, C. E. (2008). Congelación y liofilización de alimentos, Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
- Paquete tecnológico para el cultivo de la naranja. Estudio de factibilidad para la creación del distrito de temporal tecnificado Catazajá-Palenque, Chiapas. (s/a), México: SEMARNAT y CONAGUA.
- Perspectivas a Plazo Medio de los Productos Básicos Agrícolas. Proyecciones al año 2010. (2004). Roma: FAO.
- Reporte Especial. Naranja. (2009). México. SIAP. Consultado el 12 de junio de 2017: <http://infosiap.siap.gob.mx/images/stories/infogramas/100602-reporte-naranja.pdf>

DESARROLLO DE APLICACIÓN MÓVIL PARA EL SUMINISTRO DE FERTILIZANTES Y AGROQUÍMICOS

Carlos Alberto Barrios Cisneros y David Antonio Torres Frausto

RESUMEN

El documento presente describe el desarrollo de una aplicación móvil para la implementación de micronutrientes para el desarrollo y evolución de diferentes tipos de cultivos en la región del bajo, a partir de estudios de los suelos anteriormente realizados. Este proyecto se realiza con el fin de realizar cálculos y así obtener con mayor facilidad y certeza la cantidad adecuada de dichos nutrientes a la hora de realizar la siembra, cultivo y cosecha. La aplicación se hizo bajo el entorno de desarrollo Android Studio, de la cual se tenía conocimiento como una de las asignaturas de la carrera de ingeniería.

ABSTRACT

The present document describes the development of a mobile app for the implementation of micronutrients for the development and evolution of different types of crops in the shoal región, based on previous soil studies. This project is realized in order to realize calculations and this way to obtain with major facility and certainty the suitable quantity of the above mentioned nutrients at the moment of realizing the sowing, culture and crop. The application did to itself under the environment of development Android Studio, of which knowledge was had as one of the subjects of the career of engineering.

Palabras clave: Desarrollo, aplicación móvil, Android Studio, nutrientes.

INTRODUCCIÓN

Hoy en día una aplicación móvil puede ser utilizada para cualquier campo en el que se trabaje y en esta ocasión será utilizada para el campo de la agricultura.

La agricultura en México es considerada como una de las actividades económicas con mayor relevancia ya que genera gran cantidad de empleos en el país; es considerada como el sector productivo más importante desde un punto vista económico, social y ambiental, ya que de ésta depende la alimentación primaria de millones de personas, el incremento de la población productiva y la preservación y cuidado del entorno. Cabe destacar que la región bajo es de las zonas de donde proceden la mayor cantidad de productos agrícolas. Se realizó una breve introducción al campo de la agricultura, como los macro y micronutrientes y tipos de suelo. En base a esto, se realizó esta aplicación que es de gran utilidad para la gente que se dedica a la agricultura.

En esta aplicación se implementaron elementos que no se tenía conocimiento y se desarrollaron con éxito.

MÉTODOS Y MATERIALES

El desarrollo de la aplicación fue dividida en tres pasos: diseño, desarrollo y prueba.

Para cada pantalla en donde se hacen los cálculos de cada cultivo se implementaron los siguientes diseños de interfaz:

- RecyclerView
- Cardview

Esto para facilitar el movimiento a la hora de hacer el diseño de cada uno de los elementos como campos de texto, botones, botones seleccionables, etc.

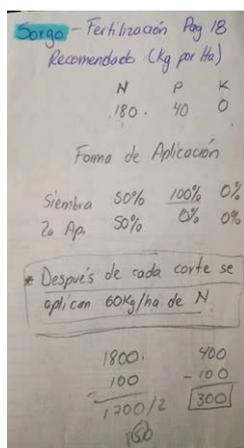


Figura 1. Apuntes sobre la aplicación de micronutrientes para sorgo en el suelo

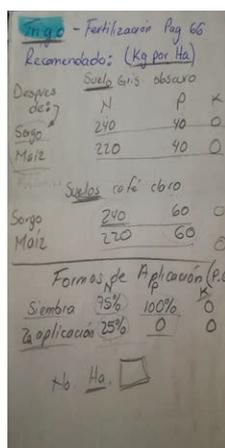


Figura 2. Apuntes sobre la aplicación de micronutrientes para trigo en el suelo



Figura 3. Diseño de pantallas con CardView y RecyclerView

RESULTADOS

Los resultados de la aplicación se muestran en las siguientes figuras:



Figura 4. Pantalla principal de la aplicación con las 4 semillas para cultivar.

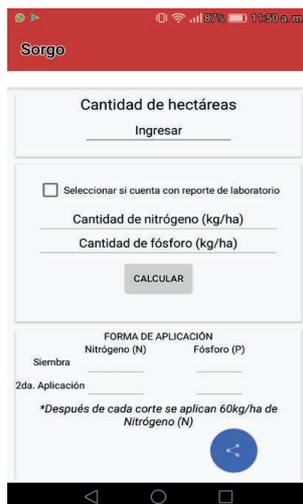


Figura 5. Pantalla en donde se hacen los cálculos del sorgo. Todavía sin ingresar datos.

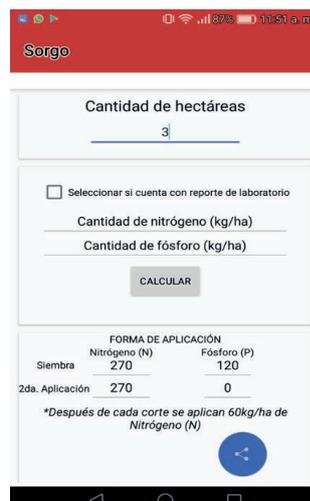


Figura 6. Pantalla en donde se hacen los cálculos del sorgo. Con datos ingresados en hectáreas y con resultados.

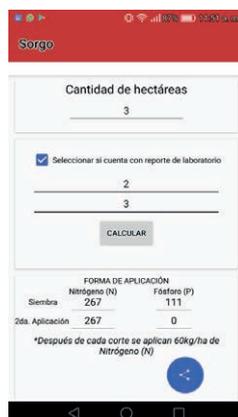


Figura 7. Pantalla en donde se hacen los cálculos del sorgo. Con datos ingresados en hectáreas y con datos de análisis de laboratorios con resultados.

CONCLUSIONES

Se aprendió nuevas formas de realizar diseños de interfaz, que son comúnmente utilizadas en la mayoría de las aplicaciones en la actualidad.

Se tuvieron algunas dificultades durante el desarrollo de este proyecto, algunas herramientas utilizadas nunca se habían visto y fueron varios días de adaptación y capacitación. También se desconocían algunos términos y librerías que se usan en el entorno de Android Studio.

Se desconocía por completo la manera en que se llevaba a cabo el proceso de crecimiento de los cultivos que se investigaron, sin embargo, se aprendió lo suficiente para después programar los cálculos de los micronutrientes necesarios y recomendados para el crecimiento de éstos cultivos.

BIBLIOGRAFÍA

- Girones, T., Carbonell, V., Vogt, C., García, M., Botaller, J. & Ferri, D. (2013). El gran libro de Android. Marcombo S.A., editorial. p. 392.
- Prochnow, L., Moraes, M. & Stipp, S. (2009). "Micronutrientes" en Simposio "Fertilidad 2009" pp. 8-11. Consultada en [http://lacs.ipni.net/0/911FAF872B76432C852579840053ECE7/\\$FILE/Prochnow-SpanishIPNI.pdf](http://lacs.ipni.net/0/911FAF872B76432C852579840053ECE7/$FILE/Prochnow-SpanishIPNI.pdf) (fecha de consulta 07-06-2017).
- Guerra, P., Macías, C. & Terán, R. (2014). "Producción de maíz Forrajero" pp. 15-17. Consultado en http://biblioteca.inifap.gob.mx:8080/jspui/bitstream/handle/123456789/4311/010208104500066446_CIRNOC.pdf?sequence=1 (fecha de consulta 09-06-2017).
- Moreno, I., Ramirez, A., Plana, R. & Iglesias, L. (2001). "El cultivo del trigo" pp. 55-67. Consultado en <http://www.redalyc.org/pdf/1932/193230162009.pdf> (fecha de consulta 12-07-2017).

PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DEL MAÍZ ALTAMENTE POLIEMBRIÓNICO

Claudia Mariana Pérez Juárez¹ y Doctor Raúl Rodríguez Herrera²

RESUMEN

La poliembrionía es un fenómeno que ocurre en el maíz que permite que de una sola semilla puedan crecer de 2 a 7 plántulas. Existen antecedentes que aseguran que el maíz de alta poliembrionía produce granos de alta calidad nutricional por lo que en este proyecto se trabajó con esos planteamientos para realizar pruebas físicas y químicas comparando estas características del maíz de alta PE con uno de PE nula y se logró observar cierta relación entre porosidad, humedad y cantidad de grasa cruda; así como también se observó cierta relación entre la composición porcentual del maíz y su porcentaje de grasa.

Palabras clave: Poliembrionía (PE), maíz, grasa, composición, porcentaje

ABSTRACT

Polyembryony is a phenomenon that corn presents, it allows one seed to grow 2 to 7 seedlings. Scientifics have already provided background that assures that high polyembryonic corn produces high nutritional quality seeds. This statement was use for this project to make physical and chemical tests comparing features between high and null polyembryonic corn. The achievement in this project was the comparison between porosity, humidity and fat quantity; as well the relation between corn's percentual composition and its fat percentage.

Key words: Polyembryony, corn, fat, composition, percentage

INTRODUCCIÓN

El maíz es una fuente alimenticia común para animales domésticos y humanos; es parte de la canasta básica mexicana. La poliembrionía es un fenómeno poco frecuente dado en algunas variedades de maíz (mexicano). Consiste en que a partir de un grano con esta característica, se pueden obtener de 2 a 7 plántulas, lo que representa mayor cosecha de mazorcas. Esta cualidad ha significado un objeto de estudio importante debido a que se podría reducir el número de semillas necesarias para sembrar una hectárea (Villarreal, Raúl Rodríguez-Herrera, M. Humberto Reyes-Valdés, José Espinosa-Velázquez, Francisco Castillo-Reyes, 2010) Se trabajó con muestras de maíz de diferentes tipos clasificados en Alta poliembrionía (C) e Híbridos (T).

Análisis bromatológicos reportan que en el mercado actual del maíz, los granos presentan un nivel de proteína cruda bajo esto representa deficiencia de aminoácidos esenciales entre los que destacan por bajo contenido lisina y triptófano. El porcentaje de grasa está entre 3.0% a 3.5% (Dale, 1997; Araba, 1998, citado en Feed and Grain, 1998). La baja cantidad de los componentes mencionados ha llevado al desarrollar mejoras genéticas para obtener variedades de mayor calidad proteica, haciendo que sean ricas en lisina y triptófano, con alto contenido de grasa cruda de entre 6 a 9 % para su posterior comercialización.

Además de la ventaja de mayor producción de fruto a partir de poca materia prima, el maíz de alta PE cuenta con una buena calidad nutricional. Anteriores investigaciones han reportado que este maíz presenta mayor cantidad y calidad de grasa cruda altamente nutritiva, así como calidad proteica y fisicoquímica sobresaliente. Este planteamiento de que la PE está asociada a mayor y mejor contenido de aceites y proteína embrionaria, se ha documentado, inicialmente por análisis bromatológicos de los granos (Espinosa et al., 1999), y recientemente por cuantificación de ciertos nutrientes específicos, como los ácidos grasos (Valdés et al, 2004). Resultados de estos experimentos reportan que el maíz PE ha presentado altos niveles de grasa cruda por encima de un 4.5 %y con un promedio del 6.5%, presentando así también una gran cantidad (50%del aceite total) de ácidos grasos insaturados (importantes para la obtención de aceites comestibles) (Espinosa, Valdés, Reyes, de León, Whole grain nutrient quality in polyembryonic maize populations, 2004) Por estas razones, en este proyecto se buscó comprobar algunas de estas propiedades del maíz con alta PE, además de buscar otros datos referentes a su calidad física y química característicos del mismo.

MÉTODOS Y MATERIALES

Se realizaron pruebas de calidad física y química a los granos de maíz usando 15 genotipos de maíz de alta PE (C) y 2 de Híbridos (Testigos o T) los cuales presentan PE nula. Algunas de las pruebas fueron realizadas por duplicado y otras por triplicado con granos diferentes de la misma muestra. Las primeras pruebas realizadas fueron Físicas, debido a que la mayoría no son destructivas. La segunda parte de pruebas realizadas fueron las Químicas ya que estas pruebas son destructivas

Determinación de Tamaño del Grano: Con un vernier se midió largo, ancho y grueso del grano. Datos reportados en mm, (Martínez-Herrera y Lachance, 2006). Esta prueba se le realizó a 10 granos de cada muestra por triplicado

Determinación del peso de Mil Granos: El peso de mil semillas varía según la especie e incluso el cultivar. (Amaro et. al, 2011) El peso del grano es depende del tamaño y su densidad. En este caso, se pesaron mil granos de cada muestra en balanza analítica por duplicado y posteriormente se comparó con los resultados de composición porcentual. El fundamento de esta prueba sugiere que, a mayor peso, mayor porcentaje de endospermo y mayor extracción de harina.

Determinación Índice de Flotación del Grano: Se evaluó dureza del grano indirectamente a través de esta prueba. Se utilizó una solución de Nitrato de Sodio, a densidad de 1.250 g/ml donde se vertieron 100 granos enteros, libres de impurezas, separando los granos en la solución con un agitador de vidrio, posteriormente reposaron un minuto, al término de este, el número de granos que ascendieron a la superficie, fue el Índice de Flotación (NMX-FF- 034/1-SCFI-2002). Prueba realizada por duplicado

Determinación de Densidad de 5 Granos: Esta prueba se realizó en base al principio de Arquímedes y en las unidades de las que resulta la densidad que es dada por gramos sobre mililitros (g/ml). Se obtuvo el peso de 5 granos (por duplicado) en balanza analítica para así poder determinar g, después, esos mismos 5 granos fueron vertidos en una probeta de 10 ml con un volumen de agua conocido; el volumen de agua desplazado fue lo que se tomó como ml. Al final se realizó una división entre estos resultados para así obtener la densidad. Se evaluó indirectamente dureza del grano

Determinación Composición Porcentual: Se remojaron 5 granos de maíz por 5 a 12 horas (por triplicado) previamente pesado, posteriormente con un bisturí se separó el pericarpio (capa externa), endospermo y embrión; se dejaron secar para ser pesados y así obtener el porcentaje de estos componentes en el grano.

Determinación de Humedad -> Método por secado estufa (Kirk et al, 1996): Para conocer porcentaje de agua del grano. Se pesaron 3 g de muestra (por duplicado), se colocaron en cajas petri previamente pesadas después de estar a peso constante 12 hrs. a 100°C aprox. Se secaron las muestras en la estufa 3 hrs. a 100°C, se sacaron, taparon, dejaron enfriar en desecador y se pesaron cuando se alcanzó la temperatura ambiente.

Determinación Grasa Cruda-> Extracción con Disolvente (Martínez, 2003): Se molieron granos de cada ejemplar para tomar muestra de 250mg, fue vaciada en tubos de cultivo para agregar 10 ml de mezcla de hexanos (solvente). Se puso en agitación 4 horas. Posteriormente se dejó en reposo para separar fase líquida de sólida y decantar el líquido en frascos de vidrio previamente puestos a peso constante 12 horas a 70 °C aprox. Los frascos se pusieron sobre una parrilla a 60-70°C (temp. ebullición hexano) hasta que el solvente se evaporó por completo dejando únicamente el aceite extraído del grano. Prueba realizada por duplicado

Determinación de Cenizas -> Método cenizas totales (calcinación)(Kirk et al, 1996): Esta prueba fue realizada para calcular porcentaje de materia no orgánica. Se puso crisol a peso constante (12 hrs a 100°C aprox.), se dejó enfriar en el desecador; ya a temperatura ambiente se pesó el crisol vacío y se agregó 5gr de muestra (realizado por duplicado). Se pesó el crisol nuevamente. Se calcinó muestra, primero exponiéndola a flama directa hasta que dejó de desprender humos y posteriormente metiendo a la mufia 4 hrs a 600°C, consiguiendo cenizas blancas o ligeramente grises. Se enfrió en el desecador para luego pesar y obtener porcentaje de cenizas, lo cual representa el porcentaje de minerales (materia no orgánica) en el grano

RESULTADOS

Se presentaran propiedades físicas y químicas del maíz de alta poliembrionía (C) y dos muestras testigos (T). Se tomaron los mejores 5 promedios de maíz PE y los 2 de las muestras Testigo

Tamaño del Grano

Tabla 1. Largo muestra C

Muestra	Promedio	DE
1	11	0.25
2	10.99	0.57
3	10.92	0.47
4	11	0.35
5	11	0.46

Tabla 1. Ancho muestra C

Muestra	Promedio	DE
1	8.38	0.25
2	8.38	0.25
3	8.38	0.25
4	8.38	0.25
5	8.34	0.53

Tabla 1. Grosor Muestra C

Muestra	Promedio	DE
1	4.27	0.59
2	4.23	0.42
3	4.31	0.31
4	4.21	0.32
5	4.25	0.31

Tabla 2. Largo Muestra T

Muestra	Promedio	DE
1	10.96	0.36
2	13.56	0.55

Tabla 2. Ancho Muestra T

Muestra	Promedio	DE
1	9.24	0.32
2	7.72	0.54

Tabla 2. Grosor Muestra T

Muestra	Promedio	DE
1	4.19	0.51
2	4.13	0.25

Dados los resultados, se puede observar que los granos C son más pequeños y gruesos que los T que son más grandes y delgados. Los granos con mayor dimensión resultaron ser los T_c

Peso de Mil Granos

Tabla 3. Peso promedio de mil granos C

Muestra	Promedio	Desviación Estándar
1	239.13	8.71
2	232.9	2.22
3	234.53	7.84
4	232.6	2.57
5	231.5	2.47

Tabla 3. Peso promedio mil granos T

Muestra	Promedio	Desviación Estándar
1	259.55	38.28
2	312.05	3.55

Se nota que, en general, los granos T son más grandes que los C por sus pesos más elevados. Los pesos en las repeticiones de la muestra 1, variaron demasiado a pesar de haber elegido granos los más similares posibles.

Composición Porcentual

Tabla 4. Porcentajes Composición Porcentual C

Muestra	Promedio % Pericarpio	Desviación Estándar	Promedio % Embrión	Desviación Estándar	Promedio % Endospermo	Desviación Estándar
1	4.64	0.11	8.35	0.67	81.69	0.1
2	4.55	0.31	10.37	0.62	86.23	0.36
3	3.64	0.16	12.05	0.55	87.74	2.67
4	4.31	0.61	12.38	0.79	84.7	1.49
5	5.09	0.5	13.11	1.5	92.86	1.55

Dados los porcentajes resultantes, en C el pericarpio es más grueso, en T el Embrión y el Endospermo son más grandes lo cual tiene relación con la prueba de peso de mil granos (ver Métodos y Materiales)

Densidad de 5 granos

Tabla 5. Densidad de 5 granos C

Muestra	Promedio	Desviación Estándar
1	1.24	0.04
2	1.25	0.11
3	1.21	0.2
4	1.24	0.04
5	1.24	0.08

Tabla 5. Densidad de 5 granos T

Muestra	Promedio	Desviación Estándar
1	1.26	0.02
2	1.2	0.01

Al ser más grande y pesado el grano T muestra una densidad mayor a la de C. La densidad del maíz es importante en el almacenamiento y transporte, ya que determina las dimensiones de los contenedores para ambas finalidades

Índice de Flotación

Tabla 6. Promedios I.F. C

Muestra	Promedio	Desviación Estándar
1	3.5	0.71
2	4.5	0.71
3	5	0
4	3	1.41
5	3.5	2.12

Tabla 10. Promedios I.F. T

Muestra	Promedio	Desviación Estándar
1	1.5	0.71
2	9.5	0.71

A pesar de elegir los mejores promedios, estos resultados variaron mucho, porque tal vez la porosidad del grano no es constante. Dados los resultados, C presenta un IF constante y en un caso, T presentó un mayor IF

Porcentaje de Humedad

Tabla 7. Promedios porcentaje humedad C

Muestra	Promedio	Desviación Estándar
1	0.3	0.0014
2	0.4	0.0035
3	0.4	0.0057
4	0.4	0.0127
5	0.4	0.0127

Tabla 7. Promedios porcentaje humedad T

Muestra	Promedio	Desviación Estándar
1	0.07	0.0042
2	0.06	0.0007

Muestras de C presentaron mayor contenido de agua que las muestras T. El contenido de humedad y la densidad van de la mano; cuanto más elevado es el nivel de humedad, menor será la densidad (FAO O. d., 2017);

Porcentaje Grasa Cruda

Tabla 8. Porcentaje grasa cruda C

Muestra	Promedio	Desviación Estándar
1	0.0026	0.0008
2	0.0034	0.0003
3	0.0028	0

1	0.0026	0.0008
2	0.0034	0.0003
3	0.0028	0

4	0.0036	0
5	0.0044	0.0017

Muestra	Promedio	Desviación Estándar
1	0.0054	0.0014
2	0.0044	0.0017

Tabla 8. Porcentaje Grasa Cruda T

Dados los promedios resultantes, se observa porque los granos T fueron más pesados que los C. A pesar de no contener mucha agua, los granos T contenían mayor porcentaje de Grasa Cruda

Tabla 8. Porcentaje grasa cruda C

Muestra	Promedio	Desviación Estándar
1	0.0149	0.00042
2	0.0134	0.00028
3	0.0135	0.00099
4	0.0118	0.00017

Por falta de material y tiempo, esta prueba no pudo terminarse pero, según los resultados de la muestras que se pudieron analizar, la cantidad de minerales es mucho mas baja que la de grasas (materia orgánica). Se observa una baja DS, lo cual significa que en el maíz de alta PE, esta es una característica constante

CONCLUSIONES

La importancia de este proyecto radicó en conocer algunas características físicas y químicas del grano de alta PE que lo hacen ser denominado como un grano de alta calidad nutricional. Algunas características que resaltaron fueron que no es un grano muy poroso y que contiene una cantidad aceptable de grasa cruda. El consumo de maíz PE, representa grandes beneficios para salud humana, diferentes sectores agrícolas y agroindustriales, así mismo en el sector económico.

Se hace un agradecimiento a la M.C. Mariela Ramona Michel Michel por su cooperación e instrucción a lo largo de este proyecto

REFERENCIAS

- Adalira Villarreal, Raúl Rodríguez-Herrera, M. Humberto Reyes-Valdés, José Espinosa-Velázquez, Francisco Castillo-Reyes. (2010). XENIA Y SU RELACIÓN CON LA POLIEMBRIONÍA EN MAÍZ. agosto 7, 2017, de Universidad Autónoma de Coahuila, Acta Química Mexicana Sitio web: <http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/AQM/No.%203/AQM3xenia.html>
- Felipe Sánchez Banda. (2016). Investigan modelo de poliembrionía en maíz. agosto 7, 2017, de CONACYT Sitio web: <http://www.conacytprensa.mx/index.php/ciencia/ambiente/11770-investigan-modelo-de-poliembrionia-del-maiz>
- José Espinoza-Velázquez, Jesús Valdés-Reyna y José Manuel Alcalá-Rodríguez. (2011). Morfología y anatomía de radículas múltiples en plántulas de maíz derivadas de cariopsis con poliembrionía. agosto 8, 2017, de SciELO Sitio web: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-27682012000100013
- Anónimo. (2007). Fundamentos y Técnicas de Análisis de Alimentos. Julio 29, 2017, de DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGIA FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM Sitio web: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/FUNDAMENTOSYTECNICASDEANALISISDEALIMENTOS_12286.pdf
- Espinoza Velázquez, Valdés Lara, Reyes Vega, de León Castillo. (2004). Calidad nutricional del grano en poblaciones de maíz poliembriónico. Agosto , 2017, de UAAAN Sitio web: www.uaaan.mx/DirInv/Rdos2003/maiz/calnutric.pdf

¹Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Investigación en Alimentos; Blvd. Venustiano Carranza s/n, República Oriente, C.P: 25280, Saltillo, mariana.pzjz@gmail.com

²Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Investigación en Alimentos; Blvd. Venustiano Carranza s/n, República Oriente, C.P: 25280, Saltillo. raul.rodriguez@uadec.edu.mx

AISLAMIENTO DE BEGOMOVIRUS DE PLANTAS *Nicotiana benthamiana* INFECTADAS POR MEDIO DE BIOBALÍSTICA

Dafne Pamela Ramírez Aguirre¹ y Gerardo Rafael Arguello Astorga²

RESUMEN

El incremento en pérdidas agrícolas por deficiencias nutricionales, infecciones virales o por plagas ha impuesto distintas investigaciones para la prevención y tratamiento de los mismos. Los virus en plantas presentan síntomas como enanismo, mosaico, moteados, necrosis, clorosis, deformaciones, entre otros. En este proyecto analizaremos plantas infectadas previamente por el método de biobalística, de las cuales se aislarán los virus presentes en las muestras, mediante la extracción del genoma vegetal, reacción en cadena de la polimerasa (PCR), para la amplificación de la cadena de nucleótidos, ligación, transformación bacteriana para la multiplicación en masa del plásmido, extracción del DNA plasmídico, digestión con una enzima que libera el DNA viral del plásmido y finalmente una doble digestión para obtener los patrones del genoma viral (perteneciente al género Begomovirae) y así poder distinguir diferencias entre ellos mismos.

ABSTRACT

The increase in farming waste like a consequence of a nutritional deficient, viruses infection or pests, has inforce different researches for prevention and treatment of they. The plants viruses have specific symptoms like dwarfism, mosaic, mottling, necrosis, chlorosis, malformation, among others. In this project, we analyze plants that previously were been infected by the biolistic method. We put through them many reactions like vegetal genomic extraction, polymerase chain reaction for the amplification of the nucleotides chain, ligation, bacterial transformation for multiply the plasmid, viral DNA extraction and double digestion where finally we will obtain patterns of viral genomic (belongs to Begomovirae) and identify differences between them.

INTRODUCCIÓN

La importancia del estudio de los virus se basa entre las más importantes, en la industria agrícola y como dichos microorganismos afectan la producción y calidad en los cultivos (Agrios, 2004). Los begomovirus son un género de virus perteneciente a la familia Geminiviridae, los cuales se manifiestan en cultivos hortícolas con distintos síntomas como: rizado, clorosis marginal, deformaciones, enanismo, presencia de mosaicos en hojas, reducción de tamaño en frutos, entre otras. Estos síntomas suelen confundirse con deficiencias nutricionales de las plantas, por lo que, la detección de infecciones provocadas por un virus requiere un vector que propague dicho virus, normalmente por la mosquita blanca. (Bemisiatabaci). (Rajarshiet al., 2016).

Muchas veces los síntomas no son suficientes para determinar si la planta posee alguna infección viral o deficiencia nutricional, por ello, para identificarlos completamente se requiere hacer un estudio con técnicas rápidas y confiables para su caracterización, como son ELISA, PCR y RT-PCR. El método de ELISA se ha convertido en uno de los procedimientos más confiables y prácticos debido a su sensibilidad en los resultados y a la eficiencia aún con muy poca concentración de muestra. (Nelson y Cox, 2006).

Los begomovirus son el grupo de virus más grande de acuerdo al número de especies (288 hasta el 2015) reportadas en el Comité Internacional de Taxonomía de Virus (ICTV, por sus siglas en inglés). Se encuentran particularmente en zonas tropicales y subtropicales del mundo. Poseen un genoma bipartito de ADN circular de cadena sencilla, cuyos componentes son aproximadamente de 2.6-2.7kb en los cuales se encuentran los genes esenciales para la realización de las funciones biológicas. (Quiñones et al., 2014).

MÉTODOS Y MATERIALES

Para este proyecto se utilizó un modelo de técnicas creadas en el mismo laboratorio, con el fin de minimizar el tiempo de reacción y economizar la utilización de reactivos.

Extracción de DNA genómico de plantas: Primero se sometieron las hojas de las plantas (*Nicotiana benthamiana*) a una extracción de DNA y se rotularon de la siguiente manera expresada en la tabla 1:

Tabla 1. Rotulación de los tubos eppendorf para extracción de DNA.

	Tomate 1	Tomate 2
Plantas aparentemente sin síntomas de infección	TYLCV control	PepGMV control
Plantas con síntomas de infección por virus	TYLCV	PepGMV

Se pesaron aproximadamente 50 mg de tejido vegetal infectado en tubos eppendorf y con ayuda de un pistilo pequeño y nitrógeno líquido la mezcla se muele durante 2 minutos aproximadamente. A la mezcla homogénea se le añadieron 480µl de buffer de extracción (Tris 100mM pH 8, EDTA 50mM pH 8 y NaCl 500 mM) y 37.5µl de SDS al 20%, se mezclaron los tubos invirtiéndolos y se produce una lisis celular sometiendo la mezcla a 65°C durante 10 minutos.

A temperatura ambiente se agregaron 94 µl de Acetato de Potasio 5M y una vez más se mezclaron por inversión. Los tubos se enfriaron por 5 minutos a 4°C y pasaron a la centrifuga por 5 minutos a 13,000 rpm. El sobrenadante se pasó a un tubo nuevo previamente rotulado. A dicho tubo se le agregaron 600µl de fenol-cloroformo a una relación de 1:1, inmediatamente se mezcló en vórtex, hasta obtener una mezcla blanquizca, se centrifugó durante 3 minutos a 13,000 rpm. Una vez más el sobrenadante se transfirió a unos tubos nuevos y se agregaron 10 µl de RNAsa (2 mg/ml) para eliminar los restos de RNA que puedan existir en la solución y se dejaron reposar 15 minutos para que la enzima actúe. Se agregaron 600µl de isopropanol (a 4°C), se mezcló por inversión para precipitar el DNA y se dejó reposar a 4°C durante 5 minutos. Posteriormente se centrifugó a 13,000 rpm durante 5 minutos y el resultado fue una pastilla precipitada al fondo del tubo, la cual se lavó con 400µl de etanol al 70% y nuevamente se centrifugó a 13,000 rpm por 3 minutos. Se eliminó el sobrenadante y con mucho cuidado se secaron los tubos con la pastilla en el termomixer a 37°C durante 10-12 minutos. Una vez completamente seca la pastilla se resuspendió con 50µl de buffer TE pH 8 (Tris 1M y EDTA 0.5M). Para el gel de la electroforesis se utilizó agarosa al 1% y la cámara se rellenó con buffer TAE (Tris-acetate y EDTA), se corrió el gel durante 1 hora a 74 voltios (V). Después, se tiñó el gel en bromuro de etidio durante 30 minutos para después observarlo en el fotodocumentador.

Amplificación de DNA viral por PCR. Como el gel dio un resultado positivo se prosiguió a la realización de un PCR (reacción en cadena de la polimerasa), en el cuál utilizamos los reactivos mostrados en la tabla 2:

Tabla 2. Reactivos utilizados para una reacción de PCR.

Reactivo	Concentración
Agua miliq	
Buffer Taq	10x
MgCl ₂	25mM
dNTPs	10mM
Oligo I	10 pmol/µl
Oligo II	10 pmol/µl
Taq polimerasa	10 U
DNA	100 ng/µl

La combinación A de oligos fue DGRS For / YMAC Rev y la combinación B SL2150 For / YMAC Rev. Las muestras se colocaron en el termociclador utilizando el siguiente programa (tabla 3).

Tabla 3. Programa utilizado en el termociclador para PCR

Temperatura	Tiempo	Repeticiones	Reacción
94°C	3 minutos	1 vez	Desnaturalización inicial
94°C	1 minuto	35 veces	Desnaturalización
55°C	1 minuto		Alineamiento
72°C	1 minuto		Extensión
72°C	5 minutos	1 vez	Extensión final
4°C	∞		

Para asegurarnos de que los resultados son confiables, utilizamos un control para la combinación de oligos A y otro para el B y un control negativo que no lleva muestra de DNA. Una vez terminados los ciclos se realizó nuevamente una electroforesis, para comprobar que la reacción haya tenido resultados positivos, gel con agarosa al 1% y a 74 V durante 1 hora y se tiñó con bromuro de etidio durante 30 minutos.

Ligación. Como el resultado fue positivo se continuo con la realización de una ligación, la cual consiste en incorporar al genoma circular de un vector (Plásmido), nuestro fragmenta viral (Producto de PCR) con la enzima ligasa. A las muestras que en la reacción de PCR fueron positivas y dejamos incubar a 4°C durante toda la noche.

Transformación bacteriana. Una vez con la mezcla ligada (Plásmido-Virus) empezamos la transformación bacteriana la cual consiste básicamente en introducir un DNA exógeno (Plásmido-Virus) al interior de las bacterias (células competentes), donde se multiplicará el plásmido creado con el fragmento viral. Para ello utilizamos células competentes de E. coli con CaCl₂ (Cepa Top10), las cuáles se sometieron a un antibiótico, carbenicilina, que permite a las bacterias con el plásmido creado sobrevivir, pues el plásmido contiene un gen que le confiere resistencia a la carbenicilina y Xgal, un componente orgánico que permitirá la coloración de las células que no incorporaron el plásmido de interés y así obtener células con el plásmido deseado.

Extracción del DNA plasmídico del cultivo bacteriano. Con los caldos ya incubados, se realizaron los Minipreps. Para comenzar se centrifugaron los 3 mL de caldo inculado a 8,000 rpm durante 3 minutos y desecharos el sobrenadante, la pastilla se secó perfectamente y se resuspendió la pastilla en 100 µl de solución I (glucosa, tris y EDTA), 200µl de solución II (SDS y NaOH) y 150 µl de solución III (Acetato de potasio y ácido acético) enfriándolos a 4°C por 3 minutos, centrifugamos nuevamente a 13,000 rpm durante 15 minutos y el sobrenadante se colocó en tubos nuevos a los cuales se agregaron 7 µl de RNAsa y se dejaron reposar 20 minutos a temperatura ambiente.

Agregamos 900 µl de etanol absoluto y 45µl de acetato de sodio, mezclamos por inversión y dejamos reposar a 4°C durante 3 minutos, centrifugamos. La pastilla resultante se lavó con 500µl de etanol al 70% y se centrifugó, secamos perfectamente las pastillas y finalmente se suspendieron en 50µl de TE pH 8 para elaborar una electroforesis con las mismas condiciones anteriormente descritas.

Digestión doble con EcoR1-HinI. Las muestras a digerir se trataron con las enzimas EcoR1 y HinI a las cuales se les añadió un buffer compatible con ambas enzimas, el cual es el 2.1, el DNA a digerir y agua destilada estéril. Dicha mezcla se incubó a 37°C durante 2 horas, trascurrido el tiempo se corre gel de agarosa al 2.5% en la cámara de electroforesis y se tiñó el gel a las mismas condiciones que las electroforesis anteriores.

RESULTADOS

Como resultados obtuvimos principalmente imágenes de los geles a luz ultravioleta, el resultado de la extracción de DNA genómico de plantas se muestra a continuación en la figura 1.

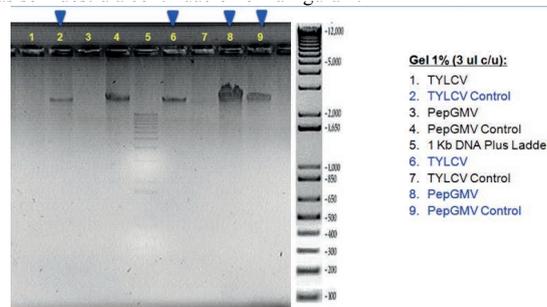
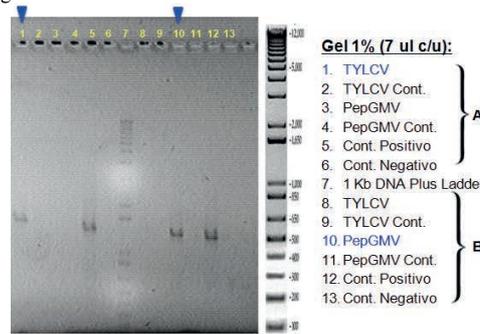


Figura 1. Fotografía de electroforesis de la extracción genómica vegetal

Como se observa en la figura 1, las muestras se realizaron por duplicado, donde utilizamos las que reflejaron la mejor concentración de DNA, las marcadas en azul, que usaremos para realizar la amplificación. Los resultados de dicha reacción se observan en la figura 2 a continuación.



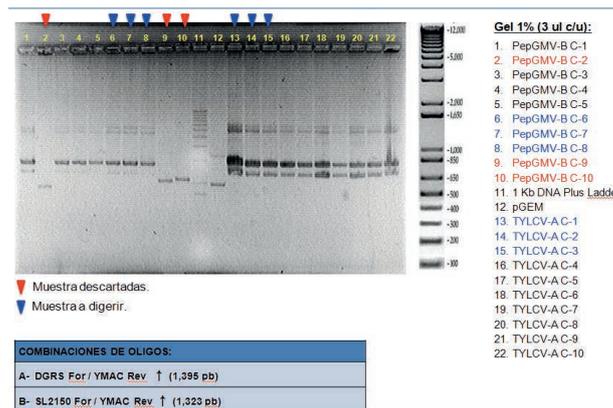
▼ Muestra ligada y transformada.

COMBINACIONES DE OLIGOS:	
A-	DGRS For/ YMAC Rev ↑ (1,395 pb)
B-	SL2150 For/ YMAC Rev ↑ (1,323 pb)

Figura 2. Fotografía de electroforesis de PCR con 2 diferentes combinaciones de oligos.

Como era de esperarse, examinando la figura 2, podemos notar que cada virus reaccionó con una distinta combinación de oligos. Lo que indica que existen dos tipos de virus distintos, así también los controles negativos de las plantas salieron negativos, afirmando que no han sido infectadas por los virus; y también, los controles de la reacción de amplificación salieron como se esperaba lo que indica que el procedimiento fue correcto. Las muestras en azul son las que se utilizaron para la ligación y transformación.

Las placas presentaron una cantidad deseable de colonias blancas (las colonias con el plásmido). Los resultados de los minipreps de las 10 colonias por muestra a las que se les extrajeron el DNA viral se presentan a continuación en la figura 3.



▼ Muestra descartadas.

▼ Muestra a digerir.

COMBINACIONES DE OLIGOS:	
A-	DGRS For/ YMAC Rev ↑ (1,395 pb)
B-	SL2150 For/ YMAC Rev ↑ (1,323 pb)

Figura 3. Fotografía de electroforesis de minipreps

Analizando la imagen anterior (figura 3) afirmamos que no todas las muestras poseen el plásmido viral que deseamos, esto es fácilmente detectable con el control negativo (pGEM), el cual es el vector utilizado para la formación del plásmido viral, pero sin el fragmento vírico; por lo tanto, posee un peso molecular menor y se nota por debajo de los que sí tiene dicho fragmento. Por lo tanto, las muestras marcadas en rojo (2,9 y 10) no serán utilizadas ya que no tienen el virus.

Debido a que todas las muestras poseen patrones similares sólo se tomarán 3 muestras de cada virus, las de mayor concentración (las marcadas en azul). Finalmente, para comprobar si realmente son dos virus distintos se sometieron las muestras seleccionadas a una digestión doble, en la cual, con ayuda de los patrones en la foto (figura 4) podremos diferenciarlos.

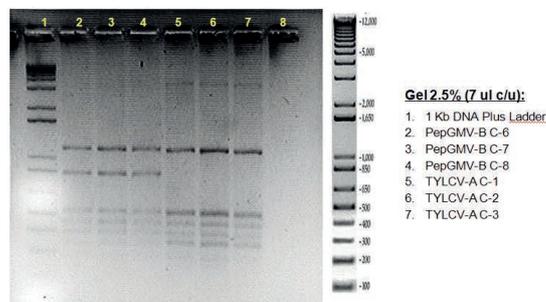


Figura 4. Fotografía de electroforesis de digestión doble con EcoRI-HinfI

Se puede percibir únicamente dos diferentes patrones de bandas en el gel, lo que indica que sólo existen 2 tipos de virus distintos en las muestras, justo como se esperaba. Por lo tanto, podemos afirmar que el procedimiento se llevó a cabo correctamente en su totalidad, ya que no hubo alteraciones en los resultados ni muestras de contaminación.

CONCLUSIONES

Concluimos brevemente, la biobalística es un método para infectar plantas con virus y tiene una efectividad muy alta, los síntomas de las plantas son importantes para el estudio de los virus y varias veces se confunden con deficiencias de nutrientes, para cerciorarse que se trata de un virus, deben aplicarse distintas pruebas. Los begomovirus se propagan gracias a un vector (en este caso la conocida mosquita blanca). Para el tratamiento de dichas infecciones es necesario eliminar el vector.

El estudio de los begomovirus es un trabajo constante y diario que puede ser útil para identificar virus y relacionarlos con los síntomas que muestran. Cabe mencionar que los virus que afectan plantas son bastantes y estos métodos se basan únicamente en el género de begomovirus, lo que indica, que una misma muestra puede tener más de un virus en ella.

El proyecto se realizó de muestras previamente infectadas con virus por medio del método biobalística, con la finalidad de facilitar la interpretación de resultados. Y de acuerdo con los resultados obtenidos se puede inferir que existe la misma caracterización viral por lo que el resultado de este proyecto es preciso y fiable. Durante la realización de este proyecto surgieron unas dificultades desde el peso de la muestra inicial hasta la mala medición de reactivos con pipetas, pero al final se detectó el error, se corrigió de la forma más rápida e ingeniosa posible y se afrontó para dar un resultado confiable.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agrios, G. N. (2005). Plant pathology. Fifth edition. Elsevier Academic Press. San Diego, CA. 922p.
- Nelson, L. D., Cox M. C. (2006). Lehninger principios de bioquímica. Cuarta edición. Omega. 1119 p.
- Quiñones Pantoja, M., Castillo Urquiza, G., Alfenas Zerbini, P., & Murilo Zerbini, F. (2014). Diversidad molecular de begomovirus en el cultivo del pimiento (*Capsicum annum* L.) en Cuba. *Revista de protección Vegetal*, 29(1), 57-61.
- Rajarshi Kumar, G., Nikolay, M. P., Basavaprabhu, L. P., & Mariya, I. (2016). *Plant Viruses: Evolution and Management*. Springer.
- Robles-Hernández, L., González Frencó, A. C., Gill Langarica, E. M., Pérez Moreno, L., & López Díaz, J. C. (Mayo-Agosto de 2010). Virus fitopatógenos que afectan al cultivo de chile en México y análisis de las técnicas de detección. *TECNOCENCIA Chihuahua*, IV(2), 72-86.

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE MUESTRAS DE AGUAMIEL A TRAVÉS DE PCR-DGGE

Dora Elisa Cruz Casas, Sandra Luz Villarreal Morales y Raúl Rodríguez Herrera

RESUMEN

El aguamiel es una bebida que se distingue por ofrecer una gran cantidad de beneficios a la salud del consumidor. Tiene como principal problema el fermentarse rápidamente, lo que ocasiona la pérdida de sus propiedades físicas y químicas. No existe información acerca de cuáles son los microorganismos que lo fermentan, así como tampoco de algún tratamiento que se haya aplicado para evitar su fermentación, hasta el momento. A través de técnicas moleculares, específicamente PCR y DGGE, se estudió los microorganismos que residen en el aguamiel, así como la efectividad del tratamiento térmico no controlado aplicado por el recolector. Encontrándose en su mayoría bacterias y levaduras fermentadoras.

ABSTRACT

Aguamiel is a drink that is distinguished by offering a lot of benefits to the consumer health. Its main problem is the quicky fermentation, which causes the loss of its physical and chemical properties. There is no information about the microorganisms that ferment it, nor any treatment that has been applied to avoid fermentation, so far. Through molecular techniques, such as the use of PCR-DGGE, we studied the microorganisms that reside in the aguamiel, as well as the effectiveness of the uncontrolled heat treatment applied by the collector. Most bacteria and uncultured yeasts with fermentation property were found.

Palabras clave: Aguamiel, PCR-DGGE, levaduras, bacterias, ADN.

INTRODUCCIÓN

El aguamiel es una bebida con diversas propiedades nutrimentales y es obtenida de diferentes Agaves. Se compone principalmente de altas cantidades de azúcares fermentables (Muñiz-Márquez, 2013). Así como de componentes bioactivos como amino ácidos que le otorgan propiedades funcionales (Ortiz, 2008). Entre las propiedades nutrimentales más destacables que esta bebida tiene, se encuentra que, inhibe el crecimiento de bacterias patógenas y estimula el crecimiento de la flora intestinal (Yáñez, Ramírez y Armendáriz, 2012).

Además, cuenta con propiedades antioxidantes e inmunológicas y es considerado un excelente prebiótico, al contar con la presencia de fructooligosacáridos, los cuales sugieren que podría tener aplicaciones en la industria de los alimentos y en la industria farmacéutica como bebida funcional. (Muñoz-Márquez, 2015).

El aguamiel posee microorganismos autóctonos como levaduras, bacterias lácticas, bacterias productoras de etanol y bacterias productoras de exopolisacáridos. Los cuales fermentan los azúcares del aguamiel (Cervantes y Pedroza, 2007). Al ser fermentados los azúcares del aguamiel, este pierde sus propiedades nutrimentales. Un análisis microbiológico permite conocer que y cuantos microorganismos hay en la muestra de estudio (Pérez, 2013). La importancia de estos análisis radica en el número y tipo de microorganismos existentes en la muestra, que alterara la composición de la misma en un tiempo menor o mayor y conociendo que microorganismos están presentes en esta bebida, se podrá identificar la alteración que causan, así como diseñar tecnologías para inactivarlos. En las últimas décadas algunas técnicas moleculares han surgido con el propósito de identificar y detectar microorganismos, basándose en el análisis de los ácidos nucleicos que poseen. El análisis microbiológico realizado a través de técnicas moleculares cuenta con mayor especificidad, sensibilidad, rapidez y pueden ser automatizadas (Rodríguez-Herrea, 2009). Cuenta con mayor número de ventajas que la mayoría de las metodologías utilizadas para el análisis microbiológico, por lo que es ideal en esta investigación.

Para conservar las propiedades nutrimentales del aguamiel, el primer paso es conocer que microorganismos posee, a través de un análisis microbiológico de una muestra a la que no se le ha aplicado ningún tratamiento, es decir un aguamiel crudo, así como de una muestra a la que se le aplico un tratamiento térmico no controlado por el recolector, es decir un aguamiel cocido. Esto con el objetivo de diferenciar los microorganismos que la bebida de interés tiene cuando se le aplica un tratamiento y cuando no es tratada. Proporcionando esta investigación resultados para idear tecnologías que favorezcan a evitar que el aguamiel pierda sus propiedades benéficas al ser fermentado. Con base en los resultados obtenidos que eviten la pérdida.

MATERIALES Y METODOS

La identificación molecular de microorganismos se realizó a partir de dos muestras de aguamiel: un aguamiel crudo y un aguamiel cocido. Se empleo la técnica de extracción de ADN total donde se centrifugo cada muestra. Utilizando después un buffer TE 1X para resuspender. Se agregaron enzimas como la lisozima y proteína K para desestabilizar la pared celular del microorganismo y degradar proteínas. Así como también, se añadieron detergentes, el SDS y el CTAB, para romper las células y extraer de esta manera el ADN. Para extraer las proteínas, así como residuos celulares se utilizó un solvente orgánico (fenol-cloroformo-

alcohol isoamílico). Utilizándose también etanol para precipitar el ADN. Obteniéndose un precipitado de ADN en forma de pastilla. Con el propósito de visualizar la integridad del ADN obtenido, se empleó la electroforesis. Esta se llevó a cabo en una cámara de electroforesis horizontal donde se utilizó geles de agarosa por tener un tamaño adecuado de poro. El gel de agarosa se preparó con agarosa y buffer SB, utilizando una pequeña cantidad de bromuro de etidio para detectar el ADN. Se evaluó la presencia e integridad del ADN de las muestras cargadas en el gel, utilizando el transluminador de luz UV para la observación. Se realizó la amplificación del gen 16S para bacterias y 18S para levaduras a partir del ADN extraído. La PCR se realizó en un termociclador donde se generan millones de copias del fragmento de interés. Utilizándose una mezcla para PCR constituida por: dNTP'S, primers para el gen de interés, buffer para enzima polimerasa, Taq polimerasa y el ADN de interés. Finalmente se observó el tamaño del producto de PCR en el transluminador de luz UV.

El DGGE se empleó para identificar los microorganismos obtenidos. Se procedió primero a montar los materiales del equipo. Se preparó geles de poliacrilamida utilizando soluciones baja y alta desnaturizantes, formadas por poliacrilamida, urea, formamida y buffer TAE, así como TEMED y persulfato de amonio. Se cargaron las muestras del producto de PCR, al estar ya lavados los pozos del gel con buffer TAE 1X. Los geles se colocaron en el equipo y se realizó la corrida por 12 hrs. Por último, después de teñir los geles con bromuro de etidio, se visualizaron las bandas obtenidas en el transluminador de luz UV; posteriormente se cortaron y purificaron las bandas de interés diferentes. De las bandas purificadas se realizó PCR en un termociclador, empleando la mezcla para PCR anteriormente descrita. Este producto de PCR se secuenció para conocer la identidad de cada microorganismo. La secuencia obtenida se comparó en las bases de datos del NCBI del Gen Bank.

RESULTADOS Y DISCUSION

La extracción de ADN total se realizó con el fin de comprobar la existencia de microorganismos en las muestras, obteniendo como resultado que tanto la muestra de aguamiel crudo, como la muestra de aguamiel cocido manifiestan una banda en la corrida del gel, por lo que las dos muestras contienen el ADN de los diferentes microorganismos que residen en las muestras de aguamiel, así como también ADN de la misma planta.

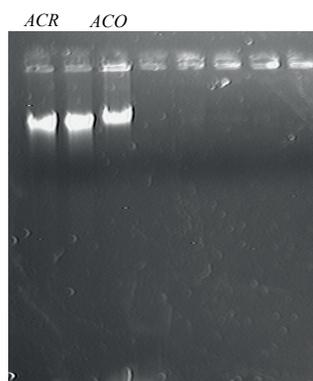


Figura 1. Extracción de ADN total en gel de agarosa observado en el transluminador. De izquierda a derecha, los dos primeros carriles corresponden a aguamiel crudo y el tercero al aguamiel cocido.

Esto indica que el tratamiento térmico no controlado por el recolector no provoca la lisis o inactivación de los microorganismos, por lo que estos pueden seguir fermentado el aguamiel causando que este último pierda sus propiedades nutrimentales. Se diferencio entre bacterias y levaduras al amplificar el gen 16S y 18S respectivamente, corriendo independientemente cada grupo de microorganismos de las dos muestras de aguamiel al DGGE, observando 2 bandas en la muestra de bacterias, tanto de aguamiel crudo como de aguamiel cocido, con el mismo tamaño de pares de bases. Lo que confirma que, en cuanto a bacterias, el aguamiel crudo y el cocido cuentan con el mismo tipo de bacterias, lo cual significa que el tratamiento térmico no controlado por el recolector no inhibe a las bacterias.

En la muestra de levaduras, se visualizaron 9 bandas, donde se encontró diferencias en las muestras de aguamiel, pues algunas bandas no se distinguieron en ambos carriles del gel. Es decir, la muestra cruda y cocida de aguamiel tienen diferentes levaduras y el tratamiento térmico no controlado aplicado por el recolector inhibe solo algunas levaduras.

A las bandas identificadas en el DGGE, se les realizó PCR, se secuenciaron e identificaron. En cuanto a las bacterias se observaron 2 bandas, una de ellas se trataba de una bacteria la cual no se ha identificado aun y la segunda banda se encontró que se trataba de la bacteria Gram positiva "Leuconostoc mensenteroides" que tiene como principal función la fermentación del alimento o bebida en que se encuentre. Al contar el aguamiel cocido con esta bacteria, significa que se fermentara al igual que el aguamiel crudo. En cuanto a las levaduras, con las dos primeras bandas se distinguió una levadura hasta ahora no identificada. Las demás bandas contenían levaduras no cultivables, es decir estos microorganismos no crecen en medios preparados en un laboratorio, pues necesitan de ambientes específicos, así como temperaturas, pH, nutrientes, o condiciones adecuadas, de lo contrario no crecen. Por lo que sus funciones y propiedades no han sido estudiadas

detenidamente, pero se les asocia con la fermentación. Esto proporciona información de que a pesar de aplicar un tratamiento en el aguamiel este no es el mejor para conservar las propiedades nutrimentales. Pues los microorganismos encontrados son en su mayoría fermentadores.

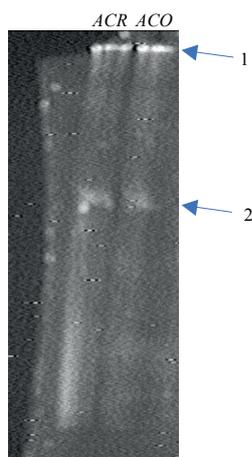


Figura 2. Muestra de bacterias producto de corrida en DGGE, donde se observan 2 bandas en ambas muestras. De izquierda a derecha, el primer carril corresponde al aguamiel crudo y el segundo carril al aguamiel cocido.

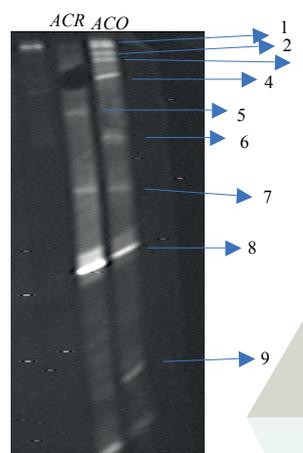


Figura 3. Muestra de levaduras producto de corrida en DGGE, donde se observan 9 bandas. De izquierda a derecha, el primer carril corresponde al aguamiel crudo y el segundo carril al aguamiel cocido.

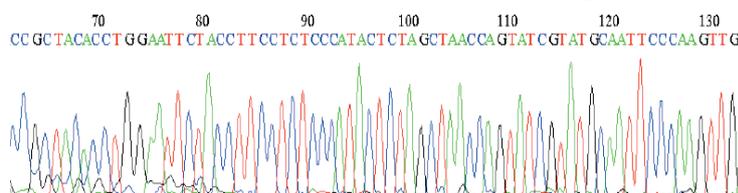


Figura 4. Fragmento de una secuencia de las muestras identificadas.

Tabla 1. Bacterias identificadas en aguamiel mediante DGGE.

Banda	Identidad	Microorganismo	Núm. acceso
1		Bacteria no identificada	
2	91 %	Leuconostoc mesenteroides	KX289500.1

Tabla 2. Levaduras identificadas en aguamiel mediante DGGE.

Banda	Identidad	Microorganismo	Núm. acceso
1		Levadura no identificada	
2		Levadura no identificada	
3	99 %	Uncultured yeast	KC137145.1
4	99 %	Uncultured yeast	JN904060.1
5	99 %	Uncultured yeast	KC137147.1
6	97 %	Uncultured yeast	LT855369.1
7	97 %	Uncultured yeast	KC137146.1
8	97 %	Uncultured yeast	KU505266.1
9	100 %	Uncultured yeast	KY299729.1

CONCLUSIONES

El tratamiento térmico no controlado aplicado por el recolector no inhibe las bacterias fermentadoras, inhibe solo algunas levaduras. Por lo que, para conservar las propiedades nutricionales del aguamiel este tratamiento no es óptimo. Se identificó a la bacteria “Leuconostoc mensenteroides” y a levaduras no cultivables, las

cuales fermentan el aguamiel. Al conocer cuáles son los microorganismos residentes en el aguamiel y que funciones tienen, se tiene más probabilidad de encontrar una tecnología ideal para inhibirlos, sin afectar las propiedades esenciales del aguamiel.

BIBLIOGRAFIA

1. Muñiz D., Rodríguez J. R., Rodríguez H. R., Contreras J., Aguilar C. (2013). “Producción artesanal del aguamiel: una bebida tradicional mexicana” en *Acta Química Mexicana*. Vol. 5. No. 10. [pp. 1-2]. Consultada en <http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/AQM/No.%2010/5%20produccion.pdf> (fecha de consulta 04-08-17).
2. Yáñez A., Ramírez L., Pérez B. (2012). “Análisis de los factores que inciden en el consumo de una nueva bebida probiótica elaborada a partir de aguamiel. Nanacamilpa, Tlaxcala” en *Revista Científica UDG*. Vol.13. No. 2. [pp. 185-187]. Consultada en <http://www.revistascientificas.udg.mx/index.php/MYN/article/view/5234/4888> (fecha de consulta 04-07-17).
3. Cervantes M., Pedroza A. (2007). “El pulque: características microbiológicas y contenido alcohólico mediante espectroscopia Raman” en *Nova*. Vol. 5. No. 8. [pp. 135-136]. Consultada en http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/nova8_artorig3.pdf (fecha de consulta 04-08-17).
4. Rodríguez R., Aguilar C., Ayala L., Rocha J., Padilla V., Espinosa T. (2009). “Detección de microorganismos mediante métodos moleculares” en *Acta Química Mexicana*. No. 1. [pp. 1-2]. Consultada en <http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/AQM/No.%201/AQMmicroorganismos.html> (fecha de consulta 07-08-17).
5. Muñiz D., Contreras J., Rodríguez R., Musatto S., Wong J., Teixeira J., Aguilar C. (2015). “Influencia del efecto térmico sobre la composición de azúcares de jarabe de agave mexicano” en *CyTA-Journal of food*. [pp. 2]. Consultada en <http://dx.doi.org/10.1080/19476337.2015.1028452> (fecha de consulta 07-08-17).

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE PLANTAS MEDICINALES Y COMESTIBLES

Aguirre Aguirre, E. A¹; Carrillo Inungaray, M. L²

RESUMEN

Las plantas medicinales y comestibles contienen compuestos fitoquímicos con actividad biológica. En este trabajo se evaluó la actividad antibacteriana de 11 plantas utilizadas en la Huasteca Potosina. Para identificar compuestos bioactivos se realizó un tamiz fitoquímico y se seleccionaron: flor de cempasúchil (*Tagetes erecta*), maduraplano (*Hamelia patens*), moringa (*Moringa oleífera*) y semilla de *M. oleífera* por contener flavonoides y oxidrilos fenólicos. A los extractos hidroalcohólicos obtenidos por maceración se les realizó un tamiz fitoquímico y se midió su actividad antibacteriana a partir de su efecto inhibitorio y determinación de su concentración mínima inhibitoria (CMI), sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*. El efecto inhibitorio fue de 9.7 a 18.7 mm para los diferentes extractos y bacterias estudiadas. La CMI para *E. coli* fue de 0.93 a 31.25 mg/mL y para *S. aureus* fue de 7.5 a 55 mg/mL. De los extractos estudiados *T. erecta* mostró un mayor potencial antimicrobiano.

Palabras clave: extractos naturales, difusión en disco, concentración mínima inhibitoria.

ABSTRACT

Medicinal and edible plants contain phytochemical compounds with biological activity. In this work the antibacterial activity of 11 plants used in the Huasteca Potosina was evaluated. To identify bioactive compounds, a phytochemical sieve was made and selected: flower of cempasúchil (*Tagetes erecta*), maduraplano (*Hamelia patens*), moringa (*Moringa oleífera*) and *M. oleífera* seed for containing flavonoids and phenolic oxydriels. The hydroalcoholic extracts obtained by maceration were made with a phytochemical sieve and their antibacterial activity was measured from their inhibitory effect and determination of their minimum inhibitory concentration (MIC), on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. The inhibitory effect was 9.7 to 18.7 mm for the different extracts and bacteria studied. The CMI for *E. coli* was 0.93 to 31.25 mg/mL and for *S. aureus* it was 7.5 to 55 mg/mL. Of the extracts studied *T. erecta* showed a greater antimicrobial potential.

Key words: natural extracts, disc diffusion, minimum inhibitory concentration.

INTRODUCCIÓN

A lo largo del tiempo, la humanidad ha descubierto una gran variedad de plantas que contienen compuestos antimicrobianos. Éstos han sido utilizados para el tratamiento de enfermedades infecciosas (Ríos and Recio, 2005; Domingo y López-Brea, 2003). La Organización Mundial de la Salud (OMS) realizó un listado en el cual se cuentan con 21,000 plantas que son usadas con propósitos medicinales alrededor del mundo (Garg y Vijaya, 2016), de las cuales en México solo se utilizan 5000 especies para el uso terapéutico (Alonso-Castro). Por su parte en algunos tratamientos con plantas se ha demostrado que tienen actividad antimicrobiana y son utilizados para el descubrimiento de fármacos (Thangamani et al., 2016). Sin embargo, en cada región geográfica varía el tipo de plantas que se usan con fines medicinales, y cuyo conocimiento se ha transmitido por generaciones. En la Huasteca Potosina localizada en la costa del golfo de México y que incluye 26 de los 58 municipios del estado de San Luis Potosí, cuenta con una amplia diversidad de plantas que los pobladores consumen y usan con fines medicinales y que no han sido estudiadas en relación a su composición Biológica (Alonso-Castro et al., 2012). Una de las propiedades biológicas de las plantas es la actividad antimicrobiana, la cual se debe principalmente a los metabolitos secundarios como fenoles, flavonoides, alcaloides y terpenoides que no son esenciales para las plantas, pero si juegan un papel importante en el sistema de defensa contra la protección de patógenos y animales herbívoros (Geetha y Padal, 2014). Por lo que el objetivo de este trabajo fue estudiar la actividad antibacteriana de mohuite (*Justicia spicigera*), quelite (*Amaranthus hybridus*), frijol sarabando (*Vigna unguiculata*), maduraplano (*Hamelia patens*), soya (*Ipomoea puga*), chaya (*Cnidoscolus aconitifolius*), hoja santa (*Piper auritum*), flor de cempasúchil (*Tagetes erecta*), hoja de (*Moringa oleífera*), semilla de *M. oleífera* y café (*Coffea sp.*) que comúnmente se usan con fines medicinales y comestibles en la región de la Huasteca Potosina.

METODOLOGÍA

Obtención del extracto

Para obtener el extracto de las diferentes plantas se utilizó el método de maceración. Se colocaron 10g de hojas secas y pulverizadas en etanol al 70% en matraz Erlenmeyer se mantuvieron a 30°C a 136rpm durante 24 horas en un agitador de masa digital Shaker IKA KS 4000i control. El extracto se filtró en papel filtro de poro mediano (0.19 mm con retención de partículas de 8-12 µm), se esterilizó por filtración en membrana Whatman de 2 µm y se almacenaron a 4°C hasta su uso.

Preparación del inóculo

Las cepas bacterianas (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*) fueron proporcionadas por el Laboratorio de Investigación en Alimentos de la U.A.S.L.P. Para revitalizar las cepas, éstas se inocularon en 5 mL de caldo nutritivo y se incubaron a 35°C durante 24 h. Pasado el tiempo de incubación se inoculó en agar Mueller-Hinton. A partir de este cultivo se prepararon suspensiones bacterianas, transfiriéndolas a tubos con 10 mL de solución salina al 0.85% w/v hasta alcanzar una turbidez similar al estándar 0.5 de la escala de McFarland equivalente a $1-2 \times 10^8$ UFC/mL (absorbancia de 0.08-0.13 a 625 nm) (Cockerill et al., 2012).

Tamiz fitoquímico

Los compuestos presentes en los extractos de las 11 plantas se identificaron mediante ensayos fitoquímicos usando reacciones de color de acuerdo a los protocolos descritos por Ramman (2006). Alcaloides (pruebas de Mayer y de Wagner), esteroides (reacción de Liebermann-Burchard), flavonoides (prueba del H₂SO₄), saponinas (prueba de Salkowski) y oxidrilos fenólicos (prueba del FeCl₃).

Actividad antibacteriana

La actividad antimicrobiana se midió a partir de los halos de inhibición observados al usar la técnica de difusión en disco, método de Kirby Bauer. Se inocularon 3 µL de las cepas bacterianas en la superficie del agar Muller Hinton, se colocaron seis discos de papel filtro (Whatman) de 6.0 mm de diámetro y se impregnaron con 20 µL de cada uno de los extractos a diferentes concentraciones y con las sustancias usadas como control. Como control negativo se usó agua destilada y como control positivo azitromicina, un antibiótico de amplio espectro. Las pruebas se efectuaron por triplicado.

Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

La CMI de los extractos hidroalcohólicos sobre las diferentes bacterianas, se realizó por el método de microdilución de acuerdo a la técnica descrita por Ramirez y Marin-Castaño (2009). Se utilizaron placas con 96 pozos, se colocaron 150µL en cada uno de ellos y en el primer pozo se agregaron 150µL de la solución madre, a partir de ahí se hicieron diluciones sucesivas de tal manera que el extracto se diluyó a la mitad en cada pozo; se adicionaron 3µL del inóculo bacteriano a cada uno de los pozos. Las concentraciones de los extractos fueron de 240, 170, 250, 220mg/mL para *T. erecta*, *H. patens*, *M. oleífera* y semilla de *M. oleífera* respectivamente como control positivo se usaron 50mg/mL de Azitromicina y como control negativo agua destilada.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se realizaron estudios preliminares a las 11 plantas, y al realizar el tamiz fitoquímico se encontró que los extractos de hojas de *M. oleífera*, semillas de *M. oleífera*, flor de *T. erecta* y *H. patens*, contienen compuestos fenólicos, flavonoides y alcaloides a los cuales se les atribuye la actividad antimicrobiana. De los cuatro extractos estudiados sólo el extracto de *T. erecta* presentó efecto inhibitorio sobre las tres bacterias utilizadas, las semillas de *M. oleífera* sólo presentaron actividad sobre la *S. thypimurium*, mientras que la *H. patens* solo en *S. aureus*. Sin embargo, las hojas de la *M. oleífera* no presento actividad inhibitoria sobre ninguna de las bacterias. La Tabla 1 muestra los halos de inhibición de los microorganismos con los diferentes extractos, así como el efecto inhibitorio del antibiótico usado como control positivo.

Tabla 1. Zona de inhibición (mm) de microorganismos utilizados en los diferentes extractos curdos.

Extractos	Bacterias		
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. thypimurium</i>
Hojas de <i>M. oleífera</i>	-	-	-
Semillas de <i>M. oleífera</i>	-	-	10.3 ± 0.6
Flor de <i>Tagetes erecta</i>	10 ± 0.9	11.7 ± 1.5	18.7 ± 2.1
Hojas de <i>H. patens</i>	-	9.7 ± 1.2	-
Azitromicina (control positivo)	22.3 ± 1.2	24 ± 1.0	26.7 ± 0.6

-= sin actividad

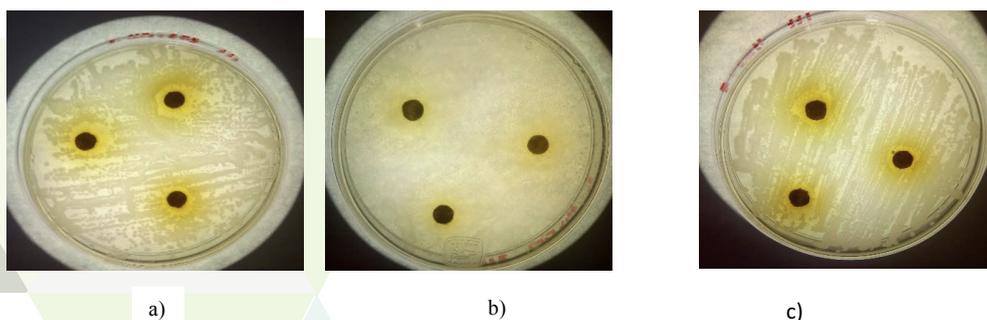


Figura 1. Efecto inhibitorio del extracto de la flor de cempasúchil en diferentes bacterias. a) *S. aureus*. b) *E.coli*. c) *S. thypimurium*

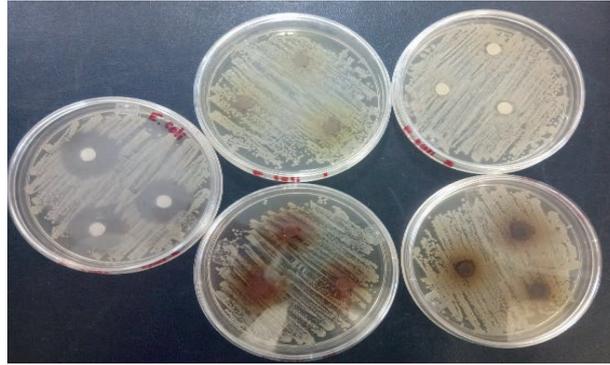


Figura 2. Difusión de los cuatro extractos en contacto con la bacteria *Escherichia coli*

En la Figura 1 se muestran los halos de inhibición del extracto etanólico de *T. erecta* para las diferentes bacterias utilizadas. Se observó que el extracto difundió en el medio de cultivo, sin embargo, los halos de inhibición fueron menores en comparación con el control positivo, lo que se atribuyó a que éste es ya el compuesto con actividad antibacteriana comprobada mientras que en el extracto hay una mezcla de compuestos bioactivos.

En la Figura 2 se muestra la difusión en diferentes extractos en placas con la bacteria *E. coli*.

Tabla 2. Concentración mínima inhibitoria de los diferentes extractos

Extractos	CMI (mg/mL)	
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
<i>T. erecta</i>	0.93	7.5
<i>H. patens</i>	10.62	21.25
<i>M. oleífera</i>	31.25	31.25
Semilla de <i>M. oleífera</i>	13.75	55.0
Azitromicina (control positivo)	0.39	0.78

Como una confirmación de su actividad antibacteriana se obtuvo la CMI para los cuatro extractos. Se comprobó que *T. erecta* tiene un comportamiento similar a la Azitromicina en *E. coli* inhibiendo la bacteria a una concentración de 0.93 y 0.39 respectivamente. Así como la actividad antibacteriana de los otros extractos, que en el método de difusión en disco no se pudo apreciar. En la Tabla 2 se muestra la CMI de cada extracto para las bacterias de *E. coli* y *S. aureus*.

La comparación de resultados de investigaciones realizados en plantas suele ser difícil, debido al uso de técnicas no estandarizadas, la preparación y el tamaño del inóculo, medio de cultivo y las condiciones de incubación (Balouiri et al., 2016).

En relación a *H. patens* los resultados obtenidos en la actividad antibacteriana difieren de los reportados por Okoye y Ezeogo (2016) quienes comprobaron la actividad antimicrobiana en diferentes bacterias, lo cual atribuyeron al contenido de compuestos fenólicos especialmente a los taninos, sin embargo, coinciden en la CMI ya que reportaron 12.5 mg/mL y 25 mg/mL para *E. coli* y *S. aureus* respectivamente. Esto se debe principalmente a la técnica de obtención del extracto, así como a la concentración del solvente y su proporción con la planta utilizada. Por otro lado, Verma y Verma (2012) evaluaron el extracto de flor de *T. erecta* donde obtuvieron halos de inhibición que oscilaban entre los 10 y 25 mm para diferentes bacterias, los cuales coinciden con los resultados reportados en este trabajo.

CONCLUSIONES

De las plantas estudiadas, la flor compasúchil (*T. erecta*) fue la que tiene un mayor potencial antimicrobiano que las demás; de las bacterias estudiadas *E. coli* fue más susceptible que *S. aureus*. El hecho que las otras plantas no tengan actividad antimicrobiana puede considerarse benéfico para su consumo. Los resultados de este trabajo abren un campo de estudio en el uso de esta flor tradicional de México para la obtención de compuestos con actividad biológica.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, por la oportunidad de participar en el Verano de la Ciencia Región Centro.

REFERENCIAS

- ALONSO-CASTRO, A. J., MALDONADO-MIRANDA, J. J., ZARATE MARTINEZ, A., JACOBO-SALCEDO, M. R., FERNÁNDEZ-GARCIA, C., FIGUEROA-ZUÑIGA, L. A., RIOS-REYES, N. A., LEÓN-RUBIO, M. A., MEDELLÍN-CASTILLO, N. A., REYES-MUNGUÍA, A., MÉNDEZ-MARTINEZ, R., CARRANZA-ALVAREZ, C. (2012). Medicinal plants used in the Huasteca Potosina, México. *Journal of Ethnopharmacology*. 143, 292-298.
- BALOUIRI, M., SADIKI, M., & IBNSOUDA, S. M. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 6, 71-79.
- COCKERILL, R., WIKLER, A., & ALDER, J. (2012). *Methods for Dilution Antimicrobial susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard*. USA: Clinical and laboratory standards institute. 32(2), 12.
- DOMINGO, D. & LOPEZ-BREA, M. (2003). Plantas con acción microbiana. *REV ESP QUIMIOTERAP*. 16 (04), 386-393.
- GARG, N., & VIJAYA, P. (2016). Potencial of Herbal Medicines: A review. 6(4), 48-49.
- GEETHA., & PADAL, S.B. (2014). Antibacterial Activity in Extract of Bauhinia. *Vahlii. BMR Microbiology*. (1), 1-4.
- OKOYE, E. L., & EZEOGO, J. I. (2016). Antimicrobial Activity of the Crude Extracts of Hamelia patens on Some Selected Clinical Samples. *Journal of Complementary and Alternative Medical Research*. 1(1), 1-7.
- RAAMAN, N. (2006). *Phytochemical Techniques*. New Delhi. Publishing Agency, 19-24.

USO DE ALGORITMOS PARA EL ANÁLISIS DE FLUIDOS COLOIDALES APLICADO A LA DISTRIBUCIÓN DE SEMILLAS DE LA HYLOCERUS UNDATUS

Gloria Elizabeth Rodríguez García,¹ y Bernardo José Luis Arauz Lara.²

RESUMEN

En este trabajo se describe, de manera general, la metodología usada en el estudio de fluidos coloidales; de igual manera se explican someramente los algoritmos de trabajo utilizados para el análisis de datos y se justifican las modificaciones realizadas a los algoritmos para tratar un sistema que difiere en algunas de sus características con las que encontramos en sistemas de fluidos complejos. Particularmente, se analiza la distribución de semillas de la *hylocerus undatus*, mejor conocida como pitahaya, para encontrar la función de correlación de las mismas. Adicionalmente, se analiza cuál es la distribución de semillas a partir del centro geométrico de las muestras.

ABSTRACT

In this work the methodology used for the study of colloidal fluids is described in a general way; in the same way, the algorithms used in the data's analysis are briefly explained and a it is provided a justification for the modifications made in those algorithms to study a system with characteristics different from the systems commonly found in complex fluids. Particularly, the distribution of the seeds in *hylocerus undatus*, best known as pitahaya, is analyzed in order to find its correlation function. Additionally, the seeds' distribution from the geometric center is analyzed.

Palabras clave: Función de correlación, distribución radial, pitahaya.

INTRODUCCIÓN

En la naturaleza, los materiales se encuentran generalmente en uno de los tres estados conocidos: líquido, sólido, o gaseoso. Sin embargo, existen una gran cantidad de sustancias cuyas características no corresponden a ninguno de los tres, uno de los ejemplos más estudiados es el caso de los fluidos complejos, concretamente de las suspensiones coloidales.

Un coloide es, en su definición más general, "un agregado de partículas muy finas cuyas dimensiones son mucho mayores que las atómicas, pero muy pequeñas para ser percibidas a simple vista", García-Colín, L. y Rodríguez, R. (1995). El estudio de los fluidos coloidales ha resultado ser de gran interés debido a que una gran cantidad de sustancias pertenecen a esta categoría: desde el polvo que flota en el "aire", hasta las proteínas, pasando por jabones, gelatina, sangre y espuma de cerveza.

Ahora bien, la *hylocerus undatus* (a la que a partir de ahora nos referiremos por su nombre común: pitahaya), de acuerdo con Díaz, J. (2005), es cultivada en 19 países y México es uno de los principales productores, además de Vietnam, Colombia Nicaragua e Israel; y se trata de un fruto conocido principalmente por su apariencia exótica y por su riqueza en nutrientes, que aportan numerosos beneficios para la salud que recientemente ha despertado gran interés debido a sus propiedades físico-químicas. Se señala además que "una ventaja para el cultivo de la pitahaya con respecto a la tuna es que la pitahaya resulta más fácil de manipular, ya que el fruto no cuenta con espinas en la parte externa. Además, a diferencia de del fruto de la tuna, la pitahaya posee pequeñas semillas que son comestibles", Araya, Y. y Esquivel, P. (2012). Cabe mencionar que se han realizado diversos estudios principalmente desde la biología y las ciencias agropecuarias, aunque también se encuentran algunos trabajos con enfoque mercadológico y de impacto económico.

A pesar de que no se trata estrictamente de un fluido complejo, la forma en que se encuentran las semillas resulta peculiar y al observarla con detenimiento, surge casi de manera natural la pregunta de si existe un orden concreto o se trata de una distribución totalmente arbitraria; además aplicar una metodología perfectamente definida en un área ajena, puede arrojar información sobre potenciales áreas de estudio actualmente inexploradas debido a que se tratan de sistemas disímiles a los estudiados comúnmente.

Durante la realización de este trabajo se utilizó una metodología estándar para el estudio del comportamiento de partículas en fluidos coloidales, sin embargo los algoritmos usados en el análisis de datos y la adquisición de los mismos se modificaron pertinentemente para adecuarlos al sistema de interés.

MARCO TEÓRICO

De manera sintetizada, puede describirse la metodología usada en el estudio de fluidos coloidales a partir de las siguientes etapas: preparación de muestras, adquisición de datos, tratamiento de imágenes y análisis e interpretación de resultados. La primera etapa es la que presenta más variantes, pues de acuerdo a las propiedades que se desee medir y a los materiales o interacciones de interés, la preparación y concentración de las muestras será diferente.

Para la adquisición de datos pueden usarse diferentes dispositivos de video-grabación digital, es importante señalar que cada investigador adecúa las técnicas de acuerdo a sus necesidades, pero el uso de técnicas denominadas "de microscopía video digital", que se describen detalladamente Crocker, J. y Grier, D. (1996) es bastante extendido ya que existen algoritmos bien probados que facilitan el manejo de la gran cantidad de información generada durante la adquisición. Una vez que se tienen los datos tratados adecuadamente, resta analizarlos, cotejar lo obtenido de forma experimental con lo esperado teóricamente y buscar explicaciones a los fenómenos observados.

En el caso especial de fluidos coloidales, resulta sumamente importante ver cómo se comporta la función de correlación, que describe cómo varía la densidad en función de la distancia media a partir de una partícula de referencia en un sistema. Para un sistema cuasi-dos dimensional con N partículas idénticas distribuidas en un sistema de volumen V que presenta una estructura estática y se encuentra en equilibrio térmico, la función de correlación de pares (también llamada "función de distribución radial" o, simplemente "función de correlación") se expresa como:

$$g(r) = V^{-2} Z^{-1} \int e^{-\beta U(r_1, r_2, \dots, r_N)} dr_3 dr_4 \dots dr_N$$

donde Z es un constante y $U(r_1, r_2, \dots, r_N)$ es la energía potencial total del sistema; una característica importante de la función de correlación es que satisface la condición de normalización

$$\int_0^{\infty} 4\pi r^2 g(r) dr = N - 1$$

siendo ρ la función de distribución para dos partículas.

El Dr. Arauz, J. (2016) puntualiza la importancia de estudiar la función de correlación en un sistema al afirmar que: la estabilidad de un sistema, su estructura, termodinámica, transiciones de fase y otras propiedades relevantes, pueden resultar sumamente complejas cuando se les quiere explicar a partir de cantidades fundamentales, sin embargo ha habido un gran progreso en el uso de ciertas técnicas (para analizar la función de correlación) que ayudan a una mejor interpolación de interacciones entre partículas, útiles para entender y describir dichos fenómenos.

Cuando se trabaja con coloides, se consideran sistemas infinitos de partículas, esto es que no existen barreras (paredes, por ejemplo) limitando la distribución. En el caso de estudio que se reporta en este trabajo se ha considerado un sistema finito, razón que motiva analizar la distribución de partículas (semillas) a partir del centro geométrico para saber si existe un orden que se ajusta a partir de alguna forma conocida o, por el contrario, se trata de una distribución aleatoria.

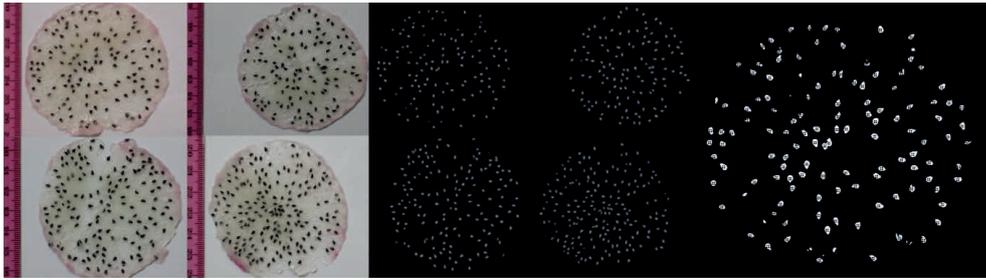
MÉTODOS Y MATERIALES

Los materiales utilizados fueron: cámara fotográfica Canon power shot ELPH 180, trípode, hojas de acetato a modo de porta-objetos y cubre-objetos, rebanadas de pitahaya circulares, rebanadas de pitahaya elipsoidales, cuchillo para corte fino, regla milimétrica, computadora de escritorio.

1) Preparación de muestras: Se consideraron pitahayas de diferentes tamaños y con distintos puntos de madurez. Ahora bien considerando que la forma de la pitahaya puede modelarse como un elipsoide, se quitó cuidadosamente la cáscara que cubre la parte blanda del fruto, posteriormente se realizaron cortes diferentes (se usaron pitahayas distintas para cada tipo de corte) haciendo uso del cuchillo para corte fino: cortes de rebanadas circulares y cortes de rebanadas elipsoidales. El tamaño de cada muestra es distinto, pues el radio (en el caso de las rebanadas circulares) y el tamaño de los ejes mayor y menor (en el caso de las rebanadas elipsoidales) varían de acuerdo a la fruta analizada; sin embargo, el grosor en cada rebanada fue de $z = (2 \pm 1)$ mm.

2) Adquisición de datos: Previo a la toma definitiva de fotografías, fue preciso realizar diferentes pruebas para determinar la configuración de luz más adecuada, esto es: la que permitiera un contraste más claro entre las semillas y el resto de la fruta, a la vez que minimizara los puntos que presentaran brillos debido a la reflexión de la luz incidente; tal configuración resultó ser en interior con luz natural, de día sin nubes. Cada rebanada se colocó entre dos hojas de acetato para poder fotografiar la fruta por ambos lados, el tamaño de imagen que se decidió trabajar fue de 640 X 480 pixeles, las fotografías se tomaron a una distancia $d = (200 \pm 1)$ mm usando un aumento de 2X.

3) Tratamiento de imágenes: Una vez que se toman todas las imágenes y se descargan en la computadora, son analizadas en un algoritmo IDL para obtener las coordenadas de los centros de las semillas, posteriormente, se calcula la función de correlación utilizando un programa escrito en FORTRAN y diseñado específicamente para análisis de datos en el laboratorio de fluidos complejos. De igual manera, se usó un software especializado para calcular la distribución de las semillas a partir del centro geométrico de las rebanadas, se analizó cada rebanada de manera individual y también se hizo un análisis considerando la distribución promedio. En la figura 1 se observan las transformaciones de las imágenes en el procesamiento de datos.



RESULTADOS

La función de correlación para los cortes elipsoidales se muestra en la figura 2, mientras que la distribución de semillas a partir del centro geométrico puede observarse en la figura 3. Para los cortes circulares se utilizaron tres grupos de rebanadas distintas, que reflejan diferentes estados de madurez de la fruta, y se obtuvo la función de correlación que se ve en las figuras 4, 5 y 6, mientras que la distribución radial es la que aparece en 7, 8 y 9. En las figuras “eje mayor” y “eje menor” hacen referencia a las correspondientes medidas de la pitahaya, aproximando su forma a la de una elipse; la forma de la distribución es la misma para ambos casos, salvo la amplitud de la curva. Se han nombrado como “pitaT”, “pitaH”, “pitaVA” y “pitaVC” a tres conjuntos de muestras distintos, el nombre solamente sirve para distinguirlas.

Los máximos en la función de correlación indican la distancia a la que se encuentra una semilla con respecto de otra con mayor probabilidad. Es posible observar para ambos cortes (elipsoidal y circular) existe una distancia preferencial $r \approx 2.5$ mm. También se observa que conforme se incrementa la distancia, los datos se van concentrando cerca de $g(r)=1$. Para la distribución de semillas, se observan dos fenómenos distintos: en los cortes elipsoidales la distribución es arbitraria, sin embargo, para los cortes circulares, se observa una baja en la probabilidad de encontrar semillas conforme aumenta la distancia al centro geométrico de la rebanada

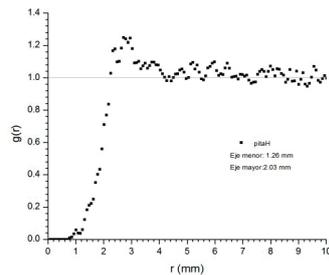


Figura 2: Función de correlación para cortes elipsoidales.

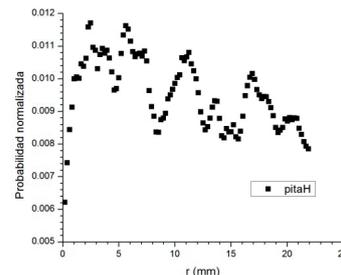


Figura 3: Distribución de semillas para cortes elipsoidales.

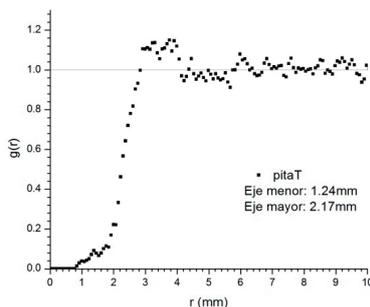


Figura 4: Función de correlación para cortes circulares-1.

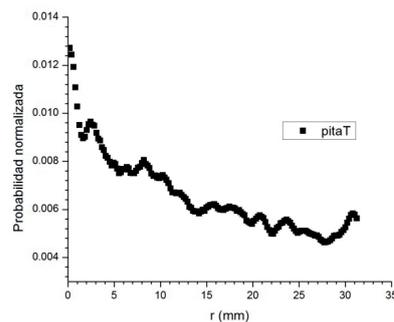


Figura 7: Función de correlación para cortes circulares-1.

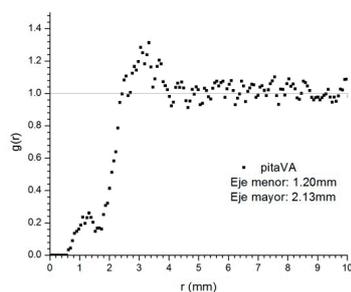


Figura 5: Función de correlación para cortes circulares-2.

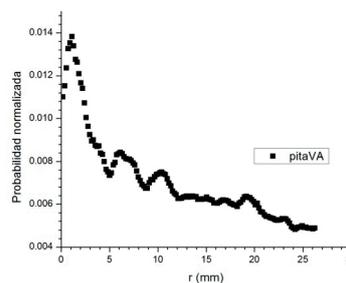


Figura 8: Función de correlación para cortes circulares-2.

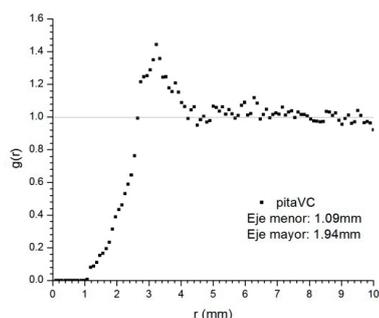


Figura 6: Función de correlación para cortes circulares-3.

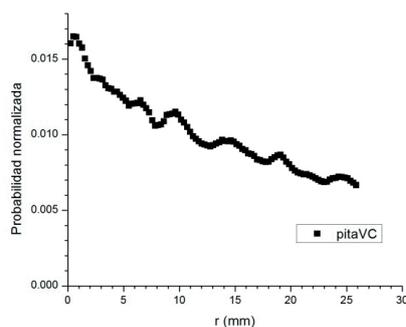


Figura 9: Función de correlación para cortes circulares-3.

CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos, puede observarse que:

1. La función de correlación, tanto para los cortes elipsoidales como para los circulares, tiene una forma similar: conforme aumenta la distancia, la función de correlación tiende a uno, lo cual indica que a grandes distancias las semillas no están correlacionadas.
3. La distribución de semillas a partir del centro geométrico es más ordenada para los cortes circulares.
4. Es posible usar los algoritmos para el análisis de fluidos coloidales en sistemas que no posean todas las características de un fluido complejo, siempre y cuando se realicen las aproximaciones pertinentes.
5. Aumentar el tamaño de la muestra estudiada, permitiría realizar una mejor estadística.
6. A partir de estudios interdisciplinarios podría determinarse si existen algunas características o propiedades reveladas a partir de la estructura del fruto.

REFERENCIAS

- Arauz, J. (2016). "Colloidal fluids" en Fernández-Nieves, A. y Manuel, A. (eds.) Fluids, colloids and soft materials: an introduction to soft matter physics, New Jersey: Jhon Wiley and Sons, inc., [pp.189-201].
- Araya, Y. y Esquivel, P. (2012). "Características del fruto pitahata (*Hylocereus* sp.) y su potencial de uso en la industria alimentaria" en Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Consultado en http://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/41304127/Esquivel_Patricia_y_Araya-Quesada_RVCTA-V3N1.pdf
- Crocker, J. y Grier, D. (1996). "Methods of Digital Video Microscopy for Colloidal Studies" en JOURNAL OF COLLOID AND INTERFACE SCIENCE 179,298 – 310. Consultado en <http://crocker.seas.upenn.edu/CrockerGrier1996b.pdf>
- Díaz, J. (2005). "Biología y manejo postcosecha de pitahaya roja y amarilla" en La calera, Vol. 5, Núm. 6. Consultado en <http://www.revistasnicaragua.net.ni/index.php/CALERA/article/view/106>
- García-Colín, L. y Rodríguez, R. (1995). "Líquidos exóticos" en FONDO DE CULTURA ECONÓMICA: LA CIENCIA PARA TODOS. Consultado en http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen2/ciencia3/104/htm/sec_5.htm

BIOLOGÍA, PRODUCCIÓN, BIOTECNOLOGÍA Y BIORREMEDIACIÓN DE MICROALGAS NATIVAS DE MÉXICO

Katherine Selene Recio Rocha¹ y Alberto Ayala Islas²

RESUMEN

Este proyecto de investigación se centra en el estudio y desarrollo de técnicas de aislamiento de microalgas para la producción de biomasa, con el fin de involucrarlas en bioprocesos que sean útiles en los campos de la salud, la industria, la alimentación y la agricultura, así como la obtención de compuestos orgánicos y biocombustibles. Para este estudio fueron tomadas muestras de diferentes puntos de Los Azufres, Michoacán y de la laguna de Yuriria, Guanajuato, de las cuales se pretendió obtener un cultivo masivo de microalgas, por lo que se utilizó un dispositivo cerrado llamado fotobiorreactor, el cual nos permitió tener un control de pH para mantener un medio más estable, monitorear su crecimiento exponencial desde un tiempo cero y proporcionar los nutrientes necesarios para su crecimiento incluyendo la luz. De igual manera para continuar con este estudio y evaluar su eficiencia y constatar de la obtención de biomasa, se utilizó un método gravimétrico, donde la cantidad de biomasa presente en la muestra fue medida en términos de peso seco por unidad de volumen. Otro de los estudios realizados fue la determinación de la capacidad de *Chlorella* sp. Para absorber Arsénico en muestras que lo contenían, demostrando su efectividad en el uso de tratamientos de aguas residuales.

ABSTRACT

This research project focuses on the study and development of microalgae isolation techniques for biomass production, in order to involve them in bioprocesses that are useful in the fields of health, industry, food and agriculture, as well as the obtaining of organic compounds and biofuels. For this study were taken samples of different points of sulphur, Michoacán and the lagoon of Yuriria, Guanajuato, which was intended to obtain a massive cultivation of microalgae, so we used a closed device called photobioreactor, which allowed us to have a pH control to maintain a more stable environment, monitor its exponential growth from a zero time and provide the necessary nutrients for its growth including light. In the same way to continue with this study and to evaluate its efficiency and to note of the obtaining of biomass, a gravimetric method was used, where the quantity of biomass present in the sample was measured in terms of dry weight per unit of volume. Another of the studies carried out was the determination of the capacity of *Chlorella* sp. To absorb arsenic in samples containing it, demonstrating its effectiveness in the use of wastewater treatment.

Palabras Clave: Microalgas, biomasa, bioprocesos, fotobiorreactor, biocombustibles.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se han logrado avances importantes en la utilización de las microalgas para diversos fines como salud humana, cosmetología, purificación de aguas residuales, prevención de contaminación acuática, industria farmacéutica, acuicultura, producción de pigmentos y antibióticos, entre otros. Se han reportado aproximadamente 493 especies que podrían ser utilizadas como alternativas de alimentación para el hombre y otros animales. En países como Alemania, Perú, India, Japón y México, han registrado que algunas especies de microalgas son un excelente complemento alimenticio para el hombre. Por ejemplo, las harinas de *Spirulina* y *Scenedesmus* se caracterizan por su alto valor proteico y sin efectos tóxicos. Además, como alimento para larvas de organismos acuáticos resaltan *Chaetoceros* y *Thalassiosira*, por su interés comercial *Dunaliella* para la producción de biodiesel y probablemente algunas especies con importancia en salud pública como *Gymnodinium* causante de algunas mareas rojas. La palabra alga se aplica en un amplio conjunto de organismos que pueden definirse tanto en términos de morfología y fisiología general. Son simples organismos, sin diferenciación en raíces, tallos y hojas y sus órganos sexuales no están cerrados dentro de los revestimientos protectores, (Tuchman, 1996). Además de ser organismos unicelulares eucariotas fotosintéticos (2-200 μm), que pueden crecer de modo autotrófico o heterotrófico. En general son altamente eficientes en la fijación del CO_2 y utilización de la energía solar para producir biomasa, con una eficiencia hasta cuatro veces superior a la de las plantas. La importancia de las microalgas radica en su papel como productoras primarias de la cadena trófica, que las convierte en las primeras productoras de materia orgánica. Como organismos fotosintéticos, son imprescindibles en el mantenimiento de la vida en la tierra ya que proporcionan compuestos orgánicos reducidos y oxígeno para soportar al resto de la vida del planeta. Son la base de las redes tróficas y su gran número de especies y su versatilidad permiten utilizarlas en campos industriales con grandes posibilidades de éxito. Están presentes en todos los ambientes con agua, como lagos, mares y ríos, aunque también las podemos encontrar en el suelo y en la mayoría de los ambientes terrestres, incluso los más extremos, lo cual permite hallarlas ampliamente distribuidas en la biósfera adaptadas a una gran cantidad de condiciones, (Graham, L.E., Wilcox, L.W. 2000). Para el cultivo de estas microalgas es importante conocer las condiciones óptimas y los límites de tolerancia, por tanto, para conseguir un cultivo de microalgas en crecimiento activo es necesario un inoculo viable, un suministro mínimo de nutrientes y microelementos y adecuadas condiciones químicas y físicas: luz, aireación, temperatura, salinidad y energía. Son varios los factores que afectan a la producción de microalgas. Para su desarrollo requieren de CO_2 , nitrógeno, fósforo, potasio, magnesio y otros nutrientes menores como metales, los cuales son esenciales porque actúan como cofactor de enzimas esenciales del metabolismo de las microalgas. (Cañizares et al.,

1994). El uso de microalgas está proporcionando a los científicos numerosas líneas de investigación y a los empresarios posibilidades de negocio, debido a la cantidad de aplicaciones que tienen, como por ejemplo, la producción de energía, ya sea en forma de hidrógeno o biocombustibles; o para limpiar el medio ambiente absorbiendo dióxido de carbono y purificando aguas residuales; para alimentación y producción de sustancias como vitaminas, ácidos grasos, o pigmentos; para la industria agraria con la producción de fertilizantes; para acuicultura; para biomedicina e incluso para la industria cosmética. En relación al medio ambiente las microalgas pueden utilizarse en biorremediación ambiental, como es el caso del tratamiento de las aguas residuales urbanas. Además, estos organismos contribuyen a fijar el CO₂ por lo que podrían reducir las emisiones de dicho gas, gran responsable del efecto invernadero (Fogg G. E., Thake B. 1987). Según Brennan (2010) hoy en día la producción de microalgas fotoautótrofas es la única que se puede realizar a gran escala, de forma que pueda resultar económicamente rentable y viable técnicamente. Las microalgas han sido cultivadas de forma diversa, ya sea en lagunas artificiales, monocultivos en estanques de cemento, bolsas plásticas o en complejos sistemas cerrados, automatizados y controlados, como los fotobiorreactores.

MÉTODOS Y MATERIALES

Para la realización del estudio de este proyecto fue necesario el empleo de distintos equipos, materiales y métodos para determinar parámetros clave en el desarrollo del mismo, los cuales fueron fundamentales para obtener resultados más precisos y satisfactorios. En el inicio del muestreo se tomaron distintos parámetros tales como oxígeno disuelto, con ayuda de un medidor de oxígeno disuelto portátil HANNA, toma de pH en cada uno de los puntos de muestra con un pHmetro portátil, así como también temperatura, hora y punto exacto de su ubicación. Los cuales nos ayudaron a mantener las condiciones óptimas del cultivo de estas microalgas y tener las referencias exactas de su localización. Una vez terminado el muestreo pasamos a la identificación de las distintas especies de microalgas encontradas, las cuales se observaron en un microscopio óptico a diferentes objetivos, otra de las variantes utilizadas para este paso fue la utilización de un microscopio óptico con cámara digital, la cual nos brindaba imágenes más claras y la oportunidad de obtener otros parámetros de medición. Para poder realizar el aislamiento del cultivo de estas microalgas fue necesario hacer un conteo celular con la cámara de Neubauer para su posterior inoculación en el medio BBM, de esta manera se tuvo el control de células presentes en el día cero. El medio BBM utilizado en este dispositivo fue elaborado en un matraz aforado graduado para una correcta y exacta disolución. Solo para la muestra ZK fue necesario agregar silicato de sodio, además del medio BBM, por el tipo de especie de microalgas encontradas. El cual sería vaciado en dispositivos cerrados llamados fotobiorreactores con capacidad de 1 litro, los cuales fueron previamente pasados por un proceso de sanitización que garantizara una correcta limpieza y la eliminación de la carga microbiana. Típicamente están equipados con sistemas de iluminación con luces led, control de salida con mangueras estériles y un sistema de aireación controlado, siendo este último un factor importante para la homogeneización de los nutrientes y evitar la sedimentación de las microalgas. Para las pruebas de determinación de biomasa fue necesario el empleo de un método gravimétrico en peso seco, se trata de una variable clave en la eficiencia de este bioproceso, para la que se utilizó una termobalanza Moisture Analyzer MX-50 y para la separación por filtración de las células del líquido, se empleó un filtro millipore usando filtros estériles de 1 micra. Finalmente para la aplicación biotecnológica fue necesario equipar dos fotobiorreactores, uno de ellos contenía una cepa de *Clorella* sp. Aislada, medio BBM y una muestra de arsénico, en el segundo contenía solamente la cepa aislada y medio BBM el cual sería la referencia de estudio para demostrar la capacidad de esta cepa en la utilización de tratamiento de aguas residuales que contengan este metal.

RESULTADOS

	ZONA	COORDENADAS	HORA	OXIGENO DISUELTO (ppm)	pH	T° (°C)	IMAGEN DE UBICACIÓN
1	YA	Latitud 20°13'40" N Altitud 10°08'9.8" O 1726 m s.n.m.	7:46 a.m.	0.87	7.03	22.7	
2	ZC	Latitud 19°49.343' N Altitud 100°40.095' O 2830 m s.n.m.	10:58 a.m.	3.15	4.15	37.6	
3	ZI	Latitud 19°49.304' N Altitud 100°40.17' O 2806 m s.n.m.	12:22 p.m.	1.45	6.63	37.6	
4	ZK	Latitud 19°49.322' N Altitud 100°40.095' O 2799 m s.n.m.	11:18 a.m.	26.5	6.55	44.3	

Tabla. 2. Recuento celular: conteo de células viables totales por mililitro al día

	YA	ZC	ZI	ZK
Día 0	100000	100000	100000	100000
Día 1	1525000	1275000	15775000	2150000
Día 4	27275000	16900000	18625000	18400000
Día 5	27575000	23450000	17325000	35575000
Día 6	21900000	16850000	4500000	22775000
Día 7	14075000	12425000	19500000	21250000
Día 10	52525000	9775000	11175000	27750000
Día 11	22875000	11575000	24700000	18825000
Día 12	30250000	20625000	10475000	19950000
Día 13	18500000	19500000	17475000	16150000
Día 14	4245000	22350000	19150000	30675000
Día 17	76075000	16175000	145625	34300000
Día 18	185300000	1207500	32475000	46875000
Día 20	160300000	23125000	1362500	34600000
Día 21	232800000	6150000	5700000	55850000

Tabla. 3. Intervalos de pH en cada muestra de microalgas

	YA	ZC	ZI	ZK
Día 0	7.03	4.15	6.63	6.55
Día 6	7	8	9	8
Día 7	8	8	8	8
Día 11	7	8	8	8
Día 12	8	8	7	8
Día 13	8	7	8	8
Día 14	8	8	8	8
Día 17	8	8	8	8
Día 21	8	8	8	8

Tabla. 4. Determinación de biomasa: método gravimétrico por peso seco (gr/lto)

Peso seco (gr/l)	YA	ZC	ZI	ZK
Semana 1	0.1	0.15	0.05	0.15
Semana 2	0.15	0.2	0.15	0
Semana 3	0.9	0.25	0.85	0.2

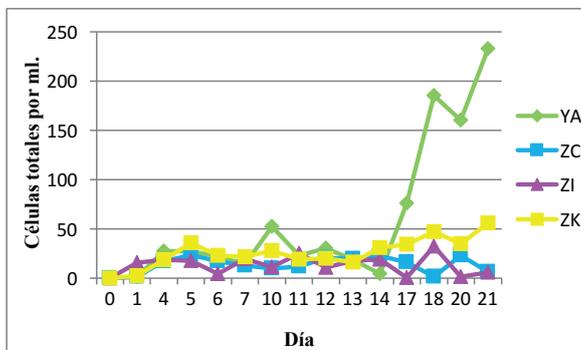


Figura. 1. Cinética de crecimiento: comportamiento de las microalgas en el medio BBM durante su aislamiento.

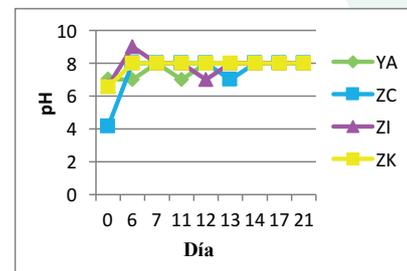


Figura. 2. Curva de control de pH en las muestras de microalgas

$$\text{peso de una célula} = \text{peso de la biomasa} \left(\frac{\text{gr}}{\text{L}}\right) \div \text{conteo celular} \left(\frac{1}{\text{L}}\right) \quad (1)$$

El comportamiento de las microalgas tomadas de la muestra YA fue la más favorecida durante su aislamiento, ya que como se observa en la **figura. 1**, es la que obtuvo un mayor crecimiento y adaptación al medio BBM, contando con todos los parámetros adecuados para su óptimo desarrollo. De acuerdo a la determinación de biomasa mostrada en la **tabla. 4**. Nos confirma que la muestra YA es la más eficiente para bioprocesos, mostrando mayores cantidades de biomasa en comparación a las otras muestras. Gracias a esta última determinación y con el conteo celular, podemos saber el peso de una sola célula con la ayuda de la ecuación 1), como se muestra en la siguiente tabla;

Tabla. 5. Peso de una sola célula en cada muestra de microalgas

	YA	ZC	ZI	ZK
Peso (gr)	$3.86597938 \times 10^{-06}$	$4.06504065 \times 10^{-05}$	$1.49122807 \times 10^{-04}$	$4.476275739 \times 10^{-06}$

Tabla. 6. Especies de microalgas: Imágenes vistas en el microscopio a 40x y 100x de cada una de las muestras.

	YA	ZC	ZI	ZK
Imagen				
Tipos de algas	microcystis, scenedesmus acuminatus	Glueocapsa, Mougeotia, Oedogonium.	Phormidium autumnak, Elakatothrix	Chlorella, Navicula subtilissima

CONCLUSIONES

En este proyecto de investigación se logró tener las condiciones adecuadas en los cultivos de microalgas para que estas fueran las óptimas en la concentración y producción de biomasa, como lo fue el pH, la aireación, iluminación y nutrientes. Con los resultados obtenidos de la cinética de crecimiento podemos concluir que el medio BBM utilizado en el aislamiento de estas microalgas fue el ideal para su buen desarrollo, así como también el uso adecuado de un dispositivo cerrado que garantizó mantener el cultivo libre de contaminaciones además de tener el control de los parámetros antes mencionados. Sin duda el uso de estos fotobiorreactores nos dio la ventaja de trabajar de una manera más aséptica por periodos de tiempo más largos. En cuanto al pH reportado en los resultados se encuentra apenas por encima de la neutralidad siendo el óptimo para estos cultivos. Esta tecnología presenta un gran potencial, no solo porque permite cultivar microalgas para la obtención de productos biotecnológicos en un tiempo menor sino también para ser usadas en el tratamiento y limpieza de aguas tratadas, el cual es un proceso económicamente más rentable y amigable con el medio ambiente. Nos queda demostrado que las muestras aisladas de microalgas nativas tienen la capacidad para la producción de biomasa de uso biotecnológico.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bellinger, Edward G. (2015). *Freshwater Algae: Identification, Enumeration and Use as Bioindicators*. New Delhi, India: Wiley Blackwell.
2. Tuchman, N. (1996). The Role of Heterotrophy in Algae. In Stevenson, R.J. ed. *Algal Ecology*. New York: Academic Press. [pp.299-318].
3. Day AG, D Brinkmann, S Franklin, K Espina, G Rudenko, A Roberts & KS Howse. (2009). Safety evaluation of a high-lipid algal biomass from *Chlorella protothecoides*. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 55: 166-180.
4. Hou J, P Zhang, X Yuan & Y Zheng. (2011). Life cycle assessment of biodiesel from soybean, jatropha and microalgae in China conditions. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 15: 50815091
5. Graham, L.E., Wilcox, L.W. (2000). *Introduction to the Algae*. Algae. Prentice-Hall, Inc., Upper Saddle River, NJ, [pp. 1-20].
6. Fogg G. E., Thake B. (1987). *Algae Cultures and Phytoplankton Ecology*. 3rd edn. London: The University of Wisconsin Press, [pp. 269].
7. Medina Jasso, A., P. Piña Valdez, M. Nieves Soto, J.F. Arzola Gonzalez y M. Guerrero Ibarra. (2012). La importancia de las microalgas. *CONABIO, Biodiversistas*, 103.1-5.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo de investigación fue realizado bajo la supervisión del Prof. Alberto Ayala Islas, además de mi compañera de proyecto Turella Lucía Mendoza Manríquez, a quienes me gustaría expresar mi más profundo agradecimiento, por hacer posible la realización de este proyecto. Además, de agradecer su paciencia, tiempo y dedicación que tuvieron para que esto saliera de manera exitosa. Gracias al Comité Organizador del Verano de la Ciencia de la Región Centro por brindarme la oportunidad de participar y formar parte de esta experiencia tan maravillosa. A mis padres y hermanos, por apoyarme en esta aventura hasta el final. A Dios por permitirme disfrutar cada momento de mi vida. Asimismo, agradezco a mis compañeros del laboratorio, Taidee Urrutia, Fátima Aguilar y Alejandro Muños, por su apoyo personal y humano durante toda mi estancia. Finalmente agradezco a la Universidad Autónoma de Coahuila por darme todas las facilidades y apoyo para llevar a cabo este proyecto y compartir conocimientos durante esta estancia.

AISLAMIENTO, IDENTIFICACION Y CARACTERIZACION DE BACTERIAS ACIDO LACTICAS COMO DETERIORO EN LA PRODUCCION DE CERVEZA ARTESANAL EN LA CIUDAD DE QUERETARO.

Laura Alondra Herrera Altamirano Y Sofía María Arvizu Medrano

RESUMEN

Las cervecerías artesanales han tenido gran auge en el mercado estos últimos años, sin embargo la contaminación por bacterias ácido lácticas puede ser factor para contrarrestar la calidad del producto. El no pasteurizar el producto en la cervecería primus en la ciudad de Querétaro se hace susceptible al deterioro por bacterias ácido lácticas. En este estudio se obtuvieron un total de 24 muestras de diferente estilo de cerveza TAU (Tempus Dorada) estilo Golden Ale, TCS (Tempus Cream Stout) estilo oatmeal Stout, EO (Escollo obscura) estilo pale Ale, y tomadas durante cada paso del proceso para detectar la presencia de bacterias ácido lácticas. Se obtuvieron 8 aislamientos en total de las cuales se identificaron por multiplex PCR. En este estudio la especie más frecuentemente aislada fue *Oenococcus oeni*, sin embargo todos los aislamientos eran capaces de estropear la cerveza. Se caracterizaron los aislamientos con cinéticas de crecimiento a diferentes rangos de pH y a diferentes concentraciones de etanol, los niveles de pH de las cervezas fueron predictores de deterioro en las muestras examinadas.

ABSTRACT

Craft breweries have had a great boom in the market in recent years, however, bacterial contamination can be a factor in counteracting the quality of the product. The non-pasteurising beer in the primus brewery in the city of Querétaro becomes susceptible to deterioration by lactic acid bacteria. In this study we obtained a total of 24 samples of different styles of TAU (Golden Tempus Golden Ale style, TCS (Tempus Cream Stout) style oatmeal Stout, EO (Dark Obscure) style pale ale, and taken during each step of the process To detect the presence of lactic acid bacteria. There were obtained 8 isolates in total of which were identified by multiplex PCR. In this study the most frequently isolated genus is *Oenococcus oeni*, however all isolates were capable of spoiling beer. Isolates with growth kinetics at different pH ranges and at different ethanol concentrations were characterized, the pH levels of the beers were predictors of deterioration in the samples examined.

Palabras clave: PCR MULTIPLEX, SPIN FILTER, OENOCOCCUS OENI.

INTRODUCCION

El deterioro de la cerveza es un tema de gran importancia para las diferentes empresas, ya sea a nivel industrial como en microempresas, causando pérdidas en sus rendimientos de producción por el deterioro de la misma, generalmente presentando cambios sensoriales como un aumento de turbidez, teniendo un sabor desagradable, aromas anormales y ácidos. La cerveza es el medio en donde es difícil la supervivencia de diferentes microorganismos, siendo algunas bacterias Gram-positivas y Gram-negativas capaces de soportar esas condiciones. La calidad de la cerveza es dada por la pasteurización y la ebullición del mosto, siendo la cerveza artesanal un proceso con mayor grado de deterioro (Menz et al., 2010). Las bacterias ácido lácticas son los microorganismos más habituales que presentan una gran influencia en el deterioro de la cerveza, siendo estas habitables a diferentes rangos de PH, crecen en presencia de ácidos orgánicos y en diferentes concentraciones de etanol, siendo resistentes a los diferentes compuestos del lúpulo principalmente a los iso-ácidos en la cerveza, estos tienen actividad antibacteriana contra las bacterias Gram-positivas (Sakamoto and Konings, 2003). Dentro de las bacterias ácido lácticas de descomposición incluyen a los géneros *Lactobacillus* y *Pediococcus*, siendo las bacterias más peligrosas para las cervecerías, ya que representan el 70% del deterioro microbiano de la cerveza (Back, 1994). Las bacterias de deterioro en la cerveza artesanal se identifican para poder controlar los efectos negativos que pueden generar sobre la cerveza, buscando y analizando diferentes alternativas de procesamiento que den mayor estabilidad microbiológica, dando lugar a una vida de anaquel más larga. Los medios de cultivo más recomendados por las cervecerías para el aislamiento de bacterias ácido lácticas y clasificación de microorganismos, se encuentra el más conocido como el MRS (De Man, Rogosa y Sharpe), suplementado con cicloheximida para prevenir el crecimiento de aerobios como levaduras y moldes, medio Raka-Rasuplementado con la cicloheximida (Menz et al., 2010). El objetivo de este estudio es investigar el deterioro que presentan los diferentes tipos de cerveza artesanal que maneja la cervecería primus en la ciudad de Querétaro, por causa de bacterias ácido lácticas, mediante el aislamiento, conociendo la concentración de las bacterias, para cuantificar en que etapas del proceso están más presentes. Identificando a que género pertenecen y analizar el comportamiento de las bacterias en diferentes condiciones que presenta de forma habitual la cerveza como la resistencia a diferentes concentraciones de etanol y diferentes rangos de PH.

METODOS Y MATERIALES

MUESTREO DURANTE EL PROCESO EN LA ELABORACIÓN DE CERVEZA ARTESANAL PARA EL AISLAMIENTO DE BACTERIAS ACIDO LACTICAS.

Se realizó muestreos a diferentes tiempos de acuerdo a lo establecido por Takahashi et al. en 2014, tomando muestras en diferentes puntos durante el proceso para evaluar la presencia de BAL presentes naturalmente de la cervecera artesanal primus en la ciudad de San Juan del Rio, Querétaro, cervezas TAU (Tempus Dorada) estilo Golden Ale, TCS (Tempus Cream Stout) estilo oatmeal Stout, EO (Escollo obscura) estilo pale Ale, cada tipo de cerveza es un lote producido por día. La muestras fueron tomadas en las etapas de Antes del macerado, después del macerado, antes de la ebullición, después de la ebullición, antes de la fermentación y a lo largo de la fermentación (1, 3 y 6 días).

AISLAMIENTO DE BACTERIAS ACIDO LACTICAS

De cada muestra se hizo diluciones (1:10 y 1:100) con 1 ml de la muestra y 9 ml de peptona al 0.1%, se realizó una siembra por superficie directa de las diferentes muestras y de las dilución (1:100) por triplicado en el medio más óptimo anteriormente estudiado, siendo este el medio MRS (De Man, Rogosa y Sharpe) sin adicionar diferentes concentración de cerveza.

EXTRACCION DE ADN DE LAS BACTERIAS ACIDO LACTICAS AISLADAS.

Se extrajo el ADN de las cepas previamente aisladas, la lista de cepas se muestra a continuación tabla 1 junto con un código para su identificación en tablas posteriores (1-TCS, 3-EO, 6-EO, 3-TAU, 6-TCS, 1-TAU, 3-TCS Y 6-TAU), el número es el día de fermentación y las siglas el tipo de cerveza. Se utilizó PowerLyzer® PowerSoil® DNA Isolation Kit. Se colocó 1 ml de cada cepa en tubos de perlas power bead tubes, Se adiciono 60 µl de una solución A1 y se homogenizo la muestra en un power lyzer24 homogenizer (110/220v) a 25000 rpm. Se transfirió el sobrenadante a un tubo eppendorf limpio aproximadamente 400 a 500 µl, al sobrenadante se le adiciono 250µl de la solución A2, poner en vortex, incubar a 4°C por 5 minutos, centrifugar a 10000 x g /mnt. Se transfirió el sobrenadante a otro tubo limpio aproximadamente 600 µl. se agregó 200µl de la solución A3 y se incubo a 4°C por 5 mnt, centrifugar 10000 x g/mnt. Se transfiere el sobrenadante a otro tubo limpio y adicionar la solución A4, se transfiere a un tubo spin filter y centrifugar. Se adiciono 500µl de la solución A5 y centrifugo. El filtrado se colocó en un tubo limpio y se adiciono 100 µl de la solución A6 y se centrifugo a 10000 x g/mnt.

CEPA	CODIGO	CEPA	CODIGO
1-TCS	C1	6-TCS	C5
3-EO	C2	1-TAU	C6
6-EO	C3	3-TCS	C7
3-TAU	C4	6-TAU	C8

TABLA 1: Cepas aisladas con código de identificación.

IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS DE ÁCIDO LÁCTICAS RELACIONADAS CON CERVEZA ARTESANAL MEDIANTE PCR MULTIPLEX.

Se utilizó un mix en específico en donde se adiciono 6.3 µl del tubo que incluía el cofactor y la taq-polimeraza, 1.3 µl del primer mix los primers utilizados se muestran en la figura 1, (Petri et al., 2013), 4.4 µl de agua y 1 ml de ADN, este mix es para cada una de las muestras a analizar. Se colocaron las muestras en un termociclador con las siguientes condiciones: 95°C durante 15 minutos para la desnaturalización y activación de la Taq Polimerasa, posteriormente 6 ciclos consistentes de 0.5 min a 94°C, una elongación durante 1.5 min a 72°C, luego 22 ciclos de 0.5 min de 94°C, 3 min a 62°C y 1.5 min a 72°C, seguido por un paso de extensión final durante 10 minutos a 72°C.

MULTIPLEX PCR PRIMERS

SCAR-OENI-F	GGTAGATTAACCCGGGACG	<i>O. oeni</i>	SCAR-LBU-F	CTATCTTAAACCGATTGCCG	<i>Lb. buchneri</i>
SCAR-OENI-R	GGAAATCGGTAGCATCTCG		SCAR-LBU-R	GACACCGTCTCATGATTGTC	
SCAR-LBR-F	GGANGATCAGAATAATCGGTG	<i>Lb. brevis</i>	SCAR-PAC-F	ATCATGGGACAGACTCCCTG	<i>P. acidilactici</i>
SCAR-LBR-R	GGCTCTCTAATTCACGTAGC		SCAR-PAC-R	CGAGCTGGGTAGATATGTC	
SCAR-LPL-F	GAAGATTTGCCCATCGGTG	<i>Lb. plantarum</i>	SCAR-LBH-F	TTCTTGGTAATGTGCTTGC	<i>Lb. hilgardii</i>
SCAR-LPL-R	CCCTTGTATGGTAGCGTTGC		SCAR-LBH-R	AATGGCAATCGCAATGGGACG	
SCAR-LEU-F	GTGGTCATGGGCTCTAGC	<i>Lc. mesenteroides</i>	SCAR-PIN-F	CTATCCTTACAATGTGCATCG	<i>P. inopinatus</i>
SCAR-LEU-R	GGATCAAGACTAGCCAATCG		SCAR-PIN-R	TGCTGGCTCAGTAAATGTAAG	
SCAR-WPA-F	GGCTGTGAACCCATACTTC	<i>W. paramesenteroides</i>	SCAR-LCU-F	CCAGATCCATCAGAAGATACG	<i>Lb. curvatus</i>
SCAR-WPA-R	GACCTGATTCGGTGGTTG		SCAR-LCU-R	GCTAACTTACCCTAACGACC	
SCAR-PDA-F	GTCTAAACTGGTGTAAACG	<i>P. damnosus</i>	SCAR-PPE-F	GGGAACGGTTTTAGTTTTATACG	<i>P. pentosaceus</i>
SCAR-PDA-R	ATCCCACTGGTTCATATGC		SCAR-PPE-R	CTAAGACGGGTGATGATAAG	
SCAR-PPA-F	GCATGAACTACTTTCCGCTC	<i>P. parvulus</i>			
SCAR-PPA-R	CAAAGATTGTGACCCAGTTC				

FIG. 1: Primers usados en el estudio (Petri et al., 2013).

ELECTROFORESIS EN GEL DE AGAROSA

Las muestras obtenidas por la amplificación de PCR fueron sometidas a una electroforesis en gel de agarosa a 50 V durante 50 minutos, una vez transcurrido el tiempo el gel se visualizó bajo lámpara UV con cámara para obtener la imagen de los amplicones.

EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE LAS CEPAS AISLADAS PARA DETE- RIORAR CERVEZA ARTESANAL EN PRESENCIA DE DISTINTAS CONCEN- TRACIONES DE ETANOL Y DIFERENTES RANGOS DE PH.

-Cinética de crecimiento con diferencia de pH-

Se prepararon tubos con caldo MRS el cual se encontraba a un pH de 6.5 y se hicieron grupos de tubos que se ajustaron a distintos pH (4.5, 5 y 5.5). Las diferentes cepas (C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7 Y C8) fueron inoculadas en cada uno de estos medios, es decir, cada cepa fue inoculada en un tubo de caldo MRS, en un tubo a pH 4.5, en un tubo a pH 5 y en un tubo a pH 5.5. La primera muestra se tomó previamente a la incubación, es decir, en el tiempo cero. Se agregaron 100 µl de la solución en cada pocillo de la micro placa. Una vez montada la muestra se leyó en un Varioskan con una longitud de onda de 600nm, el cual por medio de espectrofotometría mide la absorbancia para poder conocer la concentración bacteriana dentro de la solución. El procedimiento se repitió 4 veces más con un tiempo de 2 horas entre muestra y muestra, manteniendo en incubación los tubos inoculados para observar el crecimiento bacteriano durante el tiempo de análisis.

-Cinética de crecimiento con diferencia en concentración de etanol-

Se prepararon tubos con caldo MRS y se formaron grupos de tubos a distintas concentraciones de etanol (4%, 6%, 8% y 10%). Las diferentes cepas (C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7 Y C8) fueron inoculadas en cada uno de estos medios, es decir, cada cepa fue inoculada en un tubo de caldo MRS, en un tubo a 4%, en un tubo a 6%, en un tubo a 8% y en un tubo a 10%. La primera muestra se tomó previamente a la incubación, es decir, en el tiempo cero. Se agregaron 100 µl de la solución en cada pocillo. Una vez montada la muestra se leyó en un Varioskan con una longitud de onda de 600nm, el cual por medio de espectrofotometría mide la absorbancia para poder conocer la concentración bacteriana dentro de la solución. El procedimiento se repitió 4 veces más con un tiempo de 2 horas entre muestra y muestra, manteniendo en incubación los tubos inoculados para observar el crecimiento bacteriano durante el tiempo de análisis.

RESULTADOS

AISLAMIENTO DE BACTERIAS ACIDO LACTICAS

En este estudio se obtuvieron 27 muestras en la elaboración de cerveza en los diferentes tipos de cerveza TAU (Tempus Dorada) estilo Golden Ale, TCS (Tempus Cream Stout) estilo oatmeal Stout, EO (Escollo obscura) estilo pale Ale, obtenidas en diferentes tiempos del proceso. Los resultados se agruparon por el número de colonias bacterianas durante los tiempos de muestreo. Se calculó la mediana poblacional de los tres tipos de cerveza a diferentes tiempos de muestro antes del macerado, después del macerado, antes de la ebullición, después de la ebullición, antes de la fermentación y a lo largo de la fermentación (1, 3 y 6 días). Obteniendo los siguientes datos: 1.2394, 2.4428, 1.1299, 1.3952, 0.4259, 1.2239, 0.9923, 1.9934, 0.6020, 3.4951, 2.0057, 1.3492, 3.8088, 4.3371, 2.1461 y 3.7584 LOG₁₀ UFC/ml. Presentando mayor concentración de colonias bacterianas en la etapa de fermentación. Se tomaron las colonias presentadas en la etapa de fermentación día 1, 3 y 6 que contenían mayor concentración de colonias de bacterias, se realizaron pruebas de catalasa y tinción Gram donde resultaron cocos y bacilos Gram positivos. Después se tomaron diferentes morfologías de las tres tipos de cervezas y se resembraron en cajas de agar MRS. Obteniendo 8 aislamientos (1-TCS, 3-EO, 6-EO, 3-TAU, 6-TCS, 1-TAU, 3-TCS Y 6-TAU), el número es el día de fermentación y las siglas el tipo de cerveza.

IDENTIFICACION DE AISLAMIENTOS

Se obtuvieron 6 cepas aisladas (1-TCS, 3-EO, 6-EO, 3-TAU, 6-TCS, 1-TAU, 3-TCS Y 6-TAU). Se activaron en caldo MRS, posteriormente se caracterizaron por medio de PCR MULTIPLEX. En la figura 3 se muestra la imagen revelada en la lámpara UV, en dos aislamientos no se visualizó ninguna banda (1-TCS y 3-EO) por lo que no pertenecen a los géneros de bacterias ácido lácticas utilizados, cuatro aislamientos pertenecen al género *Oenococcus oeni* (6-EO, 3-TAU, 1-TAU y 6-TCS), dos aislamiento pertenece al género de *Lactobacillus plantarum* (3-TCS y 6 TAU).



FIG. 2: Imagen relevada en lámpara UV de aislamientos de diferentes tipos de cervezas en la etapa de fermentación (días 1, 2 y 3).

CARACTERIZACION DE BACTERIAS ACIDO LACTICAS (CINÉTICA DE CRECIMIENTO CON DIFERENCIA DE PH)

En la Fig. 3 se observa el comportamiento de las diferentes cepas en las distintas condiciones de pH, observando así que existen cepas que son más resistentes a las condiciones ácidas, siendo estas las que proliferan con facilidad en la cerveza.

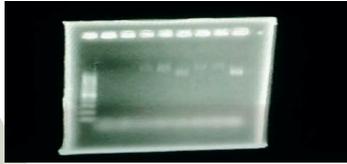


FIG. 2: Imagen relevada en lámpara UV de aislamientos de diferentes tipos de cervezas en la etapa de fermentación (días 1, 2 y 3).

CARACTERIZACION DE BACTERIAS ACIDO LACTICAS (CINÉTICA DE CRECIMIENTO CON DIFERENCIA DE PH)

En la Fig. 3 se observa el comportamiento de las diferentes cepas en las distintas condiciones de pH, observando así que existen cepas que son más resistentes a las condiciones ácidas, siendo estas las que proliferan con facilidad en la cerveza.

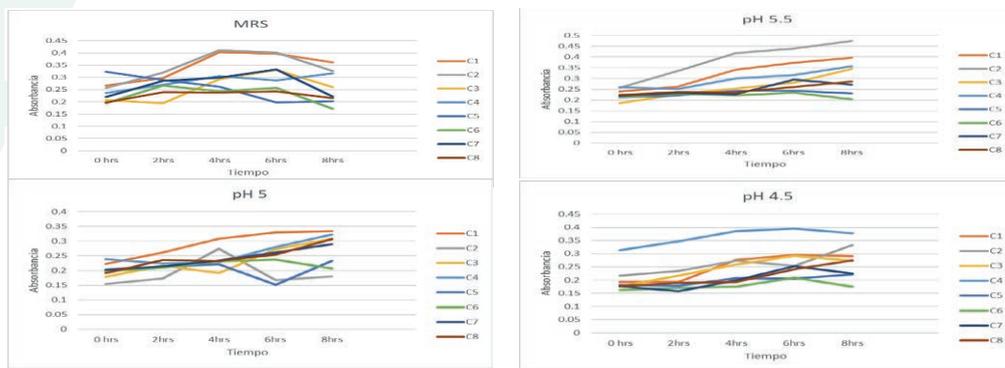


FIG. 3: Comparación de los gráficos de la cinética de crecimiento en diferentes pH con base en la absorbancia y el tiempo de incubación.

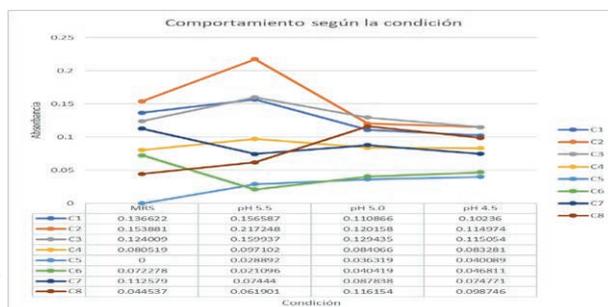


FIG. 4: La tabla nos señala la diferencia entre el punto inicial de la lectura de crecimiento y el punto más alto de crecimiento, comparándose entre las diferentes condiciones de pH.

Observando el comportamiento según el incremento de la absorbancia en las diferentes condiciones podemos establecer de una mejor manera cuales son las que son tolerantes a medios más ácidos, por ejemplo: la cepa 2 observamos que a un pH 5.5 su crecimiento es óptimo pero al irse acidificando el medio su crecimiento decae de manera considerable, en comparación con la cepa 4 que tiene un comportamiento estable durante el cambio de pH, al identificar esta cepa como un *Oenococcus oeni* sabemos que este es un microorganismo capaz de soportar estas condiciones y es por eso que se utiliza en procesos de vinificación; inclusive logramos observar que la cepa 8 entre más ácido es el medio más alto es su nivel de proliferación y aunque la cepa no está identificada sabemos que su comportamiento es acidófilo.

-Cinética de crecimiento con diferencia en concentración de etanol

Según el comportamiento de las gráficas de la fig. 5 podemos observar que el etanol no es un factor que cambie de manera drástica el crecimiento bacteriano ya que todas tienden a ser constantes.

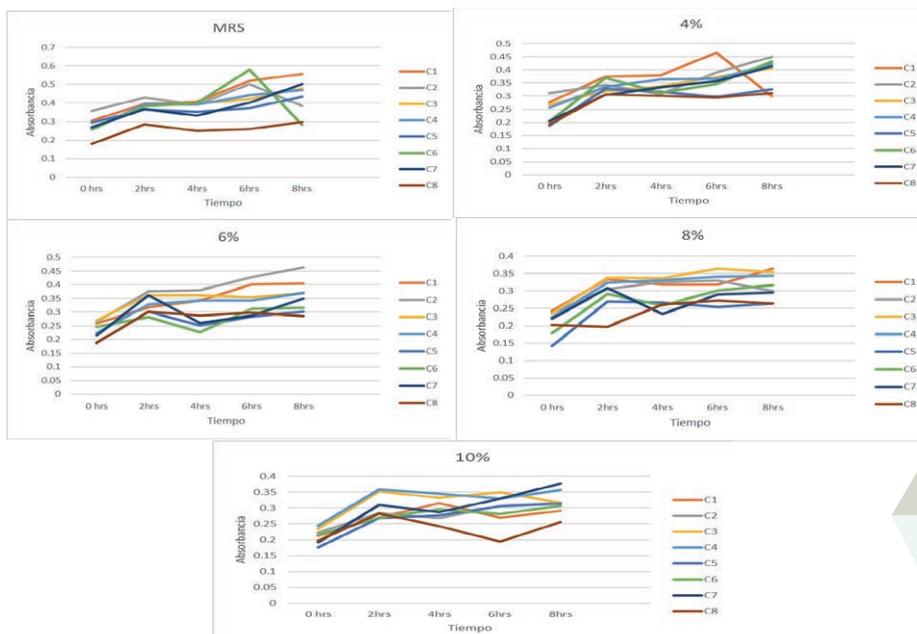


Fig. 5: Comparación de los gráficos de la cinética de crecimiento en diferentes concentraciones de etanol con base en la absorbancia y el tiempo de incubación.

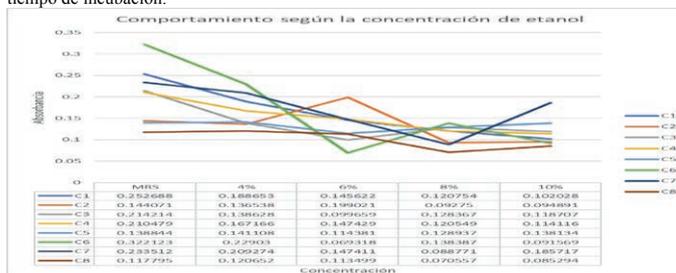


Fig. 6: La tabla nos señala la diferencia entre el punto inicial de la lectura de crecimiento y el punto más alto de crecimiento, comparándose entre las diferentes concentraciones de etanol.

Como se mencionó anteriormente las cepas tienden a tener un comportamiento estable, el crecimiento de microorganismos va disminuyendo según como va aumentando la concentración de etanol en el medio. Sin embargo, es de suma importancia mencionar que la diferencia en la absorbancia no es tan marcada en la mayoría de las cepas estudiadas, esto nos dice que la existencia de etanol en el medio no causa una disminución drástica en la proliferación microbiana.

EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA AL CALOR DE LAS BACTERIAS ACIDO LACTICAS DETERIORADORAS DE CERVEZA.

Los resultados de esta prueba fueron contundentes ya que al comparar las placas sembradas antes y después de la exposición al calor se observó crecimiento en las que fueron sembradas previamente mientras que en las posteriores al calor no hubo crecimiento alguno. Con esto podemos corroborar que el empleo de la técnica de pasteurización es de suma importancia para evitar el crecimiento de cualquier microorganismo posteriormente al embotellamiento y asimismo mantener la calidad del producto, sin embargo en la cervecería de la cual hemos estudiado primus en la ciudad de Querétaro no realizan la pasteurización por lo que esto es un factor para el deterioro de la cerveza.

DISCUSION

En todos los tiempos de muestreo hubo crecimiento de bacterias ácido lácticas, en donde a partir de una concentración de 3.00 LOG10 UFC/ML se consideraba un valor alto, por lo que se tenían niveles altos de ácido muy por encima de la normalidad afectando el sabor de la cerveza en la etapa final, lo que la contaminación se notara cuando se consuma el producto. Durante todo el proceso se tiene posibilidad de presentar deterioro llegando a la etapa final, el embotellado, sin embargo se observó que en la etapa donde más se presentaban colonias bacterianas era en la etapa de fermentación, por lo cual se debe tener mayor inocuidad y control en esta etapa del proceso. En este estudio se analizaron 8 aislamientos en específico, 4 fueron del genero *Oenococcus oeni*, dos al género de *Lactobacillus plantarum* y dos sin identificar. Estos aislamientos se sometieron a prueba de crecimiento a diferentes concentraciones de etanol y diferentes rangos de PH, para observar el comportamiento y la resistencia que tienen estas cepas a dichos factores, alterando de este modo la calidad de la cerveza. En el estudio se observó que existen cepas que son más resistentes a las condiciones ácidas, siendo estas las que proliferan con facilidad en la cerveza, siendo estas las cepas C2 y C8 siendo capaces de soportar condiciones de acidificación, cambiando las concentraciones de etanol se observó que el crecimiento de microorganismos va disminuyendo según como va aumentando la concentración de etanol en el medio, sin embargo la diferencia en la absorbancia no es tan marcada en la mayoría de las cepas

estudiadas, esto nos dice que la existencia de etanol en el medio no causa una disminución drástica en la proliferación microbiana.

CONCLUSION

El deterioro de cerveza es motivo de interés para todas las cervecerías, por el amplio mercado que se presenta actualmente y por el auge de la cerveza artesanal en estos tiempos, como lo es la cerveza Primus que mostramos en este estudio. La mayoría de las cervezas artesanales no son pasterizadas y esto es un índice de mayor contaminación de la cerveza, logrando el crecimiento de diferentes microorganismos, siendo las bacterias ácido lácticas aquellas que soportan diferentes condiciones. Las bacterias ácido lácticas presentaron resistencia a las condiciones etanol y pH, sin embargo, gracias a este estudio se puede ver rutas para reducir la contaminación del producto, ya que se mostró resistencia a pH ácidos, logrando modificar la cerveza a pH no óptimos para la proliferación de ciertas bacterias.

REFERENCIAS

Menz, G., Andrighetto, C., Lombardi, A., Corich, V., Aldred, P. and Vriesekoop, F. (2010). Isolation, Identification, and Characterisation of Beer-Spoilage Lactic Acid Bacteria from Microbrewed Beer from Victoria, Australia. *Journal of the Institute of Brewing*, 116(1), pp.14-22.

Sakamoto, K. and Konings, W. (2003). Beer spoilage bacteria and hop resistance. *International Journal of Food Microbiology*, 89(2-3), pp.105-124.

Back, W., 1994. Secondary contamination in the filling area. *Brauwelt Int.* 4, 326 – 328.

Petri, A., Pfannebecker, J., Fröhlich, J. and König, H. (2013). Fast identification of wine related lactic acid bacteria by multiplex PCR. *Food Microbiology*, 33(1), pp.48-54.

Pires, E. and Brányik, T. (2015). *Biochemistry of Beer Fermentation*. SpringerBriefs in Biochemistry and Molecular Biology

REMOCIÓN DE CONTAMINANTES PRESENTES EN SOLUCIONES ACUOSAS UTILIZANDO COMPOSITOS DE RESIDUOS AGRICOLAS CON POLIMEROS

Luz Elena Valenciana Torres¹ y Nancy Verónica Pérez Aguilar²

RESUMEN

En la actualidad, los niveles de contaminación del agua son alarmantes, debido a la presencia de sustancias tóxicas algunas de las sustancias de mayor preocupación son los colorantes como el rojo Congo. Esta investigación reporta la adsorción del colorante rojo congo en solución acuosa sobre residuos de café. Se realizaron experimentos de adsorción en lote para conocer el equilibrio, a pH 5.5 y 25°C, con soluciones de concentración inicial desde 2.5 hasta 30ppm. La concentración del colorante en todas las soluciones se determinó por espectroscopia UV-vis con una longitud de onda de 500nm. Los datos experimentales se analizaron con los modelos de Langmuir y de Freundlich; la capacidad máxima de adsorción fue de 22 mg/g. Se concluye que los residuos de café son una alternativa viable para remediar agua contaminada con rojo congo.

ABSTRACT

At present, levels of water pollution are alarming, due to the presence of toxic substances such as Congo red. The objective of this research is to determine the adsorption of the congo red dye in aqueous solution onto coffee residues. Batch adsorption experiments were performed to determine equilibrium at pH 5.5 and 25°C; the experiments were performed with solutions of initial concentration from 2.5 to 30 ppm. The concentration of the dye in all solutions was determined by UV-vis spectroscopy with a wavelength of 500nm. Experimental data were analyzed using the Langmuir and Freundlich models; the maximum adsorption capacity was 22 mg/g. It is concluded that coffee residues are a viable and economical alternative for the remediation of water contaminated with Congo red.

Palabras Clave: colorante rojo Congo, granos de café, adsorción.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, los niveles de contaminación del agua son alarmantes, debido a la presencia de sustancias tóxicas liberadas por diferentes industrias, como la textil, petrolera, pinturas, de cosméticos, entre otras. Algunas de las sustancias tóxicas de mayor preocupación son los colorantes, como el rojo Congo [3,3'-(4,4'-bifenileno)bis(azo)bis(4-amino) disódico], un colorante diazo-aniónico que puede llegar a provocar carcinogénesis, mutagénesis, teratogénesis, daños respiratorios, alergias y problemas durante el embarazo (Fig.1). La creciente demanda de agua potable y para riego, exige también la disponibilidad de nuevas tecnologías y materiales para eliminar la presencia de diversos contaminantes del agua. Algunas de las tecnologías disponibles son la coagulación, ozonización y oxidación química. Algunas de las desventajas de estos procesos son su costo de inversión y de operación elevados, la producción de efluentes adicionales, o su efectividad para un solo tipo de colorantes. La adsorción es uno de los métodos más eficientes y económicos para eliminar colorantes de soluciones acuosas; la eficiencia de estos métodos depende de diversos factores como el pH, la temperatura, el tiempo de contacto, la concentración y la naturaleza del adsorbente (Martínez, 2012; Soumitra y col., 2013). Diversos estudios para la remoción de compuestos orgánicos e inorgánicos, reportan que las proteínas contenidas en los granos de café actúan como sitios de adsorción, también se ha demostrado que las cáscaras de café no tratadas son capaces de eliminar cobre, cadmio, zinc y cromo. En este trabajo se desea evaluar la capacidad de adsorción de los granos de café sin lavar para eliminar el colorante rojo Congo en soluciones acuosas de diferente concentración.

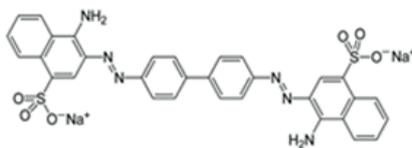


Fig. 1 Estructura de colorante rojo congo.

Una muestra de café húmedo se lavó con agua destilada y se secó en estufa a 50°C por 48h. El café lavado se caracterizó para conocer su punto de carga cero (PCC) utilizando soluciones valoradas de ácido clorhídrico e hidróxido de sodio 0.01N, en contacto con una masa de muestra en relación S/L=1mg/ml. Estos ensayos se dejaron en agitación a 150rpm durante 24h para alcanzar el equilibrio. Cabe señalar que se realizaron ensayos con los blancos correspondientes para calcular la concentración de iones liberados por la superficie del café. Una vez que se alcanzó el equilibrio, se determinó el pH de las soluciones y de los blancos para calcular la concentración de iones liberados y posteriormente la distribución de la carga superficial.

La isoterma de adsorción se realizó con ensayos en lote poniendo en contacto una masa conocida de café con un volumen de solución del colorante de concentración inicial conocida. Las soluciones del colorante se prepararon a partir de una solución madre de 50 ppm a pH de 5.5 para obtener concentraciones de 2.5, 5, 10, 15, 20, 25 y 30ppm. Los ensayos se dejaron en agitación a 150 rpm durante varios días hasta alcanzar el equilibrio; cada día se ajustó el pH de las soluciones para tener un valor constante de 5.5, con soluciones valoradas de HCl o NaOH 0.01N, hasta que el registro de pH entre dos días consecutivos mostró una diferencia menor de 0.01 unidades de pH. Al finalizar el experimento se separaron las fases líquida y sólida para medir la concentración de colorante en el equilibrio por espectroscopia UV-vis (espectrómetro UNICO). Para medir la concentración se preparó una curva de calibración con soluciones estándares de concentración desde 2.5 hasta 30ppm utilizando una longitud de onda de 500nm. La masa de colorante adsorbida sobre la superficie de café se calculó con un balance de masa, y los datos experimentales de la adsorción se analizaron con los modelos matemáticos de la isoterma de Langmuir y la isoterma de Freundlich.

RESULTADOS

La caracterización del café para conocer la distribución de carga superficial y el punto de carga cero se realizó por titulación potenciométrica utilizando soluciones valoradas de HCl y NaOH 0.01N; la Fig. 2 muestra las curvas de titulación potenciométrica de los blancos y del café. En la gráfica se observó que el punto de carga cero se localiza en el valor de pH 6.

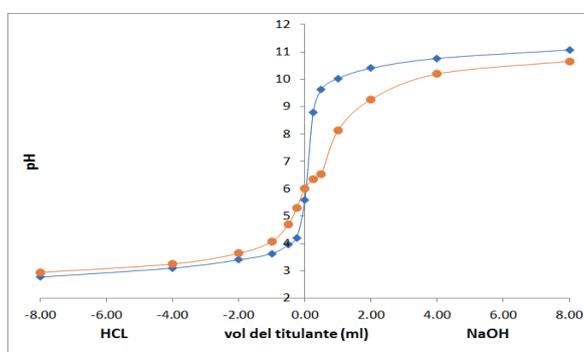


Fig.2 Curvas de titulación potenciométrica del café lavado (círculos) y de los blancos (rombos).

La distribución de carga de la superficie del café y el punto de carga cero se presentan en la Fig. 3, en la que se identifica que el pH del punto de carga cero es 6. Esto significa que cuando el café está en soluciones acuosas de pH menor de 6 la carga del material será positiva, y si está en soluciones con pH mayor de 6 la carga será negativa. Debido a que el rojo congo es un colorante aniónico, los experimentos de adsorción se realizaron a pH 5.5, para favorecer la atracción electrostática entre la superficie del café, que presentaría carga positiva, con las moléculas del colorante que tendrían oxígenos con pares electrónicos libres.

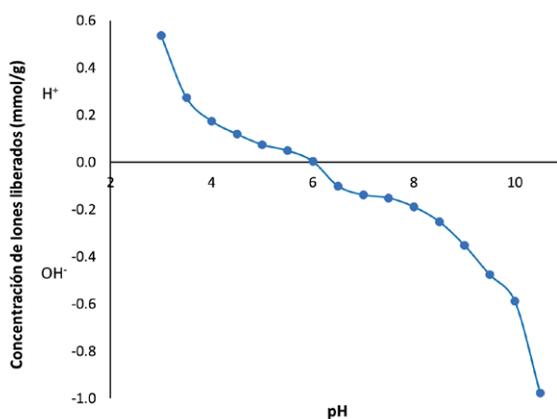


Fig. 3 Distribución de carga superficial del café.

La isoterma de adsorción del colorante sobre el café se realizó con experimentos en lote a pH 5.5 y 25°C, con soluciones de concentración inicial conocida en contacto con una masa de café hasta alcanzar el equilibrio. La concentración del colorante en las soluciones se determinó por UV-vis, para lo cual se preparó una curva de calibración (Fig. 4). La ecuación para calcular la concentración de las soluciones mostró una tendencia lineal ($R^2 = .9998$).

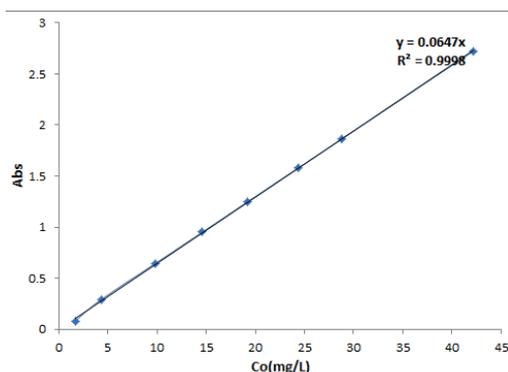


Fig. 4 Curva de calibración para determinar la concentración de colorante en solución.

Los datos experimentales de las concentraciones iniciales y en equilibrio se utilizaron para calcular la cantidad de colorante depositado en la superficie del café (q_e , mg/g). Estos datos se analizaron con el modelo de la isoterma de Langmuir (ecuación 1) el cual sugiere que los adsorbentes contienen sitios individuales fijos que adsorben una monocapa con espesor de una molécula del adsorbato. También se utilizó el modelo de la isoterma de Freundlich (ecuación 2) que sugiere que el material es heterogéneo con diferentes potenciales de adsorción, por lo que cada sitio puede adsorber diferentes capas de moléculas.

$$q_e = \frac{K_L C_e Q_m}{1 + K_L C_e} \quad \text{Ecuación (1)}$$

Donde q_e representa la concentración en el equilibrio, C_e es la concentración en la fase líquida, Q_m es la capacidad de adsorción final en mg/g y K_L es la constante de Langmuir en L/mg.

$$q_e = K_F C_e^{Fr} \quad \text{Ecuación (2)}$$

Donde q_e representa la concentración final en el equilibrio, K_F es la constante de Freundlich, C_e es la concentración en la fase líquida y Fr es una constante en el equilibrio.

Los parámetros de las isotermas de cada modelo se muestran en la Tabla 1 y en la Tabla 2 para los cuales se consideraron un ajuste de mínimos cuadrados, los parámetros empleados en las ecuaciones se muestran en la Tabla 3 y en la Tabla 4.

Tabla 1. Datos calculados con el modelo de la isoterma de Langmuir

Ce(mg/l)	qe (mg/g)	qe calculado (mg/g)	Residual
1.641	0.054	1.247	-1.193
2.131	2.171	1.593	0.578
5.898	3.962	3.908	0.054
8.665	5.935	5.300	0.635
12.835	6.415	7.033	-0.618
19.520	9.320	9.172	0.148

Tabla 2. Datos calculados con es modelo de la isoterma de Freundlich

Ce(mg/l)	qe (mg/g)	qe calculado (mg/g)	Residual
1.641	0.054	1.424	-1.370
2.131	2.171	1.738	0.433
5.898	3.962	3.779	0.183
8.665	5.935	5.069	0.866
12.835	6.415	6.842	-0.427
19.520	9.320	9.422	-0.102

Tabla 3 parámetros para isoterma de Langmuir

K_L (L/mg)	0.036
Q_{max} (mg/g)	22.0
R^2	0.971

Tabla 4 parámetros para isoterma de Freundlich

K_{Fr} (mg/g)(L/mg) ^{Fr}	0.968
1/n	0.763
R^2	0.971

Aparentemente los dos modelos de isotermas, tanto el de Langmuir como el de Freundlich representaron adecuadamente los datos experimentales, porque en ambos casos el valor de R^2 fue 0.971, por lo que se consideró que los dos modelos son adecuados para representar la adsorción del colorante sobre el café (Fig. 5). Se observó que los datos experimentales mostraron un comportamiento positivo, que significa que a mayores concentraciones de colorante en la solución se favorece la adsorción. La capacidad máxima de adsorción del colorante fue de 22mg/g, de acuerdo a los resultados calculados con el modelo de Langmuir.

Considerando el punto de carga cero del café y las condiciones en que se realizó la isoterma, se puede sugerir que el mecanismo de adsorción ocurre por atracción electrostática entre las moléculas del colorante y la superficie del café.

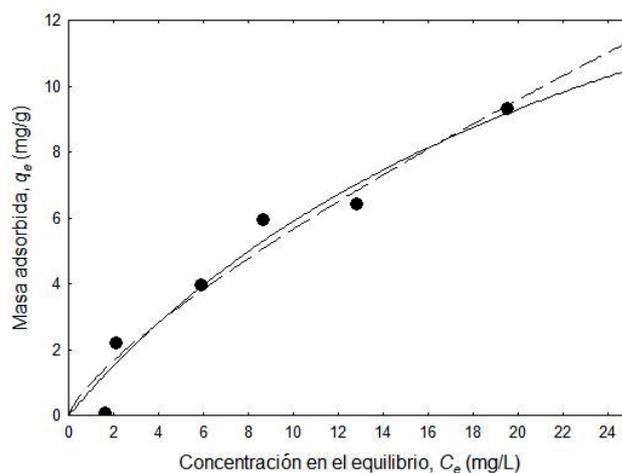


Fig. 5 *Isotermas de adsorción de colorante sobre café a pH 5.5 y 25°C. Los puntos son los datos experimentales, la línea continua es el ajuste a los datos con el modelo de Langmuir y la línea segmentada es el ajuste con el modelo de Freundlich.*

CONCLUSIONES

El café lavado es un material con punto de carga cero igual a 6, por lo que la adsorción del colorante rojo congo se favorece cuando se trabajan con soluciones de pH menores a este valor, debido a fuerzas de atracción electrostática. Los datos de la isoterma de adsorción se pueden modelar adecuadamente con los modelos de Langmuir y de Freundlich. La adsorción máxima que reporta la ecuación de Langmuir es de 22 mg/g.

BIBLIOGRAFIA

- Martínez, T.A. (2012). "Biosorción del colorante rojo congo en sistemas en lote utilizando biomasa de *Chlorella sp.*"(Tesis de maestría en ciencias). Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Químicas, Nuevo León, México.
- Soumitra, G., Amit, K.S., Panda, A.B., Sagar, P. (2013). "Effective removal of Congo red dye from aqueous solution using modified xanthan gum/silica hybrid nanocomposite as adsorbent" en *Bioresource Technology* 144:485-491.
- Inglesakiz V.J., Pouloupoulos, S.G. (2006). "Adsorption, ion exchange and catalysis design of operations and environmental applications, UK: Elsevier Editorial.
- Sasmal, D., Maity, J., Kolya, H., Tripathy, T. (2017). "Study of congo red dye removal from aqueous solution using sulfated acrylamide and N,N-dimethyl acrylamide grafted amylopectin". *Journal of Water Process Engineering*, 18:7-19.
- Zhoa, Sh., Chen, D.,Wei, F., Chen, N., Liang, Z., Luo, Y.(2017). "removal of congo red dye from aqueous solution with nickel-based metal organic framework/graphene oxide composite prepared by ultrasonic wave-assisted ball milling" *ultrasonic-sono chemistry*,39:845-852.

BIOPROSPECCIÓN GENÓMICA DE SUELOS CONTAMINADOS EN VILLA DE LA PAZ, SAN LUIS POTOSÍ.

Reyes-Martínez Mario Antonio¹ y Pérez-Miranda Sandra²

RESUMEN

Este es el inicio de un proyecto para la exploración de los genes *arsC*, *arrA* y *Acr3* tales que codifican la reducción de arsenico y la relación que tienen estos genes con actinobacteria, nuevos productos naturales estructuralmente diversos se descubren cuando se realizan nuevos procedimientos de búsqueda o detección, en este caso se busca explotar los recursos de las regiones áridas de nuestro país y se busca tener un mayor impacto sobre este tipo de investigación.

ABSTRACT

This is the beginning of a project for the exploration of the *arsC*, *arrA* and *Acr3* genes, which encode arsenic

reduction and the relationship of these genes to actinobacteria, new structurally diverse natural products are discovered when new search or Detection, in this case seeks to exploit the resources of the arid regions of our country and seeks to have a greater impact on this type of research.

Palabras Clave: Bioprospección, actinobacteria, degradación, arsénico.

INTRODUCCIÓN

La elección de las bacterias para los programas de cribado farmacológico es desalentadora dada la diversidad taxonómica de los procariotas cultivables (Bull 2004a, De Vos et al., 2009). Una mayoría silenciosa de procariotas que abarca una enorme diversidad genética para la biotecnología explotable (Whitman et al., 1998, Bull, 2004a, b). Este abundante grupo genético está siendo muestreado por la aplicación de procedimientos innovadores para el aislamiento selectivo de bacterias previamente desconocidas (Fry 2004, Epstein et al., 2010), incluyendo actinomicetos (Goodfellow 2010)

El phylum Actinobacteria está compuesto principalmente de organismos gram-positivos con un alto contenido de G+C mayor a la 55 mol% en DNA genómico, las principales morfologías de especies de Actinobacteria pueden variar entre cocoides, bastoncillos, hifas y micelas ramificadas. Es muy común la formación de esporas, aunque no es omnipresente entre las actinobacterias, y podrían variar desde zoosporas móviles hasta propágulos especializados. El phylum Actinobacteria también constituye Uno de los primeros linajes dentro de los procariotas, y la producción de antibióticos. GUPTA. Entre los procariotas, los miembros de la orden Actinomycetales, en particular el género Streptomyces, siguen siendo la fuente más rica de productos naturales, incluidos los antibióticos clínicamente útiles, los antimetabolitos y los agentes antitumorales (Be'rdy 2005, Newman y Cragg, 2007). Las fuentes de actinomicetos representan aproximadamente el 45% de todos los metabolitos secundarios bioactivos microbianos, de los cuales 7 600 (80%) son producidos por Streptomyces (Be'rdy 2005). A pesar de esta impresionante productividad, se ha predicho que sólo se ha descubierto un 10% del número total de productos naturales que pueden ser sintetizados por estos organismos (Watve et al., 2001).

MÉTODOS Y MATERIALES

Para esta investigación fue necesario realizar prácticas de campo.

La primera excursión se realizó en una antigua salinera encontrada en e municipio de Salinas de Hidalgo, San Luis Potosí, donde se obtuvieron 3 muestras de suelo en 3 diferentes sitios con coordenadas de 22°38'25" N 101°22'57" O para el primero, 22° 38' 26" N 181°42'56" O para el segundo y 32°22'38.28" N 101°43'56" para el tercero.

En la segunda expedición se visitó la Sierra de Álvarez, San Luis Potosí donde se analizarían cactáceas además de 2 kg del suelo donde yacían las mismas. Se obtuvieron 2 individuos de mammillaria bocasana, el primero se encontró en las coordenadas 22°04'14.5" N 100° 38'35.2" W a 2,588 m y un segundo individuo en 22° 04' 14.5" N 100° 38' 37.6" W a 576m.

En el mismo recorrido también se encontró una cactácea de opuntia megarhiza (figura 1) de 14 cm y una raíz de 50 cm localizado en 25° 32' 16.3" N 130° 40'15.7 W a 2,244 m

En una tercera y última expedición al municipio Cerro de San Pedro se obtuvo un segundo espécimen de opuntia megarhiza el cual estaba localizado en las coordenadas 22°20'25" N 100° 20'37" W.

Aislamiento de bacterias en medios selectivos

Todas las muestras de suelo de los diferentes sitios de muestreo, fueron procesadas, diluidas e inoculadas en medios de cultivo para el óptimo crecimiento de actinobacteria, los medios de cultivo utilizados fueron: MMM, SFM, MM, CMM1, glicerol asparagina, ISP4, agar nutritivo y agar extracto de suelo, se desecharían bacterias gram- y se tomaría en cuenta la morfología (figura 2) de las gram + para su posterior recolección y almacenamiento a - 80° C,

Lavado de raíz de opuntia Megarhiza

Para confirmar que solo se trabajaría con endófitos de la raíz de opuntia megarhiza se siguió un protocolo de lavado de ésta, donde se utilizaría tween 20, alcohol al 70%, hipoclorito de sodio al 1 %, y agua miliQ para enjuagar.

Se cortaría la raíz en trozos de aproximadamente 1 cm para poder macerar con ayuda de un buffer de fosfato salino de pH 7.4, se harían diluciones seriadas de 1/10, 1/100, 1/1000 para después tomar 100 µL de cada una e inocular en medio agar nutritivo.

Extracción de ADN metagenómico.

Se tomaron 10 g en peso húmedo de cada una de las muestras de suelo y se utilizó PowerSoil DNA extraction kit (MO BIO laboratorios, USA) de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

RESULTADOS

CONCLUSIONES

Se trabajó con una especie de cactácea sin registro en literatura y se está al pendiente de resultados próximos esperando también su conexión con la bioprospección de actinobacterias en hábitat semiárido.

BIBLIOGRAFIA

Libros



FIGURA 1 (OPUNTIA MEGARHIZA)

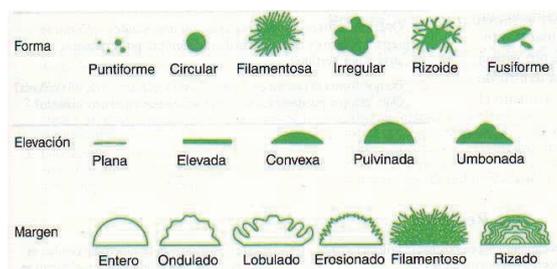


FIGURA 2. TABLA DE MORFOLOGIA BACTERIANA

ADSORCIÓN DE CIANURO EN CARBÓN ACTIVADO A PARTIR DE HUESO DE TAMARINDO

Rocha de León Nidia, Muñoz Ramírez Leonor

RESUMEN

El carbón activado ha demostrado ser un adsorbente efectivo, para la eliminación de una amplia gama de contaminantes orgánicos e inorgánicos, disueltos en medios acuosos, o de ambientes gaseosos.

El proceso inicia con la etapa de carbonización, de modo que se logre la deshidratación de forma controlada. Durante la carbonización los elementos no carbonosos, como el hidrogeno y oxígeno, presentes en la materia prima, son eliminados en parte por la pirolisis del material y los átomos de carbono se organizan en estructuras microcristalinas conocidas como cristalitas gráficas elementales. Entre estos microcristales hay espacios libres, debido a que su ordenamiento es irregular.

En el presente trabajo se llevó a cabo la elaboración de carbón a partir de hueso de tamarindo, seguido de un tratamiento físico en un horno mufla para llevarlo a la etapa de carbonización a temperaturas de entre 800 – 1000°C, posteriormente se puso en contacto con soluciones de cianuro, demostrando que dicho carbón es tan efectivo como el carbón mineral.

INTRODUCCION

El carbón activado es un producto que posee una estructura cristalina reticular similar a la del grafito; es extremadamente poroso, y puede llegar a desarrollar áreas superficiales del orden de 1,500 metros cuadrados

por gramo de carbón.

Todos los átomos de carbón en la superficie de un cristal son capaces de atraer moléculas de compuestos que causan color, olor o sabor indeseables; la diferencia con un carbón activado consiste en la cantidad de átomos en la superficie disponibles para realizar la adsorción. En otras palabras, la activación de cualquier carbón consiste en multiplicar el área superficial creando una estructura porosa. Es importante mencionar que el área superficial del carbón activado es interna. Para darnos una idea más clara de la magnitud de la misma, imaginemos un gramo de carbón en trozo el cual moleremos muy fino para incrementar su superficie, como resultado obtendremos un área aproximada de 3 a 4 metros cuadrados, en cambio, al activar el carbón logramos multiplicar de 200 300 veces este valor [20]

Por todo ello, cuando se desea remover una impureza orgánica que causa color, olor o sabor indeseable, normalmente la adsorción con carbón activado suele ser la técnica más económica y sencilla.

El carbón activado es un término general que denomina a toda una gama de productos derivados de materiales carbonosos. Es un material que tiene un área superficial excepcionalmente alta.

El nombre de carbón activado se aplica a una serie de carbones porosos preparados artificialmente a través de un proceso de carbonización, para que exhiban un elevado grado de porosidad y una alta superficie interna. Es un producto obtenido a partir del carbón amorfo, el cual se ha sometido a un tratamiento de activación con el fin de incrementar su área superficial hasta 300 veces debido a la formación de poros internos, pudiendo alcanzarse áreas de 1200 -1500 m²/gr de carbón

DESARROLLO EXPERIMENTAL

Los experimentos de adsorción de cianuro con carbón hueso de tamarindo se llevaron a cabo en un vaso de precipitado de 600 ml donde contenía 250 ml de cianuro grado reactivo y agua desionizada, ajustando el pH a 12 con una solución de NaOH como se muestra la Figura 1. El sistema se mantuvo en agitación constante durante todo el experimento. El avance del proceso se monitoreo continuamente mediante el cambio de la concentración del cianuro. La agitación se reguló con agitador magnético colocado dentro del vaso de precipitado y accionado por medio de una parrilla de agitación magnética; el cianuro extraído del proceso se determinó con titulación de nitrato de plata, de acuerdo con el método APHA-AWWA 4500-CN D.

Los métodos del diseño experimental han encontrado amplia aplicación en diversas disciplinas. De hecho la experimentación puede considerarse parte del proceso científico, en el diseño de experimentos se tiene que encontrar las variables claves del proceso [27], en los experimentos de adsorción de cianuro se empleo un diseño de experimentos manteniendo constante el pH 11.5 y concentraciones de cianuro y dos variable en gramos de carbón activado (1, 2) como se muestra en la Tabla I.

Tabla I. Variables del proceso

La gráfica muestra que a diferencia de la gráfica 2. El porcentaje de adsorción fue de 37 %. Esto demuestra que el carbón tiende a saturarse, debido a la falta de poros, una las características de los carbones activados, es que adsorben y se desorben hasta que alcancen el equilibrio.

La Figura B muestra la adsorción de cianuro en el carbón activado después del proceso físico, con tres distintas concentraciones de cianuro, a 1 hora de adsorción, esto da como resultado, un incremento en la cantidad de cianuro removido por adsorción en el carbón hueso de tamarindo después del proceso de carbonización, en la grafica muestra una comparación entre un carbón sin tratamiento físico (a) y con

Figura 1. Esquema de experimentación

RESULTADOS Y DISCUSION

tratamiento físico (b), practicarse el proceso a los 20 minutos hay adsorción debido a un efecto catalítico, el es un intercambio de funcionales de la superficie del carbón, como se muestra en la siguiente reacción [6] :

pH	[CN] ppm	C.A gr
11	200	1, 2
	600	
	800	

la figura muestra que al físico al carbón activado, un incremento de que el carbón presenta mecanismo de adsorción iones entre los grupos

CONCLUSION

La adsorción de cianuro en carbón activado a pH 11, ocurre una adsorción física del cianuro en sitios positivos, así como el intercambio de iones con los distintos grupos, superficiales del carbón. Por lo tanto, los carbones básicos, tiene menos sitios ácidos, menos cargas negativas y más grupos para el intercambio iónico, lo cual ayuda a una mayor adsorción.

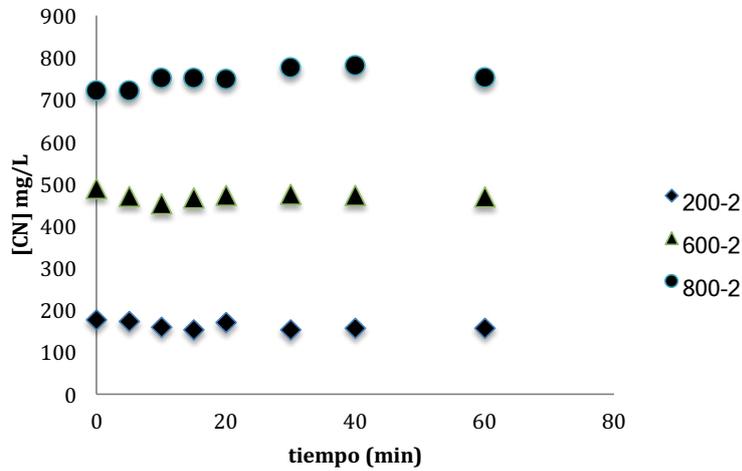


Figura A Carbón de hueso de tamarindo con 3 concentraciones de cianuro con 2 gr C.A

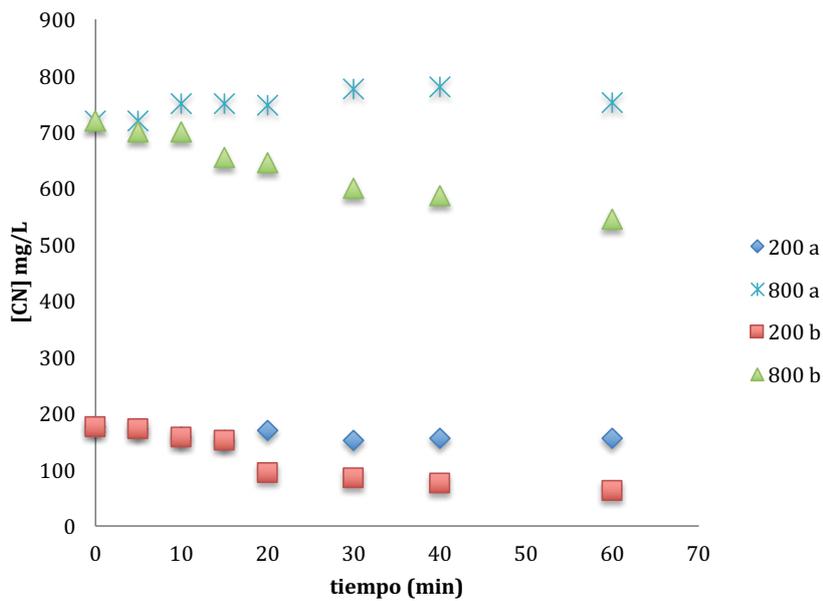
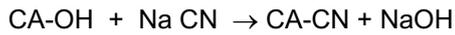


Figura 4. Muestra dos concentraciones de cianuro con 2 gr de ccc, los incisos (a) es antes del proceso físico y el inciso (b) después del proceso físico.



BIOFERTILIZANTES A BASE DE MICORRIZA ARBSCULAR PARA LA PRODUCCION DE JITOMATE.

Perales Villalobos, R; Mendez Cortes, H.

RESUMEN

El 95% de las plantas se asocian con las micorrizas, siendo de gran importancia en la investigación para biofertilizantes y su utilización. Las micorrizas se clasifican en dos grandes grupos según las hifas de los hongos que permanezcan al exterior de la raíz (ectomicorrizas) y las que penetran en el interior (endomicorrizas). La importancia de las micorrizas ha aumentado en la última década debido a numerosos reportes de efectos benéficos sobre las plantas, desde la absorción de nutrientes hasta jugar un papel ecológico fundamental en la misma.

Palabras clave: micorrizas, biofertilizante, ectomicorriza, endomicorriza.

ABSTRACT

The 95% of the plants are associated with mycorrhizae, being of great importance in the research for biofertilizers and their use. Mycorrhizae are classified into two large groups according to the hyphae of the fungi that remain outside the roots (ectomycorrhizae) and those that penetrate the interior (endomycorrhizae). The importance of mycorrhiza has increased in the last decade due to many reports of beneficial effects on plants, from the absorption of nutrients to the fundamental ecological role in it.

Key words: mycorrhizae, biofertilizer, ectomycorrhiza, endomycorrhiza

INTRODUCCIÓN

Las micorrizas arbusculares estimulan el crecimiento, desarrollo y nutrición de las plantas, especialmente en suelos de baja y moderada fertilidad los estudios llevados a cabo han puesto de manifiesto que dichos efectos se deben a que la micorriza mejora sustancialmente la absorción de nutrientes y agua por la planta y que el principal nutriente implicado es el fósforo (Barae et al., 2002). Las asociaciones simbióticas entre raíces vegetales y hongos fueron denominadas en 1885 por el patólogo forestal A.B Fran como micorriza, derivado de la palabra en griego que traduce raíz fungal (Ariston, 1999). Se estima que cerca de un 95% de las especies de plantas superiores pertenece a familias característicamente micotróficas, es decir que se asocian con hongos (Trappe, 1987). Las esporas difieren en forma, estructura, contenido citoplasmático, color, tamaño, número de paredes, vía de germinación, morfología de esporas secundarias y presencia o ausencia de esporocarpos (Mosse et al., 1981; Gerdemann y trappe, 1974; Morton, 1990). La función de la espora es llevar la información genética a nuevos hábitats e iniciar nuevos individuos espacialmente separados del organismo parental. (Lloyd-McGilp et al., 1996; Rosendahl y Taylor, 1997).

METODOLOGÍA

Muestras de suelo de dos ecosistemas (semiárido y tropical húmedo) de la ciudad de San Luis potosí

Método de extracción

Pesado de las muestras. Del suelo colectado de campo, se pesan 50 o 100 g en un vaso de precipitado de 600 mL y se adiciona agua para posteriormente mantener la muestra en refrigeración a 4 °C por 24 horas a fin de hacer más suaves los agregados del suelo (terrones) para el siguiente día. En caso de procesarse el mismo día, se deben deshacer estos terrones con la mano para evitar que alguna espora se quede atrapada al interior de ellos.

Tamizado de las muestras. Con una varilla de vidrio se agita el suelo por 30 segundos para deshacer las partículas más grandes. Se deja reposar por 10 segundos para esperar que las arenas se asienten y sólo se deje en suspensión los remanentes de raíz-arcillas-esporas. Esta suspensión se vierte en tamices de 500 y 37 µm de apertura aprox. (uno encima de otro). Con agua a presión, se resuspende nuevamente las partículas más finas y se continúa vaciando los sobrenadantes en los tamices. Esta operación se realiza hasta lograr que la suspensión de partículas finas sea casi nula y el agua se torne semitransparente (Tener cuidado de no derramar el agua colectada en el tamiz de 37 µm, ya que es donde se mantienen la mayor parte de arcillas finas). El tamiz que se toma en cuenta para procesar las esporas es el de 37 µm, mientras que el tamiz de 500 µm sirve para colectar las raíces, esporocarpos y esporas de mayor tamaño.

Centrifugado en agua. El material colectado en el tamiz de 37 µm es colocado en tubos fálcon de 50 mL en proporción de 1/4 de suelo y 3/4 de agua (los tubos deben estar equilibrados en pares y con el mismo peso) para someterse posteriormente en la centrifuga a 2,000 rpm durante cinco minutos; esto con el fin de separar materia orgánica en suspensión.

Centrifugado en sacarosa. Se elimina el agua después de la centrifugación sin retirar el suelo y se adiciona sacarosa (sacarosa al 50% + Tween 80) hasta ¾ partes. En este apartado se revuelve totalmente el suelo en la solución con una varilla de vidrio (equilibrar los tubos en peso con esta solución con la ayuda de una jeringa). Los tubos se centrifugan durante un minuto a las mismas revoluciones que en el paso anterior; esto con el fin de separar las esporas del suelo por gradientes de densidad.

Observación y conteo de esporas. Se decanta el sobrenadante de la sacarosa en el tamiz de 37 µm procurando no vaciar partículas de suelo (en este sobrenadante flotarán las esporas por gradientes de densidad). Se lava la muestra para quitar los excesos de sacarosa y residuos del Tween 80 y así dejar limpias las esporas de esta solución; éstas son colocadas en una caja Petri para su observación y contabilización en el microscopio estereoscópico. Extracción de esporas de acuerdo al protocolo propuesto por Gerdemann y Nicholson (1963), con modificación de Daniels y Skipper (1982).

Método de montaje de esporas.

Se colocan de 10-25 esporas en la parte central y se cubren con una gota de PVLG; otra cantidad igual es colocada en la parte posterior la cual es cubierta con una gota de PVLG+Melzer. Es necesario dispersar las esporas con la ayuda de una aguja de disección. Se espera de 3-5 minutos para que el medio se torne un poco más viscoso y se posiciona un cubreobjetos limpio en un ángulo de 45° sobre el área de montaje y se baja lentamente logrando que las esporas se dispersen adecuadamente en la parte central del cubreobjetos (calcular la cantidad adecuada del medio para evitar que las esporas se salgan). Las esporas son aplastadas aplicando una ligera presión en el portaobjetos con el extremo de una aguja. Esto se hace bajo un microscopio de disección o un microscopio compuesto. El aplastando de esporas bajo el microscopio compuesto permite

exhibir todas las estructuras importantes para el diagnóstico y los acomoda en una posición adecuada para observar claramente las estructuras y fotografiarlas posteriormente (tratar de no aplastar demasiado para observar mejor las estructuras). Se etiquetan las laminillas y se colocan en una estufa de secado a 65°C por 12-24 h para limpiar posteriormente los residuos del medio de montaje y reducir las burbujas de aire. La temperatura decrece el espacio entre la superficie del cubreobjetos y la superficie del portaobjetos; por esta razón, se hace más fácil la toma de fotografías de las estructuras subcelulares de las esporas montadas.

Las esporas son examinadas a diferentes aumentos en el microscopio y se inicia de menor a mayor aumento (10-40 y 100x). Es necesario medir el diámetro de la espora, ancho de las capas y paredes, células accesorias, etc. Posteriormente se toman fotografías a cada espécimen colectado para tenerlos de referencia.

RESULTADOS

Se realizaron 3 recuentos consecutivos de esporas a partir de 50 gr. de cada ecosistema, semiárido y tropical. Los resultados se muestran en los gráficos 1 y 2. El número más alto de esporas se presentó en la muestra número 3 del ecosistema tropical con un promedio de 37 esporas/50 gr. Mientras que el menor número de esporas micorrizicas se presentó en la muestra número 1 con un promedio de 14.7 esporas/50 gr. En ambas muestras se presentan distintos morfotipos.

CONCLUSIONES

Los hongos micorrizicos arbusculares forman asociaciones simbióticas con la mayoría de las plantas y a su vez se encuentran en casi todos los ecosistemas. Por eso la importancia de su estudio y la implementación como una nueva tecnología que sustituya a los fertilizantes químicos, utilizándolas como biofertilizantes que a su vez ha permitido reducir los costos de producción, por disminución del uso de fertilizantes químicos, sin los efectos negativos en el ambiente (suelo y agua) y, en muchos casos, podría llegar a restaurar completamente el área afectada.

BIBLIOGRAFIA.

Barea, J.M., and Fefries, P. (1995). Arbuscular mycorrhizas in sustainable soil-plant systems. In "Mycorrhiziza, structure, function, Molecular Biology and Biotechnology" pp 521-560. Springer Verlag, Berlin Heidelberg.

Mosse, B., Stribley, D. P., and Le Tacon, F. (1981). Ecology of Mycorrhizae and mycorrhizal fungi. *Advances in Microbial Ecology* 5, 137-210.

Figura 1. Gráfico de error estándar de 3 tipos de muestras de suelo semiárido



Figura 2. Gráfico de error estándar de 3 tipos de muestra de suelo Tropical.

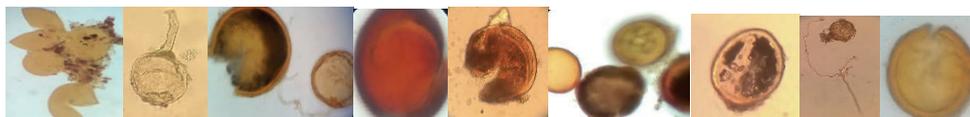


Fig. 3 Morfotipos de esporas micorrizicas de suelos tropicales y semiáridos.

Gedermann, J. W. (1975). Vesicular-arbuscular mycorrhizae. In "The Development and functions of roots, pp 575-591. Academic Press, London.

Morton, J. B (1990). Species and clones of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales, Zygomycetes). Their role in macro and microevolutionary processes. *Mycotaxon* 37, 493-515.

Lloyd-MacGlip, S.A Chambers, S.M., Dodd, J.C., Filtter, A.H., Walker, C., yound, J. P. W 1996. Diversity of the ribosomal internal transcribed spacers within and among isolates of *glomus mossaeae* and related mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 133;103-11.

Rosendahl, S. (1989). Comparisons of spore-Cluster forming *Glomus* species (Endogonaceae) based on morphological characteristics and isoenzyme banding patterns *Opera botanica* 100, 215-223.

Trappe, J. M. (1987). "Phylogenetic and Ecologic Aspects of Mycotrophy in the Angiosperms from an Evolutionary Standpoint", en Safir, G. R. (Ed.). *Ecophysiology of V-A Mycorrhizal Plants*. CRC. Press Inc., Boca Raton, Florida, USA.

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE GENES IMPLICADOS EN EL DESARROLLO Y LA RESPUESTA AL ESTRÉS BIÓTICO EN ARABIDOPSIS THALIANA

Rodríguez Gavaldón, Y.I.; Rivera Rodríguez, A.; Rodríguez Kessler, M.

RESUMEN

El estrés biótico afecta severamente al crecimiento y desarrollo de las plantas, lo cual puede limitar su distribución geográfica. Por lo que se realizó un proyecto de investigación a nivel de biología molecular en plantas y se trabajó con *Arabidopsis thaliana* la cual es la planta modelo más utilizada debido a su fácil manipulación y sus diversos antecedentes de investigación.

Pseudomonas syringae induce diversos mecanismos moleculares de respuesta y resistencia en *A. thaliana*. En este trabajo se obtuvo ADN complementario (cDNA) del ecotipo silvestre Columbia (Col-0) como control y de diferentes líneas de mutantes de *Arabidopsis* (Atpa01-1, Atpa02-1 y Atpa01-1 x Atpa02-1) para identificar genes que se inducen en la interacción con *Pseudomonas*. En particular se enfocó el estudio a genes que codifican transportadores de poliaminas. Estas aminas se acumulan en respuesta al estrés y se relacionan

con mecanismos de defensa. Además, se evaluó la expresión del gen AtPAO2 mediante el uso de una línea reportera; la señal de reportero GUS fue analizada en plantas infectadas a las 0, 24, 48 y 72 hpi.

Como resultados se obtuvo que en la interacción Arabidopsis-Pseudomonas, los genes de transporte de PAs se inducen a las 24 hpi tanto en plantas silvestres como en las líneas mutantes Atpao1-1 y Atpao2-1. Sin embargo, el patrón de expresión de los genes analizados se altera en la doble mutante Atpao1-1 x Atpao2-1. Además, la línea reportera muestra un incremento de la señal de GUS conforme progresa la infección, indicando la participación del gen AtPAO2 en la interacción Arabidopsis-Pseudomonas.

ABSTRACT

Biotic stress severely affects the growth and development of plants, which may limit their geographical distribution. Therefore a research project was carried out at the molecular biology level in plants using Arabidopsis thaliana which is the most used model plant due to its easy manipulation and its diverse research background.

Pseudomonas syringae induces diverse molecular mechanisms of stress response and resistance in Arabidopsis thaliana. Herein, complementary DNA (cDNA) of the wild ecotype Columbia (Col-0) was obtained as a control and from different Arabidopsis mutant lines (Atpao1-1, Atpao2-1 and Atpao1-1 x Atpao2-1) in order to identify genes induced in the interaction with Pseudomonas. We focused on genes that encode polyamine transporters. Polyamines are accumulated in response to stress and are related to defense responses. In addition, the expression of AtPAO2 gene was evaluated using a reporter line; GUS signal was analyzed in infected plants after 0, 24, 48 and 72 hpi.

As results it was obtained that in the Arabidopsis-Pseudomonas interaction, genes involved in PA transport were induced at 24 hpi in either the wild seedling or the mutant lines Atpao1-1 and Atpao2-1. Nevertheless, the expression pattern was altered in the double mutant line Atpao1-1 x Atpao2-1. In addition, the reporter line showed an increment in GUS signal as the infection progressed, indicating a role for AtPAO2 in the Arabidopsis-Pseudomonas interaction.

Palabras clave: Arabidopsis thaliana, Pseudomonas syringae, estrés biótico, poliaminas, interacción planta-microorganismo.

INTRODUCCIÓN

La agricultura es una de las actividades económicas que ha dado sustento a la alimentación mundial, pero todos los cultivos son atacados por diferentes organismos que llegan a causar grandes pérdidas de recursos y productos. Las bacterias patógenas de las plantas pueden multiplicarse rápidamente dentro del tejido vegetal en condiciones favorables, causando muchas enfermedades graves a los cultivos, con importantes impactos económicos. En la actualidad, Arabidopsis thaliana es reconocido como el sistema modelo de planta más importante por la comunidad científica, ya que se puede cultivar en una variedad de lugares, medios de crecimiento y condiciones ambientales. La mayoría de las accesiones de laboratorio y sus derivados mutantes o transgénicos florecen después de 4-5 semanas y ponen semillas después de 7-8 semanas, en condiciones normales de crecimiento (suelo, día largo, 23 °C).

Pseudomonas syringae es una bacteria Gram-negativa en forma de varilla con flagelos polares [1]. Las cepas de P. syringae infectan colectivamente una amplia variedad de plantas y varias de estas cepas son conocidas por sus interacciones diversas y específicas del huésped con las plantas [2]. En los cultivos, las semillas infectadas suelen ser una fuente importante de inóculo primario en las enfermedades de P. syringae, y el crecimiento bacteriano epifítico en las superficies de las hojas suele preceder al desarrollo de la enfermedad [2]. P. syringae entra en los tejidos del huésped (por lo general las hojas) a través de heridas o aberturas naturales como los estomas, y en una planta susceptible se multiplica a altos niveles de población en los espacios intercelulares.

Cuando una dosis alta de bacterias es rociada con un surfactante en plantas susceptibles de Arabidopsis (por ejemplo, el ecotipo Columbia), el primer signo de enfermedad es la aparición de parches "empapados en agua" en las hojas el día 2. El síntoma empapado en agua resulta de la liberación masiva de agua y nutrientes de células de Arabidopsis infectadas. Los parches empapados en agua se vuelven necróticos y de color oscuro el día 3, y el tejido foliar muestra una clorosis extensa, dando la apariencia característica de una enfermedad "moteada".

Por otra parte, en las plantas resistentes, P. syringae desencadena la respuesta hipersensible (HR), una muerte rápida, asociada a la defensa de las células vegetales en contacto con el patógeno [3][4][5][6]. En esta situación, P. syringae no se multiplica a niveles de población altos y no causa síntomas de la enfermedad. P. syringae a menudo se desarrolla en la superficie de las plantas como epífita antes de entrar en el espacio intercelular para iniciar la patogénesis [2]. La capacidad de P. syringae para crecer epifíticamente es ecológicamente importante para la supervivencia y propagación de patógenos en el campo. Para P. syringae, el espacio intercelular de la planta es un nicho potencial desde el cual puede explotar la mayor parte de los fotosintatos y otros nutrientes ocultos detrás de la pared de la célula huésped, este es llamado apoplasto el cual

está limitado en agua y nutrientes y es un depositario de algunos compuestos de defensa de plantas. *P. syringae* debe producir factores de virulencia apropiados para hacer que las células de *Arabidopsis thaliana* nutrientes y agua en el espacio intercelular y al mismo tiempo para suprimir o evadir la defensa de *Arabidopsis thaliana* dirigida a inhibir la proliferación bacteriana.

Los patógenos bacterianos de las plantas, y en general otros patógenos, se revelan al sistema inmune del huésped a través de (PAMPs) que son moléculas denominadas patrones moleculares que están asociados a patógenos, tales como flagelina o lipopolisacáridos bacterianos (LPS). Las plantas han desarrollado receptores especializados de superficie celular para detectar características conservadas de PAMPs y activar respuestas de defensa [7].

Las poliaminas son un grupo de pequeñas moléculas alifáticas (no cíclicas) cuya característica es poseer dos o más grupos amino en su estructura. Las PA más comunes en la naturaleza son la diamina putrescina (Put), y aquellas tradicionalmente llamadas PAs superiores como la triamina espermidina (Spd) y las tetraaminas espermina (Spm) y thermospermina (TSpm) [8]. Estas se detectan en tejidos vegetales en crecimiento activo y en plantas expuestas a estrés biótico o abiótico [9].

El papel desempeñado por las PA durante las interacciones de las plantas con microorganismos patógenos o beneficios es que los cambios en el metabolismo de las PA constituyen una respuesta adaptativa clave de la planta y que su ocurrencia determina el desarrollo de la interacción. Algunos microorganismos son capaces de perturbar el metabolismo de PAs de la planta para ajustarlo a sus propias necesidades.

La regulación precisa de los niveles de PA es importante ya que no sólo su agotamiento, sino también la acumulación extensa de PA pueden ser deletéreos [10]. Por lo tanto, varios procesos como la síntesis de PA, el catabolismo, el transporte, la compartimentación y la conjugación actúan de forma concertada para mantener la concentración de estos compuestos en niveles adecuados [11].

La proteína OsPUT1 de arroz fue la primera en ser reportada como transportadora de poliaminas en plantas. Esta proteína funciona principalmente como importadora de Spd y se expresan en todos los tejidos de la planta excepto en las raíces y semillas maduras. En 2012, se describieron cinco importadores adicionales de *Arabidopsis thaliana* y arroz que forman parte del mismo lado de OsPUT1 y que muestran una alta afinidad por Spd [12].

Los niveles de PAs y la actividad de las enzimas metabólicas de las PAs aumentan en los tejidos infectados durante la colonización microbiana. Los microorganismos biotróficos se alimentan de los nutrientes producidos por las células vivas del huésped, esto conduce a la acumulación de PA en las plantas. Los principales incrementos en la concentración de PAs durante la interacción con biotróficos se encuentran en áreas foliares cercanas al punto de entrada del patógeno "islas verdes".

El objetivo de este trabajo de investigación es caracterizar molecularmente las respuestas de *Arabidopsis thaliana* a *Pseudomonas syringae* con diferentes líneas de mutantes y plantas silvestres, así como entender el comportamiento de algunos genes que codifican transportadores de poliaminas en las interacciones de planta-microorganismo a las 0, 24, 48 y 72 horas. Además, se tiene como objetivo conocer las técnicas de cultivo y crecimiento de *Arabidopsis thaliana* in vitro, así como su infección con *Pseudomonas*, conocer los métodos de extracción de ARN, síntesis de cDNA y tinción de GUS. Entender la modulación del metabolismo de la planta en el reconocimiento de patógenos y su importancia para la defensa de las plantas y la importancia de las PAs en las interacciones de planta-microorganismo.

METODOLOGIA

Se empleó la planta modelo *Arabidopsis thaliana* para el desarrollo de los experimentos del presente estudio donde se utilizó el ecotipo silvestre Columbia (Col-0) como control, las líneas mutantes insercionales sencillas de T-DNA *Atpao1-1*, *Atpao2-1* y la doble mutante *Atpao1-1 x Atpao2-1* producto de la cruce de las mutantes sencillas.

Desinfección y cultivo in vitro de las semillas.

Las semillas de *Arabidopsis thaliana* del ecotipo silvestre y las líneas mutantes fueron desinfectadas con una solución de hipoclorito de sodio comercial al 30%. Las semillas estériles se dejaron estratificando en oscuridad durante 48h a 4°C. Finalmente, se sembraron en medio MS 0.5X (pH 5.7), con 1.5% de sacarosa (p/v) y 1.2 % de agar (p/v) (Murashige y Skoog, 1962).

Preparación del inóculo de Pseudomonas

Se utilizó la cepa de *P. syringae* pv. tomato DC3000 para realizar los estudios de interacción planta-patógeno. Los cultivos se crecieron en medio KB compuesto por 2% (p/v) de peptona, 0.15% (p/v) de sulfato de magnesio (MgSO₄) y 0.15% (p/v) de fosfato de potasio monobásico (KH₂PO₄) y se crecieron a 28°C hasta alcanzar una OD₆₀₀ = 0.4-0.5. El cultivo se centrifugó a 5000 rpm durante 5 minutos para sedimentar las bacterias y se removió el sobrenadante. Las bacterias se resuspendieron en 1 mL de MgCl₂ 10 mM y se repitió el lavado 2 veces.

Infección de Arabidopsis con Pseudomonas

Se inocularon plántulas de *Arabidopsis thaliana* de 15 días de edad con la ayuda de una micropipeta colocando 5 µL

de la suspensión bacteriana a 1 hoja verdadera de cada planta y se tomaron muestras a las 0, 24, 48 y 72 h post inoculación (hpi) para experimentos posteriores.

Aislamiento de ARN total.

Se extrajo el ARN total de plántulas de *Arabidopsis* de 15 días de edad moliendo cada muestra en nitrógeno líquido. Se empleó el método de TRI Reagent de acuerdo a las especificaciones del fabricante (SIGMA, St. Louis, MO) para la extracción y el ARN total obtenido se resuspendió en agua miliQ tratada con 0.01% de DEPC. La integridad de ARN fue analizada en un gel de agarosa desnaturalizante con formaldehído. La concentración del ARN obtenido fue determinada en un espectrofotómetro Nanodrop 2000 (Thermo scientific). El ARN obtenido se digirió con la enzima DNase-free ($U/\mu L$) (Thermo), durante 40 min a 37°C, después se agregó 1 μL de EDTA 50 mM y se pasó a 65°C por 10 min eliminando así el ADN genómico presente.

Síntesis de ADN complementario (ADNc)

La síntesis de ADNc se realizó empleando el kit SuperScript First-Strand Synthesis System for RT-PCR siguiendo las especificaciones del fabricante. Un microlitro de cada ADNc se empleó como para los análisis de PCR. El gen EF1a fue empleado como control de carga. Las reacciones de PCR se llevaron a cabo en un volumen de 50 μL conteniendo 1 μL de ADNc como templado. Se emplearon oligonucleótidos específicos para cada gen de interés (AtPUT1, AtPUT2, AtPUT3, AtPUT4, AtPUT5). Las condiciones de amplificación programadas para cada gen fueron las siguientes: desnaturalización inicial de 94°C por 10 min, seguidos de 27, 30 ó 33 ciclos de 94°C por 30s (desnaturalización), 60°C por 30 s (alineamiento) y 72°C por 30s (extensión), y finalmente, 72°C por 8 min.

Tinción de plántulas con reactivo GUS

Se utilizaron plántulas infectadas con *P. syringae* colectadas a las 0, 24, 48 y 72 hpi. Para la tinción histoquímica, se siguió el protocolo reportado por Jefferson, 1987. Después del procedimiento las plántulas se montaron en un portaobjetos con una solución de glicerol al 50% y se observaron por medio de un microscopio para la obtención de los resultados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las poliaminas participan en la respuesta de defensa ante patógenos. En este trabajo analizó la expresión de genes involucrados en el transporte de PAs en plantas de *A. thaliana* silvestres (ecotipo Col-0) y de líneas mutantes afectadas en el catabolismo de PAs (Atpao1-1, Atpao2-1 y Atpao1-1xAtpao2-1) infectadas con *Pseudomonas*. Los resultados obtenidos muestran que los genes AtPUT se inducen a las 24hpi en Col-0 y en las líneas mutantes Atpao1-1 y Atpao2-1, por el contrario, en la doble mutante hay un cambio en las expresión principalmente de AtPUT5, el cual se acumula a las 72hpi (Figura 1).

La participación del gen AtPAO2 el cual codifica una enzima involucrada en el catabolismo de PAs, se evaluó mediante el uso de la línea reportera promPAO2::GUS. La expresión del reportero GUS se analizó en cotiledones, hojas verdaderas y meristemos de plantas inoculadas con *Pseudomonas* a las 0, 24, 48 y 72 hpi. La señal del reportero incrementa notablemente a las 24 hpi, principalmente en hojas verdaderas. Los meristemos muestran un incremento de la señal del reportero conforme progresa la infección (Figura 2).

CONCLUSIONES

En la interacción *Arabidopsis*-*Pseudomonas* existe un incremento en la expresión de los genes AtPUT a las 24 hpi en la planta silvestre Col-0 y en las líneas mutantes Atpao1-1 y Atpao2-1. Estos resultados sugieren que en etapas tempranas de la infección, un incremento en el transporte de PAs pudiera ser importante para la defensa. Se ha documentado un incremento en el contenido de PAs desde etapas tempranas de la infección, es probable que el incremento sea producto no solo de la síntesis sino también del transporte de estas moléculas. Por otro lado, nuestros resultados indican que la expresión de genes del transporte de PAs no se altera en líneas mutantes sencillas del catabolismo de estas moléculas, sin embargo, en una mutante doble si, lo que sugiere que cambios importantes en el catabolismo pudieran afectar el transporte a nivel transcripcional. Finalmente, el análisis de la línea reportera promPAO2::GUS mostró un incremento en la señal de GUS principalmente a las 24 hpi en hojas verdaderas infectadas con *Pseudomonas*. Este resultado indica que genes de catabolismo de PAs como AtPAO2 son inducidos por esta bacteria, siendo evidente su participación en tejidos infectados.

BIBLIOGRAFIA



Figura 1. Expresión de los genes AtPUT en plantas de 15 días de edad de Arabidopsis del ecotipo silvestre Col-0 y líneas mutantes del catabolismo de poliaminas (*Atpao1-1*, *Atpao2-1* y *Atpao1-1xAtpao2-1*) infectadas con *Pseudomonas syringae*. Los análisis de expresión se llevaron a cabo en muestras colectadas a las 0, 24, 48 y 72 hpi. Como gen de referencia se empleó EF1α.

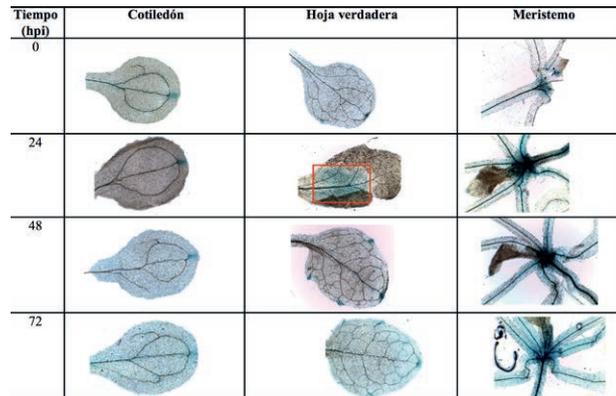


Figura 2. Línea reportera *promAtPAO2::GUS* infectada con *Pseudomonas syringae*. Tinción histoquímica de GUS mostrando señal del reportero a las 0, 24, 48 y 72 hpi.

- [1] Agrios, G.N. (1997) Plant Pathology. (San Diego: Academic Press).
- [2] Hirano, S.S., and Upper, C.D. (2000) Bacteria in the leaf ecosystem with emphasis on *Pseudomonas syringae*-a pathogen, ice nucleus, and epiphyte. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 64, 624-653.
- [3] Klement, Z., Farkas, G.L., and Lovrekovich, L. (1964) Hypersensitive reaction induced by phytopathogenic bacteria in the tobacco leaf. Phytopathology 54, 474-477.
- [4] Bent, A.F. (1996) Plant disease resistance genes: Function meets structure. Plant Cell 8, 1757-1771
- [5] Greenberg, J.T. (1996) Programmed cell death: A way of life for plants. Proc. Natl. Acad. Sci., USA 93, 12094-12097.
- [6] Dangl, J.L., Dietrich, R.A., and Richberg, M.H. (1996) Death don't have no mercy: cell death programs in plant-microbe interactions. Plant Cell 8, 1793-1807.
- [9] Ade, J & Wlwnes, R. (2007) Resistance to Bacterial Pathogens in Plants. Indiana University. Encyclopedia of life Sciences.1-2. doi: 10.1002/9780470015902.a0020091
- [11] Bagni, N., and Tassoni, A. (2001). Biosynthesis, oxidation and conjugation of aliphatic polyamines in higher plants. Amino Acids 20, 301-317. doi:10.1007/s007260170046
- [12] Jimenez-Bremont, J. F., Ruiz, O. A., and Rodriguez-Kessler, M. (2007). Modulation of spermidine and spermine levels in maize seedlings subjected to long-term salt stress. Plant Physiol. Biochem. 45, 812-821. doi: 10.1016/j.plaphy.2007. 08.001
- [13] Ditomaso, J. M., Shaff, J. E., and Kochian, L.V. (1989). Putrescine-induced wounding and its effects on membrane integrity and ion transport processes in roots of intact corn seedlings. Plant Physiol. 90, 988-995. doi: 10.1104/pp.90.3.988
- [14] Kusano, T., Yamaguchi, K., Berberich, T., and Takahashi, Y. (2007). Advances in polyamine research in 2007. J. Plant Res. 120, 345-350. doi: 10.1007/s10265-007-0074-3
- [15] Mulangi, V., Chibucos, M. C., Phuntumart, V., and Morris, P. F. (2012a). Kinetic and phylogenetic analysis of plant polyamine uptake transporters. Planta 236, 1261-1273. doi: 10.1007/s00425-012-1668-0
- [16] Walters, D. R. (2003). Polyamines and plant disease. Phytochemistry 64, 97-107. doi: 10.1016/S0031-9422(03)00329-7
- [17] Jefferson RA (1987) Assaying chimeric genes in plants: the GUS gene fusion system. Plant Mol Biol 5:387-405.



VELOCIDAD DE GERMINACIÓN DE CHILE MIRASOL (*Capsicum annuum* L.) CON ADICIÓN DE VERMICOMPOST

Granados Álvarez, J. D¹. Aguilar Benítez, G²

RESUMEN

El chile es uno de los principales productos agrícolas en México, del cual podemos encontrar tanto producción en fresco o seco. Zacatecas mantiene el 50% de la producción de chile seco del país, a pesar de ello, se tiene una tecnificación y manejo no adecuado. El uso de semillas de calidad aumenta la probabilidad de obtener plántulas más sanas y vigorosas. Las semillas de calidad deben cumplir ciertas cualidades físicas, químicas y fisiológicas. Para evaluar la calidad fisiológica se realizaron pruebas de germinación en 18 ejemplares de chile mirasol con 6 niveles de concentración de vermicompost en el suelo (0, 1, 2, 3, 4 y 5%), cada unidad experimental estaba compuesta por 10 semillas de 10 mm, sembradas en surcos de 1 cm de profundidad en charolas de plástico de 28x25x15cm. Se contabilizó diariamente el número de semillas geminadas y enfermas a partir del día 13 después de la siembra. Se determinó que el mejor ejemplar fue el 8 ya que obtuvo el menor número de plantas enfermas y el mayor de plantas sanas, de igual forma, el mejor contenido de vermicompost

fue el 1% por su alta cantidad de semillas sanas y bajo de plantas enfermas.

ABSTRACT

The chili is one of the major grows in Mexico, which on we can find fresh and dry production. Zacatecas keeps the fifty percent of the production of dry chili, nonetheless, it has a bad technification and management. The use quality seeds raise the probability of obtain seedlings more healthy and more vigorous. The quality seeds should comply certain physical, chemicals and biological characteristics. To evaluate the physiologic quality of the seeds was tested the germination of 18 specimens of chili "Mirasol" with 6 levels of concentration of vermicompost in the soil (0, 1, 2, 3, 4 and 5%), each experimental unit were composed for 10 seeds of 10 mm, this were seeded in grooves of 1 cm of depth in plastic trays of 28x25x15cm. Daily was counted the number of seeds germinated and sickness starting of the day 13 dds. Was determined that the best specimen was 8 as it obtained the lowest number of diseased plants and the mayor of healthy plants, similarly, the best vermicomposta content was 1% because of its high amount of healthy seeds and low diseased plants.

Palabras clave: Chile Mirasol, Chile guajillo, calidad fisiológica de semillas, pruebas de calidad

INTRODUCCIÓN

México es una de los principales productores de chile en el mundo, se encuentra en el segundo puesto con una producción de casi 3,000,000 toneladas, superado solo por China, país que tiene una producción anual de casi 16,000,000 toneladas. Su importancia en el país radica no solo en las exportaciones, sino en el alto consumo de esta hortaliza tanto fresca como seca. Su consumo es tan importante como el maíz y el frijol, se tiene registrado un consumo anual per capital de 15.7 kilogramos (IICA-COFUPRO 2010; Sagarpa, 2017). Los principales productores de chile en el país son Zacatecas, Chihuahua, San Luis Potosí y Sinaloa que concentran el 59% de la producción nacional. Zacatecas es el principal productor nacional del chile seco del país puesto que contribuye con el 50% de la producción de este. Aguilar (2008) indica que Zacatecas, a pesar de ser uno de los mayores productores de chile, tiene una tecnología y manejo muy convencional o poco tecnificados, por lo cual recomienda un aumento en la tecnificación del cultivo para aumentar la calidad y producción, esto incluye mayor infraestructura hidráulica, uso de biotecnologías para control de plagas y fertilización, y el uso de variedades mejoradas.

El uso de semillas de calidad es el principio para obtener un cultivo de calidad ya que aumenta la probabilidad de obtener una plántula mas sana y vigorosa, además, una semilla de calidad mantiene su viabilidad aun después de un tiempo prolongado de almacenamiento. Una semilla de calidad debe cumplir con estándares genéticos, fitosanitarios, físicos y fisiológicos (Pitcock, 2011).

MARCO TEORICO

La definición de calidad dada por la Real Academia Española dice: "la propiedad o conjunto de propiedades inherentes a una cosa que permite apreciarlas como igual, mejor o peor que las restantes de su misma especie".

La calidad fisiológica de un lote de semillas es la capacidad que tienen las semillas para emerger. Esta calidad implica la integridad de las estructuras y los procesos fisiológicos que permiten a la semilla mantener altos niveles de viabilidad, con un alto vigor y una buena germinación y desarrollo (Salazar 2010).

Existen una gran cantidad de pruebas físicas, químicas y bioquímicas para la determinación de la calidad de semillas, las mas usadas en laboratorio son prueba de germinación, prueba de viabilidad con tetrazolium (TTZ) y prueba de pureza (Pitcock 2011).

La prueba de germinación es la prueba mas básica de análisis de semillas, determina el porcentaje de semillas que germinan en condiciones controladas de humedad, temperatura y luminosidad, además, se emplea un sustrato con propiedades fisicoquímicas ideales para la germinación; cada especie tiene un tiempo determinado para ser evaluado en esta prueba, la mayoría de las plantas requieren solo un par de semanas para terminar con la prueba. La Prueba por viabilidad con tetrazolium indica el porcentaje de semillas con potencial de germinación, las semillas son vaciadas en una solución de cloruro de 2, 3,5-trifenoltetrazolio el cual revela las células que tienen la capacidad para realizar respiración, es decir, aquellas que son viables a germinar. La prueba de pureza indica el porcentaje de semillas puras, materia inerte, semillas de otros cultivos, semillas podridas o nocivas (Pitcock 2011).

METODOLOGIA

Ubicación del sitio experimental

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Fitoquímica del Instituto de Investigación de Zonas Desérticas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

Material biológico

Las semillas empleadas en este estudio fueron donadas por 17 productores de Chile mirasol/guajillo de la región del acuífero Calera, Zacatecas. El ejemplar 13 fue entregado con un tratamiento de fungicida (13 C) y sin fungicida (13) dando un total de 18 ejemplares.

El suelo empleado se extrajo de la parcela experimental perteneciente a la Facultad de Agronomía. El vermicompost empleado fue donada por el área de vermicompost del jardín botánico de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la UASLP.

Limpieza y desinfección de semillas

Los 18 ejemplares fueron tamizados con tamices de 10 y 8 mm para separarlos en dos lotes, semillas con ancho igual o mayor a 10 mm y semillas con menor radio de 8 mm, en este trabajo solo se emplearon semillas de radio mayor a 10 mm.

A cada ejemplar se le retiraron las semillas enfermas, restos del fruto, otras semillas ajenas al cultivo y basura en general. Las semillas sanas se lavaron con 80 mL de agua destilada, seguido de una desinfección con 80 mL de alcohol etílico al 70% por 5 min con agitación constante, enseguida se desinfectó con hipoclorito de sodio al 2% por 15 minutos, para finalizar se lavaron con 3 baños de 80 mL de agua destilada, entre cada lavado y desinfección se eliminaron los líquidos sobrenadantes. Las semillas se secaron al aire por 48 h sobre cajas de Petri desinfectadas con la misma metodología de desinfección de semillas. Una vez secas las semillas, las cajas de Petri se sellaron con película plástica hasta su siembra.

Pruebas de germinación

Se prepararon 6 tinas de plástico de 28x25x15cm con 4 kg de mezclas de suelo y vermicompost al 0%, 1%, 2%, 3%, 4% y 5%. A cada tina se le agregó 500 mL de agua destilada y se mezcló para que todo el suelo se humedeciera homogéneamente. Se tomaron lotes de 10 semillas al azar, de cada ejemplar, colocando cada lote dentro de un surco de 1 cm de profundidad y separado 1.5 cm, este fue etiquetado con el número del ejemplar de las semillas sembradas, el surco se tapó con el mismo suelo de la tina. Se realizaron riegos diarios de 200 mL de agua destilada para mantener la humedad del suelo. Tras la emergencia de la primera semilla, se contabilizaron todos los días el número de semillas que emergieron y el número de semillas enfermas. La variable de respuesta fue la cantidad de semillas que germinaron en una fecha específica y el número de semillas infectadas o enfermas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La germinación de las semillas se pudo observar hasta el día 20 después de la siembra (dds) lo cual se atribuye a la falta de calor que se tenía en el invernadero debido a la nubosidad alta que se mantuvo en los días del experimento, Ortega (2010) indica que al aumentar la temperatura hay una mayor actividad metabólica, una baja temperatura o una muy alta induce a la semilla a entrar a un estado de dormancia.

La germinación en todas las charolas se desarrolló de forma normal hasta el segundo día después de la germinación (ddg). En la figura 1 observamos el desarrollo normal de algunas plántulas y la infección de un gran número de ellas, están afectadas por un damping-off o caída de plántula, Gonzales (2013) e Islam (2012) detectaron que los principales organismos que causan esta muerte en solanáceas son *Fusarium*, *Sclerotium*, *Rhizotocnia*, *Pythium* y *Phytophthora* los cuales podemos encontrar en todo suelo agrícola, la característica de esta muerte es la pudrición y secado en la base del tallo justo al ras del suelo.

En el gráfico 1 A) podemos observar que la cantidad de plántulas sanas no tiene una diferencia significativa entre los ejemplares, con excepción del ejemplar 3, 6, 8 y 10, que tuvieron más plántulas sanas, con el ejemplar 13C, el cual tuvo una menor cantidad de plántulas sanas, esto se atribuye a la aplicación del fungicida, según Lozano (2006) la aplicación de fungicidas disminuye la calidad fisiológica de la semilla y con ello una disminución significativa en la germinación comparada con un control. En el gráfico 1 B) observamos que los ejemplares con más enfermedades fueron 9, 15 y 17 los cuales fueron diferentes al ejemplar 8 el cual tuvo también mayor número de plántulas sanas.

Las primeras infecciones fueron observadas en las charolas de 0% y 5% de vermicompost, podemos observar en los gráficos 1 C) y D) que estas mismas tienen la mayor infección de semillas y plántulas y menor número de plántulas sanas. Los estudios de Moreno (2014) detectaron que el uso de vermicompost en la germinación de Chile chilaca (*Capsicum annum*) tiene un efecto parabólico invertido, es decir, al aumentar el contenido se aumenta el porcentaje de germinación pero a partir de una concentración, el vermicompost será contraproducente. El tratamiento con 1% de vermicompost obtuvo mayor número de plantas sanas y menor de plantas y semillas enfermas, el contenido de microorganismo en esta concentración pudo ser el ideal para prevenir hongos fitopatógenos.



Figura 1: plántulas infectadas 15 ddg

CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos, se concluye que el ejemplar con mejores características fisiológicas según la prueba de germinación es el ejemplar 8. Para el caso del contenido de vermicompost se determinó que el mejor contenido es 1%.

BIBLIOGRAFIA

SIAP. Atlas Agroalimentario (2015). SAGARPA Primera edición. México

AGUILAR R, ESPARZA. (2008). Situación y perspectivas de la producción de chile seco en Zacatecas Revista de Geografía Agrícola Vol. 55 (22):19-38.

ISLAM M, FARUQ A. (2013). Effect of Some Medicinal Plant Extracts on Damping-off Disease of Winter. World Appl. Sci. J. Vol 17 (11): 1498-1503.

GONZÁLES A, MATEOS R, LÓPEZ M. (2013). Alternativas para el manejo de Damping off en plántulas de tomate *Lycopersicum esculentum* Mill (L, 1753) (Solanales: Solanaceae). Revista Científica Biológico

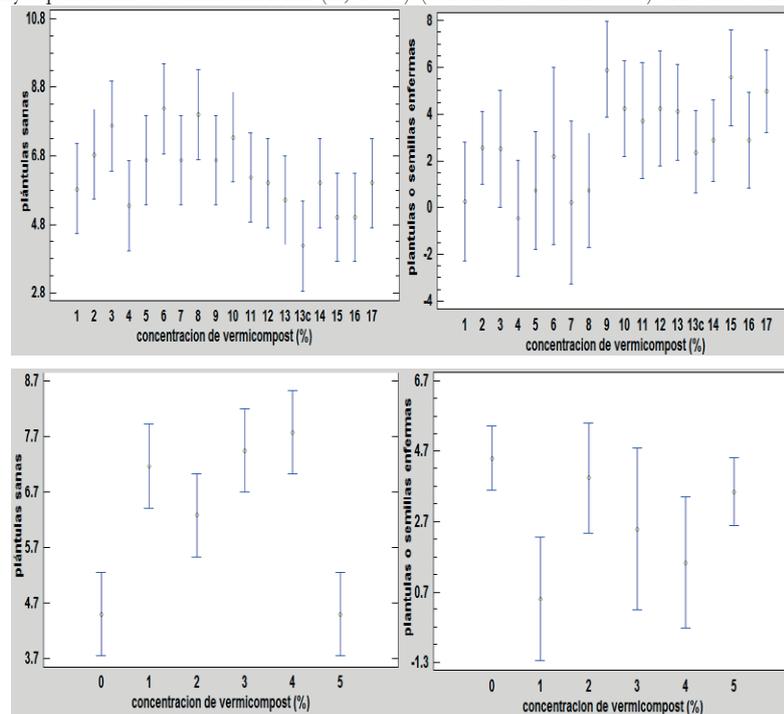


Figura 1: grafico de medias de A) plantas sanas por ejemplar; B) plántulas y semillas enfermas por ejemplares; C) plántulas sanas en función del contenido de vermicompost en el sustrato, y; D) plántulas y semillas enfermas en función del contenido de vermicompost en el sustrato.

Agropecuaria Tuxpan. Vol 1 (1): 1-10.

REYES E, SALINAS H, BRAVO A, PADILLA L. (2001). Tecnología de producción de chile seco en el estado de Zacatecas, México. TERRA vol. 19 (1): 83-88

PITTOCK J. (2015). Plant propagation concepts and laboratory exercises: Seed production, processing and analysis. CRC Press. EEUU: 420-425.

ORTEGA L, SANCHEZ J, DIAZ R, OCAMPO J. (2010). Efecto de diferentes sustratos en el crecimiento de plántulas de tomate (*Lycopersicum esculentum* mill). Ra Ximhai. Vol 6 (3). México: 365-372



“LA MAQUINARIA DE SILENCIAMIENTO DE GENES DE *Arabidopsis thaliana* MEDIADA POR sRNAs Y SU ROL EN EL ESTABLECIMIENTO DE UNA RELACIÓN BENÉFICA CON *Trichoderma atroviride*”

Bárceñas Pérez Miguel Angel¹, Casas Flores Sergio², Rebolledo Prudencio Oscar Guillermo^{2*} y Cruz Hernández Andrés^{1*}

Resumen

Las plantas interactúan con microorganismos los cuales pueden establecer relaciones benéficas o patogénicas. A la fecha, se sabe que las interacciones planta-patógeno están regulada por diferentes componentes de la maquinaria de silenciamiento génico mediada por RNAs pequeños tales como las proteínas: similar a Dicer (DCL), Argonautas (AGO), RNA polimerasas dependientes de RNA (RDR) y RNA polimerasas dependientes de DNA (POL). Para probar el papel de algunos de estos componentes en las interacciones benéficas entre *Arabidopsis thaliana* y *Trichoderma atroviride*, se realizaron ensayos de promoción de crecimiento ocasionado por este hongo y ensayos de protección contra los fitopatógenos *Botrytis cinerea* y *Pseudomonas syringae*. Los ensayos se realizaron en *A. thaliana* Col-0 y una línea mutante de la RNA pol

V (nrpe1). Para los ensayos tanto de crecimiento como de protección se inoculó *T. atroviride* en las raíces de plantas en experimentación. En los ensayos de protección contra *B. cinerea* se inoculó independientemente una suspensión de esporas sobre tres hojas de la planta, y ante *P. syringae* tres hojas de cada planta fueron infiltradas con una suspensión de células bacterianas. Al realizar los ensayos de promoción de crecimiento con *T. atroviride*, las plantas pol V fueron mayormente afectadas en comparación a plantas silvestres. Las plantas pol V inoculadas con *Trichoderma* mostraron susceptibilidad al hongo y resistencia a bacterias. Al tratar las raíces de las plantas con *T. atroviride*, el fenotipo de pol V fue más susceptible frente a *P. syringae* y mostró similitud al estar en contacto con *B. cinerea*.

Abstract

Plants interact with a plethora of microorganisms, which can establish a beneficial or pathogenic relationship. To date, it is known that plant-pathogen interactions are regulated by different components of the gene silencing machinery mediated by small RNAs such as the proteins: Dicer-like (DCL), Argonats (AGO), RNA-dependent RNA polymerase (RDR), and DNA-dependent RNA polymerase (POL). To probe the role of some of such components during beneficial interactions between *A. thaliana* and *Trichoderma atroviride*, plant growth promotion generated by this fungus and protection essays against phytopathogens *Botrytis cinerea* and *Pseudomonas syringae* were performed. The assays were performed in *A. thaliana* Col-0 and the RNA pol V mutant line (nrpe1). For both growth and protection assays plants were root inoculated with *T. atroviride*. For protection assays against *B. cinerea* and *P. syringae*, three leaves of the plant were independently inoculated with a spore suspension and with a suspension of bacteria cells respectively. In plant growth promotion assays with *T. atroviride*, pol V plants were negatively affected compared to the wild type plants. pol V control plants (non inoculated with *Trichoderma*) showed an enhanced susceptibility to the fungus and resistance to the bacteria. When plant roots were treated with *T. atroviride*, pol V phenotype was more susceptible to *P. syringae* and showed similar phenotype as the wild type when it was challenged with *B. cinerea*.

Palabras clave: Arabidopsis, Trichoderma, miRNAs, crecimiento, protección

Introducción

Las plantas están en constante interacción con microorganismos, estas interacciones pueden ser de carácter benéfico o deletero, y sin importar el tipo de relación las plantas mantienen sus sistemas de defensa activos, por ende, los microorganismos con los que existe contacto tratan de suprimirlos para constituir una relación (Yang & Huang, 2014).

Las plantas tienen varios tipos de respuestas inmunes, estos incluyen el reconocimiento de Patrones Moleculares Asociados a Patógenos (PAMPs) por proteínas de membrana conocidas como Receptores de Reconocimiento de Patrones (PRRs), esto induce la Inmunidad Disparada por PAMPs (PTI), que detiene invasiones de la mayoría de patógenos. De igual manera, la detección de PAMPs induce la Resistencia Sistémica Adquirida (SAR) que provee una resistencia de amplio espectro y larga duración contra patógenos en tejidos no expuestos directamente a estos patógenos (revisado en Kazan & Lyons, 2014) como *Pseudomonas syringae* pv *Tomate* (Pst. Dc 3000) (Hammond-Kosask & Jones, 1997). La activación de la SAR es dependiente de los niveles de la fitohormona Salicilato (SA). La acumulación de SA es requerida para la activación de genes codificantes de proteínas relacionadas a patogénesis (PR) (revisado en Kazan & Lyons, 2014).

Igualmente los PAMPs inducen la Resistencia Sistémica Adquirida (ISR) que depende de las vías de señalización de las fitohormonas Jasmonato (JA) y Etileno (ET). La ISR es efectiva contra patógenos necrotrofos debido a la acumulación de JA, o como en el caso de *Botrytis cinerea* la acumulación de auxinas que actúan en conjunto con el JA para generar resistencia contra este patógeno (revisado en Kazan & Lyons, 2014).

Los patógenos han desarrollado moléculas llamadas efectores que suprimen las vías de señalización de fitohormonas, inhibiendo las vías de SA (efectiva contra bio y hemibiotrofos) o de JA (efectiva contra necrotrofos) debido al antagonismo entre las vías. En respuesta, las plantas han desarrollado proteínas de reconocimiento mediadas por genes de resistencia, denominado Inmunidad Disparada por Efectores (ETI) (revisado en Kazan & Lyons, 2014). La activación de la ETI dispara la Respuesta Hipersensible (HR) que genera una muerte celular en el sitio de infección impidiendo la diseminación del patógeno sobre el tejido (Nomura et al., 2005). Se ha observado que después de algún ataque por parte de un patógeno o alguna colonización en la raíz por un agente benéfico, la planta entra en un estado hipersensible (cebado), donde los sistemas de defensa quedan activados, previniendo un segundo ataque y teniendo una mayor eficacia en la respuesta inmune.

Se ha mostrado que los RNAs pequeños (sRNAs) y los componentes de sus maquinarias tienen un papel importante en la respuesta inmune de la planta. Estos son elementos regulatorios de secuencias específicas que median el silenciamiento de genes en eucariotas, con fin de regular el crecimiento celular, metabolismo, mantenimiento e genoma y las respuestas a estrés (Katiyar-Agarwal & Jin, 2010). En plantas los sRNAs provienen de RNAs bicatenarios con estructuras en forma de horquilla, generados gracias a una proteína similar a Dicer (DCL). *Arabidopsis* codifica cuatro DCLs, relacionados con la formación de diferentes tamaños de sRNAs. Una vez cortados, se cargan dentro de una de las diez proteínas Argonats (AGO) en

los Complejos de Silenciamiento Inducido por RNA (RISC), realizando así el silenciamiento transcripcional de un gen debido a la formación de heterocromatina, inhibiendo así la traducción del mRNA o induciendo su degradación (Song & Joshua-Tor, 2006).

Ha sido encontrado que varias proteínas pertenecientes a la maquinaria de biogénesis de sRNAs tienen relación a la inmunidad en plantas, proteínas como DCL, AGO, RNA polimerasas RNA dependientes (RDRs), y RNA polimerasas Dependientes de DNA (POL). Líneas mutantes en estas proteínas han mostrado efectos negativos en acumulación de sRNAs y respuesta ante presencia de patógenos. López y colaboradores en 2011 demostraron el potenciamiento de las defensas mediadas por SA contra *P. syringae* Pst. DC3000 en mutantes defectuosos en Pol V, y por ende llevando a una disminución de la actividad de defensas mediadas por JA.

Existen también microorganismos que han logrado establecer relaciones benéficas con plantas, ayudando por ejemplo, en la promoción del crecimiento (Glick et al., 1998). El género *Trichoderma* presenta hongos filamentosos, ascomicetos, encontrados generalmente colonizando la superficie de raíces de plantas, lo que activa la resistencia sistémica en plantas, induciendo la señalización de SA y JA/ET a la vez, confiriendo una resistencia contra fitopatógenos tanto necro como biotróficos (Salas-Marina et al., 2011). Igualmente es capaz de inducir un “cebado” en plantas, confiriendo protección contra ataques posteriores por parte de fitopatógenos (Salas-marina et al., 2015).

La existencia de un rol de los componentes de la maquinaria de silenciamiento en este proceso es desconocida, por lo que la meta de este trabajo fue el investigar si es que los productos del gen POLV tenían un papel en el establecimiento de una relación benéfica entre *A. thaliana* y *T. atroviride*, así como en la inducción de protección contra fitopatógenos.

Metodología

Organismos y condiciones de crecimiento.

Se recolectaron semillas de *A. thaliana* líneas Columbia-0 (Col-0) y pol V, estas fueron esterilizadas utilizando un tratamiento con etanol al 75% por 3 min, hipoclorito de sodio al 10% por 10 minutos y cuatro enjuagues con agua destilada estéril. Las semillas fueron colocadas en macetas con musgo de turba como sustrato y llevadas a 4°C durante dos días para sincronizar su crecimiento. Pasado este lapso, las semillas fueron llevadas a una cámara de crecimiento con temperatura de 23°C y fotoperiodo de 12 horas durante 24 horas. Las cepas de hongos *T. atroviride* IMI 206040 y *B. cinerea* BO5 se cultivaron en agar papa dextrosa (PDA) (DIFCO) durante 7 días y se recolectaron conidios utilizando agua destilada estéril en una concentración 1x10⁶ conidios/mL.

Genotipificación de mutantes de *A. thaliana*.

Las líneas mutantes utilizadas en el estudio descienden de *A. thaliana* Col-0. Las mutantes utilizadas para la genotipificación fueron de la línea POLV. Para confirmar que fuera la línea mutante en el sitio deseado se hizo una extracción de DNA utilizando el protocolo de Lu (Lu et al., 2011), una vez obtenido el DNA se realizó una PCR de confirmación utilizando tres cebadores: uno para 5' (LP), uno para el DNA flanqueante (RP) y uno para el sitio de inserción del tDNA (LBb1.3). Los productos silvestres fueron obtenidos entre 900 y 1100 pb (Figura 1).

Ensayos de promoción de crecimiento.

Dos días después de la germinación, las plántulas fueron trasplantadas a macetas individuales con musgo de turba e inoculadas con *T. atroviride* en la raíz utilizando 500 µL de una suspensión de 1x10⁶ esporas/mL y otra de conidios en medio MS 0.3x líquido (Murashigue y Skoog, 1962) como control, manteniendo las mismas condiciones de crecimiento. Pasados 21 días post inoculación (dpi), a las plantas les fue removido el sustrato y se lavaron con agua destilada. Se midió el peso húmedo y el peso seco al ser secadas a 65°C por 24 h.

Condiciones para ensayos de protección.

Para los ensayos de protección contra *B. cinerea* y *P. syringae*, cultivos de *A. thaliana* crecieron en una cámara de cultivo con fotoperiodos de 12/12h de luz-oscuridad a 23°C, 65% de humedad relativa y 150 µmol/m²s de luz. Se utilizaron plantas inoculadas con esporas de *T. atroviride* y conidios como controles, las plantas fueron cultivadas durante dos semanas hasta los ensayos de protección.

Ensayos de protección frente a *B. cinerea*.

Tres hojas de cada planta fueron inoculadas con una suspensión de esporas de *B. cinerea* BO5 con una carga de 5x10⁵ esporas por mL de buffer de inoculación (Azúcar: 1.37 g, KH₂PO₄ 1M: 400µL, Tween 12.5% 20: 80µL). Las plantas inoculadas fueron incubadas durante seis días. El área y porcentaje dañado generados por la acción de *B. cinerea* fueron medidos a los tres y seis días post inoculación utilizando en software ImageJ.

Ensayos de protección frente a *P. syringae*.

Tres hojas de cada planta fueron infiltradas con *P. syringae* Pst DC3000 a una concentración de 5×10^5 ufc/mL, la carga bacteriana se midió a los cero días post-inoculación, y tras días después se realizó nuevamente una medición de la carga bacteriana. Esta medición se realizó cortando hojas infiltradas a los cero y seis días post inoculación, estas fueron molidas y plaqueadas en cajas de Petri con medio PDB, contando al final el número de colonias presentes.

Resultados y discusión

A.thaliana Col-0 tratadas con *T. atroviride* en la raíz durante semillero mostraron pesos de 0.85 y 0.066 g (peso fresco y seco respectivamente), mientras que las plantas no inoculadas presentaron 0.57 y 0.04 g respectivamente. El pretratamiento de plantas *pol V* con el hongo no promovió el crecimiento, teniendo pesos similares plantas tratadas y no tratadas (0.6 y .04 g, respectivamente; Figura 2). Esto confirma el efecto de promoción del crecimiento por a *T. atroviride* en *A.thaliana* Col-0, mostrando que *POL V* se necesita para la interacción en promoción del crecimiento.

Las plantas *pol V* mostraron un decremento en la resistencia contra *B. cinerea* presentando una lesión de 0.35 cm² contra 0.28 cm² de Col-0 a los 6 dpi (Figura 3). El pretratamiento de plantas *pol V* con *T. atroviride* presentó una menor área de daño comparado con el control (0.058 y 0.35 cm² respectivamente). Esto confirma que *POL V* se requiere para la inmunidad de la planta mediada por *JA* contra este patógeno necrotrófico. Igualmente se observó que *POL V* no es necesaria para inducir protección en *A. thaliana* cuando se trata con *T. atroviride*.

Las plantas *pol V* fueron significativamente más resistentes a *P. syringae* Pst DC3000 que la línea Col-0, consistentemente con reportes previos (López et al., 2011), sin embargo cuando las plantas fueron inoculadas con *T. atroviride* mostraron una susceptibilidad potenciada hacia *P. syringae* (Figura 4). Esto demuestra que *POL V* es requerido para generar un efecto de protección en la planta por *T. atroviride* y con un probable rol positivo.

Conclusiones

Es posible que *POL V* sea necesario para la promoción de crecimiento en una interacción entre *A. thaliana* y *T. atroviride*. Igualmente los resultados sugieren que *POL V* es requerido para la inmunidad de la planta contra *B. cinerea*, sin embargo, no es necesaria para la inducción de la protección contra patógenos necrotróficos en *A. thaliana* tratada con *T. atroviride*. Los ensayos de protección contra *P. syringae* mostraron que *POL V* es requerido para generar esta protección en *A. thaliana* cuando interactúa con *T. atroviride* y probablemente juegue un papel positivo en dicho proceso.

Bibliografía

Glick, B., Penrose, D., & Li, J. (1998). A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria. *Journal of Theoretical Biology*, 190(1), pp.63–8.
Hammond-Kosack, K. E., & Jones, J. D. G. (1997). Plant Disease Resistance Genes. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 48(1), pp.575–607.
Katiyar-Agarwal, S., & Jin, H. (2010). Role of small RNAs in host-microbe interactions. *Annual Review of*



Figura 1. *A. thaliana pol V* es una mutante homocigota. El gel de agarosa mostró que la mutante *pol V* de *A. thaliana* es

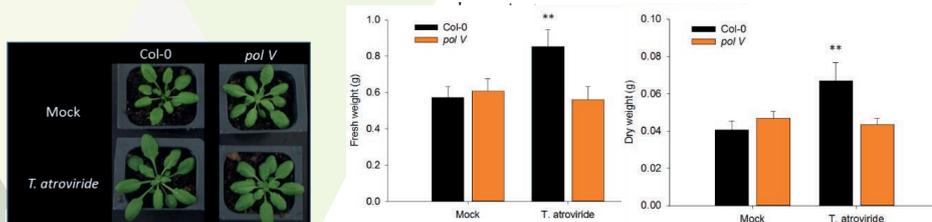


Figura 2. El efecto del crecimiento mediado por *T. atroviride* no fue afectado en *pol V*. (a) Fotografías de plantas Col-0 y *pol V* a 21 dpi con *T. atroviride*. Peso fresco (b) y peso seco (c) fueron determinados.

Phytopathology, 48, pp.225–46.

Kazan K & Lyons R. (2014). Intervention of Phytohormone Pathways by Pathogen Effectors. *The Plant Cell*,

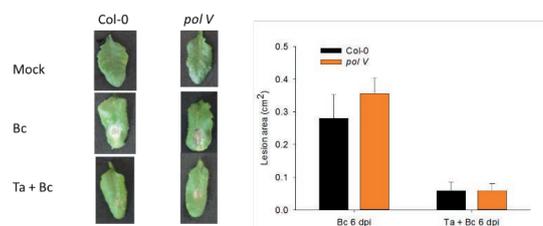


Figura 3. La ausencia de POL V lleva a una susceptibilidad potenciada contra *B. cinerea* y el efecto protector de *T. atroviride* hacia *A. thaliana* contra *B. cinerea* no fue afectado. El daño foliar fue evaluado seis dpi del patógeno.

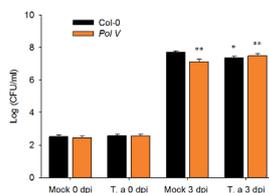


Figura 4. Mutantes de *Arabidopsis* *pol V* son0 resistentes a *Pst. DC3000*, pero su pretratamiento con *T. atroviride* les vuelve susceptibles a patógenos biotróficos. Catorce dpi de *Arabidopsis* Col-0 y *Pol V* con *T. atroviride*, hojas de *Arabidopsis* de ambas líneas fueron infiltradas con *Pst DC3000*.

Vol. 26: 2285–230.

López, A., Ramírez V., García-Andrade J., Flors V., and Vera P. (2011). The RNA Silencing Enzyme RNA Polymerase V Is Required for Plant Immunity. *Plos Genetics*, 7 (12)

Lu, Y., Chanroj, S., Zulkifli, L., Johnson, M. A., Uozumi, N., Cheung, A. and Sze, H. (2011). Pollen tubes lacking a pair of K⁺ transporters fail to target ovules in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 23(1): 81-93.

Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15, pp.473–497.

Nomura K., Melotto M., He SY. (2005). Suppression of host defense in compatible plan-*Pseudomonas syringae* interactions. *Current Opinion in Plant Biology*, 8, pp.361-368.

Salas-Marina, M. A., Silva-Flores, M. A., Uresti-Rivera, E. E., Castro-Longoria, E., Herrera-Estrella, A., & Casas-Flores, S. (2011). Colonization of *Arabidopsis* roots by *Trichoderma atroviride* promotes growth and enhances systemic disease resistance through jasmonic acid/ethylene and salicylic acid pathways. *European Journal of Plant Pathology*, 131(1), pp.15–26.

Salazar-Badillo F., Sánchez-Rangel D., Becerra-Flora A., López-Gómez M., Nieto-Jacobo F., Mendoza-Mendoza A., Jiménez-Bremont J. (2015). *Arabidopsis thaliana* polyamine content is modified by the interaction with different *Trichoderma* species. *Plant Physiology and Biochemistry*, 95, pp. 49-56

Song, J. J., & Joshua-Tor, L. (2006). Argonaute and RNA--getting into the groove. *Current Opinion in Structural Biology*, 16(1), pp.5–11.

Yang, L., & Huang, H. (2014). Roles of small RNAs in plant disease resistance. *Journal of Integrative Plant Biology*, 56(10), pp.962–970.

Agradecimientos

Agradezco al equipo del laboratorio del Laboratorio 8 del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica A.C., los Maestros Oscar Guillermo Rebolledo y Magnolia Estrada, a la Dra. Mitzuko y al Dr. Sergio Casas por brindarme su apoyo durante esta estancia. Finalmente al Dr. Andrés Cruz ya que sin su ayuda no hubiera sido posible la realización de la estancia.

GENÓMICA DE LA INTERACCIÓN PLANTA-PATÓGENO

Rosa María Lozano Esparza¹ y Julio Vega Arreguín²

RESUMEN

Los cultivos tradicionales no son suficientes para satisfacer el consumo de la población mundial, es necesario buscar fuentes alternativas que ayuden a mejorar el rendimiento de la producción vegetativa solucionando problemas como plagas, enfermedades, etc., el objetivo de este trabajo es evaluar la respuesta de plantas modelos contra patógenos vegetales para conocer el funcionamiento de ciertos genes implicados en la interacción planta-patógeno. Se cultivaron patógenos como *Colletotrichum gloeosporioides*, *Penicillium citrinum*, para evaluarlos en infección contra plantas como *Nicotiana tabacum* y *Nicotiana benthamiana*, además de un cultivo de *Phytophthora capsici* en diferentes mutantes de *Arabidopsis thaliana*, se inocularon las plantas con un número fijo de esporas del patógeno, y se midió la infección durante un periodo de tiempo definido. En el proceso de infección de *Nicotianas*, frente a *Penicillium* y *Colletotrichum*, presenta resistencia la especie *tabacum*; en el caso de las *Arabidopsis* los genes más importantes a las 48 horas después de la infección son NahG, PR2, Sde3, a las 72 horas Pad4 y I2nbs, confiere una resistencia similar a la WT hasta las 96 horas.

ABSTRACT

Traditional crops are not sufficient to satisfy the consumption of the world population, it is necessary to look for alternative sources that help to improve the yield of vegetative production by solving problems such as pests, diseases, etc., the objective of this work is to evaluate the response of plant models against plant pathogens to know the functioning of certain genes involved in plant-pathogen interaction. Pathogens such as *Colletotrichum gloeosporioides*, *Penicillium citrinum* were grown, to evaluate them in infection plants such as *Nicotiana tabacum* and *Nicotiana benthamiana*, in addition to culture of *Phytophthora capsici* in different mutants of *Arabidopsis thaliana*, the plants were inoculated with a fixed number of spores of the pathogen, and the infection was measured over a defined period of time. In the process of infection of *Nicotianas*, against *Penicillium* and *Colletotrichum*, resistance to the species *tabacum*; in the case of *Arabidopsis* the most important genes at 48 hours post infection are NahG, PR2, Sde3, at 72 hours Pad4 and I2nbs, confers resistance similar to WT up to 96 hours.

Palabras Clave: Infección, resistencia, patógeno.

INTRODUCCIÓN

Las plantas son esenciales para la alimentación, sin embargo los cultivos tradicionales no son suficientes para satisfacer el consumo de la población mundial, es necesario buscar fuentes alternativas que ayuden a mejorar el rendimiento de la producción vegetativa solucionando problemas como plagas, enfermedades, tolerancia a los herbicidas, sequías, entre otros (Sevillano J., 2015). Uno de los patógenos de plantas más importantes, tipo oomiceto, son los del género *Phytophthora*, quienes causan severos síntomas de marchitamiento y pudrición a más de 50 especies de plantas (Ulloa T., 2017), este patógeno ocasiona la pérdida de cultivos de importancia alimentaria alrededor del mundo, casi \$1 billón de dólares de pérdidas al año (Sevillano J., 2015). *Colletotrichum gloeosporioides* es otro patógeno de plantas, más conocido como la enfermedad de antracnosis, por ejemplo, en papaya ha causado pérdidas de entre el 40 y 100% en cultivos de países en desarrollo (Prasad R. y Anamika, 2015). *Penicillium citrinum* es un hongo patógeno que está normalmente en harinas, cereales y otras plantas de interés alimenticio, se encuentra en todo el mundo, y causa grandes pérdidas económicas todo el año (Roberts W. y Mora E., 1997). Sin embargo, las plantas tienen su propio sistema inmune, creando resistencia a través mecanismos guiados por varios “genes de resistencia”. (Shimada H. et al., 2017). Debido a la gran variedad de especies de *Phytophthora* (más de 60) aún falta comprender en su totalidad los mecanismos de resistencia por parte de las plantas contra estos patógenos y algunos otros, por lo tanto es necesario primero analizar los mecanismos moleculares implicados en la respuesta inmune (Sevillano J., 2015). *Arabidopsis thaliana*, es uno de los modelos de estudio más utilizado en el laboratorio, el conocimiento de la genética molecular ha facilitado el avance hacia el mejoramiento de otras especies con genes de caracteres de interés, como en este caso, de resistencia (Sevillano J., 2015). *Nicotiana tabacum* es otra planta modelo, y se utiliza por tener una morfología y fisiología semejante a los cultivos agronómicos como el tomate y es fácil de cultivar in vitro. *Nicotiana benthamiana*, es utilizada principalmente por tener excelentes propiedades para la rápida expresión transitoria de transgenes, para el silenciamiento de genes, estudio del transporte de metabolitos, y sobre todo interacciones planta-microorganismo porque puede ser infectada con éxito por muchos patógenos. El objetivo de este trabajo es evaluar la respuesta de *Nicotiana tabacum*, *Nicotiana benthamiana* y de diferentes mutantes de *Arabidopsis thaliana*, contra patógenos vegetales como *Phytophthora capsici*, *Penicillium citrinum* y *Colletotrichum gloeosporioides*, para conocer el funcionamiento de ciertos genes implicados en la interacción planta-patógeno.

MÉTODOS Y MATERIALES

Germinación de *Arabidopsis thaliana*. En una charola de germinación con domos, se colocó sustrato de germinación “Sunshine” y se humedeció por completo con agua del grifo. Se esparcieron alrededor de 20 semillas de *A. thaliana* por pozo en los 24 pozos, estos contenían de 1 a 4 plantas de Wild type(WT), PR-1, transgénica NahG, Sde3, Sde4, PR-2, Pad4, Ws, transgénica I2nbs, Jar1, sde1, PHI-2 y transgénica I2-28. Se cultivaron en el refrigerador a 4°C al tercer día se trasladaron a una incubadora a 23°C. Cultivo de *Arabidopsis thaliana*. Después de nueve días de germinación, se trasplantaron las mutantes de *A. thaliana* (de 6 a 8 plantas de WT, transgénica I2nbs, Sde3, PR-2, transgénica NahG y Pad4) a otra charola con 38 pozos, cada plántula por separado, y se almacenaron en una incubadora a 23°C, se realizó una réplica de ésta a los 13 días. **Germinación de *Nicotiana tabacum* y *Nicotiana benthamiana*.** En una maceta se colocó sustrato Sunshine y se humedeció por completo, posteriormente se esparcieron alrededor de 50 semillas de *N. tabacum* en toda la maceta; de igual manera se realizó el proceso para *N. benthamiana*, las dos macetas se cultivaron en una incubadora a 28°C. Cultivo de *Nicotiana tabacum* y *Nicotiana benthamiana*. Después de ocho días de germinación, se trasplantó *N. tabacum* a otra charola con 38 pozos, cada plántula por separado y se almacenaron en una incubadora a 28°C; además se trasplantaron otras cuatro a macetas y se dejaron a temperatura ambiente. De igual manera se llevó a cabo para *N. benthamiana*. A los 5 días se transfirieron las macetas y las charolas al invernadero. Preparación del medio V8 para *Phytophthora*. Se

agregaron 6gr de Agar-agar, 80ml de jugo V8, 0,5gr de Carbonato de calcio (CaCO₃) y 320 ml de agua desionizada. Se esterilizó a 121°C por 20 min y se vació en cajas petri estériles (Sevillano J., 2015). Cultivo de

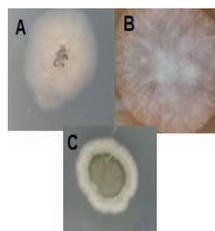


Figura 1. Cultivos.
A) Colletotrichum g.
B) Phytophthora c.
C) Penicillium c.

Cultivo de *Phytophthora capsici*. Se inocularon cajas petri que contenían el medio V8 con micelios de *Phytophthora*, se utilizaron dos técnicas de inóculo, la primera consistía en raspar directamente los micelios con ayuda de un bisturí o un asa y se colocaron en una caja petri con medio V8; la segunda se realizó realizando un corte con un orador de tapones estéril después con un bisturí se tomó el pedazo de medio cortado y se transfirió a una caja petri con medio V8, procurando que el lado que contenía los micelios quedara en contacto con el medio. Se dejó incubando a temperatura ambiente (alrededor de 28°C) a oscuras. Preparación del medio PDA para *Penicillium* y *Colletotrichum*. El medio de cultivo agar de dextrosa y papa se preparó tomando 39g del medio y se le añadió 1L de agua destilada, se esterilizó por 15min a 121°C y se vació en cajas petri estériles (Acumedia, 2015) Cultivo de *Penicillium c.* Se inocularon cajas petri que contenían el medio PDA, con 10 µl de una suspensión de esporas de *Penicillium*. Se dejó incubando a temperatura ambiente (alrededor de 28°C) a oscuras. Cultivo de *Colletotrichum g.* Se inocularon cajas Petri que contenían el medio PDA, se rasparon con ayuda de un asa los micelios de *C. gloeosporioides* y se colocaron en el centro de la caja petri. Se dejó incubando a temperatura ambiente (alrededor de 28°C) a oscuras. Recolección de esporas de *P. citrinum* y *C. gloeosporioides*. Se tomó una caja petri con el cultivo de cada hongo (*Penicillium* a los 21 días de cultivo y *Colletotrichum* a los 17 días de cultivo), a cada una se les adicionó 15ml de agua destilada estéril directamente al medio con el hongo, se hizo un raspado con ayuda de una punta de plástico, posteriormente se recolectaron 5ml de la solución en un tubo falcón (Robles B., 2016), los restantes 10ml se filtraron y recolectaron en otro tubo falcón (Venegas J., 2002), de cada hongo, se tenían dos tubos de los cuales se iba a comparar la cantidad de esporas de cada uno. El conteo de las esporas se realizó mediante una cámara de Neubauer, en ésta se colocaron 10µl de la solución, y con ayuda de un microscopio (aumento 10X) se contaron manualmente las esporas contenidas en los 4 recuadros de las esquinas, se promedió el número de células y se multiplicaron por un factor de 10,000 para obtener la concentración de esporas/ml (Bastidas O., Celeromics), después se realizaron los cálculos para ajustar la concentración a 1000esporas/µl; este procedimiento se hizo para cada una de la soluciones individualmente, se realizó una segunda recolección de esporas y se ajustó la concentración a 4000esporas/µl, ésta se realizó sin filtrar. Inoculación de esporas de *P. citrinum* y *C. gloeosporioides*, en *N. tabacum* y *N. benthamiana*. Se recolectaron hojas de *Nicotiana* después de 9 días en el invernadero, (30 de *N. tabacum* y 26 de *N. benthamiana*), las hojas se distribuyeron en 4 cajas petri que contenía papel húmedo en su interior; se añadieron 5µl de cada solución de esporas (en total 5000 esporas) en el envés de las hojas procurando no hacer ningún daño físico, y se almacenaron a temperatura ambiente, el mismo procedimiento se realizó para la solución de 4000esporas/µl, siendo en total 20,000esporas inoculadas (Robles B., 2016). Seguimiento del proceso de infección. Las hojas inoculadas se observaban a las 0, 24, 48, 120, 144, 168, 192, 216 horas, analizándolas a contra luz, mirando si había algún cambio progresivo en éstas (para las hojas inoculadas con la solución con 4000esporas/µl se midió la infección hasta las 120horas). Algunas hojas, de las que se tenía un daño, se analizaron en un estereoscopio de fluorescencia, con luz visible con un aumento de 8 o 4 dependiendo la infección. Producción de zoosporas de *Phytophthora c.* Para la producción de zoosporas, se dejó por tres días un cultivo de *P. capsici* a la luz continua, posteriormente se le adicionó 15ml de agua destilada estéril y se almacenó por 60min a 4°C, posteriormente se dejó a 25°C por 15min, se recolectó el líquido y se resuspendió en Vortex (Sevillano J., 2015). Las esporas se contaron con ayuda de una cámara de Neubauer como anteriormente se menciona. Inoculación de zoosporas de *P. capsici* en *A. thaliana* Después de 18 días de cultivo de *A. thaliana*, se inocularon las plantas enteras con esporas de *P. capsici*, (se inocularon las plantas que se muestran en la tabla 2), de la siguiente manera, se tomaron 260µl de la solución de zoosporas, que contenían aproximadamente 200,000 esporas y se vertieron suavemente en el tallo tocando casi la raíz, también se dejó caer una gota sobre las hojas de la misma solución; se realizó un segundo ensayo para las mutantes Pad4, I2nbs Transgénica, PR2, Sde3 y la WT, y se inocularon con 180µl por planta con un aproximado de 400,000 esporas. Seguimiento del proceso de infección.

Las plantas inoculadas se observaban a las 0, 24, 48 y 72 horas analizándolas cuidadosamente, mirando si había algún cambio progresivo en éstas; el segundo ensayo se midieron los cambios a las 24, 28 y 48 horas. Los cambios se determinaron en forma numérica de la siguiente manera: 4 para las plantas que lucían saludables, 3 para las plantas con tallo débil y con raíz, 2 para las plantas tallo débil sin raíz o casi consumida con raíz, 1 para las plantas que lucían “casi consumidas” y 0 para las consumidas.

RESULTADOS

Germinación de las mutantes de *A. thaliana*. Después de ocho días de germinación las mutantes que más crecieron fueron las siguientes: NahG, Sde3, PR-2, Pad4, I2nbs transgénica y las wild type usadas en el estudio de la infección, en menor cantidad las PR-1, Sde4 y I2-28. Algunos de los pozos de germinación tenían hongos, lo que puede sugerir que, aunque en el wild type, aquellos organismos no les hacen daño, en las mutantes que tienen deficiencia en el gen especificado en su nombre, provoca que no puedan germinar, o lo hayan hecho pero no sobrevivieron ante la presencia de estos organismos. Cantidad de esporas de *P. citrinum* y *C. gloeosporioides* y zoosporas de *P.capsici*

El conteo de las esporas por medio de la cámara de Neubauer se muestra en la tabla 1. Se puede concluir que

no hay diferencia entre las soluciones que fueron filtradas y las que no de *C. gloeosporioides* y *P. citrinum*. En general se obtuvo una concentración de esporas alta, comparando con una recolección de 8, 320,000 e/ml de Robles B., 2016 en *Penicillium*, obteniendo casi el doble. Infección en *N. tabacum* y *N. benthamiana* con *Penicillium g.* y *Colletotrichum g.* En la tabla 2, se muestra el porcentaje de las hojas infectadas en *N. tabacum*, *N. benthamiana* con *Colletotrichum g.* (*N.t.-C* y *N.b.-C*, respectivamente), *N. tabacum* y *N. benthamiana* con *Penicillium c.* (*N.t.-Pe* y *N.b.-Pe*, respectivamente) inoculadas con 5,000 esporas, así como con 20,000 (*N.t.2-C*, *N.b.2-C*, *N.t.2-Pe* y *N.b.2-Pe*). Como se puede observar en la figura 2, tenemos en el caso de *N. tabacum*, aparenta una infección a los dos días, sin embargo ésta no se acrecienta a lo largo de los

Tabla 1. Concentraciones de esporas y zoosporas

Solución de esporas	Concentración (esporas/ml)
<i>Colletotrichum g.</i> filtrado	16,840,000
<i>Colletotrichum g.</i> no filtrado	16,560,000
<i>Penicillium c.</i> filtrado	16,640,000
<i>Penicillium c.</i> no filtrado	14,350,000
<i>Phytophthora c.</i>	460,000
<i>Phytophthora c.</i>	2,360,000
<i>Penicillium c.</i> Segunda recolección	54,000,000
<i>Colletotrichum g.</i> Segunda recolección	53,320,000

Tabla 3. Promedio en escala de infección de los resultados obtenidos de la infección con 200,000 esporas de *Phytophthora c.* en *A. thaliana* y las mutantes seleccionadas.

oras	Escala de infección del 4-0					
	WT	Sde3	I2nbs	PR2	NahG	Pad4
0	4	4	4	4	4	4
24	4	4	4	4	4	4
48	2,75	1,83	2,66	3	0,83	2,5
72	2,75	1,66	2,33	2	0	0,83
96	1,5	1	0,66	0,83	0	0,5

Tabla 2. Resultados del proceso de infección de *N. tabacum* y *N. benthamiana* con 5000 y 20,000 esporas de *Penicillium c.* y *Colletotrichum g.*

Días	% de Hojas infectadas	
	N.t.-C	N.b.-C
0	0	0
1	0	0
2	23	0
3	23	0
4	23	0
5	23	25
Días	N.b.-C	N.b.2-C
0	0	0
1	0	0
2	0	23
3	0	23
4	0	23
5	0	38
Días	N.t.-Pe	N.t.2-Pe
0	0	0
1	0	0
2	0	7
3	0	7
4	0	7
5	0	7
Días	N.b.-Pe	N.b.2-Pe
0	0	0
1	0	0
2	23	30
3	23	30
4	23	30
5	69	38

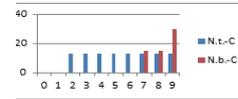


Figura 2. Gráfico del % de hojas infectadas con 5000 esporas de *Colletotrichum g.*

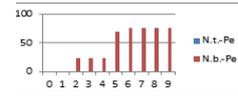


Figura 3. Gráfico del % de hojas infectadas con 5000 esporas de *Penicillium c.*

nueve días, presentando una posible resistencia al patógeno, a diferencia de *N. benthamiana* que presenta una resistencia hasta los 7 días, y en el noveno se dispara, argumentando una resistencia parcial al patógeno, pero en el caso de la figura 3, *N. tabacum*, presenta una gran resistencia al no haber hojas infectadas, al contrario de *N. benthamiana*, que no parece ser resistente a *Penicillium c.* El análisis con las 20,000 esporas se hizo para conocer si había una diferencia en la resistencia dependiendo a la cantidad de esporas con las que se infectaba, en el caso de la figura 4, no hay mucha diferencia entre la cantidad de esporas, hasta el quinto día, en el que se puede observar una infección, sin embargo se tendría que observar, al igual que en el caso de las 5000 esporas puede que presente una ligera infección pero, que ésta no progrese, ejerciendo una resistencia. En la figura 5, *N. benthamiana* presenta una resistencia con 5000 esporas, sin embargo si presenta una infección gradual con 20,000 esporas, de igual manera que *N. tabacum* con *Penicillium*, se podría decir que es resistente en la presencia de una pequeña infección, pero la pierde con una mayor cantidad de esporas; en la figura 7, no presenta una resistencia en los dos casos, a los 5 días, que podría concluirse que *N. benthamiana* no es resistente a *Penicillium*. Algunas de las hojas, de este estudio, que presentaban infección, se analizaron en un estoscopio, para analizar, si la necrosis aumentaba de tamaño con los días. En el caso de *N. b.* con 20,000 de *Colletotrichum* se nota un claro aumento de tamaño de la aureola de la infección entre las 48 horas y las 120 horas; con *Penicillium* en *N. benthamiana* también existe un aumento de la destrucción de las células, en cambio en *N. tabacum* con 20,000 esporas de *Penicillium*, no hay expansión de la invasión, y de acuerdo con la figura 6 tampoco aumenta el porcentaje de infección en las hojas. En conclusión, se podría decir que *Nicotiana tabacum* es resistente a *Colletotrichum* en inoculaciones pequeñas, y también presenta cierta resistencia con *Penicillium*, debido a que con grandes inoculaciones del hongo, presenta una infección pero esta no progresa en el tiempo; *Nicotiana benthamiana* no presenta resistencia a *Colletotrichum* en ninguno de los dos casos (dos diferentes inoculaciones), y tampoco existe resistencia con *Penicillium c.* Lo que continuaría a este estudio, sería analizar los genes que se expresan al momento de la interacción, en el caso de *N. tabacum*, evaluarlos para su posible utilización en plantas transgénicas, con un mayor valor comercial, haciéndolas resistentes a estos patógenos tan comunes en cultivos agronómicos. Infección en *A. thaliana* y sus mutantes con *Phytophthora c.* La tabla 3 y 4 muestra los promedios obtenidos de los resultados de la infección de *A. thaliana* y sus mutantes con *P. capsici*. Analizando el gráfico de la figura 9, podemos observar que la más resistente es la tipo salvaje, teniendo una lógica, debido a que tiene todos los genes de resistencia, tiene su mayor decaída a las 48 horas y a las 96 horas, después en el gráfico, se muestra que la mutante que “más sobrevivió” es la *Sde3*, que tiene un mayor decaimiento a las 48 que las *WT*, pero logra mantenerse hasta las 96 horas; posterior a *Sde3*, está la *PR2* que tiene un decaimiento lineal desde las 48 horas; la *I2nbs* tiene un comportamiento casi igual a la *WT*, sin embargo aumenta la infección a las 96 horas, esto sugiere que la transgénica confiere cierta resistencia, al tener parcialmente el gen *I2*, sin embargo tiene una notoria decaída a las 96 horas perdiendo mucha resistencia; en *Pad4* la infección fue más intensa a las 72 horas, por último, y siendo conscientes de la importancia del gen *NahG*, la degradación del ácido salicílico, las mutantes mueren a las 48 horas. Con estos datos se podría deducir la importancia de los genes con el crecimiento de la infección a lo largo del tiempo, primero mencionando que ésta es visible hasta las 48 horas después de la inoculación, en este momento, según el estudio, los genes de mayor importancia son los *NahG*, *PR2* y *Sde3*, conociendo las funciones de estos genes, (Tabla 5), no es de sorprender que sean dos de los genes que están relacionados con el ácido salicílico, que es una molécula de señalización en plantas durante las reacciones de defensa en contra de patógenos (Rangel et al., 2010), y *Sde3* que codifica para RNA helicasa, modula la presencia de otros materiales genéticos, para evitar que el patógeno sintetice las proteínas que necesita para infectar, sin

embargo esta mutante fue de todas la que más resistió, puede deberse a que las células encontraron una ruta alternativa para sobrevivir; a las 72 horas la infección tuvo efecto en las mutantes Pad4 y PR2 (este último por que la infección se dio linealmente, haciéndose importante en todo el proceso), el primero, se muestra como aumento de susceptibilidad, debido a que también es partícipe de la ruta de señalización de ácido salicílico, al crecer la infección es más notorio la ausencia de este gen (Salgado, 2012); a las 96 horas, la mutante que decayó fue la I2nbs, perdiendo cualquier resistencia que el transgen parcial del gen I2 pudiera. En la figura 10, se inoculó una mayor cantidad de esporas, y podemos observar que a las 48 horas, las mutantes Pad, PR2 y Sde3 son infectadas al mismo nivel y la mutante I2nbs, fue la de menor resistencia, por lo que anteriormente se menciona, este análisis nos dice, que la dosis de infección si afecta en las mutantes, aunque en la WT, tiene un comportamiento resistente independiente de la dosis.

CONCLUSIONES

En el proceso de infección de Nicotianas, frente a *Penicillium* y *Colletotrichum*, presenta resistencia la especie tabacum, mayormente cuando la infección se hace con una cantidad menor de esporas (5000 esporas); en el caso de las Arabidopsis, de manera cronológica, los genes más importantes a las 48 horas después de la infección son NahG, PR2, Sde3, a las 72 horas Pad4 y I2nbs, confiere una resistencia similar a la WT hasta las 96 horas; la cantidad de esporas inoculadas interfiere en la resistencia de las mutantes y la transgénica, pero no en la WT.

BIBLIOGRAFIA

- Acumedia, NEO Corporation (2015). "Agar papa dextrosa – Potato dextrose agar (7149) Ficha Técnica" Consultada en http://foodsafety.neogen.com/pdf/acumedia_pi/7149_sp_pi.pdf (Fecha de consulta 07-06-2017)
- Bio-Rad (2000). "EZ Load™ Molecular Rulers (170-8354)." Ficha técnica.
- Jalloh A. (2010). (Honor thesis). Cornell University, New York.
- Prasad R. y Anamika (2015). Effects of Plant Leaf Extract against *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) Sac. Causing Post-Harvest Disease of Papaya in Journal of Agricultural Science Número 7
- Rangel G., Castro E., Beltran E., Reyes H., y García E. (2010) "El ácido salicílico y su participación en la resistencia a patógenos en plantas" en Biológicas Número 12 [pp. 90–95]
- Roberts W. y Mora E. (1977). "Toxicity of *Penicillium citrinum* AUA-532 Contaminated Corn and Citrinin in Broiler Chicks" en Environment and Health Número 57 [pp. 1221:1226.]
- Robles B. (2016). "Evaluación de Sistemas no convencionales en el control de enfermedades ee postcosecha de bulbos de ajo (*Allium sativum* L)". (Tesis de maestría). Instituto Tecnológico de Tepic, Nayarit, México.
- Salgado M. (2012). "Inductores de resistencia a TuMV en *Arabidopsis thaliana*." (Tesis doctoral). Instituto de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas, Edo. México.
- Sevillano J. (2015). "Estudio de los mecanismos moleculares de resistencia en plantas modelo hacia patógenos del género *Phytophthora*." (Tesis de pregrado). Instituto tecnológico superior de purísima del rincón, Guanajuato, México.
- Shimada H., Sevillano J., Fraire S. y Vega J. (2017). "Genes de resistencia: mecanismos de defensa de las plantas contra patógenos". En proceso de publicación.
- "Taq DNA Polymerase. Thermo scientific. Información del producto". Consultada en https://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/MAN0012027_TaqDNA_Polymerase_recombinant_5_UuL_500U_UG.pdf (fecha de consulta 09-06-2017)
- Ulloa A. (2017). "Estudio de la plasticidad fenotípica en el oomiceto patógeno *Phytophthora capsici* y su importancia en la adaptación a diversos hospederos." (Tesis de maestría). Universidad de Guanajuato, Guanajuato, México.
- Bastidas O. Celeromics. "Conteo Celular con Hematocítómetro. Ficha técnica." Consultada en <http://www.celeromics.com/es/resources/docs/Articles/Conteo-Camara-Neubauer.pdf> (fecha de consulta 15-06-2017)
- Venegas J. (2002). "Adaptación de técnicas y métodos para la caracterización patogénica de *Colletotrichum lindemuthianum* y *Phaeoisariopsis griseola* en frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.)." (Tesis de pregrado). Universidad Zamorano, Honduras.

GENOTIPADO DE PLANTAS DE MAÍZ DEL PANEL DE DIVERSIDAD

Amauri Ponce Hernández¹ y Rubén Rellán Álvarez²

RESUMEN

Es aceptado que el maíz (*zea mays*) se domesticó en México hace cerca de 10,000 años a partir del teocintle y se difundió a través de las Américas. Esto produjo que se desarrollara una gran variedad de tipos de maíz, como son variedades de tierras altas y bajas. Previos estudios han demostrado que plantas de maíz de tierras altas tienen una alta concentración de lisofosfolípidos en membrana que les permite resistir ante condiciones de clima frío. Estos lisofosfolípidos son producidos por una lipasa, la cual se sugiere que es codificada por un gen localizado en el fragmento 5 del cromosoma 3 del maíz. Por ello se realizaron pruebas moleculares para extraer DNA y amplificar el fragmento 5 y 6.

ABSTRACT

It is accepted that maize was domesticated in Mexico about 10,000 years ago from the teosinte and spread throughout the Americas. This resulted in the development of a wide variety of maize types, such as high and low land varieties. Previous studies have shown that Highland maize plants have a high concentration of lisofosfolipidos in membrane that allows them to withstand cold weather conditions. These lisofosfolipidos are produced by a lipasa, which is supposed to be encoded by a gene located in fragment 5 of the maize chromosome 3. Therefore molecular tests were carried out to extract DNA and amplify fragment 5 and 6.

Palabras Clave: zea mays, lisofosfolípidos, lipasa, gen, fragmento.

INTRODUCCIÓN

El maíz (*zea mays*) es un cultivo de gran importancia para los pueblos de Latinoamérica y en especial para México. Existen diversas teorías acerca de del origen del maíz, en la actualidad se han aportado elementos que han permitido que la comunidad científica internacional tenga la aceptación de que el teocintle es el ancestro del maíz (Bedoya, 2010). Hasta la fecha es aceptado que el maíz se domesticó en México hace cerca de 10,000 años a partir de la especie de teocintle (*Zea mays ssp. parviglumis*) y se difundió a través de las Américas (Doebly, 2004).

El maíz se cultiva desde las costas del continente Americano hasta las tierras altas de alrededor de 4,000 msnm en los Andes; se siembra en regiones secas con una precipitación media inferior a 400 mm y en regiones con precipitación superior a 4,000 mm. Existe una gran variedad de tipos de maíz: variedades en la altura, con distintos grados de tolerancia a la sequía, al calor o a las heladas, con adaptación a las diferentes texturas de suelo, altitud, latitud (Sánchez, 2011). La lesión por congelación es un factor muy importante que limita el crecimiento y producción de especies vegetales. En *Arabidopsis* se han descrito cambios en la composición lipídica de las membranas externas e internas que permiten la tolerancia a la congelación de plantas. Además Cano et al., 2014 demostraron que en *zea mays* las deshidrininas, proteínas presentes en tejidos vegetativos, se unen in vitro a vesículas lipídicas, lo cual produce que dichas proteínas sufran cambios conformacionales relacionados con la estabilización de vesículas bajo condiciones de estrés.

Previos estudios sugieren que una lipasa es quien confiere la capacidad al maíz de tolerar condiciones de baja temperatura, esta lipasa es una enzima encargada de eliminar un ácido graso de la estructura del fosfolípido, dejándolo como lisofosfolípido. Al realizar un análisis entre los maíces de tierra alta y tierra bajas se observó una variación en la concentración de fosfolípidos y lisofosfolípidos, se encontró que existe una mayor concentración de lisofosfolípidos que fosfolípidos en plantas de maíz de tierras altas. En este proyecto se tienen un gen candidato que se cree, puede codificar para la lipasa, este gen candidato se encuentra en el fragmento 5 del cromosoma 3 del maíz. Por ello este proyecto tiene como objetivo realizar técnicas moleculares de extracción y amplificación de DNA. El producto de la amplificación PCR se utilizará finalmente para realizar una secuenciación y de esta manera verificar si es o no el gen candidato.

MÉTODOS Y MATERIALES

Material vegetal

Dentro de un tubo Eppendorf de 2 ml se recolectaron muestras circulares de hoja de maíz empleando un <sacabocado>, las cuales fueron muestreadas del panel de diversidad. Las muestras vegetales se colocaron dentro de un termo con nitrógeno líquido para mantenerlas a una baja temperatura. Dentro de los tubos eppendorf que contenían las muestras se colocó un balín y posteriormente se sometieron a trituración en el tissue Lyser durante 30 segundos a una frecuencia de 30 Hertz.

Extracción de ADN vegetal

El tejido triturado se homogeneizo con 300 µl de solución buffer UEB1, se llevó al vortex y enseguida se calentó a 68°C durante 8 minutos. Posteriormente se llevó a centrifugar a 14000 rpm durante 7 min. Después se transfirieron 200 µl del supernadante en un nuevo tubo de 1.5 ml y se agregaron 200 µl de isopropanol, se mezcló por inmersión. El nuevo tubo que contenía isopropanol se centrifugó a 14000 rpm durante 7 min y se decantó el sobrenadante, enseguida se agregaron 200 µl de EtOH 70% y se volvió a centrifugar a 14000 rpm durante 7 min, el EtOH se removió y se dejó secar al tubo durante 5 min. Finalmente el tubo previamente secado con DNA se resuspendió en 50 µl de H₂O MiliQ.

PCR reacción de cadena polimerasa.

Para la amplificación se usó 1 µl de DNA por reacción PCR, los primers usados fueron 5-forward y 6-reverse, de esta manera se amplificarían los fragmentos 5 y 6. Las enzimas empleadas fueron la Kapa Polimerasa y PFU polimerasa. En la siguiente tabla se muestran a detalles los componentes y volúmenes usados para una reacción de PCR.

Estos componentes fueron puestos dentro de un tubo para PCR y posteriormente puestos dentro del termociclador. Las condiciones usadas para llevar a cabo las fases del método PCR para ambas DNA polimerasa se detallan en la tabla 2.

Tabla. 2. Condiciones para PCR.

Temperatura	Fase
94°C	Desnaturalización
60°C	Alineamiento
72°C	Elongación

Estas reacciones se repitieron periódicamente por 35 ciclos.

Electroforesis

Tabla. 1. Componentes y volúmenes usados para una reacción PCR.

Componentes	X1 reacción
Buffer A	2 µl
dNTP's	0.4 µl
Primer 5-Fw	0.8 µl
Primer 6-Rv	0.8 µl
DMSO	0.8 µl
Betaina	2 µl
Kapa polimerasa/ PFU polimerasa	0.2 µl
DNA	1 µl
H ₂ O	12 µl
total	20 µl

Se preparó el gel de agarosa usando 0.35 gr de agarosa y 35 ml de buffer MOPS 1X, se homogeneizo en un microondas y finalmente se dejó solidificar dentro de la cámara para electroforesis, se colocaron peines para formar los pocillos dentro del gel. El producto de PCR se colocó dentro de los pocillos del gel y se dejó migrar de un polo a otro a 100 Volts durante 30 minutos.

Para verificar los resultados en el gel se empleó un fotodocuentador de rayos ultravioleta.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Mediante los métodos antes descritos fue posible realizar la extracción y amplificación de DNA de tejido de hoja de maíz. Para el análisis de la amplificación se verificaron los resultados obtenidos en los geles de agarosa, donde el resultado teórico esperado del fragmento 5 y 6 juntos era de 1508 pares de bases.

Kapa polimerasa resultó ser más eficaz en la amplificación por PCR, debido a que en 20 de 22 muestras los fragmentos 5 y 6 fueron amplificados, en la figura 1 se puede observar que efectivamente los fragmentos 5 y 6 se encuentran en la banda de 1500 pares de bases del marcador molecular.

Al usar PFU polimerasa solo en 4 de 10 muestras los fragmentos 5 y 6 se pudieron amplificar, aunque cabe resaltar que los fragmentos amplificados corresponde a la banda de 1500 pares de bases, lo cual demuestra que efectivamente amplifico los fragmentos 5 y 6 (figura 2). Existe la posibilidad de que en el proceso de la elaboración de la mezcla para la reacción PCR se haya presentado errores en los volúmenes o en la adición de los componentes.

En este proyecto se logró amplificar los fragmentos 5 y 6 empleando los primer 5-Fw, 6-Rv y la Kapa polimerasa, que fue la que amplificó mayor cantidad de muestras de DNA.

CONCLUSIONES

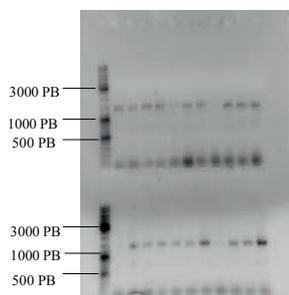


Figura 1. Muestras amplificadas empleando la Kapa polimerasa.

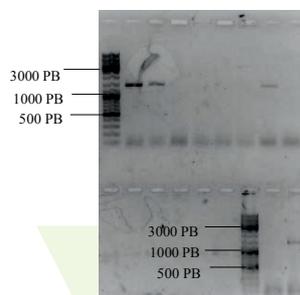


Figura 2. Muestras amplificadas empleando la PFU polimerasa.

El producto obtenido de las PCR realizadas tendrán uso posterior en la secuenciación, en la cual se usarán los primers 5-Forward Y 5-Reverse para obtener únicamente el producto del fragmentos 5, el cual es de gran interés, debido a que es el gen candidato que se sugiere puede codificar para una lipasa la cual da resistencia al maíz ante el estrés de temperaturas bajas.

BIBLIOGRAFIA

DEGENKOLBE, T.; GIAVALISCO, P.; ZUTHER, P.; SEIWERT, B.; HINCHA, D.K.; WILLMITZER, L.

(2012). "Differential remodeling of the lipidome during cold acclimation in natural accessions of *Arabidopsis thaliana*" en *The plant journal*, Núm. 72, Julio-Octubre, [pp. 972-982].

HUFFORD, M.B.; LUBINKSY, P.; PYHÄJÄ RVI, T.; DEVENGENZO, M.T.; ELLSTRAND, N.C.; et al. (2013). "The Genomic Signature of Crop-Wild Introgression in Maize" en *PLOS genetics*, Núm. 5, Vol. 9, Agosto-Mayo, [pp. 1-13].

SÁNCHEZ, G.J.J. (2011). "Diversidad del maíz y el teocintle" en recopilación, generación, actualización y análisis de información acerca de la diversidad genética de maíces y sus parientes silvestres en México, No. 1, pp. 3-5. Consultada en http://www.biodiversidad.gob.mx/genes/pdf/proyecto/Anexo9_Analisis_Especialistas/Jesus_Sanchez_2011.pdf (fecha de consulta 12-08-2017).

BEDOYA, C.A. (2011). "Teocintle el ancestro del maíz" en *Claridades Agropecuarias*, No. 201, pp. 32-34. Consultada en <http://www.infoerca.gob.mx/claridades/revistas/201/ca201-32.pdf> (fecha de consulta 12-08-2017).

DOEBLEY, J. (2004). "The genetics of maize evolution" en *Ann. Rev. Genet.* 2004, Núm. 38: 37-59.

CANO, P.D.; ARANCÓN, G.D.; HERNÁNDEZ, O.N.; LINILLOS, P.B. (2014). "deshidrinás" en el estrés en las plantas, No. 3, pp. 10-11. Consultada en http://pendientedemigracion.ucm.es/info/cvicente/seminarios/estres_hidrico.pdf (fecha de consulta 12-08-2017).

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Dr. Rubén Rellán por darme la oportunidad de trabajar en este proyecto, al Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad, CINVESTAV, por permitirme realizar la experimentación necesaria y a la Universidad Autónoma de San Luis Potosí por financiar mi estancia en Irapuato, Gto.

SIMULACIÓN DE DINÁMICA MOLECULAR DE COLOIDES USANDO PYTHON Y FORTRAN 90

Ibarra Díaz, A. S.¹; Guerrero García, G. I.²

RESUMEN

En el presente trabajo, se realizó la implementación y validación del código de una simulación de dinámica molecular en los lenguajes Fortran 90 y Python. Además, se muestran los efectos de la precisión de los lenguajes de programación en la simulación. El fenómeno estudiado fue un ensamble NVE, con número de partículas constante, volumen constante y energía constante. Se utilizaron 100 partículas cuya interacción

era un potencial de tipo Yukawa. Las partículas fueron colocadas de manera aleatoria dentro de una caja de simulación centrada en el origen con forma y se utilizaron condiciones periódicas. Se les asignaron velocidades aleatorias inicialmente. Las ecuaciones de movimiento de las partículas fueron integradas con el algoritmo Velocity-Verlet. Se utilizaron 50 mil pasos para la integración, con un $dt = 0.001$. Se calculó la energía cinética, potencial y total del sistema en unidades reducidas para cada instante del proceso, y esto se realizó de manera simultánea con los lenguajes Fortran 90 y Python. La energía total del sistema se mantuvo oscilando alrededor del promedio durante la simulación. Se encontraron diferencias en el tiempo de ejecución del código, siendo Fortran 90, 200 veces más rápido que Python. Se encontró que los valores esperados de las energías fueron los mismos dentro de la incertidumbre estadística.

ABSTRACT

In the present work, the code of a simulation of molecular dynamics in the languages Fortran 90 and Python was implemented and validated. In addition, we show the effects of the precision of the programming languages in the simulation. The studied phenomenon was an NVE ensemble, with a constant number of particles, volume and energy. We used 100 particles, and the interaction potential was a Yukawa function. The particles were placed randomly inside a simulation box centered in the origin and periodic conditions were used in the simulations. Random velocities were assigned at the beginning. The equations of motion of the particles were integrated with the Velocity-Verlet algorithm. 50 thousand steps were used for the integration, with a $dt = 0.001$. Calculations with reduced units of the kinetic, potential and total energy of the system for each instant of the process were done, and this was done simultaneously using Fortran 90 and Python. The total energy of the system was oscillating around the average during the simulation. Differences were found in the code execution time, being Fortran 90, 200 times faster than Python. It was found that the expected values of the energies were the same within the statistical uncertainty. Also, different execution times were observed between Fortran 90 and Python, being Fortran 90, 200 times faster than Python.

Palabras clave: Dinámica molecular, Yukawa, Python, Fortran, simulaciones, precisión.

INTRODUCCIÓN

Descubierto en 1934 por Hideki Yukawa, el potencial de Yukawa es un potencial de interacción de Coulomb apantallado, con la forma $V(r) = A e^{-kr}/r$, donde A es un factor de escalamiento, k es el coeficiente de decaimiento del potencial, y r es la distancia radial a la partícula. El potencial de Coulomb del electromagnetismo es un ejemplo de un potencial de Yukawa donde e^{-kr} vale 1 en todo el espacio. En esta investigación, se estudiaron los efectos de la precisión de dos lenguajes de programación. Es por ello que se utilizó un potencial anteriormente estudiado en las simulaciones de dinámica molecular.

La simulación de dinámica molecular es una técnica para emular el movimiento de partículas, moléculas, y otros cuerpos, a través de simulaciones de computadora. Es utilizada para calcular propiedades termodinámicas, mecánicas y de transporte de sistemas clásicos de N -cuerpos. Los átomos y moléculas interactúan a través de un potencial durante un periodo de tiempo determinado. Las trayectorias son determinadas por la resolución numérica de las ecuaciones de movimiento de Newton para las partículas del sistema en que están interactuando. Las fuerzas entre las partículas y la energía potencial de éstas, son calculadas utilizando sus posiciones. El potencial de Yukawa ha sido estudiado a través de simulaciones de dinámica molecular anteriormente y se han estudiado algunas de sus propiedades termodinámicas, como coeficientes de transporte, diagramas de fase, puntos triples de sistemas Yukawa, entre otras.

Se realizaron simulaciones de dinámica molecular utilizando condiciones periódicas. Se utilizó un potencial de interacción de tipo Yukawa con los siguientes valores: $A=1000$, $k=0.5$. Se realizaron 50 mil pasos con un $dt=0.001$, lo que nos dio un tiempo de simulación de 50. Para la resolución numérica de las ecuaciones de movimiento de Newton, se utilizó el algoritmo Velocity-Verlet. Las propiedades físicas estudiadas en este sistema, fueron energía cinética, energía potencial y energía total. Los valores de las energías cinética y potencial pueden fluctuar durante la simulación. Sin embargo, nuestro sistema no considera disipación de la energía ni interacción con fuerzas externas, esto quiere decir, que el valor de la energía total del sistema debe ser constante, y es la suma de la energía cinética y potencial.

Existe un sinnúmero de lenguajes de programación que han sido desarrollados en las últimas décadas. Cada uno de ellos presenta algunas ventajas y desventajas específicas, ya que cada lenguaje fue desarrollado para ser utilizado en un área en particular. Algunas de estas áreas son: desarrollo web, desarrollo de videojuegos, análisis y minería de datos, etc. Para nuestro caso, un lenguaje de programación con librerías científicas o numéricas, sería la mejor opción, ya que, la simulación de dinámica molecular requiere del manejo de cálculos numéricos. Se utilizaron los lenguajes de programación Fortran 90 y Python, debido a que contienen librerías de cómputo científico. Otro de los puntos a considerar, fue la velocidad de los lenguajes. Se hizo la misma simulación para ambos lenguajes y se midió cuanto tiempo tardó la ejecución en cada lenguaje.

METODOLOGIA

La simulación de dinámica molecular consiste en resolver de manera numérica las ecuaciones de movimiento de Newton de N -partículas que interactúan entre sí. La ecuación de movimiento de una partícula i es:

Se realizaron simulaciones de dinámica molecular utilizando condiciones periódicas. Se utilizaron unidades

reducidas en las cantidades físicas calculadas. Se colocaron 100 partículas de radio 1.0 de manera aleatoria, dentro una caja cúbica de simulación de 12.0 de largo. Se les asignaron velocidades aleatorias a las partículas con una generación de números aleatorios uniformemente distribuidos en el intervalo [-0.5,0.5]. Se utilizó un potencial de interacción de tipo Yukawa con los siguientes valores: $A=1000$ y $k=0.5$. Se realizaron 50 mil pasos con un $dt=0.001$, lo que nos dió un tiempo de simulación de 50. Para la resolución numérica de las ecuaciones de movimiento de Newton, se utilizó el algoritmo Velocity-Verlet, anteriormente mencionado. Para el estudio de la precisión, se realizaron dos simulaciones. La primera de las simulaciones se realizó con el lenguaje Fortran 90, y la segunda de las simulaciones se realizó con el lenguaje Python, ambas con los parámetros anteriormente mencionados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

$$m\dot{r}_i = F_i = \sum_{j \neq i} F_{ij},$$

donde F_{ij} es la fuerza sobre la partícula i debida a j y F_i es la fuerza total sobre la partícula i . Se utilizó el algoritmo de Velocity-Verlet para integrar las ecuaciones de movimiento. Este algoritmo nos permite saber las posiciones, velocidades y fuerzas de manera recursiva, es decir, si se conocen en un tiempo (t), es posible conocerlas en un tiempo ($t + dt$). Entonces, las ecuaciones de movimiento para las partículas están dadas por:

$$r_i(t + dt) = r_i(t) + v_i(t) + \frac{1}{2m} F_i(t) dt^2$$

$$v_i(t + dt) = v_i(t) + dt \left(\frac{F_i(t) + F_i(t + dt)}{2m} \right)$$

La fuerza F_i se calcula con la siguiente expresión:

$$F_i = \sum_{j \neq i} \left(\frac{-d}{dr} u_{ij}(r) \right) \hat{r}_{ij}$$

donde

$$\hat{r}_{ij} = \frac{r_{ij}}{|r_{ij}|}$$

El comportamiento energético de nuestro sistema es de especial interés, ya que, a partir de él, podremos saber si los cálculos numéricos de los lenguajes de programación están siendo realizados correctamente. Nuestro modelo no considera fuerzas externas ni disipación de energía, entonces, la energía total de nuestro sistema debe mantenerse constante, en un caso ideal. Debido a que estamos realizando una integración numérica de las ecuaciones Newton, sabemos que existirán errores de tipo numérico que harán que nuestra energía total no sea constante. Sin embargo, la energía total deberá fluctuar alrededor del promedio de las energías totales instantáneas.

Uno de los puntos favorables de Fortran 90, es que su tiempo de ejecución en el algoritmo es mucho más rápido que Python. Fortran 90 tardó 50 segundos y Python tardó 3 horas, 14 minutos y 51 segundos, es decir, 11,691 segundos. Fortran 90 es más de 200 veces más rápido que Python.

La Figura 1 es una gráfica que nos muestra toda la información recolectada a través de las simulaciones. En esta podemos ver la energía cinética, la energía potencial y la energía total de cada simulación, de Fortran 90 y de Python. Podemos observar, que el comportamiento de ambas simulaciones es similar. La mayoría de los valores obtenidos por las simulaciones de Fortran 90, coinciden con los valores obtenidos por las simulaciones de Python. Además, podemos observar que la energía total del sistema fluctúa y pareciera que se mantiene constante a través de la simulación.

Para el caso de la energía total, las simulaciones obtuvieron un valor promedio de 2237.55 para Fortran 90, y un valor promedio de 2238.09 para Python. En los primeros instantes de la simulación, hubo fluctuaciones en la energía de hasta 2400 de energía. Sin embargo, esto ocurrió para cinco valores únicamente. En el resto de la simulación, los valores de la energía total se mantuvieron fluctuando alrededor de 2237.50, que es el valor promedio de la energía total. Esto quiere decir, que la energía de nuestro sistema se conservó durante el proceso. Ver Figura 2.

Se obtuvo 216.33 para el valor promedio de la energía cinética para Fortran 90, y 216.61 para Python. En la Figura 3, podemos ver que la energía cinética del sistema aumentó en los primeros instantes de la simulación. Además, los primeros valores coinciden para ambos lenguajes. Sin embargo, para el resto de la simulación, los valores no coinciden entre sí, pero se mantienen fluctuando alrededor de 216.47. Este valor,

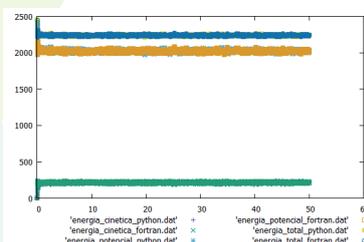


Figura 1. Gráfica de la energía cinética, potencial y total, como función del tiempo, utilizando precisión doble con Fortran 90 y 8 bits de precisión con Python.

es el promedio de la energía cinética de ambos lenguajes. Para ambas simulaciones, la energía cinética tiene el mismo comportamiento.

Para el caso de la energía potencial, se obtuvo 2021.21 como valor promedio para Fortran 90, y 2021.47 para Python. Al inicio de la simulación, hay algunos valores arriba de 2200. Posteriormente, los valores de la energía potencial para ambos lenguajes, fluctúan alrededor de 2021.34. Los valores de la energía potencial tienen el mismo comportamiento para ambos lenguajes.

En la Figura 5, podemos ver la posición final de las partículas en la caja de simulación. Esta simulación fue realizada por el lenguaje Fortran 90. En la Figura 6, podemos ver la posición final de las partículas en la caja

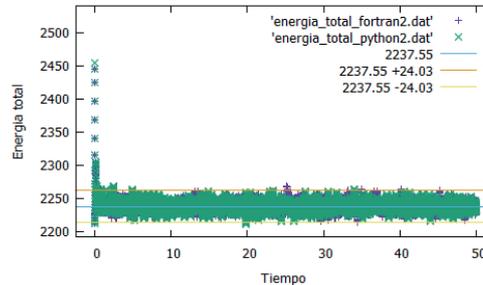


Figura 2. Gráfica de la energía total del sistema, utilizando Fortran 90 y Python

de simulación. Esta simulación fue realizada por el lenguaje Python.

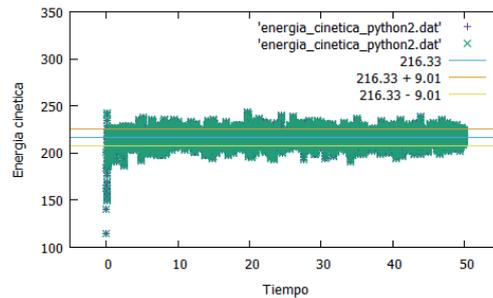


Figura 3. Gráfica de la energía cinética del sistema, utilizando Fortran 90 y Python

CONCLUSIONES

De los resultados presentados, se encontraron importantes diferencias en el tiempo de ejecución en el código

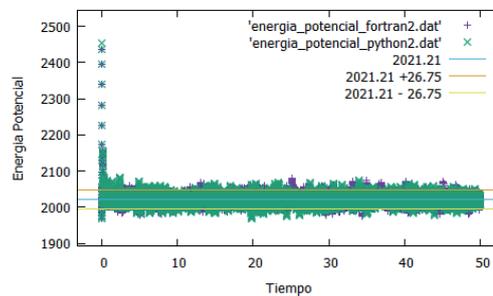


Figura 4. Gráfica de la energía potencial del sistema, utilizando Fortran 90 y Python

de la simulación. En términos de eficiencia, el lenguaje Fortran 90 es 200 veces más rápido que Python. En relación de la precisión, se obtuvieron los mismos valores esperados de la energía cinética, potencial y total dentro de la incertidumbre que es más conveniente utilizar Fortran 90 en simulaciones de dinámica molecular que otros lenguajes de programación como es Python.

BIBLIOGRAFIA

SALIN G. & CAILOL J.-M.

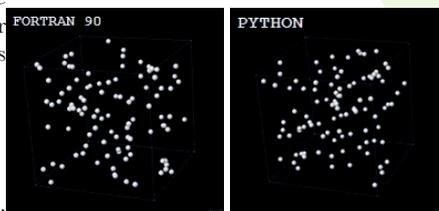


Figura 5. Posición final de las partículas en la simulación en Fortran 90 y Python.

(2003). Equilibrium molecular

dynamics simulations of the transport coefficients of the Yukawa one component plasma. *PHYSICS OF PLASMAS*. 10, 1220, 2003.

ROWLINSON, J.S. (1989). The Yukawa Potential. *PHYSICA A*. 156, 15-34.

HAMAGUCHI, S., FAROUKI, R., & DUBIN, R. (1997). Triple point of Yukawa systems. *PHYSICAL REVIEW E*. 56, (4), 60-64.

ALLEN M. P. & TILDESLEY D.J. (1987). *Computer Simulation of Liquids*. CLARENDON PRESS OXFORD. ISBN:0-19-855375-7.

SHUICHI, N. (1983). A molecular dynamics method for simulations in the canonical ensemble. *MOLECULAR PHYSICS*. 52 (2) 255-268.

HERNÁNDEZ A., GONZÁLEZ-MELCHOR M. & RIVAS-SILVA J.F. (2010). Coeficientes de difusión de fluidos de Yukawa y aplicación a fullerenos. *REVISTA MEXICANA DE FÍSICA* 56 (5) 416 - 422.

FRENKEL D. & SMIT B. (1996). *Understanding Molecular Simulation, From Algorithms to Applications*. ACADEMIC PRESS. ISBN 0-12-267351-4.

EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN TÉRMICA DE COMPUESTOS HIDROFÓBICOS DE DISTINTAS ESPECIES DEL GENERO OPUNTIA

López-Avila, K.P.¹, Rendón-Huerta, J.A.¹, Pérez-Martínez, J.D.², Morales Rueda, J.A.¹

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue extraer y determinar las temperaturas de fusión de los compuestos hidrofóbicos de cuatro especies de nopal. Las especies analizadas fueron *O. robusta*, *O. leucotricha*, *O.*

strepthacantha y *O. ficus-indica*. Se determinó el contenido de humedad, el contenido de compuestos hidrofóbicos y la temperatura de fusión de los extractos. Los resultados mostraron que la especie *O. strepthacantha* contiene el 3.97% de compuestos hidrofóbicos y una temperatura de fusión de 78.25°C. Estos resultados sugieren que las muestras estudiadas pueden contener una composición similar y características térmicas equivalentes a las ceras vegetales comerciales de alto valor agregado.

Palabras clave: Opuntia, compuestos hidrofóbicos, temperatura de fusión.

ABSTRACT

The objective of this research was to extract and determine the melting temperatures of the hydrophobic compounds of four species of cactus. The species were *O. robusta*, *O. leucotricha*, *O. strepthacantha* and *O. ficus-indica*. The moisture content, the hydrophobic compounds content and the melting temperature were determined. The results showed that *O. strepthacantha* contains 3.97% of hydrophobic compounds and a melting temperature of 78.25 °C. These results suggest that the components present in different studied cactus species may have similar molecular compounds with thermal characteristics similar to vegetable waxes of high added value.

Keywords: Opuntia, hydrophobic compounds, melting temperature

INTRODUCCIÓN

Las zonas áridas y semiáridas ocupan más de la mitad del territorio mexicano y están cubiertas en su mayor parte por diversos tipos de comunidades arbustivas que, de acuerdo con Cervantes Ramírez (2005), reciben el nombre genérico de matorral xerófilo. El cual ofrece una gran cantidad de plantas de la familia de las cactáceas, con posibilidades de ser aprovechados, como recursos maderables, alimenticios, forrajeros, industriales, energéticos, ornamentales, artesanales y/o medicinales.

El género *Opuntia* está formado por 189 especies que pertenecen a las cactáceas (Reyes-Agüero et al, 2005), son plantas perennes, suculentas (carnosas), arbustivas o rastreras, habitualmente espinosas, su tronco está bien definido o ramificado desde la base, con ramas erguidas, extendidas o postradas, llamadas generalmente nopales. Los nopales están conformadas por tallos o pencas llamadas “cladodios” que pueden ser globosos, cilíndricos o aplanados, muy carnosos o leñosos, de color verde. En ellos se observan manchas circulares grisáceas llamadas “areolas”, sobre las cuales se implantan las hojas transformadas en espinas (Cervantes Ramírez, 2002).

Así mismo Cervantes Ramírez (2002) nos menciona que los nopales poseen características morfológicas y fisiológicas particulares que les permiten almacenar y conservar el agua en sus tejidos, con lo cual sobreviven a la escasez de agua y a las marcadas variaciones de temperatura características de las zonas áridas y semiáridas. Los nopales, así como todas las plantas contienen estructuras de naturaleza polimérica que los aíslan y protegen del medio externo que los rodea. Estas estructuras son llamadas cutícula la cual está compuesta por una cubierta superior de ceras epicuticulares, seguida por otra capa inferior formada por cutina y ceras mezcladas con sustancias de la pared celular, pectinas, celulosa y otros carbohidratos, los cuales constituyen la capa cuticular (Tafolla Arellano et al, 2013). Salem-Fnayou et al, (2013) mencionan que por medio microscopía de fuerza atómica y electrónica de barrido se pueden observar abundantes depósitos de cera epicuticular que cubren la superficie del cladodio de la especie *Opuntia ficus-indica*. Herendía, A. et al (1998) señalan que las ceras cuticulares constituyen el primer componente básico de la membrana cuticular y pueden ser extraídas, con elevado rendimiento y escasa contaminación, usando disolventes orgánicos tales como cloroformo, metanol o mezclas de estos a temperatura ambiente.

La región del altiplano potosino posee condiciones adecuadas para una buena propagación de las plantas de la familia de las cactáceas, en particular el nopal. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación es la extracción y determinación térmica (temperatura de fusión) de compuestos hidrofóbicos que contiene la cutícula de algunas especies de plantas del género *Opuntia* para su posible aprovechamiento en el área alimenticia, cosmética y farmacéutica.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las muestras del género *Opuntia* que se utilizaron para la extracción de los compuestos hidrofóbicos se recolectaron en el municipio de Salinas de Hidalgo, San Luis Potosí, México (FIGURA 1). La recolección se realizó de manera manual en solares dentro del municipio. Las especies estudiadas fueron identificadas como *O. robusta* (Nombre común: nopal tapón, NT), *O. leucotricha* (Nombre común: duraznillo, ND), *O. strepthacantha* (Nombre común: cardón potosino, NC) y *O. ficus-indica* (Nombre común: nopal verdura, NV).

La



FIGURA 1. Diferentes muestras analizadas del género *Opuntia*. A) *Opuntia robusta* (Nombre común: nopal tapón, NT); B) *Opuntia leucotricha* (Nombre común: duraznillo, ND); C) *Opuntia streptacantha* (Nombre común: cardón potosino, NC); D) *Opuntia ficus-indica* (Nombre común: nopal verdura, NV),

determinación del contenido de humedad de las muestras se realizó por medio de un horno de convección (BINDER. FD53-UL, Alemania) a 60°C por 24 h. Los cladodios fueron cortados cuidadosamente en rectángulos de 2.0x2.0x0.5 cm y puestos en el horno para posteriormente determinar el contenido de humedad en porcentaje. Se realizaron dos determinaciones por cada muestra.

La extracción de los compuestos hidrofóbicos de las muestras se llevó a cabo por medio de la técnica de Soxhlet. 10 gr de muestra deshidratada fueron pesados en cartuchos de papel filtro y se colocaron en el equipo de extracción Soxhlet. La extracción de los compuestos hidrofóbicos se realizó con hexanos grado analítico (140 mL, Jaltek Científica S.A. de C.V. NL, México). Posteriormente, el solvente fue completamente evaporado y se determinó el porcentaje (i.e. % p/p) de los compuestos hidrofóbicos. Se realizaron dos extracciones por cada muestra. Los compuestos hidrofóbicos fueron almacenados en tubos de vidrio con tapa rosca al abrigo de la luz para su posterior análisis (FIGURA 2).

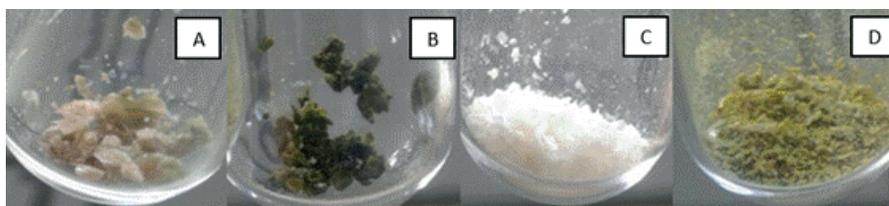


FIGURA 2. Extractos hidrofóbicos obtenidos de las muestras A) NT, B) ND, C) NC y D) NV, respectivamente.

La determinación de la temperatura de fusión (i.e. TM) de los extractos obtenidos de las muestras de nopal fueron realizados en un equipo de calorimetría diferencial de barrido, DSC (Modelo 2920; TA Instruments, New Castle, DE, USA) acoplado con un sistema de enfriamiento por refrigeración (RCS 90, TA Instruments, New Castle, DE, USA). Aproximadamente 10 mg de muestra se colocaron en charolas de aluminio y se montaron en la celda del equipo. El programa térmico empleado para determinar TM fue el siguiente: las muestras fueron calentadas desde 25°C hasta 130 °C a 5°C/min. Las muestras permanecieron a esta temperatura por 2 minutos para realizar el borrado de memoria térmica. Posteriormente, la muestra se enfrió a una velocidad de 10°C/min desde 130°C hasta 0°C y se volvió a calentar hasta 130°C a 5°C/min. Los termogramas fueron analizados por medio del software Universal Analysis 2000 (TA Instruments-Waters LLC, Version 4.5A). Los datos de las variables humedad, porcentaje de compuestos hidrofóbicos y temperatura de fusión se analizaron por medio de un diseño completamente al azar a través de un análisis de varianza y una prueba de Tukey para comparar las medias de cuatro tratamientos ($n = 2$) con un nivel de significancia de $P < 0.05$. Se utilizó el software estadístico RStudio (R Core Team, 2016).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El contenido de humedad de las muestras de nopal estudiadas en esta investigación mostró la gran cantidad de agua que poseen estas especies vegetales. La tabla 1 muestra los contenidos de humedad de las muestras, donde el resultado del análisis estadístico muestra diferencias estadísticas de $p < 0.0001$, se puede observar que NV es la muestra que contiene mayor contenido de humedad (90.05%), seguida de NT (80.24%) y NC (80.43%). La muestra ND mostró el menor contenido de humedad con 74.58%.

Por otro lado, los datos experimentales obtenidos para el contenido de compuestos hidrofóbicos de las especies de nopal, también muestran diferencia significativa ($p < 0.0001$) y se localizan en la Tabla 1. Se puede observar que la muestra NC, tiene el mayor contenido de compuestos hidrofóbicos (i.e. 3.97%), mientras que las muestras NV, NT y ND tienen porcentajes menores a 1%. Se puede observar que la muestra NC tiene una diferencia significativa ($p > 0.05$) con respecto al resto de las muestras. Las muestras NV, NT y ND no

muestran diferencia significativa en los porcentajes del contenido de lípidos ($p > 0.05$).

TABLA 1. Porcentaje de humedad y compuestos hidrofóbicos de 4 especies de nopal.

MUESTRA [§]	% Humedad (p/p)	% compuestos hidrofóbicos (p/p) [‡]
NT	80.24 ^b (±0.87)	0.68 ^b (±0.06)
ND	74.58 ^c (±0.85)	0.39 ^b (±0.09)
NC	80.43 ^b (±0.77)	3.97 ^a (±0.35)
NV	90.05 ^a (±1.12)	0.47 ^b (±0.03)
Valor p	***	***
EEM	0.12	0.66

[§] NT (*O. robusta*), ND (*O. leucotricha*), NC (*O. streptacantha*) y NV (*O. ficus-indica*).

Se muestran los valores medios y desviación estándar entre paréntesis.

[‡] El porcentaje de compuestos hidrofóbicos se determinó en base seca de las muestras.

Valores con literales distintas, son diferentes estadísticamente por columna.

*** Nivel de significancia ($p < 0.0001$). EEM, Error Estándar de la Media

La caracterización térmica de las muestras de nopal estudiadas en este trabajo mostró que las cuatro especies presentaron temperaturas de fusión diferentes ($p < 0.0001$). La figura 3 muestra las temperaturas de fusión de los nopales *Opuntia robusta* (NT), *Opuntia leucotricha* (ND), *Opuntia streptacantha* (NC) y *Opuntia ficus-indica* (NV). Se puede observar que la muestra NV presentó la mayor temperatura de fusión (i.e. 79.85°C), seguida por la muestra NC con 78.25°C. Las muestras NT y ND presentaron las temperaturas de fusión más bajas con aproximadamente 67 y 63°C, respectivamente. Toro-Vázquez et al. (2007) realizaron la caracterización térmica de la cera de candelilla (cera vegetal ampliamente usada en la industria de cosméticos, farmacéutica y alimentaria), la cual presentó valores de temperatura de fusión de $64.42 \pm 0.23^\circ\text{C}$. Los resultados obtenidos para la muestra ND, se asemejan a los resultados mostrados por la cera de candelilla (Toro-Vázquez et al., 2007), por lo que se puede suponer que el extracto en la muestra ND se asemeja a compuestos cerosos, similares a la cera de candelilla. Por otro lado, datos no reportados de la temperatura de fusión de la cera de carnauba (i.e. aprox. 80°C) son similares a los obtenidos para las muestras NV (i.e. 79.25 °C) y NC (i.e.78.25°C). Estos resultados sugieren que los componentes presentes en las muestras de las diferentes especies de nopal estudiadas en la presente investigación, pueden ser compuestos muy similares a las ceras vegetales como la candelilla y carnauba.

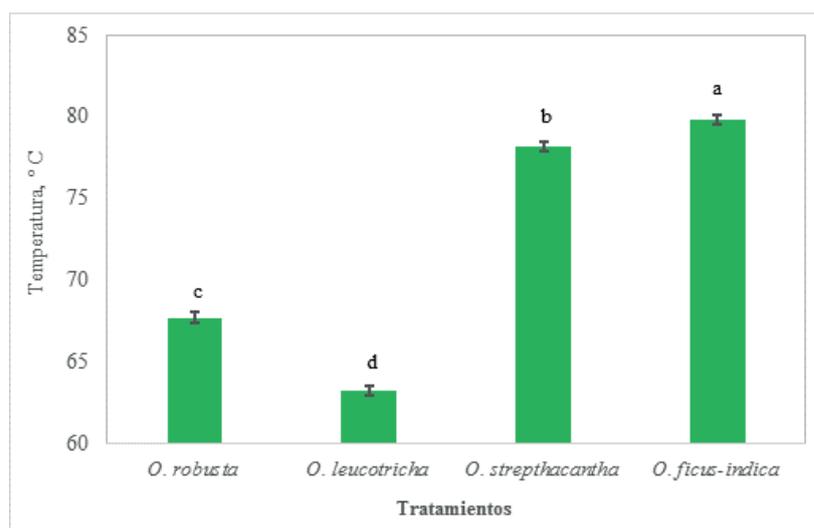


FIGURA 3. Temperaturas de fusión (T_m) de cuatro especies diferentes de nopal (Tapón, duraznillo, cardón y verdura)

CONCLUSIÓN

- Los resultados muestran que no existe una relación entre la humedad que tienen las muestras de nopal y los compuestos hidrofóbicos que puedan contener en su cutícula.
- Las diferentes especies de nopal analizadas presentaron bajos rendimientos de compuestos hidrofóbicos, excepto para la muestra *O. streptacantha*. Estos rendimientos pueden ser atribuido a la especie de nopal, sin embargo se requiere realizar más estudios para determinar otros factores que pueden influir en la producción de compuestos hidrofóbicos de la cutícula como son el stress hídrico, el grado de maduración de la planta, temporada del año, etc.

- Los resultados de este trabajo demuestran que las algunas plantas del género *Opuntia* tienen en su cutícula compuestos hidrofóbicos con características térmicas similares a ceras vegetales de alto valor comercial, por lo que la extracción de estos compuestos abre la posibilidad de darle otro valor agregado al muy conocido género *Opuntia*.
- La presente investigación abre la posibilidad de realizar más estudios fisicoquímicos y composicionales para elucidar las características de los compuestos hidrofóbicos encontrados y se puedan usar como alternativas de ceras vegetales con alto valor comercial, como son la cera de candelilla y la cera de carnauba.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Libro

REYES-AGÜERO, J. A., AGUIRRE R., J. R., CARLÍN C., F., GONZÁLEZ D., A. (2009). Catálogo de las principales variantes silvestres y cultivadas de *Opuntia* en la Altiplanicie Meridional de México. UASLP, SAGARPA y CONACYT San Luis Potosí, S.L.P. México. 350.

R CORE TEAM. (2016). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria.

Artículos de revista

CERVANTES RAMÍREZ, M. C. (2002). Plantas de importancia económica en zonas áridas y semiáridas de México 1.5.3. Instituto de geografía UNAM. México, 154.

CERVANTES RAMÍREZ, M. C. (2005). Plantas de importancia económica en zonas áridas y semiáridas de México. Anais do X Encontro de Geógrafos de América Latina, Universidad de São Paulo, 3388-3407.

HERENDIA, A., CASADO, C.G., LAGUNA, L., REINA, J.J., SERRANO, J.M. y DOMINGUEZ, E. (1998). La cutícula vegetal: Estructura y funciones. *Ecología*, No. 12, pp. 293•305.

REYES-AGÜERO, J. A., AGUIRRE RIVERA, J. R., FLORES FLORES, J. L., (2005). Variación morfológica de *Opuntia* (cactaceae) en relación con su domesticación en la altiplanicie meridional de México. *Interciencia*, agosto, 476-484.

SALEM-FNAYOU, A. B., ZEMNI, H., NEFZAOU, A. y GHORBEL A. (2013). Micromorphology of cactus-pear (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill) cladodes based on scanning microscopies. *Micron* 56 (2014), 68-72.

TAFOLLA-ARELLANO, J. C., GONZÁLEZ-LEÓN, A., TIZNADO-HERNÁNDEZ, M. E., ZACARÍAS GARCÍA, L. & BÁEZ-SAÑUDO, R. (2013). Composición, fisiología y biosíntesis de la cutícula en plantas. 3-12.

TORO-VAZQUEZ, J. F., MORALES-RUEDA, J. A., DIBILDOX-ALVARADO, E., CHARÓ-ALONSO, M., ALONZO-MACIAS, M. & GONZÁLEZ-CHÁVEZ, M. M. (2007). Thermal and Textural Properties of Organogels Developed by Candelilla Wax in Safflower Oil. *J Am Oil Chem Soc*, 84:989–1000.

CARACTERIZACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES DE LAS PLANTAS GOBERNADORA (*Larrea Tridentata*) Y RUDA (*Ruta Graveolens*) POR MEDIO DE ESPECTROSCOPIA RAMAN.

Martínez Ávila Mireya y Ávila Rodríguez Raquel ¹

RESUMEN

El uso de medicinas alternas como las plantas ha sido una práctica tradicional que no ha decaído a pesar de los cambios en el mundo actual. El objetivo del proyecto fue determinar la caracterización de los aceites esenciales de las plantas gobernadora (*Larrea tridentata*) y ruda (*ruta graveolens*), por la técnica espectroscopia Raman. La metodología fue tipo experimental, se realizó la extracción de aceites esenciales mediante el equipo soxhlet, una vez realizada la extracción se caracterizaron los aceites mediante espectroscopia Raman. Los resultados obtenidos los encontramos en los grupos funcionales de anillos aromáticos en la frecuencia de 1002.3 cm⁻¹, C-H en la frecuencia de 1452-1486 cm⁻¹, C-O en la frecuencia de 1040 cm⁻¹. Se concluyó que tanto la gobernadora como la ruda son plantas que contienen un alto nivel de polifenoles como lo es el ácido elárgico, y ácido nordihidroguaiarético (ANDG).

Palabras clave: Espectroscopia Raman, *Larrea tridentata*, *Ruta graveolens*.

ABSTRACT

The use of alternative medicines such as medicinal plants has been a traditional practice that has not declined despite the changes that have been occurred in the world today. The objective of this project was to determine the characterization of the essential oils of the plants *Larrea tridentata* and *ruta graveolens* by Raman spectroscopy. The methodology was a experimental type, the extraction of essential oils was carried out by the soxhlet equipment, and then, the extraction was analyzed by Raman spectroscopy. The results obtained were found in the functional groups of aromatic rings frequency of 1002.3 cm⁻¹, C-H to the frequency 1452-1486 cm⁻¹, C-O in the frequency 1040 cm⁻¹. In this way we concluded that both plants contain a high level of polyphenols, such as elgaric acid, and nordihydroguaiaretic acid (ANDG).

Key words: Raman Spectroscopy, *Larrea tridentata*, *Ruta graveolens*.

INTRODUCCIÓN

La gran diversidad vegetal y amplia riqueza cultural de México ha favorecido el aprovechamiento de plantas con fines medicinales desde épocas prehispánicas, esta práctica médica permanece vigente debido a que los tratamientos están basados en la enfermedad como es concebida dentro de su cultura. Las plantas juegan un papel importante en la vida del hombre, hoy en día la sociedad rural ha sufrido un cambio en cuanto a la medicación ya que el acceso a los medicamentos farmacológicos es mayor debido a los planes de salud, sin embargo se mantiene la costumbre popular del consumo de plantas medicinales. (Burgos Obed N, 2010), las plantas que se desarrollan en zonas áridas son productos de miles de años de adaptación fisiológica, dentro de las especies vegetales representativas de dichas áreas en el noroeste de México, en particular gobernadora mejor conocida como (*Larrea tridentata*) y ruda (*Ruta graveolens*). La gobernadora (*Larrea tridentata*) es un arbusto perenne de 2 a 3 cm de altura, es una fuente invaluable de moléculas biológicamente activas, tales como diversos metabolitos secundarios que presentan actividad biocida, en la medicina tradicional se han utilizado extractos de gobernadora como antídoto para varicela, diabetes, enfermedades venéreas, tuberculosis, resfriados, cálculos renales y biliares incluso se ha encontrado que inhibe la replicación y transcripción del virus de la inmunodeficiencia adquirida, se caracteriza por los compuestos extraídos a partir de la resina que cubre hojas y tallos jóvenes, ya que produce un potente antioxidante. (Rubio Peñuelas O, 2015). La ruda (*Ruta graveolens* L.) es citada como planta medicinal desde la edad media y el renacimiento, pertenece a la familia Rutáceas, es una planta nativa del Mediterráneo Oriental y del área Sur Occidental de Asia, es una planta perenne que ha sido empleada desde hace aproximadamente 1500 años en Europa y Asia constituye una de las 565 especies de plantas utilizadas en medicina tradicional. A la fecha se han descrito más de 120 compuestos aislados. Esta planta ha sido considerada por la creencia popular y transmitida en sucesivas generaciones de sus propiedades curativas contra diversas enfermedades, se emplea como antidiarreico, contra la indigestión, empacho, incita al aborto, contra ataques de ictericia, y dolores de cabeza. La planta crece a pleno sol, aunque tolera la media sombra, es resistente a heladas se desarrolla en suelos bien drenados, secos y gravosos. La industria farmacéutica usa esta especie como materia prima para la obtención de rutina, una droga útil para conservar la flexibilidad de las vías circulatorias.

El objetivo de nuestro proyecto fue la caracterización para conocer los grupos funcionales de los aceites esenciales de las plantas gobernadora (*Larrea tridentata*) y ruda (*Ruta graveolens* L.) por medio de la técnica de espectroscopia Raman la cual consiste en demostrar que el fenómeno está relacionado con los cambios vibraciones cuantizados que se producen en la absorción infrarroja, una ventaja importante de los espectros Raman se debe al hecho de que el agua no produce interferencias y es posible obtener espectros Raman de disoluciones acuosas. Los espectros Raman se obtienen al irradiar una muestra con una potente fuente láser de radiación monocromática visible o infrarroja. (Skoog Douglas A, 2001)

MARCO TEÓRICO

El uso de medicinas alternas como lo son las plantas medicinales ha sido una práctica tradicional que no ha decaído a pesar de los cambios y actualizaciones que se han dado en el mundo actual. Se estima que el 80 % de la población mundial acude a remedios herbolarios tradicionales y al menos se cuenta con unas 35 000 especies vegetales que presentan gran potencial para uso medicinal. El aprovechamiento de estas plantas medicinales se ha formado en un patrimonio cultural que se va transmitiendo de generación en generación, de tal manera que la tradición subsiste y es ejercida de manera cotidiana tanto en áreas rurales como urbanas. (García de Alba García Javier E, 2012). El arbusto conocido como (Larrea tridentata) o gobernadora es distribuido en las zonas áridas del desierto mexicano, es un potente antioxidante y su utilidad es principalmente en prevención de cáncer, infecciones virales, cardiopatías, reumatismos, tuberculosis, cálculos biliares, entre otros, es altamente potente en nivel antibacterial. Sus hojas contienen una espesa resina que se comporta como antitranspirante debido a la formación de una barrera que disminuye la transpiración, los metabolitos secundarios a la resina fenoles, líganos y flavonoides, son defensas bioquímicas para repeler la agresión de animales herbívoros, hongos y otros microorganismos, ya que no se conocen plagas, enfermedades o animales que ataquen esta planta. El efecto antiviral de la gobernadora también se ha documentado, indicando que los flavonoides de la resina son activos contra virus que afectan el RNA, y que ocasionan graves enfermedades como polio, sida y herpes. (Lira Saldivar Lugo, 2006). Larrea tridentata y el ácido nordihidroguaiarético (ANDG) que posee actividad fungicida tiene un amplio espectro como agente antiséptico. Ruta graveolens conocida comúnmente como ruda es una planta nativa del mediterráneo oriental y del área Sur Occidental de Asia, es una planta perenne que ha sido empleada desde hace aproximadamente 1500 años en Europa y Asia, constituye una de las 565 especies de plantas utilizadas en medicina tradicional. (Dominguez Soto Adolfo, 2013). La ruda es una especie cultivada común en clima medio y frío. Pertenece a la familia Rutácea y es originaria del sur de Europa, la propagación puede realizarse por semillas o por esquejes de tallos tiernos en primavera, semiduros en verano, o maduros en otoño. La densidad de plantas varía entre 25.000 a 40.000, según el grado de fertilidad del terreno. Responde a la fertilización nitrogenada y requiere buena cantidad de azufre. Es utilizada principalmente para tratar neuralgias, dolor menstrual y estomacal, y en ocasiones en cápsulas, para fines medicinales y culinarios, así como también para evitar las plagas. Ruta graveolens es una de las especies que está siendo estudiada para corroborar sus propiedades antiparasitarias y antimicrobianas, propiedades por las cuales es usada por la población desde hace mucho tiempo. La industria farmacéutica usa esta especie como materia prima para la obtención de rutina, una droga útil para conservar la flexibilidad de las vías circulatorias.

Actualmente la espectroscopia Raman es una técnica fotónica de gran eficiencia y eficacia, además de no ser invasiva y de ser aplicable en cualquier material orgánico e inorgánico, la espectroscopia Raman nos proporciona información química y estructural en pocos segundos, esta se obtiene al irradiar una muestra con una fuente potente de rayos láser de radiación monocromática visible e infrarroja, se registra el espectro de la radiación dispersada a un cierto ángulo (90°) con la ayuda de un espectrómetro apropiado. La técnica de espectroscopia Raman fue descubierta por el físico Hindú Chandrasekhara Venkata Raman en 1928, este científico dio nombre al fenómeno inelástico de dispersión de la luz que permite el estudio de rotaciones y vibraciones moleculares, sus estudios sobre este fenómeno se inspiraron en los trabajos realizados anteriormente por Rayleigh que afirmaba que el color azul del mar no es más que el reflejo del azul del cielo. Raman realizó un experimento sencillo mediante el que pudo demostrar que el color azul de agua procedía de un fenómeno propio, explicado como la dispersión de la luz debido a su interacción con las moléculas del agua. Esta técnica ha logrado obtener diferentes aplicaciones como lo es en el área de petroquímica para la resolución de problemas de control de calidad en polímeros, emulsiones y desactivación de catalizadores, en el área de Biomédicas mediante el estudio de proteínas y estructuras polipépticas en su estado fisiológico natural, además de la determinación de colesterol, lípidos, inmunoglobulina, oligosacáridos, en el área de industria alimentaria se ha usado para determinar presencia de macro-componentes tales como proteínas, lípidos, carbohidratos y agua; su aplicación en el medio ambiente se ha dirigido hacia el análisis de los compuestos orgánicos o inorgánicos en suelos y aguas para de esta manera determinar su contaminación por complejos metálicos, fenoles, ácidos poliorgánicos e hidrocarburos; como ya hemos visto la espectroscopia Raman es una de las técnicas más potentes de la actualidad (Skoog Douglas A, 2001).

METODOLOGÍA

La siguiente investigación se desarrolló mediante un enfoque de tipo experimental con el objeto de conocer la caracterización de aceites esenciales de las plantas gobernadora (Larrea tridentata) y ruda (ruta graveolens). La extracción de aceites esenciales se llevó a cabo mediante la extracción sólido-líquido (extracción SOXHLET) que es un método estándar de la extracción de muestras sólidas, en este procedimiento la muestra sólida pulverizada se coloca en un cartucho de material poroso que se sitúa en la cámara de extracto soxhlet, se calienta el disolvente metanol situado en el matraz, se condensan sus vapores que caen gota a gota sobre el cartucho que contiene la muestra extrayendo los analitos solubles. Cuando el nivel de disolvente condensado en la cámara alcanza la parte superior del sifón lateral, el disolvente, con los analitos disueltos, asciende por el sifón y retorna al matraz de ebullición. Este proceso se repite hasta que se completa la extracción de los analitos de la muestra y se concentran en el disolvente. En la figura 1 se muestra el arreglo experimental para la extracción de los aceites esenciales de la ruda (ruta graveolens) y gobernadora (Larrea tridentata). Una vez extraído los aceites esenciales de las plantas se midieron mediante espectroscopia Raman, se utilizó el software Espectrasuite, y el equipo utilizado fue el espectrómetro Raman de la marca Ocean Optics de

la marca QE65000, con potencia láser de 490 mW, con una longitud de onda de 785 nm. El procesamiento y análisis de la información se desarrolló mediante el programa Origin8. Las mediciones de los aceites esenciales se realizaron como se muestra en el arreglo experimental de la figura 2.



Figura 1. Arreglo experimental para la extracción de los aceites esenciales de la gobernadora (*Larrea tridentata*) y de la ruda (*Ruta graveolens*).

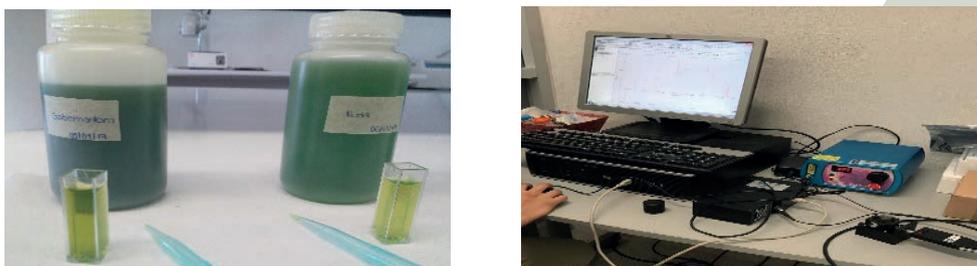


Figura 2. Arreglo experimental para la medición de los aceites esenciales de la gobernadora (*Larrea tridentata*) y de la ruda (*Ruta graveolens*) por espectroscopia Raman.

RESULTADOS

Con la información que se obtuvo al realizar la extracción de los aceites esenciales de la gobernadora (*Larrea tridentata*) y ruda (*ruta graveolens*) se realizó la caracterización por medio de la espectroscopia Raman. En la figura 3 se muestra la gráfica del espectro Raman de cada una de las plantas, y en las siguientes tablas (tablas 1, 2) se muestran los resultados de cada uno de los grupos funcionales según la frecuencia Raman obtenida por el espectro, basándose principalmente en la vibración molecular y los picos sobresalientes, los cuales hacen referencia a la concentración molecular de cada una de las plantas.

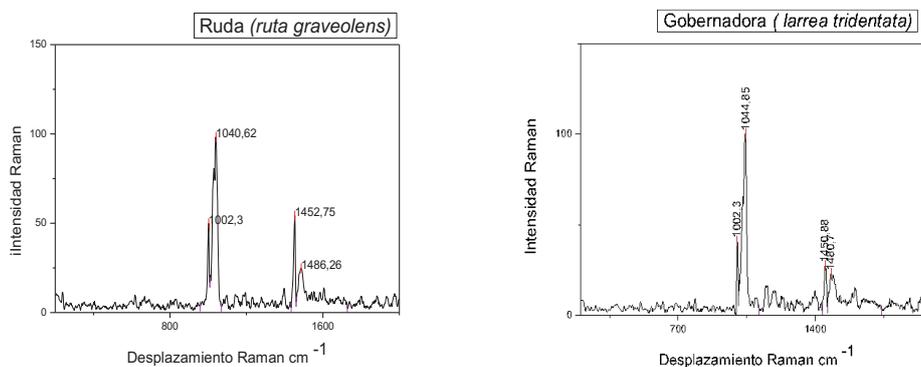
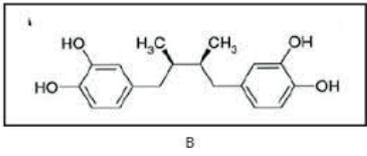


Figura 3. Espectros Raman de la planta ruda (*Ruta graveolens*) y de la gobernadora (*Larrea tridentata*)

Tabla 1. Frecuencias Raman del aceite esencial de la planta ruda (*Ruta graveolens*) por espectroscopia Raman.

Frecuencia Raman (cm^{-1})	Grupo funcional	Fórmula molecular ácido elárgico
1002.3 (990-1290)	Anillos aromáticos	
1040.62 (750-1300)	C-O	
1452.75 (1250-1500)	CH_3 , CH_2	
1486.26 (1250-1500)	CH_3 , CH_2	

Tabla 2. Frecuencia Raman del aceite esencial de la planta gobernadora (*Larrea tridentata*) por espectroscopia Raman.

Frecuencia Raman (cm ⁻¹)	Grupo funcional	Fórmula molecular ácido nordihidroguaiarético (ANDG)
1002.3 (990-1290)	Anillos aromáticos	
1044.85 (750-1300)	C-O	
1450.88 (1250-1500)	CH ₃ , CH ₂	
1480.7 (1250-1500)	CH ₂ , CH ₃	

DISCUSIÓN

La gobernadora (*Larrea tridentata*) entre los compuestos fenólicos bioactivos más destacado es el ácido nordihidroguaiarético (ANDG) que es un importante antioxidante que se encuentra en la resina de la hoja de la planta silvestre, estudios han demostrado que concentraciones de NDGA en las hojas de esta planta hasta un porcentaje de 15 % y forma parte de los antioxidantes aromáticos fenólicos. (Rubio Peñuelas Ofelda, 2017), (Reyes Quintanar Claudia Katia, 2014). El ácido elárgico es una molécula de naturaleza fenólica que puede estar presente en forma libre en algunas especies vegetales como producto del metabolismo de las mismas, o bien puede encontrarse a partir de sus precursores, los elagitánicos. Es una molécula muy estable y por su naturaleza fenólica tiende a reaccionar formando complejos con otras moléculas como proteínas, alcaloides y polisacáridos es muy relevante en la ruda (*ruta graveolens*), la fórmula molecular del ácido elárgico es la siguiente C₁₄H₆O₈. (Ascacio Valdéz Juan Alberto, 2013).

CONCLUSIÓN

El resultados del análisis de las plantas medicinales que se encontró por medio de la espectroscopia Raman con la gobernadora (*Larrea tridentata*) y la ruda (*ruta graveolens*) fueron los grupos funcionales de Carbono, Oxígeno, y Anillos aromáticos, las frecuencias más relevantes para Anillos aromáticos corresponden a 1002.3 cm⁻¹, CH₂ 1452-1486 cm⁻¹, C-O 1040 cm⁻¹, propios de la composición química y estructural de las plantas analizadas, de lo cual hace referencia a un alto nivel de polifenoles como lo es al ácido elárgico, ácido nordihidroguaiarético (ANDG), este grupo de polifenoles ayuda a proteger y tener actividad anti fúngica contra bacterias, virus y parásitos, lo cual tiene gran relevancia y colabora en el bienestar de las personas, ayudando a mejorar y estabilizar algunos padecimientos. Con la caracterización realizada con estas plantas podemos concluir que la espectroscopia Raman es una técnica factible, rápida y eficiente, y puede ser utilizada con cualquier otra sustancia orgánica, por lo que este trabajo aporta una perspectiva para continuar conociendo más los componentes activos de las plantas.

BIBLIOGRAFÍA

- Ascacio Valdéz Juan Alberto, A. C. (2013). Análisis de ácido elárgico en algunas plantas del semidesierto Mexicano. *Rev Mex Cienc Farm*, 44 (2).
- Burgos Obed N, M. M. (2010). Estudio cualitativo del uso de plantas medicinales en forma complementaria o alternativa con el consumo de fármacos en la población rural de la ciudad de Bulnes, Región del Bío-Bío, Chile. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 377-387.
- Cénoz Pedro, C. M. (s.f). Análisis de brotación y desarrollo de estacas de Ruda (*Ruta graveolens*. L.). facultad de ciencias agrarias.
- Dominguez Soto Adolfo, S. G. (2013). El Extracto Acuoso de *Ruta graveolens* del Norte de México Causa Apoptosis y Muestra Efecto Antiproliferativo sobre el Hígado de Rata Wistar: Evidencia Morfológica. *Int.J.Morphol*, 31 (4).
- Eads D, H. R. (2009). Terameprocol, a methylated derivative of nordihydroguaiaretic acid, inhibits production of prostaglandins an several key inflammatory cytokines and chemokines. *journal of inflammation*, 2-18.
- García de Alba García Javier E, R. H. (2012). Conocimiento y uso de plantas medicinales en la zona metropolitana de Guadalajara. *saberes y razones*, 2-16.
- Lira Saldivar Lugo, S. H. (2006). Extractos de *Larrea tridentata*, soluciones de quitosán y bacterias antagonistas: opciones contra microorganismos patógenos. *Colegio Mexicano de ingenieros Bioquímicos*, 2-26.
- Reyes Quintanar Claudia Katia, M. C. (2014). Efecto del extracto de ruda (*Ruta graveolens*) en el crecimiento micelial de *Trichoderma**. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 1433-1446.
- Rubio Peñuelas O, A. G. (2015). Bioactividad in vitro de extractos de gobernadora (*larrea tridentata*) sobre la inhibición de hongos poscosecha: *alternaria tenuissima*, *aspergillus niger*, *penicillium polonicum* y *rhizopus oryzae*. *Polibotánica*, 40: 183-198.
- Rubio Peñuelas Ofelda, A. G. (2017). *Larrea tridentata* extracts as an ecological strategy against *Fusarium oxysporum radices-lycopersici* in tomato plants under greenhouse conditions. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 1-17.
- Saldivar Lira, H. R. (2003). Estado Actual del Conocimiento sobre las Propiedades Biocidas de la Gobernadora [*Larrea tridentata*]. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 2-10.
- Skoog Douglas A, H. J. (2001). Principios de análisis instrumental, quinta edición. Madrid: Concepcion Fernández Madrid.

CÁLCULO DEL NDVI PARA ANÁLISIS DE CULTIVOS EN AGRICULTURA DE PRECISIÓN.

Raúl Vázquez Tapia¹ y Guillermina Guerrero Mora².

RESUMEN

El monitoreo de la salud y la detección de enfermedades en plantas y árboles es crítico para una agricultura sostenible. El índice de vegetación normalizada (NDVI) permite estimar la calidad y densidad de vegetación de una zona, y mediante procesamiento de imágenes se puede detectar automáticamente posibles áreas problemáticas. Esta información puede ayudar al agricultor a tomar decisiones más factibles, además ayudarán a monitorear la eficacia de cualquier acción correctiva. Con esto se fortalecerá el desarrollar una agricultura más barata, eficiente y, respetuosa del medio ambiente. El objetivo central de este trabajo es el análisis de cultivos mediante el NDVI calculado de imágenes tomadas con un dron aéreo. En este trabajo se usó un dron Phantom 4 de la marca DJI, al cual se le adaptó una cámara infrarroja (Sentera Single Sensor). Para el cálculo del NDVI, las imágenes tomadas se analizaron primero con el software AgVault, de la misma marca Sentera, y posteriormente con Matlab.

ABSTRACT

Monitoring health and disease detection in plants and trees is critical to sustainable agriculture. The normalized vegetation index (NDVI) allows the estimation of the quality and density of the vegetation of an area, and by image processing is possible to automatically detect the problem areas. This information can help the farmer make more feasible decisions, as well as assist in monitoring the effectiveness of any corrective action. This will strengthen the development of cheaper, more efficient and environmentally friendly agriculture. The central objective of this work is crop analysis using the NDVI calculated from images taken with an aerial dron. In this work a Phantom 4 dron of DJI was used, to which we adapted an infrared camera (Sentera Single Sensor). For the calculation of the NDVI, the images taken were analyzed first with the software AgVault, of the same brand Sentera, and later with Matlab.

Palabras clave: Agricultura de precisión, NDVI, Matlab.

INTRODUCCIÓN

En la agricultura moderna se necesita de una mayor producción de alimentos para poder abastecer a la población mundial. Es por esto que se están aplicando nuevas tecnologías y soluciones en este ámbito. Aunado a esto se encuentra el cambio climático y la escasez de agua, que afecta a todo el mundo por igual. Todo esto conlleva a que la necesidad de automatización y toma de decisiones inteligentes sean cada vez más necesarias (Ojha, T. et al., 2015).

Es aquí donde surge el termino agricultura de precisión, que se puede definir como el arte y la ciencia del uso de tecnología avanzada para mejorar la producción (Srbínovska, M. et al., 2015), en otras palabras, se busca aumentar la eficiencia del uso de los recursos y reducir la incertidumbre de las decisiones necesarias para controlar la variación en los cultivos (Schellberg, J. et al., 2008).

Los índices de vegetación se utilizan comúnmente para cuantificar la cubierta vegetal, el vigor y la densidad de las plantas, no necesariamente se utilizan en cultivos, sino que también se pueden utilizar para conocer el estado de los bosques y selvas (Zahawi, R. A. et al., 2015). El Índice de Vegetación con Diferencia Normalizada (NDVI), distingue la vegetación que crece activamente de las características del suelo, este es el índice de vegetación más ampliamente utilizado en este tipo de estudios. Otros índices para medir la cubierta comúnmente usados son el Índice de Vegetación Ajustada al Suelo (SAVI), el Índice de Vegetación Mejorada (EVI), el Índice Modificado de Vegetación Ajustada al Suelo (MSAVI) y el Índice Transformado de Vegetación Ajustada al Suelo (TSAVI) (Lawley, V. et al., 2016).

Para obtener los índices de vegetación se necesitan imágenes tomadas con cámaras especiales que puedan captar la luz en diferentes longitudes de onda, así como de programas que permitan obtener la información de dichas imágenes. Las imágenes están formadas por píxeles, los cuales están representados por números que indican la intensidad de color, por lo que una imagen es una matriz, en donde su tamaño depende de la resolución de la cámara. Si no fuera por la ayuda de la computadora, sería prácticamente imposible realizar las operaciones algebraicas para poder obtener los índices de vegetación.

Por otro lado, cuando el tamaño de los cultivos es muy grande, es prácticamente imposible y muy poco práctico obtener fotografías desde el suelo, es aquí donde se ha incorporado del uso de Vehículos Aéreos no Tripulados (VANTs), mejor conocidos como drones. Conforme avanza la tecnología, cada vez es más fácil volar un dron. Actualmente se permite programar la ruta de vuelo para que el dron recorra la superficie que se desea analizar, lo cual implica el ahorro sustancial de tiempo y esfuerzo.

El objetivo general del proyecto es tomar imágenes de diferentes plantas y de diferentes estados de salud,

para poder identificar los valores numéricos que caracterizan dicha planta y su estado de salud, así como poder identificar si la planta necesita de agua, carece de nutrientes o cualquier otro factor que este limitando su crecimiento. Para poder diferenciar estos estados de salud, la imagen se pigmenta con colores fácilmente reconocibles.

En este trabajo se presenta el análisis mediante el NDVI calculado de imágenes tomadas con un dron aéreo. El NDVI proporciona suficiente información sobre la salud de las plantas, como puede ser el verdor de sus hojas, velocidad de crecimiento, presencia de agua, etc. El dron utilizado es el Phantom 4 de la marca DJI. El Phantom 4 tiene una estabilización muy alta, por lo que no importa si hace mucho viento, el dron permanecerá en el mismo lugar y a la misma altura, sin necesidad de que el usuario lo controle. Para el cálculo del NDVI se requieren una cámara con características especiales que permita capturar imágenes cercanas al infrarrojo, por lo cual, al Phantom4 se le adaptó una cámara infrarroja de la marca Sentera (Sentera Single Sensor). Finalmente, el cálculo del NDVI de las imágenes tomadas se realizó primero con el software AgVault, de la misma marca Sentera, y posteriormente con Matlab.

MARCO TEÓRICO

A. NDVI (Índice de Vegetación Normalizada)

El Índice de Vegetación con Diferencia Normalizada (NDVI) es un indicador numérico para caracterizar el verdor de las plantas saludables. El NDVI de una imagen aprovecha las características de reflexión de dos bandas, por un lado, la absorción de la banda roja debido a la clorofila y, por otro lado, la reflexión de la banda infrarroja cercana debido a la estructura celular de la planta. De esta manera, la vegetación sana y abundante, absorbe una gran cantidad de luz visible y refleja la luz infrarroja cercana (NIR), mientras que la vegetación menos saludable y escasa refleja más luz visible y menos NIR (Nouri, H. et al., 2017).

Tabla 1. Diferencias entre imágenes satelitales y de drones.

Imágenes satelitales	Imágenes de drones
Imágenes muy grandes (en algunos casos deben ser mayores a 5 km ²).	Pueden ser imágenes con resolución de hasta 1 cm, así como imágenes de varios m ² (ortomosaico).
Las imágenes se toman con intervalos de tiempo de hasta varios meses.	Se pueden tomar las imágenes cuando se requiera.
Se puede programar el satélite para que tome la imagen en una fecha determinada, pero esto tiene un costo.	Por lo único que se paga es por el dron y la cámara, una vez obtenidos, se pueden tomar imágenes cuando se desee.
Está a merced de las nubes.	Las nubes no le afecta demasiado.

Los valores del NDVI pueden variar de -1.0 a +1.0, de esta manera los valores cercanos a +1.0 indican una vegetación verde y abundante, los cercanos a 0.0 indican que la vegetación no es verde, no es abundante o que simplemente es tierra, mientras que los valores cercanos a -1.0 hacen referencia a que hay agua presente en la imagen (Franco, S. F. et al., 2017).

Las imágenes que proporcionan la información de la banda roja e infrarroja pueden ser obtenidas por medio de imágenes satelitales o por imágenes tomadas con cámaras especiales colocadas en los drones. Las diferencias entre ambas se pueden observar en la Tabla 1.

Debido a que el área que se pretende estudiar es relativamente pequeña, además de los otros factores mencionados en la Tabla 1, se decidió utilizar el dron como medio de obtención de imágenes.

B. Cámara Sentera-AgVault

Para obtener las imágenes se utilizó la cámara Single Sensor de Sentera y sus especificaciones técnicas se pueden observar en la Tabla 2.

Tabla 2. Especificaciones técnicas de la cámara.

Resolución	1.2 MP
Tamaño del pixel	3.75 µm
Conteo de pixeles	1248 horizontal / 950 vertical
Tamaño	25.4mm x 33.8mm x 37.3mm
Peso	30 gramos
Formato de imagen	JPEG, TIFF

Esta cámara es especial debido a que puede captar la luz en el espectro rojo visible, así como el espectro infrarrojo, esto lo hace con la ayuda de algunos filtros. En la Figura 1 se muestran los filtros que tienen las cámaras comunes en comparación con los de las cámaras de Sentera.

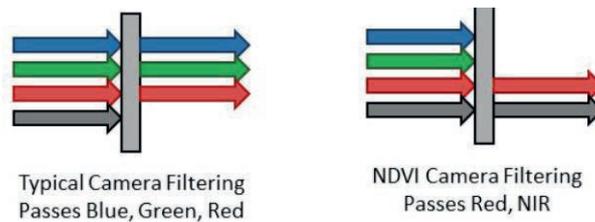


Figura 1. Filtros de las cámaras comunes en comparación con la cámara de Sentera.

En algunas fuentes de información se menciona que la fórmula para obtener el NDVI es la siguiente:

$$NDVI = \frac{NIR - VIS}{NIR + VIS} \quad (1)$$

en donde NIR es el valor de la banda infrarroja cercana y VIS es el valor de la banda roja visible. Sin embargo, en Sentera indican que para obtener el NDVI de sus cámaras, adapta el cálculo de NDVI a las características de su cámara, como se muestra a continuación:

$$NDVI = \frac{(1.45 * NIR) - (0.45 * VIS)}{(0.55 * NIR) + (0.45 * VIS)} \quad (2)$$

METODOLOGÍA

Para este trabajo se tomaron imágenes prueba en el campo de fútbol de la Unidad Académica, en donde se puede encontrar pasto, arbustos, árboles, y una pista de tierra, así se pueden observar diferentes tipos de superficies y obtener diferentes rangos de valores. La metodología implementada para este trabajo se divide el trabajo en las siguientes etapas.

1. Captura de las imágenes.

Para trazar las rutas del dron existen aplicación como Pix4D que son bastante útiles, sin embargo, se debe pagar mensualmente por usarla, por lo que se optó por utilizar Waypoints, que es un modo de vuelo que posee el dron, el cual consiste en llevar al dron a los puntos de interés e irlos guardando con la ayuda del GPS que tiene integrado, así el dron recorrerá la ruta de los puntos guardados.

Para tomar las imágenes se debieron tomar en cuenta los siguientes puntos:

- Las nubes no deben obstaculizar la luz de la zona a tratar.
- Las imágenes se deben tomar a una hora tal que no proyecten sombra.
- El recorrido del dron debe ser a bajas velocidades para que las imágenes no resulten borrosas.
- La altura a la que vuela el dron no debe ser muy alta para que se obtenga la mejor resolución.
- El ángulo de la cámara debe ser de 90° con respecto al suelo.

2. Cálculo del NDVI con AgVault.

La marca Sentera tiene un software que permite obtener el NDVI de las imágenes capturadas con sus cámaras, este software es el AgVault con el que se puede guardar un registro de las imágenes tomadas, así como la ubicación de los cultivos a través de un mapa. Con el NDVI obtenido se puede modificar el número de colores utilizados, así como colocar límites en los valores de interés.

La manera de utilizarlo es muy sencilla, basta con importar las imágenes obtenidas con la cámara y automáticamente el programa obtiene el NDVI, de tal manera que no se necesita de ningún conocimiento previo sobre imágenes.

3. Cálculo del NDVI con Matlab.

Con el NDVI obtenido con AgVault y sabiendo como trabaja este programa se puede comenzar a trabajar con Matlab. El uso de Matlab proporciona además el uso de otras herramientas procesar las imágenes.

Una vez cargada la imagen en Matlab, se implementa el siguiente procedimiento:

- Separar la imagen del sensor en el espectro del rojo visible y el infrarrojo.
- Utilizar estas dos imágenes obtenidas y aplicar la ecuación (2) para obtener el NDVI.
- Matlab nos da una imagen en escala de grises, por lo que para visualizar la imagen se le aplica una gama de colores, ya sea una predeterminada o creando una nueva, para resaltar las diferentes áreas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las imágenes obtenidas con el dron se pueden observar en la Figura 2, en donde se hace una comparación de como se ve una imagen normal y una infrarroja.



a)



b)

Figura 2. a) Imagen a color; b) Imagen de la cámara infrarroja.

Una vez que la imagen infrarroja es procesa con el programa AgVault, nos regresa una imagen como la de la Figura 3, en donde las zonas saludables se resaltan con colores verdes, mientras que la tierra y las plantas secas se muestran con pigmentación roja. Comparando la imagen de AgVault con la obtenida en Matlab (Figura 4), se puede apreciar que son similares, con la diferencia de que se utilizan gamas de colores distintas y que en Matlab se pueden apreciar más detalles.

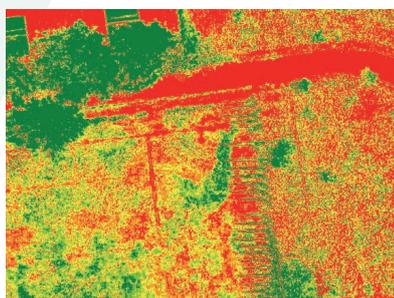


Figura 3. NDVI obtenido con AgVault.

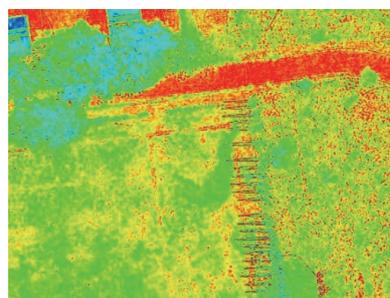


Figura 4. NDVI obtenido por medio de Matlab.

CONCLUSIONES

Al término del proyecto se a llegado a las siguientes conclusiones.

- El dron que se utiliza es muy estable a pesar de que el viento sea fuerte, permitiendo que permanezca en un solo lugar y que no se desvíe de los recorridos que se le programen.
- Las imágenes que toma la cámara infrarroja solo pueden ser utilizadas para obtener el Índice de Vegetación con Diferencia Normalizada, si se requiere utilizar otro índice será necesario conseguir una cámara multiespectral.
- Se necesita de un programa para realizar el ortomosaico de las imágenes para así poder ver el cultivo como un todo y no imagen por imagen.
- El programa AgVault está muy limitado por lo que se recomienda utilizar Matlab.

BIBLIOGRAFIA

- Ojha, T., Misra, S., & Raghuwanshi, N. S. (2015). Wireless sensor networks for agriculture: The state-of-the-art in practice and future challenges. *Computers and Electronics in Agriculture*, 118, 66-84.
- Srbinovska, M., Gavrovski, C., Dimcev, V., Krkoleva, A., & Borozan, V. (2015). Environmental parameters monitoring in precision agriculture using wireless sensor networks. *Journal of Cleaner Production*, 88, 297-307.
- Schellberg, J., Hill, M. J., Gerhards, R., Rothmund, M., & Braun, M. (2008). Precision agriculture on grassland: Applications, perspectives and constraints. *European Journal of Agronomy*, 29(2), 59-71.
- Zahawi, R. A., Dandois, J. P., Holl, K. D., Nadwodny, D., Reid, J. L., & Ellis, E. C. (2015). Using lightweight unmanned aerial vehicles to monitor tropical forest recovery. *Biological Conservation*, 186, 287-295.
- Lawley, V., Lewis, M., Clarke, K., & Ostendorf, B. (2016). Site-based and remote sensing methods for monitoring indicators of vegetation condition: An Australian review. *Ecological Indicators*, 60, 1273-1283.
- Nouri, H., Anderson, S., Sutton, P., Beecham, S., Nagler, P., Jarchow, C. J., & Roberts, D. A. (2017). NDVI, scale invariance and the modifiable areal unit problem: An assessment of vegetation in the Adelaide Parklands. *Science of the Total Environment*, 584, 11-18.
- Franco, S. F., & Macdonald, J. L. (2017). Measurement and valuation of urban greenness: Remote sensing and hedonic applications to Lisbon, Portugal. *Regional Science and Urban Economics*.

DEPÓSITO DE SEMILLAS Y CRECIMIENTO NANOCABLES DE ZNO

Adriana Gutiérrez Medina¹ y Harumi Moreno García²

RESUMEN

En el presente trabajo se describe la elaboración de nano semillas y de nanocables de óxido de zinc (ZnO), sobre sustratos metálicos sólidos de acero inoxidable y flexibles tipo Hastelloy-256. La síntesis de nanopartículas, usadas como semillas de ZnO y, posteriormente, la síntesis de los nanocables de ZnO, se realizaron por el método de crecimiento químico acuoso (ACG, por sus siglas en inglés aqueous chemical growth). Para conocer la morfología y composición elemental de las nanoestructuras fabricadas, se utilizaron las técnicas de microscopía electrónica de barrido (SEM, por sus siglas en inglés scanning electron microscopy), espectrometría por dispersión de energías de rayos X (EDX, por sus siglas en inglés Energy Dispersive X-ray spectroscopy), y espectrometría Raman.

Palabras Clave: Óxido de zinc, Nanocables, nanoestructuras.

ABSTRACT

In the present work the elaboration of nanoseeds and of nanowires zinc oxide, ZnO, on solid stainless steel substrates and flexible Hastelloy – 256 type are described. The synthesis of nanoparticles, used as seeds of ZnO and, later, the synthesis of ZnO nanocables, were made by the aqueous chemical growth (ACG) method. To know the morphology and elemental composition of the manufactured nanostructures, the techniques of scanning electron microscopy (SEM), Energy Dispersive X-ray spectroscopy (EDX), and Raman spectrometry.

Palabras Clave: Zinc oxide, Nanowires, nanostructures.

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, la tecnología a nivel nano ha tomado papeles importantes en diferentes ámbitos de la ciencia, ya que las estructuras nanométricas poseen propiedades ópticas, eléctricas, magnéticas, entre otras, por lo que se han desarrollado un sinnúmero de técnicas para su síntesis.

De entre toda esta gama de materiales nano, nos encontramos con el óxido de zinc, ZnO, que es un semiconductor que cuenta con un ancho de banda (E_g) de 3.37 eV, el cual está dentro del rango adecuado para aplicaciones optoelectrónicas de longitud de onda corta, además de presentar un amplio grupo de morfologías de crecimiento tales como los nanoanillos, nanohélices, nanocables, nanocintas y nanocajas (Zhong Lin 2004), siendo los nanocables de ZnO los que han recibido gran atención, pues son el sistema ideal para estudiar el proceso de transporte en objetos confinados unidimensionalmente (1D), beneficio para fenómenos fundamentales en sistemas de baja dimensión, así mismo para desarrollar nanodispositivos de alto rendimiento con un gran acoplamiento electromecánico y debido a su propiedad piezoeléctrica es un candidato idóneo para la fabricación de dispositivos en recolección de energía mecánica (Xu and Wang 2011). Hoy en día, en la literatura se reportan varios tipos de síntesis de nanocables, encontrando que los métodos químicos acuosos son los mejores ya que son simples, seguros y de bajo costo (Zafar et al. 2017), sin omitir que, esta técnica también permite modificar parámetros controlar eficazmente la morfología y las propiedades del producto final (Xu and Wang 2011).

En el presente trabajo nos enfocamos en la síntesis de nanocables de ZnO, usando la técnica por crecimiento químico acuoso (ACG), variando algunos parámetros para observar y analizar las modificaciones que estas generaron en la morfología de las estructuras utilizando sustratos de diversa composición.

MARCO TEORICO

Para comprender el proceso de síntesis de nanopartículas y nanocables partamos del hecho de que cuatro tipos de materiales están involucrados en la síntesis de nanopartículas, llamados: precursor, disolvente, catalizador y estabilizador. El precursor es el material principal para que ocurra la reacción en el proceso. Este material normalmente consiste en iones metálicos, elementos rodeados por varias especies reactivas llamados ligandos (Zanella 2012). Los solventes comunes son alcoholes, para el crecimiento de ZnO podrían ser solventes orgánicos, como metanol (Zafar et al. 2017). El catalizador es necesario para asegurar el acontecimiento de la hidrólisis y condensación. Algunos ejemplos de catalizadores son: ácido hidrocórico, hidróxido de potasio, hidróxido de sodio y amoníaco. Y por último los estabilizadores, como la etanolamina, hidróxido de tetrametilamonio y ácido etilendiaminotetraacético. (López, 2009). Como menciona López, 2009, probablemente los agentes químicos más comunes en la literatura, utilizados mediante el método hidrotermal para la síntesis de nanopartículas de ZnO, es el nitrato de zinc $Zn(NO)_2$ y la hexametilentetramina (HMTA) $[C_6H_{12}N_4]$. La densidad de nanocables de ZnO sobre el sustrato podría ser controlada por la concentración inicial de la sal de zinc y HMTA. (Xu et al. 2008). Para la formación de nanoestructuras de ZnO es necesaria una solución alcalina (Xu and Wang 2011), siendo que el pH tiene una influencia imprescindible. Así mismo en la literatura encontramos que la morfología de las nanoestructuras está íntimamente ligadas a

las variaciones en parámetros como el tiempo y la temperatura.

MÉTODOS Y MATERIALES

La preparación de las nanocintas fue realizada en los laboratorios nacionales CIACyT-UASLP, la cual consistió en dos partes, la primera es el depósito de nanosemillas de ZnO, y la segunda es el crecimiento de nano cintas de ZnO.

Primera parte. Preparación de semillas de ZnO

En un vaso de precipitado se mezcló 5 ml de acetato de zinc [$Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$] a concentración de 0.01M, y 5ml de metanol [CH_4] a concentración 1M. También se preparó una bureta con 10ml de hidróxido de potasio [KOH] a concentración 0.038M. En un vaso de precipitado se mezcla del el acetato de zinc y el metanol, posteriormente se introduce el sustrato procurando que estuviera de forma vertical y simultáneamente se agrega el hidróxido de potasio gota a gota con ayuda de una bureta. La solución obtenida se calentó en una parrilla eléctrica Thermo Scientific Cimarec Ceramic 7x7 Stirring Hot Plate, manteniendo en constante movimiento con agitador magnético durante 2 horas. En algunas de las pruebas realizadas se aplicó voltaje, el cual consistió en conectar un electrodo al sustrato y el otro electrodo conectado a la solución de la mezcla de los reactivos.(Zafar et al. 2017)

Se realizaron dieciséis pruebas etiquetadas en orden alfabético. Para algunas de ellas hubo variantes en la preparación como la temperatura, potencia en el agitador magnético, entre otros, que se especifican a continuación en la descripción de las pruebas.

Prueba A. Sustrato de acero inoxidable. Se calentó a temperatura de 60°C y con potencia 3 en el agitador magnético. El hidróxido de potasio se agregó en menos de 30 min.

Prueba B: Sustrato de acero inoxidable. Temperatura variante, comenzando en 60°C y aumentando 5°C cada 10 min, hasta llegar a 90°C, midiendo la temperatura constantemente con termómetro, y manteniendo la potencia 3 en el agitador magnético. El hidróxido de potasio se agregó en 1 hora.

Pruebas C, D y E: Sustrato C de acero inoxidable, Sustrato D metálico flexible. Sustrato E vidrio con polímero de sulfato de cobre. Temperatura variante, de 60°C a 90°C, aumentando 5°C cada 10 min, manteniendo el agitador a potencia 4. El hidróxido de potasio se agregó durante las 2 horas pero no de manera constante. El hidróxido de potasio resbaló por la superficie del sustrato C durante toda la preparación.

Pruebas F, G, H, I, J, K, O y P: Sustratos F, G, H, e I de acero inoxidable. Sustratos J, K, P y O tipo Hastelloy-256. Temperatura constante a 90°C y agitador magnético a potencia 4. El hidróxido de potasio fue agregado de manera constante durante las 2 horas.

Prueba L: Sustrato tipo Hastelloy-256. Temperatura constante a 90°C con agitador magnético a potencia 4. El hidróxido de potasio se agregó de forma constante durante las 2 horas. A esta prueba agregamos un voltaje de 15 Volts con intensidad de corriente de 0.009 A durante 1 hora 35 minutos.

Pruebas M y N: Sustratos tipo Hastelloy-256. Temperatura constante a 90°C con agitador magnético a potencia 4. El hidróxido de potasio se agregó de forma constante durante las 2 horas. A esta prueba agregamos un voltaje de 1 Volt con intensidad de corriente de 0.001 A durante 1 hora.

Segunda Parte. Crecimiento de nanocintas de ZnO.

Se mezclaron 10 ml de Hexametilentetramina (HMTA) [$C_6H_{12}N_4$] a concentración de 0.025M y 10 ml de nitrato de zinc hexahidratado [$Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$] a concentración 0.025M en un vaso de precipitado, se introdujo el sustrato a esta solución y todo este arreglo se sometió a baño químico durante 5 horas (Zafar et al. 2017), las temperaturas variaron para en la realización de las pruebas, usando 40°C para las pruebas B y D, 50°C para las pruebas H, J, K, M y O, y 60°C para las pruebas I y P.

Para la prueba B, se reemplazó el nitrato de zinc hexahidratado [$Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$] por sulfato de zinc [$ZnSO_4$] a concentración 1M.

RESULTADOS

El análisis para cada una de las pruebas se presenta a continuación, de forma similar que en el desarrollo experimental, se dividió en dos partes. No todas las pruebas fueron analizadas en la primera fase de la síntesis (depósito de semillas), así como no a todas las pruebas se les aplicó el procedimiento del crecimiento de nanocables de ZnO.

Las pruebas realizadas incluyen la medición de espectroscopia Raman y EDX, sin embargo, los resultados obtenidos mediante estos análisis no representan aportaciones significativas, pues en Raman, al encontrar poca concentración de las nanopartículas de ZnO, no se encontraron los modos propios del ZnO. Para las pruebas de EDX los resultados arrojaban que precisamente, en los depósitos de las nanopartículas encontradas sobre el sustrato, que estaban compuestos de Zn y O, este último procedimiento fue realizado únicamente en las pruebas A, B, C y D.

Primera parte. Depósito de semillas de ZnO.

Mediante la técnica SEM, se analizaron algunas pruebas, obteniendo los resultados siguientes.

Prueba A: Mediante el análisis de SEM, se encontró cúmulos de ZnO de forma remota por el sustrato, dichos cúmulos, presentaban gran tamaño sin alguna forma definida.

Prueba B: Se observó algunas conglomeraciones de semillas de ZnO en diferentes partes del sustrato, presentaron un tamaño y morfología más definidas que en caso anterior (prueba A).

Prueba C: En las Imágenes tomadas por SEM, se encontraron cúmulos de ZnO con forma de coral. Estas formaciones fueron encontradas en diferentes secciones del sustrato, en mayor cantidad en donde estaba el límite de la superficie de la solución. También se encontraron grandes cúmulos de ZnO.

Como se ha explicado en el método experimental, para esta prueba, el hidróxido de zinc resbaló directamente sobre el sustrato durante la deposición de semillas de ZnO, obteniendo como resultado estas formas de gran tamaño (50µm) sin definir.

Prueba D: Se encontró la presencia de semillas, está vez más dispersas pero con un tamaño aún variante.

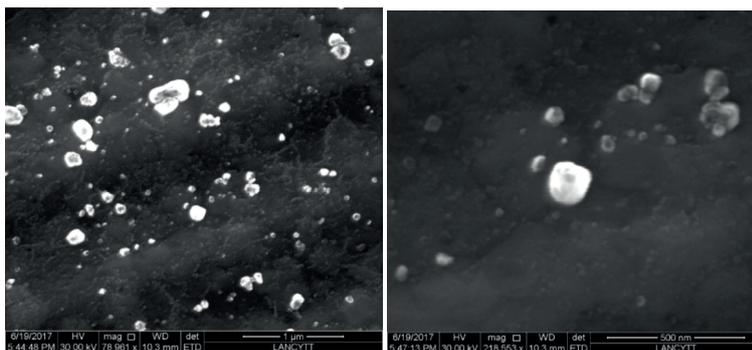


Figura 1. Imágenes obtenidas por SEM a) Se encontraron semillas en todo el sustrato, b) las semillas no tienen un tamaño homogéneo y presentaron un tamaño relativamente grande.

Prueba E: El recubrimiento con el polímero de sulfato de cobre resultó sumamente frágil, se desprendía con mucha facilidad, el tratamiento para la síntesis de semillas de ZnO causó daño al sustrato, por lo que no fue posible realizar pruebas sobre él.

Prueba F y G: Estas pruebas actuaron como testigo de las pruebas H e I.

Prueba K: Esta prueba acutó como testigo de las pruebas J, O y P. Encontrando una aceptable distribución de semillas de ZnO.

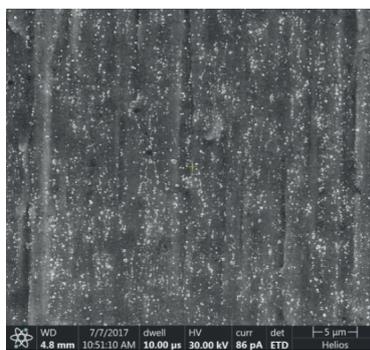


Figura 2. Imagen obtenida por SEM. Se encontró una dispersión de semillas uniforme en todo el sustrato.

Prueba L: El sustrato resultó altamente dañado, el voltaje aplicado fue demasiado alto, por lo que el sustrato presentó corrosión severa.

Prueba N: Esta prueba actuó como testigo de la prueba M. En las imágenes obtenidas mediante SEM podemos apreciar la presencia de semillas distribuidas uniformemente, sin embargo, también resulta evidente el desgaste que ocasionó, el aplicar voltaje, a la superficie del sustrato. Los resultados de estas pruebas en comparación con los resultados obtenidos en la prueba anterior (prueba K) no difieren de forma significativa en cuanto a la distribución de las semillas, por lo que se considera que el voltaje aplicado no causó mejoras. Segunda parte. Crecimiento de nanocintas de ZnO.

Prueba B: El sustrato presentó erosión, encontrando que la sustitución del hidróxido de zinc hexahidratado $[Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O]$ por el sulfato de zinc $[ZnSO_4]$ no produjo los resultados esperados, cabe resaltar que las concentraciones usadas para cada uno de los reactivos difiere en gran medida.

Prueba D: En las imágenes obtenidas por SEM, se encontraron formaciones cilíndricas de gran tamaño, conglomeradas en ciertas regiones del sustrato, también se pudieron apreciar la presencia de semillas. Las nanopartículas aún no tenían definida su forma, éste resultado fue el pionero en la utilización de sustratos Hastelloy-256.

Prueba H: Se encontró la presencia de algunos nanocables considerablemente más definidos, al aumentar la temperatura estos comenzaron a crecer, sin embargo hemos de notar que aún queda la presencia de nanosemillas, y que la densidad de los nanocables es pobre.

Prueba I: Se obtuvieron nanocables de morfología muy bien definida, con forma hexagonal, sin embargo, hay poca densidad los nanocables en el sustrato.

Pruebas J y M: Las imágenes tomadas en SEM se omiten ya que no presentaron aportaciones significativas, al no haber encontrado presencia de nanocables, sino encontrando morfología similar a la reportada en la primera parte del desarrollo experimental para la prueba K.

Prueba O: Se encontró la presencia de nanocables de ZnO, con morfología no definida completamente, sin

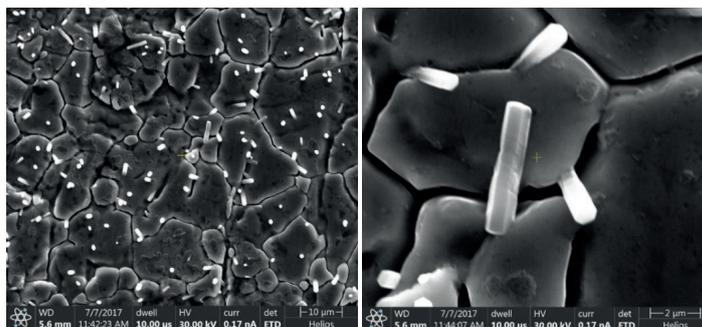


Figura 3. Imágenes tomadas por SEM. Encontramos la presencia de nanocables de ZnO. En a) y b) apreciamos la morfología de los nanocables desde diferente profundidad.

embargo, encontramos mejora en la apariencia de los nanocables para sustratos Hastelloy – 256.

Prueba P: Encontramos nanocables con mayor distribución y densidad que en pruebas anteriores, demostrando que la temperatura es un factor primordial en esta fase de la síntesis.

CONCLUSIONES

Para perfeccionar la técnica de crecimiento de nanocables por ACG, hay que hacer una gran cantidad de pruebas, en las que se varíen algunos parámetros tales como la temperatura y el tiempo, además de que es necesario tomar en consideración algunas otras mediciones como el pH, el cual se ha reportado en la literatura, como fundamental en la síntesis de nanocables de ZnO, por lo que ha futuras pruebas se

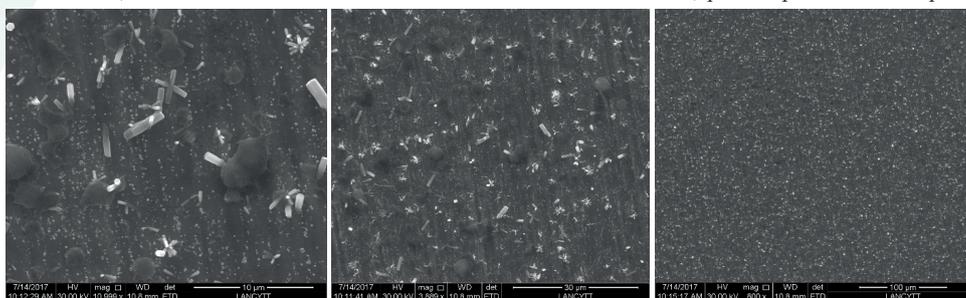


Figura 4. Imágenes tomadas por SEM. Encontramos la presencia de nanocables de ZnO. En a) y b) apreciamos diferentes zonas del sustrato. En c) se muestra una vista general de la superficie del sustrato.

recomienda incluir este parámetro en las mediciones, así mismo, quedan pendientes modificaciones en el procedimiento experimental para obtener mejores resultados.

En las pruebas realizadas, en la parte de depósito de semillas de ZnO, la temperatura y sobre todo la velocidad y constancia con la que se va agregando el hidróxido de potasio [KOH] es esencial para obtener una distribución uniforme de semillas de ZnO en el sustrato. Y en la segunda parte, de síntesis de nanocables, la temperatura jugó un papel importante, sin dejar de lado que hay que considerar la composición de cada uno de los sustratos, ya que los resultados varían y es necesario considerar condiciones específicas para cada uno.

El trabajo presentado funge como precursor en la obtención de nanocables de ZnO, con la finalidad de que, una vez obtenidos dichas estructuras en todo el sustrato con la densidad adecuada de cables, se puedan estudiar y caracterizar las propiedades piezoeléctricas para aplicaciones en nanogeneradores.

BIBLIOGRAFIA

- López, Alejandra. 2009. "Crecimiento de nanoalambres de óxido de zinc verticalmente alineados usando el método sol-gel hidrotermal (Tesis de licenciatura)." Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ciencias Físico-Matemáticas.
- Xu, Sheng, Changshi Lao, Benjamin Weintraub, and Zhong Lin Wang. 2008. "Density-Controlled Growth of Aligned ZnO Nanowire Arrays by Seedless Chemical Approach on Smooth Surfaces." *Journal of Materials Research* 23(8):2072–77.
- Xu, Sheng and Zhong Lin Wang. 2011. "One-Dimensional ZnO Nanostructures: Solution Growth and Functional Properties." *Nano Research* 4(11):1013–98.
- Zafar, Mubeen, Muhammad Naeem Awais, Muhammad Asif, Amir Razaq, and Gul Amin. 2017. "Fabrication and Characterization of Piezoelectric Nanogenerator Based on Al/ZnO/Au Structure." *Microelectronics International* 34(1):35–39. Retrieved (<http://dx.doi.org/10.1108/MI-11-2015-0092>).
- Zhong Lin, W. 2004. "Zinc Oxide Nanostructures: Growth, Properties and Applications." *Journal of Physics: Condensed Matter* 16(25):R829--R858.

ANÁLISIS DE SISTEMAS AUTOMATIZADOS DE IRRIGACIÓN POR MEDIO DE TECNOLOGÍA IOT

Ricardo Arroyo Aguirre¹ y Huizilopoztli Luna Garcia²

RESUMEN

La implementación de Tecnologías de la Información y Comunicación (TICs) en los diferentes ámbitos de la sociedad es cada vez mayor; el sector agrícola no es la excepción, de acuerdo con la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) para el año 2050 se tendrá que dar solución al problema de alimentar a 9.6 millones de personas que se predice habitarán el planeta. Una forma de abordar esta problemática es el uso de Tecnología IoT (Internet of Things) para desarrollar la agricultura inteligente, esto permitirá aumentar la calidad y cantidad en la producción agrícola, asimismo, aportará importantes beneficios asociados con un mejor control y optimización de la inversión en recursos energéticos e hídricos. El objetivo principal de esta investigación fue realizar un análisis sobre algunos sistemas automatizados de irrigación disponibles en la literatura que usan tecnología IoT, describir sus principales características e identificar el modelo arquitectónico base que utilizan.

ABSTRACT

The implementation of Information and Communication Technologies (ICTs) in the society is increasing the agricultural sector is not an exception, according to FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) by the year 2050 will have to solve the problem of feeding 9.6 million people who will habit the planet . One way to attend this problem is the use of IoT (Internet of Things) technology to develop intelligent agriculture this will increase the quality and quantity in agricultural production, and will bring important benefits associated with better control and optimization of investment in energy and water resources. The main objective of this research was to perform an analysis on some automated irrigation systems available in the literature using IoT technology, to describe its main characteristics and identify the basic architectural model which are used.

Palabras Clave: Sistema de riego, Agricultura de precisión, IoT (Internet of Things)

INTRODUCCIÓN

En la última década uno de los conceptos relacionados con el avance en la tecnología es el Internet de las Cosas o IoT por sus siglas en inglés. El IoT es una tecnología que permite desarrollar proyectos innovadores en diversos ámbitos tecnológicos, por ejemplo, la agricultura. Los cultivos basados en la agricultura inteligente o de precisión abarcan actividades de monitoreo, uso de herramientas de soporte para la toma de decisiones y la realización de acciones que controlan automáticamente uno o varios sistemas, por ejemplo: riego, protección de heladas, fertilización, entre otros.

De acuerdo con Almirón (2007) del 100% del agua consumida en el mundo, lo seres humanos destinan el 70% a la agricultura y el 30% restante se destina a usos domésticos, municipales e industriales, sin embargo, estos porcentajes pueden variar de acuerdo con el clima de cada una de las regiones en el mundo, por ejemplo, los países industriales de las regiones húmedas y templadas dedican a la agricultura una proporción menor de agua que los países en desarrollo en los trópicos áridos, asimismo, menciona Almirón que del 30 al 40% de los alimentos producidos en el mundo estos provienen de cultivos de regadío y abarcan una extensión de 250 millones de hectáreas.

Actualmente los mayores esfuerzos se dirigen a la agricultura bajo riego, que depende principalmente del agua de los ríos o del agua subterránea de los acuíferos. En un estudio de la FAO realizado en 93 países en desarrollo, se observó que en 18 de ellos la agricultura de regadío ocupa más del 40 por ciento del área cultivable y otros 18 países entre el 20 y el 40 por ciento (FAO, 2002).

El riego es un componente esencial para el desarrollo agrario sustentado, sin embargo, la escasez de agua en algunos países constituye una importante limitación para su desarrollo. En muchos países, la competencia creciente por el agua es consecuencia del aumento en la demanda para solventar las necesidades básicas del ser humano, esto deriva en el incremento de su costo y en su limitación para otros sectores, por ejemplo, el agrícola. De acuerdo con (Santos, De Juan, Picornell, & Tarjuelo, 2010), una posible solución podría ser la implementación de Tecnología IoT en la agricultura, ya que a través del uso de una serie de sensores y una aplicación informática se podría potenciar la calidad y cantidad en la producción de distintos alimentos y al mismo tiempo eficientar el uso del agua.

MARCO TEORICO

Los Sistemas de Irrigación son el conjunto de obras, dispositivos y artificios necesarios para captar, conducir, distribuir y aplicar de una manera racional y eficiente el agua en la agricultura (Anon, 2017). De acuerdo con (Aubert de Pasa, Puvis, Nadault de Bufón), la palabra irrigación únicamente era usada en la medicina en Francia hasta que en la primera mitad del siglo XIX agrónomos e ingenieros Franceses deciden adoptarla en el ámbito de la agricultura derivado del descubrimiento de los sistemas de riego en el extranjero, donde ya era usada para definir el proceso de riego de sus cultivos.

El Internet de las Cosas (IoT) consiste en que las cosas tengan conexión a Internet en cualquier momento y lugar. En un sentido más técnico, consiste en la integración de sensores, dispositivos y objetos cotidianos que quedan conectados a Internet a través de redes fijas e inalámbricas. Internet de las cosas (IoT, por sus siglas en inglés) no es una idea nueva. A principios de los años noventa, el MIT (Massachusetts Institute of Technology) acuñó el término Internet de las Cosas.

Este concepto mundialmente conocido como el IoT, consiste en que tanto personas como objetos puedan conectarse a Internet en cualquier momento y lugar. El Internet de las Cosas y los procesos automatizados están transformando una serie de industrias, la agroindustria es una de ellas. Para los grandes productores el uso de estas plataformas es ya una realidad, sin embargo, para los agricultores particulares podría ser la oportunidad de obtener mayor rendimiento de sus terrenos de cultivo debido a las ventajas de producción que brindan estas tecnologías. (Anon, 2017)

MÉTODOS Y MATERIALES

Los datos utilizados para el desarrollo de esta investigación fueron la búsqueda de información bibliográfica sobre sistemas de irrigación automatizados que utilizan tecnología IoT como su principal componente tecnológico, posteriormente, se identificaron componentes, atributos y otros factores que intervienen en los diversos sistemas de irrigación automatizados. La tarea de revisión bibliográfica de investigación comprende identificación, selección, análisis crítico de la información documentada existente sobre algunos sistemas automatizados de irrigación. En primera instancia, se realizó una búsqueda de información sobre sistemas de irrigación automatizados en la literatura, se identificaron 21 artículos relacionados los cuales fueron analizados; esto permitió conceptualizar el tópico de investigación inicialmente e identificar y seleccionar los artículos de mayor relevancia para el proyecto de investigación. Como resultado se seleccionaron 4 artículos, los cuales se describen brevemente a continuación:

1) Sistema de Riego basado en el Internet de las Cosas (IoT) (Anaya Isaza, y otros, 2016). Este artículo plantea una arquitectura para sistemas de irrigación como propuesta principal (ver figura 1).

Como puede observarse en la figura 1, el sistema consta de distintos tipos de nodos, entre ellos, nodos sensores con respaldo y sin respaldo, nodos actuadores, nodo recolector y Gateway o coordinador. La diferencia de los

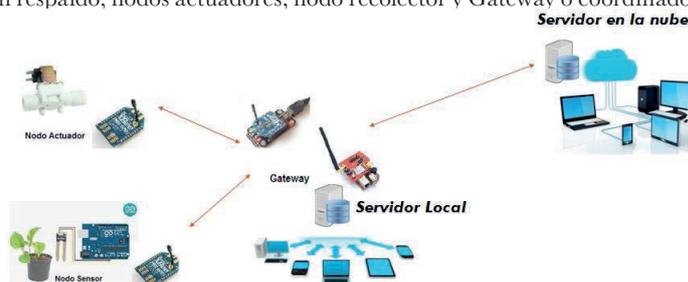


Figura 1. Arquitectura planteada para el sistema de irrigación por IoT.

nodos sensores radica en el almacenamiento local de la información en Micro SD como lo hace el nodo con respaldo, el nodo coordinador encargado de recibir los datos transmitidos desde los diferentes nodos sensores y almacenarlos en una base de datos, y permite el control de los actuadores (electroválvulas, motobombas).

2) Modelo de sistema de riego automatizado alimentado con energía solar fotovoltaica Colombiano (Moreno, Bedoya Fierro, & López Martínez, 2013), en esta investigación se propone otra propuesta de modelo de sistema de riego, implementado en un cultivo de 504 árboles de aguacates. En la propuesta es posible identificar los diferentes tipos de sensores que utiliza el sistema de riego. De acuerdo Moreno y otros (2013), la estructura del modelo a escala está constituido por: el nodo sensor (Sensor de humedad de suelo, Sensor de ultrasonido Ping Parallax y Sensor de temperatura LM35), el nodo actuador (Electrobomba, Electroválvula) y nodo controlador (Tarjeta Arduino Uno R3: plataforma programación de software libre).

3) Sistema de riego autónomo basado en el internet de las cosas (Castro Silva, 2016), en este trabajo se presenta una propuesta de arquitectura para sistemas de riego (ver figura 2) que consta de: nodos sensores, nodo coordinador o Gateway y nodo de cómputo en la nube; este último nodo es el servidor local, el cual réplica del servidor en la nube la funcionalidad del sistema para la comunicación y coordinación de control. Cada nodo del sistema consta de diversos componentes hardware, entre ellos: nodo sensor (sensor de humedad de suelo, sensor de temperatura, modulo detección de gotas de lluvia y humedad, sensor ultrasónico, sensor de temperatura ambiente), nodo coordinador (arduino, RaspBerry- Pi, Xbee módulo de comunicación, módulo de comunicación Bluetooth y WIFI).

4) Propuesta de un sistema para optimizar el riego en invernaderos de plantas heterogéneas usando WNS y algoritmos evolutivos (López, y otros, 2016), la propuesta principal de los investigadores fue el diseño de una

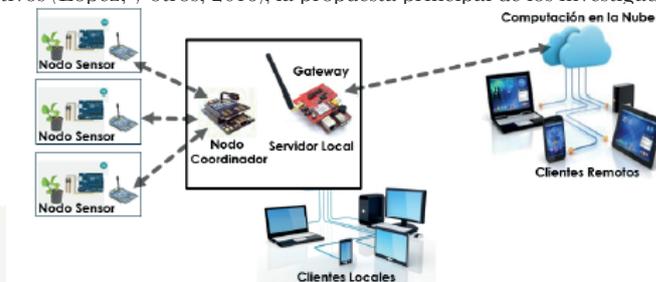


Figura 2. Arquitectura del sistema de riego autónomo basado en IoT.

arquitectura de red centralizada conformada por nodos sensores que recaban la información sobre variables de temperatura y humedad ambiental y de la tierra; nodos actuadores que permiten el flujo y suministro de agua; un nodo inteligente que analiza la información obtenida y ejecuta un algoritmo de optimización que permite establecer los tiempos de riego y un servidor que almacena los datos recabados por el sistema. También cuenta con un nodo central encargado de la comunicación entre nodos y actuadores. Se utiliza la tecnología IEEE 802.15.4 o Zigbee para la comunicación inalámbrica.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Una vez analizado cada una de las propuestas presentadas en la sección anterior, se identificó que la arquitectura base que comparten estos sistemas de irrigación automatizados la incluyen 3 nodos (controlador, actuador y sensor), sin embargo, la diversidad de los sistemas es consecuencia de los componentes de los cuales se constituye su estructura. Un riego automático integrado por IoT se constituye de dos partes esenciales; el sistema físico y el sistema lógico (controlador) como se ilustra en la figura 3, el controlador como núcleo central, encargado de dar las órdenes a las electroválvulas para que cierren o abran en función de las necesidades y por otra parte las electroválvulas, dispositivos electromecánicos que cortan o dejan pasar el flujo de agua.

El Internet de las Cosas (IoT) permite una transición de los sistemas de irrigación tradicionales a sistemas de irrigación inteligentes, a través de la recolección de datos y el uso de los mismos, dando control y flujo

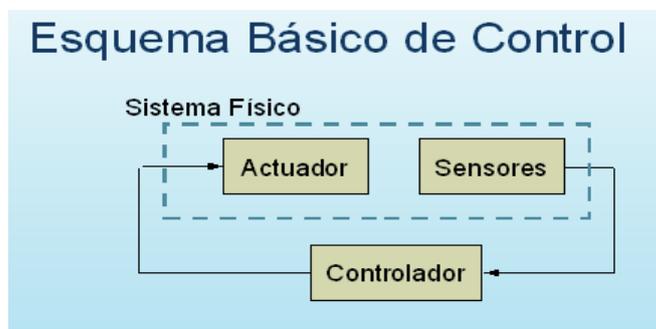


Figura 3. Esquema Básico de Control Controlador PC Actuador Sistema.

de variables ambientales como la humedad de suelo y la temperatura; esto con el fin de decidir por cuánto tiempo y qué cantidad de agua se debe suministrar a las plantas, según su requerimiento. Es importante contemplar en el desarrollo de un proyecto de riego inteligente, la estructura que sugiere Everlet & Pastor (2013), ver figura 4.

Como puede observarse en la figura 4, la adaptación del modelo base de un sistema de riego con integración de la estructura propuesta por (Everlet & Pastor, 2013), permite un mejor sistema de riego ya integra en una

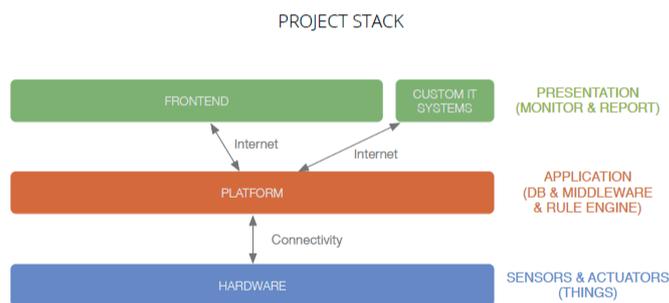


Figura 4. Construyendo un proyecto de IoT.

sola plataforma el Hardware necesario para la automatización del riego y el Software para su administración y supervisión.

Finalmente, es posible mencionar que los sistemas de riego que usan tecnología IoT han demostrado que pueden ofrecer una solución innovadora a los sistemas de riego tradicionales, ya que a través de ellos se obtienen beneficios, por ejemplo, el uso más eficiente del agua, a través de soluciones como el riego adaptado, automático y sustentable, entre otros. Asimismo, la inclusión del IoT en este sector puede constituir un factor diferencial en el modo y costo de operación de las tierras de regadío así como contribuir a reducir la huella medio ambiental derivada de la actividad humana.

BIBLIOGRAFIA

almirón, e. (2004). el agua como elemento vital en el desarrollo del hombre. (observatorio de políticas públicas de derechos humanos en el mercosur) recuperado el 14 de 07 de 2017, de http://www.observatoriomercosur.org.uy/libro/el_agua_como_elemento_vital_en_el_desarrollo_del_hombre_17.php#autor

anaya isaza, a., peluffo ordoñez, d., rios, j. i., castro silva, j., carvajal ruiz, d., & espinoza llanos, l. (2016). researchgate. obtenido de sistema de riego basado en la internet de las cosas (iot): https://www.researchgate.net/publication/315793360_sistema_de_riego_basado_en_la_internet_de_las_cosas_iot

anon. (18 de 07 de 2017). obtenido de <http://irrigacion.chapingo.mx/planest/documentos/4-1/sistemasdeirrigacion.pdf>

anon. (18 de 07 de 2017). soluciones telcel. obtenido de automatización y iot ¿el futuro de la agricultura?: <http://www.telcelsoluciones.com/articulos/automatizacion-y-iot-el-futuro-de-la-agricultura>

castro silva, j. (15 de 01 de 2016). re-unir repositorio digital. obtenido de <http://reunir.unir.net/handle/123456789/3648>

fao. (2002). uso agrícola del agua. obtenido de agua y cultivos: <http://www.fao.org/docrep/005/y3918s/y3918s03.htm>

haghe, j. p., & durand-dastes, f. (2014). hypergeo. obtenido de irrigación: <http://www.hypergeo.eu/spip.php?article502>

lópez, v. d., carlos lino ramírez, r., flores, b., araiza, m. á., rodríguez, v. m., cervera, s. j., & zamora, g. e. (2016). propuesta de un sistema para optimizar el riego en invernaderos de plantas heterogéneas usando wns y algoritmos evolutivos. *research in computing science* 113, 131–145. obtenido de http://www.rcs.cic.ipn.mx/2016_113/propuesta%20de%20un%20sistema%20para%20optimizar%20el%20riego%20en%20invernaderos%20de%20plantas%20heterogeneas.pdf

moreno, f. g., bedoya fierro, j., & lópez martínez, g. a. (2013). modelo a escala de un sistema de riego automatizado, alimentado con energía solar fotovoltaica: nueva perspectiva para el desarrollo agroindustrial colombiano. *tecnura*, 33-47.

santos, l., de juan, j. a., picornell, m. r., & tarjuelo, j. m. (2010). el riego y sus tecnologías. albacete: crea-uclm, 296p.

GENOTIPIFICACIÓN DE ZEA MAYS DE UN PANEL DE DIVERSIDAD

Christian Lona-Arrona¹ y Rubén Rellán-Álvarez²

RESUMEN

La historia del maíz es muy enigmática y apasionante, a lo largo de los años se han realizado diversos experimentos para la identificación de distintos genes de *Zea mays* en su domesticación, el laboratorio de genética y genómica del maíz realizó experimentos en tierras de cultivo de tierras altas y tierras bajas mexicanas donde crecieron una población de cartografía de RIL de maíz y un panel de diversidad de 120 variedades terrestres compuesto por maíz de tierras altas y tierras bajas. A partir de estas plantas fueron capaces de identificar alrededor de 125 especies de glicerolípidos que están usando de diferentes maneras para identificar los loci involucrados en el metabolismo de glicerolípidos. Mostraron estos resultados y en particular un interesante QTL en ch3 donde un candidato fosfolipasa gen parece ser responsable de fosfatidilcolina (PC) a la conversión de lisofosfatidilcolina (liso-PC).

ABSTRACT

The history of maize is very enigmatic and exciting, over the years have been several experiments to identify different genes of *Zea mays* in their domestication, the laboratory of genetics and genomics of maize conducted experiments on land cultivated land Highlands, and Mexican lowlands where a population of RIL maize mapping and a diversity panel of 120 terrestrial varieties composed of upland and lowland maize grew. From these plants were able to identify about 125 species of glycerolipids that they are using in different ways to identify the loci involved in the glycerolipid metabolism. They showed these results and in particular an interesting QTL at ch3 where a candidate phospholipase gene appears to be responsible for phosphatidylcholine (PC) at the conversion of lysophosphatidylcholine (lyso-PC)

Palabras Clave: QTL, Maíz, Genotipación, loci.

INTRODUCCIÓN

Durante más de un siglo, la enigmática historia del maíz (*Zea mays* ssp. *Mays*) ha fascinado y frustrado tanto a los botánicos como a los arqueólogos. Las culturas y civilizaciones de la Mesoamérica prehispánica son un testimonio duradero de la importancia del maíz como motor del desarrollo socioeconómico. Sin embargo, la historia completa de la domesticación del maíz y la subsiguiente radiación sigue sin resolverse. En los últimos años, un aumento en la disponibilidad de datos genéticos ha avanzado mucho nuestra comprensión de la historia del maíz. (Sawers et al. 2011).

El antepasado del maíz, *Balsas teosinte* (*Zea mays* ssp. *Parviglumis*), es nativo de las regiones de baja a mediana elevación del suroeste de México. Una segunda subespecie, *Chalco teosinte* (*Zea mays* ssp. *Mexicana*), se distribuye en las tierras altas más frías y secas del centro de México, a más de 1800 metros. El maíz (*Zea mays* ssp. *Mays*) fue domesticado de *parviglumis* hace unos 9.000 años en el valle de Balsas. Después de la domesticación, el maíz colonizó el altiplano mexicano, posiblemente ayudado por la introgresión significativa de la variación adaptativa del mexicano. Después de la domesticación, el maíz también se mueve hacia el sur a América del Sur. Allí, un segundo evento independiente de la colonización de las tierras altas ocurrió en los Andes.



Figura 1. Distribución geográfica de *parviglumis* y *mexicana* teosintes. Mapa de México mostrando las principales zonas ecológicas. Las regiones de Balsas y Valle de Tehuacán también (Sawers et al. 2011).

Después de la domesticación del teosinte de tierras bajas en los subtropicales mexicanos, el maíz colonizó las tierras altas de México y Sudamérica. En las tierras altas mexicanas y sudamericanas, el maíz encontró temperaturas más bajas y en varios suelos de áreas volcánicas con baja disponibilidad de fósforo. El laboratorio de genética y genómica del maíz se planteó la hipótesis de que estas dos tensiones abióticas fueron las principales fuerzas selectivas durante la adaptación del maíz a las tierras altas y el metabolismo de glicerolípidos forma dado baja temperatura y la deficiencia de P tienen efectos opuestos sobre el contenido relativo de especies de glicerolípidos. Donde el laboratorio utilizando este sistema para explorar cómo las vías metabólicas cambian durante el proceso de adaptación local y utilizar fenotipificación metabólica junto con genética cuantitativa y poblacional para identificar loci que podría haber estado bajo selección durante los eventos locales de adaptación.

El laboratorio de genética y genómica del maíz realizó experimentos en tierras de cultivo de tierras altas y tierras bajas mexicanas donde crecieron una población de cartografía de RIL de maíz y un panel de diversidad de 120 variedades terrestres compuesto por maíz de tierras altas y tierras bajas. A partir de estas plantas fueron capaces de identificar alrededor de 125 especies de glicérolípidos que están usando de diferentes maneras para identificar los loci involucrados en el metabolismo de glicérolípidos. Mostraron estos resultados y en particular un interesante QTL en ch3 donde un candidato fosfolipasa gen parece ser responsable De fosfatidilcolina (PC) a la conversión de lisofosfatidilcolina (liso-PC).

Con los resultados de un posible candidato gen fosfolipasa responsable de la conversión de fosfatidilcolina (PC) a la conversión de lisofosfatidilcolina (liso-PC), se planteó la posibilidad de realizar una genotipificación de las regiones conocidas para encontrar este posible gen candidato de un panel de biodiversidad compuesto por distintas variedades de maíz de tierras altas y tierras bajas, específicamente, el cromosoma 3 de Zea mays.

MÉTODOS Y MATERIALES

Extracción y cuantificación de ADN de maíz

Previamente se tuvo el tejido congelado a -80°C donde se recolectaron pequeños círculos de cada hoja del panel de biodiversidad de las 90 distintas variedades en tubos eppendorf que se utilizaron en un tissuelyser, posteriormente se le agregó buffer 300 μl UEB1, se calentó y centrifugó por 7 minutos a 14000 RPM. Posteriormente se transfirieron 200 μl del sobrenadante, que se le agregó isopropanol y se centrifugó a 14000 RPM por 7 minutos. Se retiró el sobrenadante y se le agregó al tubo eppendorf 200 μl de etanol al 70%, se centrifugó a 14000 RPM por 7 minutos. Se retiró el etanol y se observó una pequeña pastilla al fondo del tubo eppendorf la cual se resuspendió en 30 μl de agua TE.

Se cuantificó el ADN extraído usando 1 μl de cada muestra en un nanodrop para utilizar la misma cantidad de ADN en los posteriores experimentos.

Composición de buffer UEB1

- 5M NaCl
- 1M Tris-HCl pH 4.8
- 20% sarkosyl

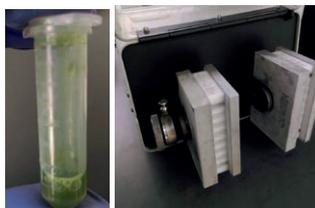


Figura 2. Tubo eppendorf con muestra molida después de utilizar el tissuelyser mostrados en la parte derecha.

PCR (Reacción en cadena de la polimerasa).

Se realizó la PCR con las siguientes características:

Buffer	1X	Las condiciones de reacción son:		
dNTP's	0.2mM	inicio	95° 3:00	
Oligonucleótido reverse	0.2mM	Desnaturalización	94° 0:30	35 ciclos
Oligonucleótido forward	0.2mM	Alineamiento	60° 0:30	
DMSO	4%	Extensión	72° 1:00	
Betaina	N/A	Terminación	72° 10:00	
Enzima polimerasa	1 μl			
H ₂ O	N/A			
DNA	1 μl			

Las condiciones, así como cada uno de los componentes de la reacción cambiaban en volumen según el fragmento a amplificar.

RESULTADOS

Para la obtención de la amplificación de los fragmentos 5 y 6 se tuvieron demasiados problemas ya que no se conocía al principio el problema del porque no amplificaba la región adecuada del fragmento 5 del cromosoma 3 de Zea mays que eran 734 pb así como el fragmento 6 que son 774pb, por lo que de las 96 muestras, tras un arduo trabajo para mejorar el protocolo así como de todos los componentes y principalmente la polimerasa se lograron amplificar 15 muestras.



Figura 3. Gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de Etidio. Carriles 1,13; marcador de peso molecular, carriles 2-12 y 14-21 muestras amplificadas en el fragmento 5 con 734 pares de bases.

CONCLUSIONES

Con la estrategia utilizada para amplificar los fragmentos resulto muy ineficaz, ya que los oligonucleótidos lograban amplificar otras lipasas, que no eran la esperada por lo que al final después de muchos intentos solamente se lograron amplificar 20 muestras, las cuales se llevaran a secuenciar para conocer si realmente el gen candidato se encuentra en todas las variedades del panel de diversidad. La posible estrategia a utilizar para lograr la amplificación del gen adecuado de la lipasa, sería utilizar un oligonucleótido reverse que tenga secuencia al 3' UTR para que en la reacción de cadena de la polimerasa se logre amplificar el fragmento 5 y 6 juntos, donde después con los oligonucleótidos específicos para cada fragmento se logre secuenciar las partes específicas de cada uno de los fragmentos.

AGRADECIMIENTOS

A todo el laboratorio de Genética y genómica del maíz del LANGEBIO, al Dr. Rubén Rellán, así como al Dr. Juan Estévez por su paciencia y conocimiento brindado durante todo el verano, a mis amigos de verano y a CONACYT por el apoyo económico.

BIBLIOGRAFIA

1. Ruairidh J. H. Sawers, Nidia L. Sanchez Leon (2011) "Origins of Maize: A Further Paradox Resolved" *frontiers in genetic* 2011; 2:53-58.
2. Shohei Takuno, Peter Ralph, Kelly Swarts, Rob J. Elshire (2015) "Independent Molecular Basis of Convergent Highland Adaptation in Maize" *Genetics* Aug; 2015(4): 1297–1312.
3. Bedoya CA, Dreisigacker S (2017) "Genetic diversity and population structure of native maize populations in Latin America and the Caribbean." *PLoS One*. 2017 Apr 12;12(4):e0173488. doi: 10.1371/journal.pone.0173488. eCollection 2017

EVALUACIÓN DE LA INDUCCIÓN DE RESISTENCIA A ESTRÉS BIÓTICO EN PLANTAS DE CHILE (*CAPSICUM ANNUM* L.)

Gerardo Avila Martínez¹ y Laura Mejía Teniente²

RESUMEN

La finalidad de este trabajo fue evaluar la función del compuesto quitosano el cual ha demostrado generar tolerancia y/o resistencia a estrés biótico en plantas jóvenes de chile, llevándose a cabo la aplicación foliar con tres diferentes concentraciones. Se realizó la interacción elicitor y estrés biótico evaluando la respuesta fenotípica con los componentes A y B de los geminivirus PepGMV y PHYVV.

ABSTRACT

The purpose of this work was to evaluate the role of the chitosan compound, which has been shown to generate tolerance and/or resistance to biotic stress in young plants of chile, with foliar application being carried out with three different concentrations. The elicitor interaction and biotic stress were evaluated by evaluating the phenotypic response with components A and B of geminiviruses PepGMV and PHYVV.

Palabras Clave: Capsicum, quitosano, elicitor, geminivirus, mecanismos defensivos.

INTRODUCCIÓN

Dentro del género *Capsicum*, la especie *C. annum* es la de mayor distribución e importancia en el mundo, debido a los diferentes usos en que se emplea y a la excelente adaptación que presenta (Long-Solís, 1986; Pickersgill, 1997; Ulloa, 2006). El chile es uno de los cultivos hortícolas más importante en México; se consume preferentemente en estado fresco (Valadez, 2001). Sin embargo es afectado por enfermedades fitopatógenas causadas por hongos, bacterias y virus, que son el mayor problema de la producción del chile (Sandoval, 1993). La quitina y sus derivados como el quitosano son efectivos en el control de enfermedades y plagas vegetales. Sus mecanismos de acción están vinculados a su estructura química. Pueden actuar sobre el organismo patógeno, o inducir mecanismos defensivos en las plantas, contra varias enfermedades vegetales antes y después de la cosecha (Ramírez, 2010). Diversos trabajos demuestran la capacidad del quitosano para disminuir los daños en los cultivos mediante la inducción de mecanismos de defensa ante estrés biótico, a través de la activación de determinadas enzimas, como algunas proteínas relacionadas con la patogénesis (PRs -Pathogenesis Related proteins, por sus siglas en inglés) (González, 2014). Por lo tanto, el objetivo de la presente investigación fue evaluar la respuesta fenotípica en chiles poblanos (*Capsicum annum* L.) aplicando el elicitor quitosano e inoculando la mezcla viral de Geminivirus (PHYVV y PePGMV).

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del experimento

El trabajo experimental fue establecido en junio del 2017, utilizando un espacio de 6 x 4 metros en uno de los jardines de la Sede Mutualismo del Campus Celaya-Salvatierra de la Universidad de Guanajuato, ubicada dentro de la ciudad de Celaya.

Diseño del experimento

Las plantas fueron establecidas en bolsas de cultivo utilizando un diseño experimental de parcelas divididas con cuatro tratamientos (tratamiento 1 control con agua, tratamiento 2 concentración 100 µg/ml, tratamiento 3 concentración 670 µg/ml y tratamiento 4 concentración 1000 µg/ml). La parcela contiene treinta y seis plantas de cada tratamiento con tres repeticiones totalizando 120 plantas.

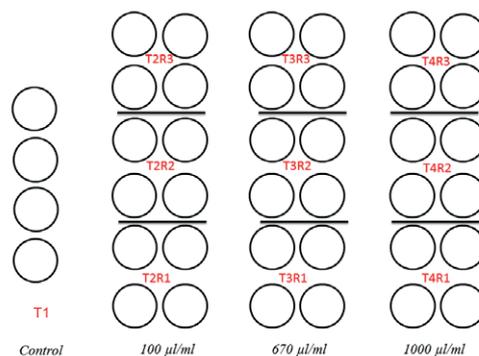


Figura 1. Diseño del experimento

Material Vegetal

Se utilizaron plántulas de chile poblano (*Capsicum annum* L.) variedad Carranza adquirida de un proveedor semillero certificado.

Preparación de concentraciones de Quitosano

Se utilizó el reactivo quitosano en polvo de la marca SIGMA-ALDRICH para preparar tres soluciones de 100, 670 y 1000 µg/ml con una solución stock de concentración 4000 µg/ml.

Para la solución stock se usaron 0.4 gramos de quitosano, 1 ml de ácido acético glacial y 99 ml de agua destilada en un matraz volumétrico de 100 ml. Las tres soluciones se obtuvieron mediante la ecuación 1, tomando tres alícuotas de la solución stock, para la concentración 100 µg/ml se usaron 0.005 ml, para la concentración de 670 µg/ml se usaron 0.0335 ml, por último la concentración 1000 µg/ml requirió de 0.05 ml, adicionándose respectivamente a un matraz volumétrico de 200 ml hasta aforar.

$$C_1V_1 = C_2V_2 \quad (1)$$

Obtención de ADN viral

Los componentes A y B de geminivirus PHYVV y PepGMV fueron proporcionados por Cinvestav-Irapuato. Dichos componentes se encuentran dentro de la bacteria *E. coli*. Dentro del plásmido Blue Script de forma dimérica. La extracción se realizó de acuerdo al protocolo Sambrook et al., 1989 e incubando previamente las bacterias en medio Lb adicionado con ampicilina durante 16 h a 37°C.



Figura 2. Fragmento de ADN plasmídico esperado, carriles 5 y 6 componente A, 7 y 8 componente B de PHYVV, carriles 9 y 10 componente A, componente B en carriles 11 y 12 de PepGMV. El tamaño aproximado de los plásmidos es 2.5-2.9 Kb.

Inoculación

Una vez obtenida la concentración de 5 microgramos totales (componentes A y B de cada virus) para cada planta, se procedió a realizar la inoculación por medio de inyección, aplicándose con jeringas de insulina en la nervadura principal de una hoja apical joven suficientemente grande para soportar la inyección.

Toma de muestra

La toma de muestra se realizó en los tiempos 0 (previo), 5 minutos, 1 hora, 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas y 120 horas después de la aplicación del elicitor. Las muestras fueron mantenidas en nitrógeno líquido para su transporte para su posterior resguardo en ultracongelador a -80°C.

RESULTADOS

En la figura 3 no se muestran síntomas severos respecto al control positivo (figura 5), claramente se observa la presencia de mosaicos típica de la infección por geminivirus. En la figura 4, se aprecian síntomas diferentes respecto al control positivo.



Figura 3. Control negativo



Figura 4. Tratamiento 2 con presencia del virus



Figura 5. Control positivo



Figura 6. Tratamiento 2

CONCLUSIONES

La aplicación de elicitores en especial el quitosano se logra apreciar una respuesta diferente con respecto al control positivo, debido a que se logró apreciar fenologías ligeramente diferentes. Posteriormente la inoculación de la mezcla viral se presentó una sintomatología mayor en controles positivos, esto nos muestra que la aplicación es efectiva y puede llevarse a cabo en la agricultura intensiva para aminorar la pérdida en el rendimiento de los cultivos en especial del género *Capsicum* por factores bióticos, además de la reducción en el consumo de pesticidas.

La concentración 670 µg/ml (tratamiento 2) mostró un mejor funcionamiento respecto a los demás tratamientos, en cuanto a la altura no hubo diferencias significativas. El presente trabajo sigue en curso para poder detallar mejor el experimento y aprovechar las muestras disponibles del muestreo.

BIBLIOGRAFÍA

- González Peña, D., Costales, D., & Falcón, A. B. (2014). Influencia de un polímero de quitosana en el crecimiento y la actividad de enzimas defensivas en tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Cultivos Tropicales*, 35(1), 35-42.
- Long, S. J. 1986. *Capsicum* y cultura: la historia del chili. Fondo de Cultura Económica. México, D. F. 181 p.
- Pickersgill, B. 1997. Genetic resource and breeding of *Capsicum* spp. *Euphytica* 96:129-133.
- Ulloa, C. 2006. Aromas y sabores andinos. In: Morales, R. M.; Øllgaard, B.; Kvist, L. P.; Borchsenius, F. y Balslev, H. (Eds). *Botánica económica de los Andes Centrales*. Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, Bolivia. 313-328 pp.
- Ramírez, M. Á., Rodríguez, A. T., Alfonso, L., & Peniche, C. (2010). La quitina y sus derivados, biopolímeros con potencialidades de aplicación agrícola. *Biotecnología aplicada*, 27(4), 270-276.
- Sandoval, B. J. 1993. Chile. Enfermedades infecciosas de los cultivos. Ed. Trillas. 125-136 pp.
- Valadez, L. A. 2001. Producción de hortalizas. Solanáceas. 9a (Ed.). Editorial Limusa, S. A de C. V. México. 186p.

AGRADECIMIENTOS

El proyecto fue realizado con recursos SICES a través del convenio 137/2016 UG de la convocatoria para jóvenes investigadores y recurso PRODEP a través de la convocatoria de apoyo a la incorporación de nuevos PTC 2015 registro NPTC-484.

INFLUENCIA DEL MÉTODO DE SECADO SOBRE EL CONTENIDO DE POLIFENOLES Y LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN MANZANILLA, TOMILLO, HIERBABUENA Y MENTA.

Pérez Vega Itzel Alejandra¹ y Feregrino Pérez Ana Angelica²

RESUMEN.

Las especias son plantas aromáticas que son utilizadas para preservar o sazonar diversos alimentos y platillos típicos mexicanos. Además de ello se destacan las propiedades medicinales de las especias han sido atribuidas a diversos componentes, entre ellos los compuestos polifenólicos. En el presente trabajo se valoraron el contenido de fenoles totales, taninos condensados, flavonoides totales y actividad antioxidante mediante la técnica DPPH; en cuatro diferentes especias: manzanilla, tomillo, hierbabuena y menta, las cuales presentaban dos tipos de secado: liofilización y secado convencional; comparando estos dos secados se detectó que las muestras liofilizadas presentaron valores más altos en cada una de las pruebas realizadas, siendo este la mejor alternativa de secado para conservar dichos compuestos.

ABSTRACT.

Spices are aromatic plants that are used to preserve or season various foods and typical Mexican dishes. In addition to this it is noted the medicinal properties of spices have been attributed to various components, including polyphenolic compounds. In the present work, the content of total phenols, tannins, total flavonoids and antioxidant activity were evaluated by means of the DPPH; In four different spices: chamomile, thyme, peppermint and mint, which had two types of drying: lyophilization and conventional drying; Comparing these two drying it was detected that the lyophilized samples presented higher values in each of the tests performed, being this the best drying alternative to conserve said compounds.

Palabras Clave: Especias, polifenoles, capacidad antioxidante.

INTRODUCCIÓN.

Las especias y condimentos pueden aportar numerosos fitoquímicos con potencial funcional al organismo de quien las consume. Muchos de estos pueden contribuir a la prevención de varias enfermedades crónicas no transmisibles que aquejan al mexicano. (Mercado, 2013)

Por lo cual estos fitoquímicos tienen una función antioxidante dietético. Entendiendo como antioxidante dietético a una sustancia que forma parte de los alimentos de consumo cotidiano y que puede prevenir los efectos adversos de especies reactivas sobre las funciones fisiológicas normales de los humanos (Coronado, 2015).

El amplio espectro de antioxidantes polifenólicos que se obtienen a partir de plantas es probable que complementen el resto de la dieta y a los generados internamente. Los mecanismos antioxidantes podrían explicar las relaciones entre la calidad dietética y los resultados en salud. La alimentación desempeña un papel importante para determinar y fijar el antioxidante intrínseco del cuerpo; para que sea competente en el lugar correcto, en el tiempo correcto, con el perfil correcto, y para permitir desempeñar su papel (Mark, 2013).

Por lo cual es de vital importancia tener en cuenta la capacidad antioxidante que pueda brindar cada una de las especias y las implicaciones que estas pudieran tener en la salud y en la industria como un medio para tener un medio de conservación alternativo.

El secado convencional resulta poco conveniente para la mayoría de los alimentos, ya que para ello se necesitan temperaturas elevadas, permitiendo que se pierdan parte de los nutrientes, cambia el color del alimento y modifica la textura del mismo (Fernández, 2015). Por el contrario, en el caso de la liofilización que se realiza a temperaturas de congelación permitiendo que la mayoría de los compuestos nutritivos se mantengan intactos, sin cambios importantes en color y textura de las muestras (Ramírez, 2006)

En el presente trabajo se aborda la valoración del contenido de fenoles totales, taninos condensados, flavonoides totales y actividad antioxidante mediante la técnica DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo); en cuatro diferentes especias: flor de manzanilla, tomillo, hierbabuena y menta, las cuales presentan dos tipos de secado: liofilización y secado convencional; teniendo como objetivo determinar el tipo de secado contribuye a conservar mayor cantidad de polifenoles y capacidad antioxidante en una muestra de especias.

MATERIALES Y MÉTODOS.

Material.

El registro de las medidas de absorbancia, a longitud de onda fija, se llevó a cabo con un Espectrofotómetro Termo Fisher Scientific modelo Multiskan GO 1510.

Preparación de la muestra.

Las muestras se colocaron en un tubo de reacción 25 mg de las muestras secas y se mezcló con 2.5 ml de metanol cada una; se mantuvieron en agitación continua durante 24 horas para posteriormente centrifugarse a 5000 rpm en 4°C durante 10 minutos.

Contenido de fenoles totales.

El análisis de fenoles totales se realizó por espectrofotometría, basándose en una reacción colorimétrica de óxido-reducción. A 40 µL de extracto se le agregaron 460 µL de agua destilada, 250 µL de reactivo Folin-Ciocalteu, 1250 µL de Na₂CO₃ al 20%. Se midió a una longitud de onda de 760 nm después de 2 horas a temperatura ambiente y en ausencia de la luz. Se realizó una curva de calibración con ácido gálico entre 0 a 1000 mg/L. El contenido de polifenoles totales se expresó en mg equivalentes de ácido gálico por gramo de materia seca.

Contenido flavonoides totales.

Para obtener el contenido de flavonoides total se colocó 50 µL del extracto metanólico fue determinado por el método de (Oomah, et al, 2005) más 180 µL de metanol, posteriormente se adicionó 20 µL de solución 2-aminoetil-di-fenilborato al 1%. La absorbancia fue medida a 404nm. Se usaron soluciones de 2 – 200 mg/mL para construir la curva de calibración (r² = 0,994). El contenido de flavonoides totales fue calculado como mg equivalentes de rutina por gramo de muestra seca. Este procedimiento se llevó a cabo por triplicado con cada una de las especias estudiadas.

Determinación de taninos totales.

Para el contenido de taninos totales se tomó 50 µL del extracto metanólico y se colocó en la placa de 96 pozos más 200 µL de solución 1:1 (vainillina 1% - HCl 8%), para el blanco se le adicionó 50 µL de metanol más 200 µL de HCl al 4%. La absorbancia fue medida a 492nm. Se usaron soluciones de (+) catequina entre 0.1 – 0.8 mg/mL, para construir la curva de calibración. El contenido de taninos totales fue calculado como mg equivalentes de (+)catequin-vainillina por gramo de muestra seca.

Determinación de capacidad antioxidante.

DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo).

Este método se basa en la reducción de la absorbancia medida a 520 nm del radical DPPH, por antioxidantes. 20 µL de la muestra se le añadió 200 µL DPPH, las medidas de absorbancia a 520 nm se realizaron al minuto 0 y pasados los 10 y 30 minutos. La concentración de DPPH en el medio de reacción se calcula a partir de una curva de calibrado obtenida por regresión lineal. Los resultados se expresan en actividad equivalente a Trolox.

RESULTADOS.

Los datos obtenidos en los análisis de polifenoles y actividad se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Capacidad antioxidante y polifenoles

Métodos.	Manzani llo llofilizad a	Manzani llo seco convenci onalmen te	Hierbab uena llofilizad a	Hierbab uena seco convenci onalmen te	Tomillo llofilizad a	Tomillo seco convenci onalmen te	Menta llofilizad a	Menta seco convenci onalmen te
Fenoles mg/g	165.2	75.2	718	156.8	179.2	86.5	680.6	246.9
Taninos mg/g	151.3	31.3	172.4	36.4	55.6	5.5	175.3	47.6
Flavonoides mg/g	13,525	10,255	11,094	13,335	6,020	2,781.6	11,578	7,637
DPPH %I	15.3	14.2	16.8	16.6	16.9	12.8	18.5	16.3

En la Figura 1 se muestra el contenido de fenoles totales (mg equivalentes de Ácido gálico/g de muestra seca) de las cuatro diferentes muestras, comparado cada tipo de muestra con el tipo de secado que se hizo (llofilizada y secado convencional), donde se observa que existe diferencia sustancial en la composición química en ambos métodos de secado. , puesto que los compuestos de las plantas están metabólicamente más activos en aquellas especias que se sometieron a llofilización.

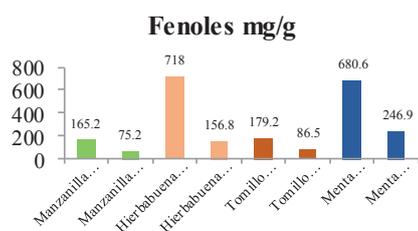


Figura 1. Contenido de fenoles con los tratamientos de secado por liofilización y secado convencional.

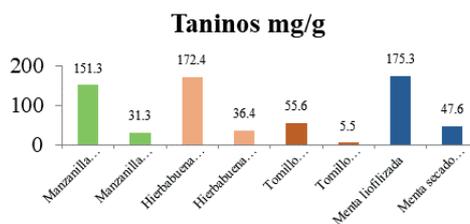


Figura 2. Contenido de taninos con los tratamientos de secado por liofilización y secado convencional.

En la Figura 2 se presentan los resultados del contenido de taninos (mg equivalentes de (+) catequin vainillina/g de muestra seca) en las muestras de manzanilla, hierbabuena, tomillo y menta deshidratadas mediante las técnicas de liofilización y secado convencional. Hay diferencia significativa entre los tratamientos, ya que se conservan mejor los taninos propios de la planta a temperaturas bajas. En la Figura 3 se muestra el contenido de flavonoides (mg equivalentes de rutina/g de muestra seca) al igual que en las Figuras 1 y 2 se muestra una diferencia importante en el contenido compuestos antioxidantes, viéndose conservados de una mejor manera en el tratamiento por liofilización. Sin embargo se encuentra una excepción, ya que en la hierbabuena secada por el método convencional se encuentra mejor conservado su contenido de flavonoides.

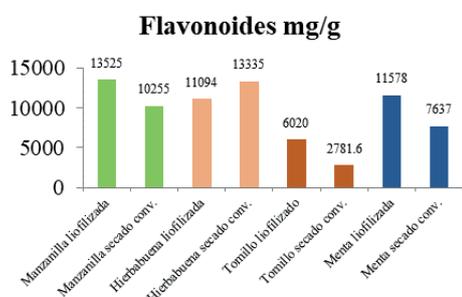


Figura 3. Contenido de flavonoides con los tratamientos de secado por liofilización y secado convencional.

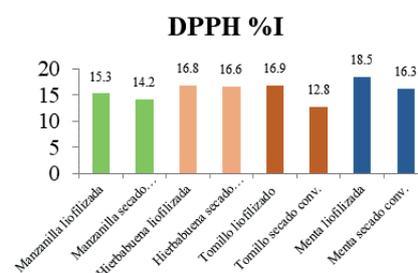


Figura 4. Contenido de DPPH %I con los tratamientos de secado por liofilización y secado convencional.

Al observar la Figura 4, se puede afirmar que las especias tratadas con liofilización presentan un porcentaje de inhibición superior al de las muestras de secado convencional, con excepción de la hierbabuena, la cual presenta los mismos valores para ambos tipos de secado. Sin mencionar que en el tomillo se encuentra una diferencia considerable entre ambos tipos de secado siendo el que conserva mejor la capacidad antioxidante es el liofilizado.

CONCLUSIONES

Los métodos de secado influyen en el contenido de flavonoides, taninos condensados y fenoles totales, conservándose mejor en el secado por liofilización con algunas excepciones como lo es en el caso de la menta, la cual los conserva mejor por el método de secado convencional. En cuanto a los análisis con DPPH se obtuvo un %I más elevado en el grupo de especias secadas por liofilización.

BIBLIOGRAFIA.

- CORONADO, M & COLS. (2015). "Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana" en Revista chilena de Nutrición, No. 2 pp.206-212. Consultada en <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182015000200014> (fecha de consulta 05-08-2017)
- FERNÁNDEZ, D. & COLS. (2015). "Cinética de secado de fruta bomba (Carica papaya L., cv. Maradol Roja) mediante los métodos de deshidratación osmótica y por flujo de aire caliente" en Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias, No. 1 pp. 22-28. Consultada en http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S2071-00542015000100003&script=sci_arttext&tlng=pt (fecha consultada 13-08-2017)
- MARK, L & COLS. (2013). "Antioxidant relevance to human health" en Asia Pac J Clin Nutr, No. 2, pp. 171-176. Consultada en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23635359> (fecha de consulta 05-08-2017).
- MERCADO, G & COLS. (2013). "Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México" en Nutrición hospitalaria, No. 1, pp. 36-46. Consultada en <http://dx.doi.org/10.3305/nh.2013.28.1.6298> (fecha de consulta 05-08-2017).
- OOMAH, B & COLS (2005). "Fenoles y actividad antioxidante en el frijol" en Journal of the Science of Food and Agriculture. No. 6, pp. 935-942 Consultada en <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jsfa.2019/abstract> (fecha de consulta 05-08-2017)
- RAMIREZ, J. (2006). Liofilización de alimentos, Colombia, Universidad del Valle.

TOLERANCIA A ESTRÉS POR SEQUÍA INDUCIDO POR HONGOS ENDÓFITOS

Hernández Monasterio Susana y Morales Vargas Adán Topiltzin .

RESUMEN

Actualmente existen varios estudios que sugieren que todas las plantas son simbióticas con hongos y otros microorganismos y que dichas asociaciones pueden desempeñar un papel fundamental en la adaptación de las plantas a ambientes de alto estrés. Los hongos endófitos son microorganismos que crecen dentro de los tejidos vegetales sin causar síntomas aparentes de enfermedad, esta interacción se considera mutualista debido a que el endófito obtiene nutrientes y protección por parte de la planta huésped, mientras que a su vez este contribuye a la resistencia de la planta contra ataques de herbívoros, patógenos y estrés abiótico. En este trabajo se evaluó el papel de tres hongos endófitos provenientes del lirio acuático de un canal de aguas contaminadas, en la capacidad de plantas de frijol para tolerar condiciones de sequía, además de su influencia en el crecimiento y desarrollo de las mismas.

ABSTRACT

There are studies that suggests that all plants are symbiotic with fungi and other microorganism and this associations can play a key role in adapting plants to high stress environments. Endophytic fungi are microorganisms that live inside plant tissues without causing disease symptoms. This interaction is considered mutualist because the endophyte obtains nutrients and protection from the plant host while returning metabolites that contribute to host resistance against herbivores, pathogens and abiotic stress. We evaluated the role of three endophytic fungi in the ability of bean plants to tolerate drought conditions and their influence on their growth and development.

Palabras clave: Hongo endófito, mutualista, planta huésped, estrés abiótico, adaptación, sequía, resistencia.

INTRODUCCIÓN

Debido a su incapacidad de locomoción, las plantas dependen de una compleja fisiología para evadir o mitigar daños que puedan llevarlas a la muerte como los ocasionados por agentes patógenos, factores ambientales y organismos herbívoros (Martínez et al. 2010), Generalmente, las plantas vasculares han sido consideradas como organismos autónomos; sin embargo, la investigación moderna sugiere que todas las plantas en sus ecosistemas nativos son simbióticas con hongos y otros microorganismos (Lamabam et al., 2011). Actualmente existen varios estudios que plantean que las asociaciones entre hongos y plantas pueden desempeñar un papel fundamental en la adaptación de las plantas a ambientes de alto estrés.

Los hongos endófitos son organismos que colonizan los tejidos internos (raíz, hojas y tallo) de las plantas sin causar enfermedad aparente (Martínez et al. 2010). Esta interacción entre el hongo y la planta se considera mutualista (Carrol, 1988), ya que en ella el hongo endófito que habita los tejidos vegetales obtiene nutrientes y protección por parte de la planta huésped, mientras que a su vez éste devuelve metabolitos que contribuyen a la resistencia de la planta contra ataque de herbívoros, patógenos y estrés abiótico, ayudando así a mejorar su aptitud en ambientes hostiles (Saikkonen et al. 1998). Reportes científicos demuestran que la presencia de endófitos en plantas expuestas a condiciones de estrés por sequía retarda el marchitamiento de 2 a 3 veces más que en plantas carentes de ellos, si bien, aunque no se conocen los mecanismos de tolerancia a la sequía conferidos por el endófito, el tiempo de marchitamiento tardío se correlaciona con una reducción del uso del agua en un 20 a 33% (Redman, 2011). Sin embargo, es importante destacar que esta interacción mutualista está sujeta a cambios y su estabilidad depende de varios factores como estrés ambiental, senescencia de la planta y los mecanismos de defensa por parte de la planta a la infección (Schulz & Boyle, 2005). La tolerancia al estrés conferida simbióticamente es considerada un fenómeno específico del hábitat con endófitos que; por ejemplo, al ser aislados de ambientes geotérmicos confieren tolerancia al calor pero no a la sal, y endófitos costeros que confieren tolerancia a la sal, pero no al calor (Rodríguez et al., 2008). No obstante, debido a que una planta puede ser habitada por más de un endófito, éstos además de interactuar con la hospedera, también interactúan entre ellos, muchas veces compitiendo y mitigando los efectos de otro (Sánchez, 2013). En este trabajo se evaluó el papel de tres hongos endófitos, en la capacidad de plantas de frijol para tolerar condiciones de sequía, además de su influencia en el crecimiento y desarrollo de las mismas. Al ser aislados estos endófitos del lirio acuático presente en el Canal de Coria ubicado en la ciudad de Irapuato, Gto., el cual actualmente sufre de contaminación, se esperaría observar efectos positivos al menos por parte de un hongo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cultivo de hongos y recolección de conidios.

Se realizó un duplicado en medio de agar papa dextrosa (PDA) de los hongos endófitos seleccionados (H3, H12, HTC). Posteriormente se recolectaron los conidios de las placas añadiendo 10 ml de una solución de SDS al 0.1% y raspando suavemente las esporas con un asa microbiológica estéril.

Germinación de semillas

Se seleccionaron 120 semillas de frijol Pinto Villa las cuales fueron colocadas en charolas de plástico sobre papel absorbente húmedo. Las semillas permanecieron una semana en dichas condiciones y durante este periodo fueron rociadas con agua constantemente.

Inoculación de hongos endófitos

La solución procedente de la recolección de conidios se aforó a un volumen de 250 ml, en la cual se sumergieron las plantas por un lapso de 15 minutos. Posteriormente fueron trasplantadas en macetas individuales, con un sustrato compuesto de $\frac{3}{4}$ partes de peatmoss y una $\frac{1}{4}$ parte de tierra negra.

Aplicación del tratamiento

Para evaluar la capacidad de los endófitos de inducir tolerancia a estrés por sequía se realizaron tres tratamientos (uno para cada hongo) con un n=9 con su respectivo control; además de un control positivo y un control negativo. Inicialmente, todas plantas fueron regadas de forma continua durante 2 semanas cada tercer día, posteriormente los controles de cada tratamiento y el control positivo fueron regados cada tercer día mientras que en los tratamientos y el control negativo el riego fue interrumpido por un periodo de 16 días. Una vez transcurrido este tiempo se reestableció el riego por dos semanas más.

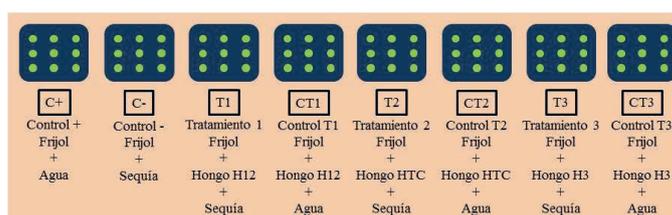


Figura 1: Distribución de tratamientos de hongos endófitos aplicados a cada grupo de plantas (n=9).

Identificación de hongos

La identificación de hongos se realizó utilizando la técnica de Ridell (microcultivo) y posteriormente los datos se procesaron en el software Micellium Touch.

Aislamiento de DNA

Se realizó una extracción de cada uno de los hongos utilizados en este experimento utilizando el kit de NORGEN Fungi/Yeast Genomic DNA Isolation Kit (Cat. 27300).

Evaluación de respuesta a estrés

Las plantas se rehidrataron por un periodo de dos semanas; se retiraron de las macetas, lavando cuidadosamente la raíz para quitar exceso de sustrato, y se realizaron mediciones de longitud del tallo y raíz.

RESULTADOS

Las plantas responden a estrés abiótico (por ejemplo: alta temperatura, salinidad o desecación) a través un complejo sistema de señalización que involucra la percepción de la señal, la transducción de la misma por medio de vías de señalización, seguido de las respuestas genéticas y fisiológicas. De manera general, todas las plantas son capaces de percibir y responder a los estímulos desencadenados por el estrés, a través de la producción de osmolitos, alterando el transporte de agua y mediante el secuestro de especies reactivas de oxígeno. A pesar de esto pocas especies son capaces de desarrollarse en hábitats con altos niveles de estrés abiótico. Se evaluó si los aislados de endófitos fúngicos son capaces de conferir tolerancia a estrés térmico en plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) de acuerdo al diseño experimental antes mencionado. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de los datos usando el software JMPIN Versión: 4.0.3 (Academic), SAS Institute Inc. Posteriormente, para comprobar diferencias entre las medias de cada tratamiento se utilizó el método Tuckey-Kramer HSD como prueba post hoc ($p < 0.05$). De las cepas de hongos endófitos las cuales fueron evaluadas mostraron efectos interesantes en los tratamientos por sequía, ya que a pesar de que no existe una diferencia significativa entre los controles positivo y negativo las cepas H12 y HTC mostraron un efecto de aumento del tamaño de la planta Fig 1.

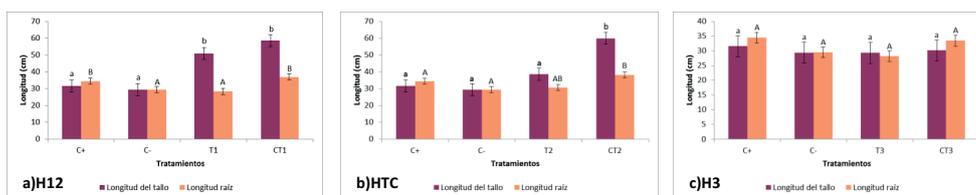


Figura 2: Respuesta en tallo y raíz a estrés por sequía en plantas de frijol, con y sin el hongo endófito H12 (a), HTC (b) y H3 (c).

Las barras representan el promedio de raíces y tallos en los diferentes tratamientos, las barras de error representan el error estándar (n=9). Las letras diferentes (minúsculas para longitud del tallo y mayúsculas para longitud de raíz) indican diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$).

Los hongos endófitos H3 y H12 fueron identificados mediante sus estructuras microscópicas y macroscópicas como pertenecientes al género *Fusarium*, mientras que la identidad del hongo HTC (*Aspergillus flavus*) fue definida en trabajos anteriores **Tabla 1**.

Tabla 1: Comparación microscópica y macroscópica de los hongos endófitos H3 y H12.

Aislado H3		Referencia	
Macroscópica	Microscópica	Macroscópica	Microscópica
Aislado H12		Referencia	

Fuente: <http://thunderhouse4-yuri.blogspot.mx/2012/06/fusarium-oxysporum.html>

DISCUSIÓN

La interacción endófitos-planta puede haber surgido a causa de los procesos coevolutivos durante la aparición de las plantas superiores hace cientos de millones de años. Strobel informó que la evidencia de estas asociaciones se ha descubierto en los tejidos fosilizados de tallos y hojas (Strobel, 2004). Se ha observado que los hongos endófitos pueden contribuir a la protección de su huésped contra factores bióticos (patógenos y herbívoros) y abióticos (estrés salino, térmico, presencia de metales, etc.) Con base en los datos obtenidos del análisis estadístico de las mediciones realizadas en cada planta, se observó lo siguiente: En el caso del hongo endófito H12 se observaron diferencias significativas entre las plantas tratadas con el hongo y las que no lo fueron, específicamente el efecto positivo que tiene el hongo en el crecimiento de tallo, independientemente de la presencia de agua. No así en la raíz, donde la presencia del hongo no promueve un aumento en su longitud que en cambio sí está determinado por la presencia o ausencia de agua. Por otra parte, los efectos del hongo HTC no presentaron variaciones significativas en condiciones de estrés por sequía, aunque en presencia de agua sí muestra efectos positivos. Finalmente, el endófito H3 no mostró efecto alguno en la tolerancia de estrés por sequía ni en condiciones normales; situación que además se observó en el aspecto físico de las plantas, al mostrar éstas marchitamiento.

CONCLUSIÓN

Con base en los resultados obtenidos se puede concluir que de los tres endófitos H12, HTC y H3, inoculados en las plantas de frijol, únicamente H3 muestra una actividad potencialmente benéfica para la planta al conferirle tolerancia a estrés por sequía. Es importante destacar que estos resultados no descartan la posibilidad de que dichos endófitos sean capaces de conferir tolerancia a algún otro tipo de estrés abiótico, pues existen evidencias de que la tolerancia conferida simbióticamente es un fenómeno específico del hábitat.

BIBLIOGRAFIA

- MARTÍNEZ MOLINA, C. et al. (2010) "Microorganismos endófitos ¿amigos o enemigos?" en Revista Ciencia y Desarrollo, No. 242, pp. 6-11. Consultada en: <http://www.cyd.conacyt.gob.mx/242/Articulos/MicroorganismosEndofitos/Microorganismos2.html> (11-07-2017).
- CARROL G. C. (1988) "Fungal endophytes in stems and leaves: From latent pathogens to mutualistic symbiont" en Ecology, No. 1, pp 2-9. Consultada en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2307/1943154/abstract> (11-07-2017).

SAIKKONEN K, FAETH SH, HELANDER M, y SULLIVAN TJ. (1998).“Fungal endophytes: A continuum of interactions with host plants”en Annual Review of Ecology and Systematics. No. 29, pp 319–343. Consultada en: <http://www.annualreviews.org/doi/full/10.1146/annurev.ecolsys.29.1.319> (11-07-2017).

SCHULZ B, BOYLE C. (2005). “The endophytic continuum” en Mycological Research. No. 109, pp 661 - 686. Consultada en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0953756208614690> (11-07-2017).

RODRIGUEZ RJ., HENSON J., VAN VOLKENBURGH E., HOY M., WRIGHT L., BECKWITH F.,KIM Y.,y REDMAN R. (2008) “Stress tolerance in plants via habitat-adapted symbiosis” en ISME Journal. No. 2, pp 404-416. Consultada en: <https://www.nature.com/ismej/journal/v2/n4/full/ismej2007106a.html> (13-07-2017).

SANCHEZ-FERNANDEZ, Rosa Elvira et al. (2013)“Hongos endófitos: fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos con utilidad en agricultura y medicina” en TIP No.2, pp.132-146. Consultada en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-888X2013000200006&lng=es&nrm=iso. ISSN 1405-888X (13-07-2017).

LAMABAMP., SARVAJEET S. y NARENDRA T. (2011). “Unraveling the role of fungal symbionts in plant abiotic stress tolerance” en Plant Signaling & Behavior. No. 2, pp 175-191. Consultada en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3121976/> (13-07-2017)

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad de Guanajuato, por el apoyo para la realización de este Verano de Investigación, así como por las facilidades prestadas y el apoyo económico.



