



**21° Verano de la Ciencia de la
Región Centro**



CIENCIAS AGROPECUARIAS

Vol. 5, No. 2



ISBN 978-607-9453-38-1

Comité Organizador

Coordinación general

Dr. Manuel Reta Hernández

Dra. Laura Hernández Martínez

Dr. Luis Alejandro Aguilera Galaviz

Universidad Autónoma de Zacatecas

Institución participante	Coordinadores
Centro de Investigación en Matemáticas, Unidad Guanajuato	Dr. Arturo Hernández Aguirre
Centro de Investigaciones en Óptica A.C.	Lic. Luz Adriana Gutiérrez Guerra Lic. Sarahí Hernández Lugo
Centro de Investigación en Química Aplicada	Dr. Antonio Cárdenas Flores Dra. Leticia Larios López
Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN, Unidad Irapuato	Dr. Reynaldo Ariel Álvarez Morales Ing. Jesús Vega Medina
Centro Regional de Educación Normal Profra. Amina Madera Lauterio, Cedral S.L.P.	Dr. Juan Manuel Rodríguez Tello
Escuela Nacional de Estudios Superiores UNAM, Unidad León	Dra. Harumi Shimada Beltrán
Escuela Normal de Estudios Superiores del Magisterio Potosino	Mtro. Luís Daniel García García
Instituto de Neurobiología, UNAM Campus Juriquilla	Dra. Nuri Aranda López
Instituto Estatal de Investigación y Posgrado en Educación	Dr. Rafael Benjamín Culebro Tello
Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica	Mtra. Ivonne Lizette Cuevas Vélez
Instituto Tecnológico de Aguascalientes	Lic. Yusahara Vázquez Ochoa
Instituto Tecnológico de Celaya	M.G.A. Esperanza Peña Morales
Instituto Tecnológico de Querétaro	Dr. José Arturo Toscano Giles
Instituto Tecnológico de San Luis Potosí	Dr. Pedro de Jesús García Zugasti, Dr. Ariel Benjamín de la Rosa Zapata
Instituto Tecnológico Superior de Abasolo	Dr. César Álvarez Mejía Dr. Eusebio Orozco Medel,
Instituto Tecnológico Superior de Irapuato	M.C. Akira Torreblanca Ponce M.C. José Manuel Aguilera López
Instituto Tecnológico Superior de Monclova	Mtra. Verónica Martínez Vela Ing. Guillermo Riojas Rodríguez
Instituto Tecnológico Superior de Purísima del Rincón	Mtro. Luis Fernando Villanueva Jiménez Lic. Valente Serrano Gervacio,
Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro	Mtro. Jerónimo Landeros Flores, Ing. Víctor Manuel Villa Coronado, Dr. Armando Espinoza Banda
Universidad Autónoma de Aguascalientes	Dr. Marcelo de Jesús Pérez Ramos, Lic. Laura Olivia Ortega Calderón Mtra. Yazmin Ramírez Rodríguez
Universidad Autónoma de Coahuila	Lic. Alejandro Herrera Hernández M. A. María Concepción Esparza Castro Lic. Dora Elia Cárdenas Elizondo
Universidad Autónoma de Querétaro	Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña M. en GIC. Karina Villarauz Camargo
Universidad Autónoma de San Luis Potosí	ME Ma. Guadalupe Alejo González Ing. Laura Elena Ochoa Leija
Universidad Autónoma de Zacatecas	Dr. Manuel Reta Hernández Dra. Laura Hernández Martínez Dr. Alejandro Aguilera Galaviz
Universidad de Guanajuato	MDG. Emma Reséndiz Ramírez M. en C. Jenaro Daniel Jaime González
Universidad del Centro de México	Mtra. Alicia Villagómez Carvajal Mtra. Yuritzi Sofía López Hernández
Universidad Pedagógica Nacional - Unidad 241	Dr. Andrés Vázquez Faustino
Universidad Politécnica de Querétaro	Dra. Alondra Anahí Ortiz Verdín
Universidad Politécnica de San Luis Potosí	Dr. Martín Hernández Sustaita
Universidad Politécnica del Bicentenario, Silao	Mtra. Dafne Flores Rodríguez Dr. Javier Cruz Salgado

CONTENIDO

1	Acumulación de lípidos en una colección de cepas de <i>Yarrowia lipolytica</i> <i>Sofía Michelle Sepúlveda Soria, Adan Topiltzin Morales Vargas (Asesor)</i>	1
2	Análisis de características fisicoquímicas de fibras provenientes de residuos agrícolas <i>León Bata Brandon Iván, Hernández Méndez Carlos Hernán (Asesor)</i>	6
3	Analizar el efecto de dos biofertilizantes potenciales derivados de microorganismos sobre la germinación y el crecimiento de plantas de interés comercial <i>Johanna Valeria Moreno Puente, Alejandra Hernández Barrera (Asesora)</i>	12
4	Antagonismo de <i>Bacillus subtilis</i> frente a microorganismos fitopatógenos <i>Paloma Torres Lomas, María Rico Martínez (Asesora)</i>	19
5	Aprovechamiento de residuos alimenticios vegetales para la creación de fertilizantes orgánicos <i>Michelle Aylín Guerrero Ángeles, Fernando Omar Mendieta González, Irma Cecilia Ortiz Chávez (Asesora)</i>	25
6	Caracterización de comunidades microbianas del fruto de manzano y su empleo como agentes de control biológico <i>Evelyn Crystel Bárcenas Orozco, Juan Ramiro Pacheco Aguilar (Asesor)</i>	31
7	Caracterización de la pulpa de coco maduro para su utilización en algún producto alimenticio <i>Michel Alejandra Alba Montoya, Araceli Loredó Treviño</i>	36
8	Caracterización funcional de fibras duras vegetales de agave <i>Irma Graciela Flores Cortés, Lorena Vargas Rodríguez (Asesora)</i>	43
9	Caracterización microscópica y molecular de hongos asociados a líquenes <i>Angely Sabrina Candelario López, Varinia López Ramírez (Asesora)</i>	48
10	Cultivo de tejidos vegetales in vitro de cactus y suculentas injertadas (A) <i>Victoria Pérez González, Pablo Delgado Sánchez (Asesor)</i>	53
11	Cultivo de tejidos vegetales in vitro de cactus y suculentas injertadas (B) <i>Xareni Nitzaye Ávila Valadez, Pablo Delgado Sánchez (Asesor)</i>	59
12	Determinación de la capacidad antioxidante y la concentración fenólica contenida en metabolitos secundarios de <i>Chrysactinia mexicana</i> <i>Yesenia Damaris Franco Aguirre, Emma Fabiola Magallan Hernández (Asesora)</i>	65
13	Determinaciones bioquímicos-clínicos en animales en cautiverio <i>Lorena García Díaz, Francisco Alejo Irtuvide (asesor)</i>	72
14	Distribución e identificación de líquenes en la unidad deportiva El Copal, en Irapuato, Gto. <i>Laihsa Valeria Rodríguez González, Varinia López Ramírez (asesora)</i>	77
15	Efecto de la suplementación de metionina durante el último tercio de la gestación sobre el desarrollo postnatal e inicio de la pubertad en hembras caprinas <i>Juan Carlos Baltazar Camacho, César Augusto Rosales Nieto (Asesor)</i>	83

16	Efecto de la suplementación de una cepa probiótica sobre los parámetros productivos en pollos de engorda <i>Ezer Alonso Yniesta Aguilar, Elena Franco Robles (Asesora)</i>	90
17	Evaluación de la composición química de los cecotrofos y heces duras de conejos alimentados con sorgo y diferentes niveles de fibra detergente neutro <i>Arturo Arnulfo Islas Cadillo, José Guadalupe Gómez Soto (Asesor)</i>	96
18	Evaluación de las condiciones de nixtamalización sobre las propiedades reológicas y físico químicas de las harinas instantáneas de maíz enriquecidas con diferentes fuentes de proteínas vegetales <i>Josué Esaú Cruz Espinoza, Francisco Javier Espitia Orozco (Asesor)</i>	102
19	Evaluación de las propiedades físicas y químicas de semilla de calabaza <i>Ania Guadalupe Isidro Luis, Laura Araceli López Martínez (Asesora)</i>	108
20	Evaluación in vivo de hongos fitopatógenos en hortalizas para productores de INFOOD <i>Daniela León Ramírez, Christian Salvador Mendoza Hernández (Asesor)</i>	114
21	Extracción y caracterización de macromoléculas de origen animal para la fortificación de alimentos <i>Mauricio Serrano Ramírez, Carlos Hernán Herrera Cortez (Asesor)</i>	119
22	Factores implicados en el movimiento viral del virus del mosaico de la caña de azúcar (SCMV) en plantas de maíz <i>Raúl Antonio García Martínez, Laura Silva Rosales (Asesor)</i>	125
23	Identificación de factores que modulan transcripcionalmente la expresión de tres poli amino oxidasas de nopal <i>José Francisco Rubio Aguilera, María de la Luz Guerrero González (Asesora)</i>	131
24	Identificación molecular de hongos fitopatógenos de hortalizas para productores de INFOOD <i>Karina del Rocío Buzo Reyes, María Gabriela Huerta Zacarías, Christian Salvador Mendoza Hernández (Asesor)</i>	138
25	Los sarcófagidos (Diptera Sarcophagidae) del Cañón de Fernández, Lerdo, Durango <i>Ángel Mauricio Cano Sandoval, Fabián García Espinoza (Asesor)</i>	144
26	Los Sarcófagidos (Diptera Sarcophagidae) del Puerto de Ventanillas, San Pedro de las Colonias, Coahuila. <i>José Alex Jiménez Cruz, Fabián García Espinoza (Asesor)</i>	150
27	Manipulación del metabolismo de poliaminas en hongos entomopatógenos para incrementar la eficiencia del control biológico de insectos plaga que atacan cultivos de importancia económica <i>Diana Marcela Velazquez Gil, Laura Valdés Santiago (Asesora)</i>	156
28	Monitoreo de Delia spp. (Diptera Anthomyiidae) en cultivos hortícolas de Coahuila y Durango <i>Karla Leticia Martínez Ramos, Fabián García Espinoza (Asesor)</i>	162
29	Potencial de uso de cultivos de la microalga Chlorella vulgaris AAI-1 como biofertilizante en garbanzo (Cicer arietinum L.) var "jumbo" in vitro <i>Ruth Mendoza Escamilla, Laura Valdés Santiago (Asesora)</i>	167

30	Prevalencia de diabetes mellitus en perros y gatos del municipio de Irapuato Guanajuato <i>Saraí Sánchez Camacho, Mauricio Arredondo Castro (Asesor)</i>	172
31	Protocolo para tratamiento de lesiones cutáneas en <i>Lithobates catesbeianus</i> con infusiones de jengibre y equiseto <i>Carla Elizabeth Jasso Aguilar, Efraín Islas Ojeda (Asesor)</i>	177
32	Redes de interacción planta-abeja en áreas verdes urbanas de Santiago de Querétaro <i>Luis Enrique Olguín Chávez, Fabiola Magallán Hernández (Asesora)</i>	182

Acumulación de lípidos en una colección de cepas de *Yarrowia lipolytica*

Sofía Michelle Sepúlveda Soria

Universidad de Guanajuato
38060 Mutualismo Esq., Río Lerma S/N,
Celaya, Guanajuato
sofia_smss_b@hotmail.com

Asesor: Adan Topiltzin Morales Vargas

Universidad de Guanajuato
38060 Mutualismo Esq., Río Lerma S/N,
Celaya, Guanajuato
adan.tops@gmail.com

Resumen — En la actualidad, se ha estudiado a *Yarrowia lipolytica* por ser una levadura no convencional, ya que es capaz de secretar eficientemente diversas proteínas heterólogas (lipasas, proteasas, esterasa y RNasa). Dicha capacidad la vuelve un blanco científico por sus distintas aplicaciones tecnológicas en áreas de producción de alimentos, farmacéuticos, detergentes y biocombustibles.

Es por eso, que en el presente trabajo se pretende identificar aquellas cepas de *Y. lipolytica* que conforman la colección, a la que presente una mayor producción de lipasa extracelular, mediante el manejo de distintas fuentes de carbono y nitrógeno. Para aislar aquellas que sean más eficientes y poder darles un uso en alguna de sus muchas aplicaciones.

Palabras clave — *Yarrowia lipolytica*, lipasa extracelular, producción.

Abstract — At present, *Yarrowia lipolytica* has been studied as an unconventional yeast, since it is capable of efficiently secreting various heterologous proteins (lipases, proteases, enterase, RNase). This capacity makes it a scientific target for its different technological applications in areas of food production, pharmaceuticals, detergents and biofuels.

That is why, in the present work, we intend to identify those strains of *Y. lipolytica* that make up the collection, to which there is a greater production of extracellular lipase, through the management of different sources of carbon and nitrogen. To isolate those that are more efficient and be able to use them in one of their many applications.

Keywords — *Yarrowia lipolytica*, extracellular lipase, production.

I. INTRODUCCIÓN

Las levaduras ofrecen una serie de ventajas como sistemas host y, entre ellas, *Yarrowia lipolytica* aparece como una de las más atractivas. Esta levadura dimórfica no convencional exhibe una notable regularidad de rendimiento en la secreción eficiente de diversas proteínas heterólogas [1].

Yarrowia lipolytica secreta de manera natural varias enzimas como proteasas, lipasas, esterases y RNasa, por lo que, desde este hallazgo se ha utilizado como modelo de estudio para la producción en masa, debido al interés industrial [2].

Su gama de sustratos naturales incluye alcanos, ácidos grasos, ácidos orgánicos y proteínas, y pocos azúcares. Por lo que en este trabajo se estudió la capacidad de 31 cepas distintas de *Y. lipolytica* de asimilar ácidos grasos como tributirina, aceite residual, aceite de oliva, combinaciones como tributirina-glicerol, y glucosa.

II. MARCO TEÓRICO

A. Medio YPD (*Yeast extract-peptone-dextrose*)

Este medio es usado para la propagación y el mantenimiento de levaduras para su uso en biología molecular.

Las levaduras crecen bien en un medio mínimo que contiene sólo dextros y sales. La adición de hidrolizados de proteína y extracto de células de levadura permite un crecimiento más rápido, de modo que durante el crecimiento exponencial o en fase logarítmica, las células se dividen cada 90 minutos. La peptona actúa como fuente de carbono, nitrógeno, vitaminas y minerales. El extracto de levadura proporciona vitaminas del complejo B, que estimulan el crecimiento bacteriano. La dextrosa es la fuente de carbohidratos. El agar actúa como agente solidificante [3].

B. Medio YNB (*Yeast Nitrogen Base without Amino Acids- Sigma Aldrich*)

Se utiliza para clasificar las levaduras según los requisitos de aminoácidos y carbohidratos. La base de nitrógeno de levadura BDTM Difco™ sin aminoácidos es un medio de cultivo deshidratado utilizado en muchas aplicaciones de genética molecular. Preparado según las fórmulas de Wickerham [4].

C. Rodamina B

Según [5], la rodamina B (RhB), es un colorante catiónico de la clase de los xantenos, altamente soluble en agua y ha sido ampliamente usado como colorante textil y en productos alimenticios. También es un conocido trazador fluorescente y marcador biológico.

D. Rojo de Fenol

Rojo de fenol o fenol sulfonftaleína es un indicador ácido-base en análisis químico, cuenta con un intervalo de transición visual desde un pH 6.8 (amarillo) a 8.2 (rojo), pasando por el naranja, rosado y rojo [6].

III. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Condiciones de cultivo

Se cuenta con 31 cepas de *Yarrowia lipolytica* que fueron aisladas a partir de productos cárnicos y lácteos. La copia de las cepas, fueron sembradas en cajas Petri con medio YPD (*Yeast extract-peptone-dextrose*, Agar Difco) con antibiótico (Dicloxacilina) e incubadas a 28 °C. Para la obtención de biomasa, se hicieron crecer las cepas en 20 mL de medio YPD (*Yeast extract-peptone-dextrose*) en incubadora por 72 horas. Posteriormente, se observaron las muestras al microscopio, una vez que se detectó la presencia y crecimiento de las cepas, así como descartar contaminación, se realizaron dos lavados por centrifugación a 5000 rpm durante 5 minutos, resuspendiendo en 10 mL de agua estéril. A partir de esas muestras, se realizaron diluciones 10-1 y 10-2 por cepa, para poder medir su

absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 600 nm y determinar la densidad óptica de cada muestra.

B. Producción de lipasas

Para los medios se utilizó medio YNB (Yeast Nitrogen Base without Amino Acids – Sigma Aldrich) de acuerdo a la metodología de [7] con rojo de fenol y uno con rodamina como indicadores colorimétricos de pH, siendo la composición de cada uno la que se muestra en la Tabla 1. Para la tributirina, aceite residual y aceite de oliva, se prepararon emulsiones para cada uno.

Los medios YNBD, YNBO, YNBR, YNBTG y YNBW fueron inoculados por triplicado con 15 μ L de la suspensión de 0.1

Tabla 1. Medios YNB

YNBD (Glucosa 2 g/L)	YNBO (Aceite de oliva 5 mL/L)	YNBR (Tributirina 30 mL/L)	YNBTG (Tributirina- Glicerol 10 mL/L c/u)	YNBW (Aceite residual 75 mL/L)
-YNB	-YNB	-YNB	-YNB	-YNB
-Agar	-Agar	-Agar	-Agar	-Agar
-Peptona	-Peptona	-Peptona	-Extracto de levadura	-Extracto de levadura
-Extracto de levadura	-Extracto de levadura	-Extracto de levadura	-Buffer de citratos (pH: 7.2)	-Buffer de citratos (pH: 7.2)
-Buffer de citratos (pH: 7.2)	-Buffer de citratos (pH: 7.2)	-NaCl	-Tributirina	-Aceite residual
-Glucosa	-Aceite de oliva	-Tributirina	-Glicerol	-Rojo de fenol
-Rojo de Fenol	-Rojo de fenol	-Rodamina B	-Rojo de Fenol	-Agua
-Agua	-Agua	-Agua	-Agua	

IV. RESULTADOS

En la Figura 1, puede observarse fotografías donde se muestran los distintos medios utilizados, las cajas Petri con medios YNBTG y YNBR, es posible apreciar la presencia de la lipasa extracelular, debido a que se formó un halo alrededor de las colonias. Sin embargo, es importante mencionar que la producción de lipasa en YNBTG no fue tan considerable en comparación con YNBR.

En los medios de YNBO Y YNBW la presencia de la lipasa puede identificarse debido al viraje de color en el medio de un amarillo a un rosado, lo que significa un cambio en el pH. Esto como consecuencia de la hidrólisis de los triglicéridos por efecto de la lipasa.

En el medio YNBD, después de 100 horas de la inoculación, pudo comenzarse a ver un pequeño viraje de coloración.

V. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Para los medios sólidos con distintas fuentes de carbono y nitrógeno, la producción de lipasas no se dio de manera uniforme a pesar de comparar una misma cepa. Sin embargo, es notable que la presencia de tributirina aumenta ésta producción.

Comparando con la literatura, encontramos que [7], reporta que la producción de lipasa extracelular en una cepa de *Y. lipolytica*, se ve reprimida por glucosa y glicerol, concordando con nuestros resultados, pues en los medios que contenían glucosa o glicerol, la detección de la lipasa no fue tan notable como en los otros medios.

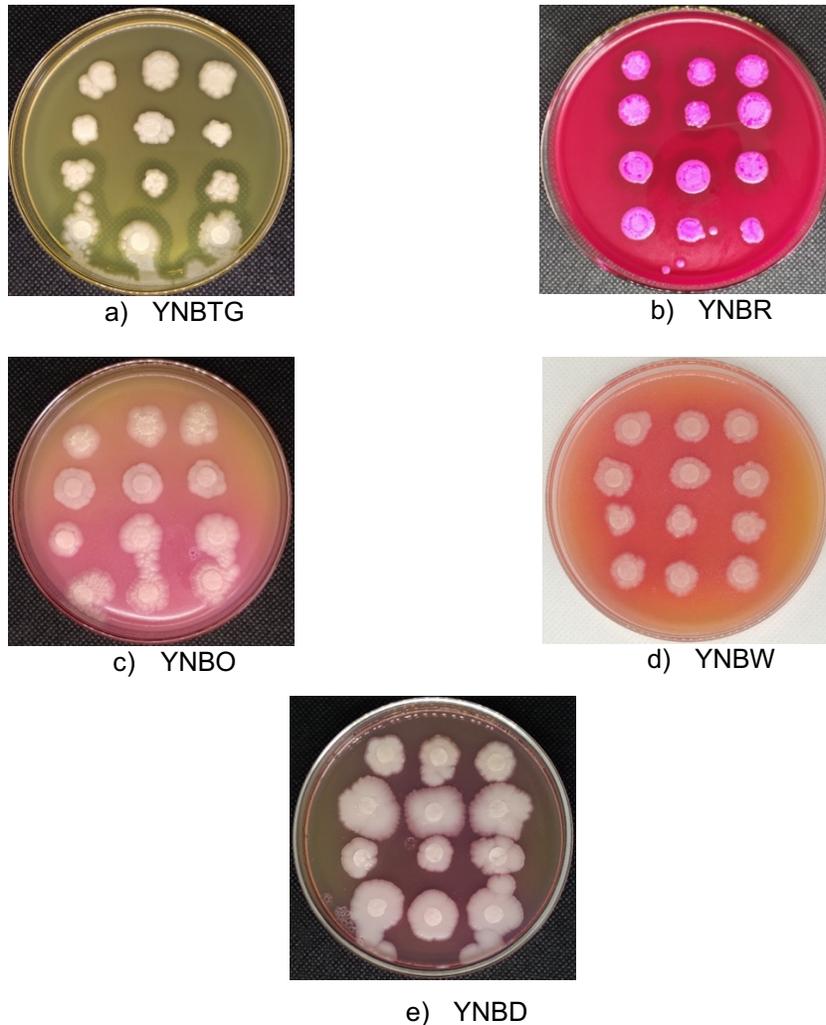


Figura 1. Medios YNB con producción de lipasa extracelular.

VI. CONCLUSIONES

En este proyecto se llevó a cabo la identificación de algunas cepas de *Y. lipolytica* capaces de producir lipasas extracelulares, con el fin de detectar las fuentes de carbono y nitrógeno más propicias para la misma.

Definimos que la tributirina es la fuente de carbono ideal en esta colección de cepas para la producción de lipasa extracelular.

VII. RECONOCIMIENTOS

Expreso mi agradecimiento a la Universidad de Guanajuato y a CONACyT por brindarme la posibilidad de expandir mis conocimientos por este medio y por el apoyo otorgado en este verano de la ciencia. También agradezco al Doctor Adán por todo el conocimiento compartido.

REFERENCIAS

- [1] C. Madzak, C. Gailardin, J. Beckerich, “Expresión y secreción de proteínas heterólogas en la levadura no convencional *Yarrowia lipolytica*: una revisión”, *Revista de Biotecnología*, Vol. 109, Número 1-2, pp. 63-81. Abril 2004.
- [2] J. Nicaud, C. Madzak, P. van den Broek, et al., “Expresión y secreción de proteínas en la levadura *Yarrowia lipolytica*”, *FEMS Yeast Research*, Vol. 2, Número 3, Agosto 2002, pp. 371-379.
- [3] *BD Medios de cultivo deshidratados Difco™: agar YPD*, Fisher scientific, 2019.
- [4] *BD Medios de cultivo deshidratados Difco™: Base nitrogenada de levadura sin aminoácidos*. Fisher scientific, 2019.
- [5] L. B. Jiménez, “Estudio de la melanina como fotocatalizador para la degradación de colorantes: Rodamina B”, trabajo de fin de grado, Instituto potosino de Investigación Científica y tecnología, A. C., México, 2013.
- [6] *Hoja de seguridad. Rojo de fenol MSDS*, Escuela de Química, Universidad Nacional, Versión 1.2, Abril 2016.
- [7] P. Fickers, et al., “Sobreproducción de lipasa por mutantes de *Yarrowia lipolytica*”, *Microbiología Aplicada y Biotecnología*, Vol. 63, Número 2, pp. 136-142, Diciembre 2003.

Análisis de características fisicoquímicas de fibras provenientes de residuos agrícolas

León Bata Brandon Ivan

Universidad de Guanajuato
Departamento de ingeniería Agroindustrial
Privada de Arteaga S/N,
Salvatierra GTO, México CP:38900
bi.leonbata@ugto.mx

Asesor: Hernández Méndez Carlos Hernán

Universidad de Guanajuato
Departamento de ingeniería Agroindustrial
Privada de Arteaga S/N,
Salvatierra GTO, México CP:38900
ch.mendez@ugto.mx

Resumen — Los residuos provenientes de los diferentes procesos de transformación dentro de la industria alimentaria y no alimentaria, son en ocasiones causantes de problemas ambientales, por ello se busca aprovechar la mayor cantidad de residuos para diferentes fines. El principal objetivo por el cual se realizó el presente trabajo es para determinar las características fisicoquímicas de la Fibra de Agave tequilana weber variedad azul, ya que esta fibra posee diversas cualidades que se las proporcionan los diferentes componentes que están presentes, como lo son la lignina la cual es el componente mayoritario de la fibra y en el cual se centra esta investigación. Pectina, celulosa, hemicelulosa y cenizas también son parte de las características que se cuantificaran basándonos en diferentes metodologías.

Palabras clave — Residuo, Variedad, Componentes, Hemicelulosa, Celulosa.

Abstract — Waste from the different transformation processes within the food and non-food industry, are sometimes causes of environmental problems, so the largest amount of waste is sought for different fines. The main objective for which this work was carried out is to determine the physicochemical characteristics of the Aber Tequilana weber fiber blue variety, since this fiber has several characteristics that are the last different components that are present, such as lignin which is the major component of the fiber and on which this research focuses. Pectin, cellulose, hemicellulose and ashes are also part of the characteristics that are quantified based on different methodologies.

Keywords — Residue, Variety, Components, Hemicellulose, Cellulose.

I. INTRODUCCIÓN

Es conocida la producción y obtención de celulosa, a partir de fuentes maderables, y existe una tendencia actual a la búsqueda de nuevas fuentes de obtención de celulosa. El agave es una especie no maderable que puede ser utilizada para extracción de celulosa. Existen diversas investigaciones sobre elaboración de fibras a base de residuos de agaves [1] en las cuales obtuvieron pulpa de bagazo de A. tequilana mediante técnicas mecánicas, químicas y biológicas. Recientemente se reporta [2] la elaboración papel a partir de fibras crudas de seis especies de Agave; tres de hoja angosta (A. lechuguilla, A. angustifolia y A. tequilana) y tres de hoja ancha (A. americana, A. salmiana y A. mapisaga), utilizando diferentes métodos para la extracción de fibras. El autor señala que A. salmiana y A. mapisaga fueron las especies que presentaron mejores características.

De los diferentes métodos para la determinación de lignina en plantas, el uso de ácido sulfúrico al 72% para la hidrólisis de todos los carbohidratos conocido como lignina Klason ha sido ampliamente utilizado. El método es laborioso, tardado y puede arrojar resultados erróneos debido a hidrólisis incompleta del contenido celulósico [3]

El objetivo general de este estudio es cuantificar los componentes principales presentes en la fibra de agave tequilana para en base a esto buscar una aplicación en la cual se puedan utilizar las fibras provenientes de residuos agrícolas.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

La fibra de agave (Tequilana weber) fue lavada para remover tierra y suciedad y molida en un molino de cuchillas. La fibra triturada se separó por tamaño de partícula. Se colectaron las partículas que pasaron en la malla # 40 (0.42 mm). Las partículas que pasaron la malla # 40 se separaron y esa fue la que se utilizó para las pruebas. La fibra pulverizada se almacena en bolsas de plástico y se utilizó como se fue necesitando en las diferentes pruebas que se fueron realizando.



Fig 1. fibra natural sin modificación. **Fig 2.** Fibra natural reducida de tamaño. **Fig 3.** fibra natural molida

A. Extracción de pectinas

Se realizó una disolución con agua destilada (200ml) y ácido cítrico 20g, se agregaron 10 gramos de fibra molida una vez que esté lista la disolución con la muestra se montó el equipo soxhlet y posteriormente se mantuvo en ebullición durante 20 minutos, transcurrido el tiempo se filtran la muestra y a esta muestra se le agregan 300 ml de etanol y se refrigera durante 12 h, se vuelve a filtrar la muestra después del refrigerado con papel filtro previamente pesado a 40°C en estufa, transcurrido el tiempo una vez transcurrido el tiempo de secado del papel filtro con la muestra se pesa de nuevo y se determina la cantidad de lignina por diferencia de peso.

B. Análisis Próximo

El tratamiento de la muestra, los contenidos de extraíbles a la acetona y extraíbles al agua caliente en muestras fibra se determinaron usando procedimientos estándares descritos en TAPPI T264 cm97[6], TAPPI T204 cm-97[6] y TAPPI T207 cm-99[5] respectivamente

C. Análisis Químico

La fibra seca y molida se trató de acuerdo con el procedimiento estándar descrito en TAPPI T264 cm-97 para determinar los contenidos de lignina insoluble en solventes orgánicos y TAPPI T204 cm-97 para determinar los contenidos de lignina insoluble en agua caliente.

D. *Pretratamiento de la muestra*

Para fines de obtener la relación del contenido de lignina la fibra de agave seca, molida (malla #40) fue sometida a dos diferentes pretratamientos: Agua caliente, por 4 horas, dejar la fibra en ebullición energética conectando al equipo soxhlet, filtrar y lavar con agua destilada, y dejar secar a temperatura ambiente de acuerdo a la norma estándar TAPPI T204 cm-97. Solvente orgánico agregar (200ml) etanol: benceno 1:2 dejar en ebullición energética durante 4h filtrar y lavar la muestra y agregar nuevamente 200 ml de etanol y dejar en ebullición durante 4h, lavar con agua desionizada para eliminar por completo el etanol de la muestra y dejar secar a temperatura ambiente acuerdo a la norma estándar TAPPI T264-cm97. La paja tratada se lava hasta pH neutro y se deja secar.

E. *Determinación de contenido de lignina*

La paja molida (malla # 40+) libre de extraíbles se sometió a hidrólisis ácida con solución de H₂SO₄ (72% w/w). Después de dispersar el material en el ácido a 20 ± 1°C, se mantuvo en baño a esta temperatura por 2 horas con agitación frecuente. Se continuó la hidrólisis del material diluyendo el H₂SO₄ (3% w/w) por adición de agua desionizada y ebullición a reflujo por 4 horas. Transcurrido el periodo indicado la muestra se dejó enfriar hasta que el material insoluble decanto posterior mente se filtró a vacío usando papel filtro # 3 el cual fue secado previamente a 105°C. El precipitado se lavó con agua caliente hasta quedar libre de ácido el papel filtro y su contenido se secaron en estufa durante 4 h a 105°C, se retiró el papel filtro del horno y de se dejó en un desecador por tres horas. Tras alcanzar el peso constante se pesó el papel filtro y se determinó el contenido de lignina según la ecuación 1 de la metodología ASTM D1106.

NOTA: Todas las pruebas se hicieron por triplicado.

III. RESULTADOS

A. *Extracción de pectinas*

Tabla 1 Peso papel filtro con y sin muestra de pectina

Peso inicial del papel filtro	Peso final del papel filtro
1.- 1.2165g	1.- 1.8204g
2.- 1.9999g	2.- 1.8345g
3.- 1.1911g	3.- 1.5489g
4.- 1.1973g	4.- 1.8904g
5.- 1.1930g	5.- 1.4971g
6.- 1.2089g	6.- 1.6375g

NOTA: La diferencia de peso de el papel filtro, es la cantidad en gramos de pectina obtenida por cada muestra.

Media = 1.51105g pectina

$$\% \text{ pectina} = (A / B) * 100 \quad (1)$$

donde:

A= pectina total obtenida

B= peso total de la muestra

$$\% \text{ pectina} = (1.51105g / 60g) * 100 = 2.51\% \text{ pectina}$$

B. Extraíbles con agua caliente

Tabla 2. Pesos resultantes de extraíbles con agua caliente

Peso muestra inicial	Peso final de la muestra	Diferencia de peso (extraíbles con agua 95°C)
1.5000g	1.3754g	0.1255g
1.5007g	1.3638g	0.1369g
1.5007g	1.3619g	0.1380g

C. Extraíbles con solvente

Tabla 3. Pesos resultantes de extraíbles con solvente

Peso muestra inicial	Peso final de la muestra	Diferencia de peso (extraíbles con benceno:etanol 2:1)
1.3754g	1.3204g	0.0541g
1.3638g	1.3323g	0.0315g
1.3619g	1.3530g	0.0089g (posible error de T en la extracción)

D. Extracción de lignina

$$\% \text{ lignina} = (A - B / C) * 100 \quad (2)$$

donde:

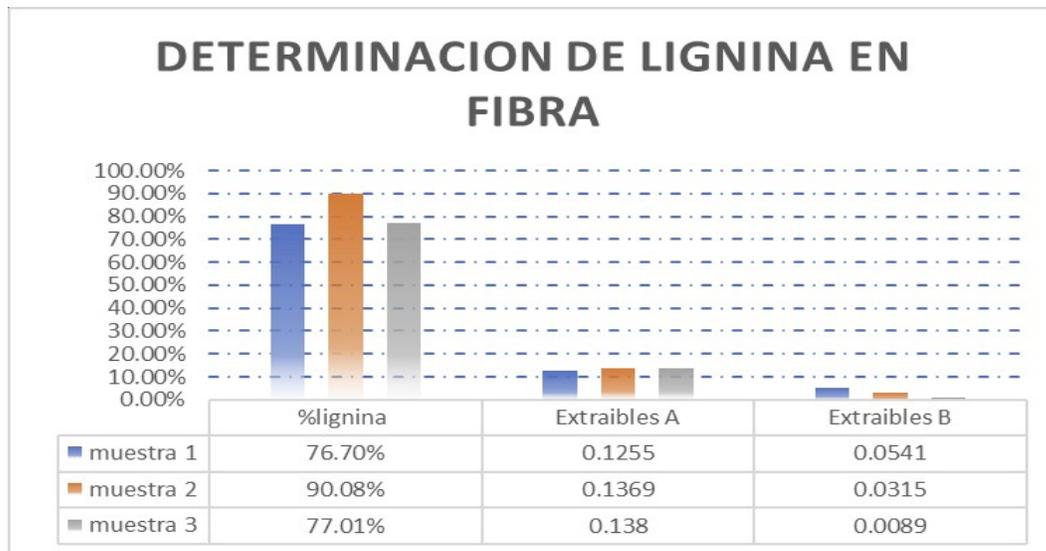
A= peso del residuo secado al horno y el papel filtro

B= peso del papel filtro secado al horno

C= peso de la muestra libre de extractos secada al horno

Tabla 4. Pesos resultantes en la cuantificación de lignina por cada muestra

Residuo secado al horno	Papel filtro secado al horno	Muestra libre de extraíbles	% lignina
2.1626g	1.1499g	1.3204g	76.6964% lignina
2.3548g	1.1546g	1.3323g	90.0848% lignina
2.2169g	1.1749g	1.3530g	77.0140% lignina

**Figura 1.** Determinación de Lignina en fibra

IV. DISCUSIÓN (O ANÁLISIS DE RESULTADOS)

Los resultados que se obtuvieron son constantes en las tres muestras que se hicieron para cada experimento, esto nos indica la fiabilidad de la técnica utilizada para cada prueba. En base a los resultados obtenidos se puede concluir que las fibras provenientes de residuos agrícolas se pueden utilizar para diversas aplicaciones en la industria y así dar un valor agregado a los diferentes productos que se pueden obtener a partir de estos residuos, ya que por su alto contenido de lignina puede ser adicionada la fibra en productos tanto para la industria alimentaria como para la no alimentaria.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Debido a las características propias de la fibra es necesario cambiar los métodos de extracción o usar los ácidos a una menor concentración, ya que los diferentes ácidos con los cuales se logra la extracción son demasiado fuertes para el tipo de fibra con el cual se está trabajando, esto interfiere con los resultados finales ya que la fibra se consume casi en su totalidad al estar en contacto con estos.

Al momento de realizar la prueba para determinación de celulosa y hemicelulosa no se logró ya que el ácido sulfúrico usado en la prueba consumió por completo la fibra y esto causó que no se pudiera seguir con la prueba.

Por eso se recomienda bajar las concentraciones de ácido hasta un 50% para que este tenga la suficiente fuerza para poder trabajar pero sin destruir la fibra.

REFERENCIAS

- [1] Parra, L.A., del Villar, P. y Prieto, A., Extracción de fibras de agave para elaborar papel y artesanías. Acta Universitaria, [En línea]. 20(3), pp. 77-83, 2010. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=41618860011>
- [2] Ruiz-Corral, J.A., Requerimientos agroecológicos y potencial productivo del agave Agave tequilana Weber en México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. [En línea]. Centro de Investigación Regional del Pacífico Centro. 2007, pp. 11-36. Disponible en: http://www.inifapcirne.gob.mx/Revistas/Archivos/agave_final_baja%20resolucion.pdf
- [4] TAPPI, T. (2004). 204 cm-97, Solvent extractives of wood and pulp. Technical Association of the Pulp and Paper Industry, 2005.
- [5] TAPPI, T. (1999). 207 cm-99. Water solubility of wood and pulp. Technical Association of the Pulp and Paper Industry, 2002.
- [6] TAPPI (Technical Association of the Pulp and Paper Industry). 2000a. TAPPI test methods, T 264 cm-97. Preparation of Eood for Chemical Analysis. Atlanta: TAPPI Press.

Analizar el efecto de dos biofertilizantes potenciales derivados de microorganismos sobre la germinación y el crecimiento de plantas de interés comercial

Johanna Valeria Moreno Puente
Universidad Autónoma de Coahuila
Carretera Torreón-Matamoros Km 7.5
Johanna.moreno@uadec.edu.mx

Asesora: Alejandra Hernández Barrera
Instituto Tecnológico Superior de Irapuato
Silao-Irapuato km 12.5 El Copal
alejandra.hernandez@itesi.edu.mx

Resumen —La biofertilización se basa en el aumento de microorganismos del suelo para activar o agilizar los procesos microbianos, aumentando la cantidad de nutrientes asimilables por las plantas. El siguiente trabajo está enfocado a la sustentabilidad ambiental ya que busca el aprovechamiento eficiente y racional de recursos naturales de la región. Se utilizó a *Chlorella Vulgaris* y *Bacillus Subtilis* como organismos promotores de la germinación y el crecimiento de plantas de Jitomate, las cuales mostraron tener gran potencial biotecnológico debido a los resultados positivos obtenidos. En ambos tratamientos las plantas presentaron mayor calidad en raíz, tallo y hojas que el tratamiento control negativo convirtiéndose en una gran alternativa para su uso agrícola.

Palabras clave—Biofertilizante, Germinación, Microalga, Bacterias promotoras del crecimiento vegetal

Abstract —Biofertilization is based on the increase of soil microorganisms to activate or streamline microbial processes, increasing the amount of nutrients that can be assimilated by plants. The following work focuses on environmental sustainability as it seeks the efficient and rational use of the region's natural resources. *Chlorella vulgaris* and *Bacillus subtilis* were used as promoters of the germination and growth of tomato plants, which showed great biotechnological potential due to the positive results obtained. In both treatments the plants presented higher quality in root, stem and leaves than the negative control treatment becoming a great alternative for their agricultural use.

Keywords—biofertilizer, germination, Microalgae, plant growth promoting bacteria.

I. INTRODUCCIÓN

Definimos a los fertilizantes como sustancias orgánicas e inorgánicas que son utilizadas para aportar o incrementar la concentración de nutrientes al suelo, de modo que las plantas puedan asimilarlos y favorezca el crecimiento de las mismas, sin embargo, se ha demostrado que el uso excesivo de fertilizantes químicos conlleva un riesgo elevado a la salud humana y el medio ambiente. Ante esta problemática la búsqueda de microorganismos que mejoren la fertilidad del suelo y la nutrición de las plantas continúa atrayendo la atención debido al incremento de los costos de los fertilizantes y sus impactos negativos en el ambiente (Adesemoye et al., 2009).

Las bacterias promotoras de crecimiento en plantas (BPCP) son un grupo de especies que pueden incrementar el crecimiento y la productividad vegetal, liberan compuestos al suelo y aumenta la disponibilidad de nutrientes para las plantas o pueden influenciar directamente sobre el metabolismo de la planta, su desarrollo radicular y la actividad

enzimática. Además, pueden tener efecto a través de la reducción de poblaciones de microorganismos patógenos o activación de mecanismos de defensa en las plantas (De-Bashan et al., 2007; Desai et al., 2012).

II. MATERIALES Y MÉTODOS

- Semillas de Jitomate Marmade V.R. (*Lycopersicon esculentum*) marca Vita
- Cepa bacteriana *Bacillus Vulgaris*
- Extracto *Chlorella Vulgaris* AAI-1
- Bandejas para germinación
- Pinzas de disección sin dientes
- Algodón
- Aluminio
- Servitoalla
- Agua purificada

Las semillas se sometieron a 8 tratamientos: 1) Control negativo, Agua estéril; 2) Control positivo, Fertilizante; 3) *Chlorella Vulgaris* AAI-1; 4) Medio BBM; 5) *Bacillus Subtilis*; 6) Caldo Nutritivo; 7) *Bacillus Subtilis* y *Chlorella Vulgaris*; 8) Medio BBM y Caldo Nutritivo.

Se realizó un conteo previo de semillas de Jitomate y se separaron en grupos de 35 semillas seleccionadas al azar para cada tratamiento.

Para el extracto del fertilizante se disolvieron 96mg en 40ml de agua estéril.

A. Tratamiento 1: Control negativo/Agua estéril

1. Las semillas se sumergieron durante 5 min en agua estéril.
2. Con ayuda de las pinzas se sacaron del agua y se dejaron secar completamente.
3. Se realizó el acomodo en las bandejas las cuales fueron preparadas con una capa de algodón y Servitoalla húmedas.
4. Se etiquetó la bandeja y se tapó con aluminio.

Se llevó a cabo el procedimiento anterior para el tratamiento 2, 3, 4, y 6 sustituyendo el agua estéril por el medio o extracto que corresponda.

B. Tratamiento 5: *Bacillus Subtilis*

1. Se realizó el acomodo de las semillas en la bandeja preparada del mismo modo que en el tratamiento 1.
2. Sobre cada semilla se depositaron 100µl del inóculo obtenido a partir de placas de Petri con Agar nutritivo.
3. Se etiquetó y tapó la bandeja con aluminio.

C. Tratamiento 7: *Bacillus Subtilis* y *Chlorella Vulgaris*

1. Las semillas fueron colocadas 5 min en el extracto de *Chlorella Vulgaris*.
2. Se retiraron y se dejaron secar.

3. Una vez que las semillas se encontraban secas se depositaron 100µl del inóculo sobre cada semilla.
4. Se realizó el etiquetado y se tapó la bandeja con aluminio.

El tratamiento 8 siguió el mismo procedimiento anterior, pero se reemplazó a *Bacillus Subtilis* por el Caldo Nutritivo y a *Chlorella Vulgaris* por medio BBM.

III. RESULTADOS

A. Germinación de semillas

Tabla 1. Porcentaje de germinación de semillas de Jitomate 8 días después de la siembra (dds).

DÍA	CONTROL NEGATIVO	FERTILIZANTE	CHLORELLA VULGARIS	MEDIO BBM	BACILLUS SUBTILIS	CALDO NUTRITIVO	CHLORELLA Y BACILLUS	MEDIO BBM Y CALDO NUTRITIVO
1	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
2	0%	9.09%	0%	0%	5.71%	0%	0%	0%
3	0%	25.00%	14.29%	11.43%	25.71%	5.71%	17.14%	8.57%
4	8.57%	34.09%	25.71%	20.00%	34.29%	14.29%	25.71%	11.43%
5	22.86%	56.82%	45.71%	31.43%	54.29%	22.86%	45.71%	28.57%
6	45.71%	75.00%	65.71%	45.71%	71.43%	40.00%	68.57%	45.71%
7	51.43%	77.27%	68.57%	54.29%	77.14%	54.29%	71.43%	65.71%
8	65.71%	79.55%	71.43%	65.71%	80.00%	65.71%	74.29%	71.43%

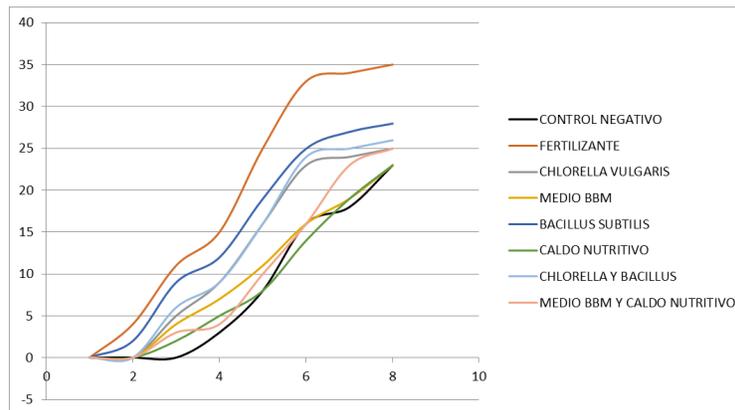


Fig 1. Gráfica resultante de porcentajes de germinación de semillas de Jitomate 8 días dds.



Fig 2. Germinación de semillas de Jitomate de 8 días dds.

B. Crecimiento de Tallo

En la Tabla 2 y Figura 3 se observa que el crecimiento del tallo es mayor utilizando Fertilizante químico, así como en los tratamientos con ambos microorganismos utilizados por separado. En cambio, la combinación de ambos microorganismos no es favorable para el crecimiento del tallo. El uso de los medios de cultivo por separado no promueve el crecimiento del tallo, ya que la longitud del tallo es similar al control negativo. Cuando se utilizan ambos medios de cultivo se observa un incremento en el crecimiento del tallo, pero menor al observado con los microorganismos.

Tabla 2. Altura promedio de tallo de plantas de Jitomate de 8 días dds.

TRATAMIENTO	PROMEDIO ALTURA (mm)
CONTROL NEGATIVO	17.3397
FERTILIZANTE	26.8092
CHLORELLA VULGARIS	24.1249
MEDIO BBM	16.7153
BACILLUS SUBTILLIS	25.3394
CALDO NUTRITIVO	16.6965
CHLORELLA VULGARIS Y BACILLUS SUBTILLIS	17.6525
MEDIO BBM Y CALDO NUTRITIVO	20.7958

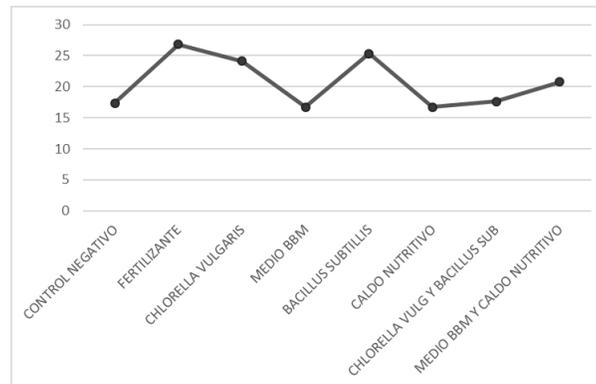


Fig 3. Gráfica resultante del crecimiento promedio de tallos de 8 días d

C. Crecimiento de raíz

Se observó un mayor crecimiento de la raíz utilizando Chlorella vulgaris, así como en combinación con Bacillus subtilis, sin embargo las plantas crecidas sólo con la bacteria tienen un incremento en el tamaño de la raíz aunque en menor medida (Tabla 3 y Figura 4).

Tabla 3. Longitud promedio de raíz de plantas de Jitomate de 8 días dds.

TRATAMIENTO	PROMEDIO LONGITUD (mm)
CONTROL NEGATIVO	51.9418
FERTILIZANTE	54.3602
CHLORELLA VULGARIS	61.0569
MEDIO BBM	56.1244
BACILLUS SUBTILLIS	57.1471
CALDO NUTRITIVO	48.6932
CHLORELLA VULGARIS Y BACILLUS SUBTILLIS	61.0569
MEDIO BBM Y CALDO NUTRITIVO	45.6454

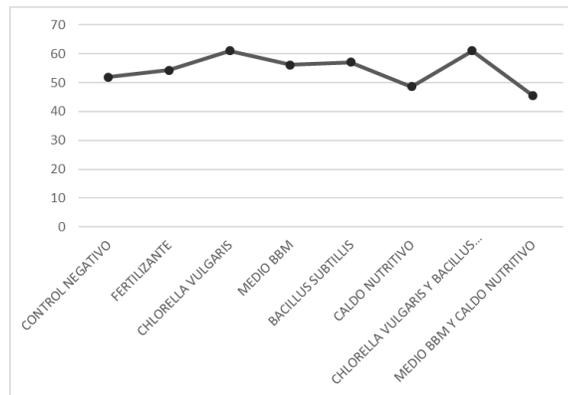


Fig 4. Gráfica resultante del crecimiento promedio de raíz de plantas de Jitomate de 8 días dds.

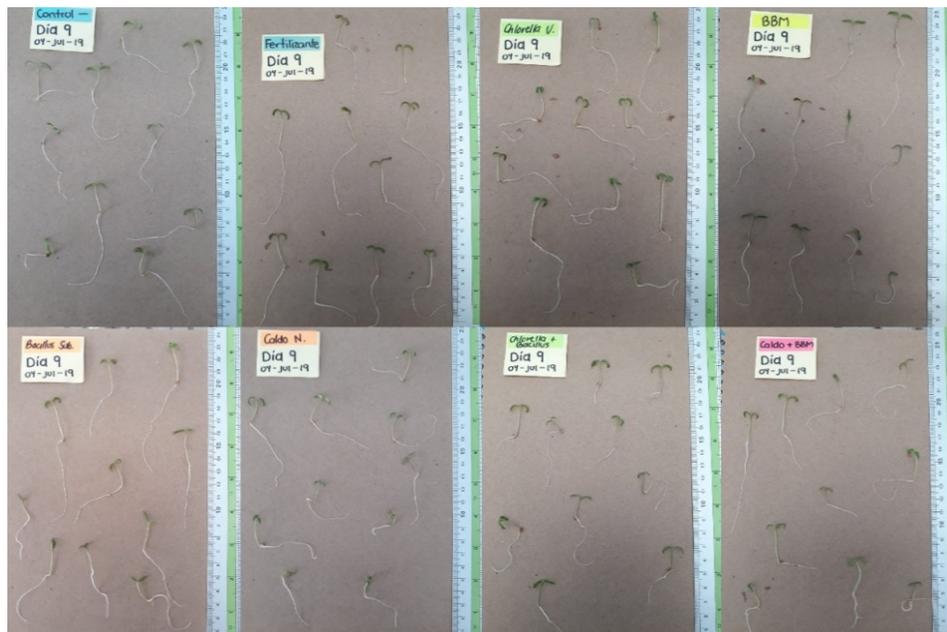


Fig 5. Tallo y raíz de plantas de Jitomate de 8 días dds.

D. Crecimiento de hojas

Los datos de la Tabla 4 y Figura 6 sugieren que el tamaño de las hojas incrementa utilizando fertilizante y ambos microorganismos, en cambio, disminuye al utilizar los microorganismos por separado, así como al utilizar los medios de cultivo juntos o separados.

Tabla 4. Longitud promedio de hojas de plantas de Jitomate de 8 días dds.

TRATAMIENTO	PROMEDIO LONGITUD(mm)
CONTROL NEGATIVO	20.6917
FERTILIZANTE	21.5602
CHLORELLA VULGARIS	20.0809
MEDIO BBM	19.3735
BACILLUS SUBTILLIS	17.921
CALDO NUTRITIVO	16.6139
CHLORELLA VULGARIS Y BACILLUS SUBTILLIS	21.6128
MEDIO BBM Y CALDO NUTRITIVO	18.9895

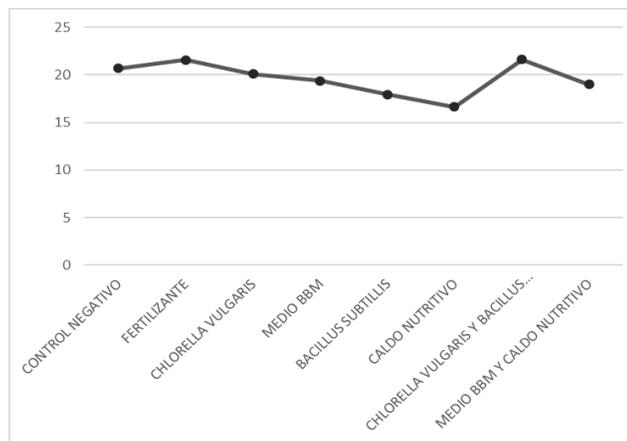


Fig 6. Gráfica resultante de longitud promedio de hojas de plantas de Jitomate de 8 días dds.

IV. CONCLUSIONES

- Los datos preliminares sugieren que la germinación de las semillas incrementó con el tratamiento de *Bacillus Subtilis*.
- El crecimiento del tallo incrementó con el tratamiento *Chlorella Vulgaris*.
- Se promovió el crecimiento de la raíz utilizando *Chlorella Vulgaris* o la combinación de esta microalga con *Bacillus Subtilis*.
- El crecimiento de la hoja incrementó en el tratamiento donde se combinó a *Chlorella Vulgaris* con *Bacillus Subtilis*.

- Los resultados ofrecen la posibilidad de utilizar *Bacillus Subtilis* y *Chlorella Vulgaris* como biofertilizantes promotores de germinación y crecimiento en plantas de Jitomate.

V. RECONOCIMIENTOS

Expreso profundo agradecimiento a mi asesora la Dra. Alejandra Hernández Barrera por la orientación y ayuda que me brindo para realizar este proyecto, a la Dra. Agustina Ramírez Moreno por impulsarme a participar y por supuesto Comité Organizador del 21° Verano de la Ciencia de la Región Centro. A la Universidad Autónoma de Coahuila y al Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, así como a su personal.

REFERENCIAS

- [1] Adesemoye AO, Torbert HA, Kloepper JW "Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Allow Reduced Application Rates of Chemical Fertilizers". Ecological Microbiology 2009.
- [2] De-Bashan Luz E, Gina Holguin, Bernard R Glick, Yoav Bashan: Bacterias promotoras de crecimiento en plantas para propósitos agrícolas y ambientales, Microbiología agrícola: hongos, bacterias, micro y macrofauna, control biológico, plantamicroorganismo. Ed. Trillas. Mexico City, 2007.
- [3] Desai Suseelendra, Minakshi Grover, E Leo Daniel Amalraj, G Praveen Kumar, S K Mir Hassan Ahmed: Exploiting Plant Growth Promoting Rhizomicroorganisms for Enhanced Crop Productivity. Microorganisms in sustainable agriculture and biotechnology. 2012.

Antagonismo de *Bacillus subtilis* frente a microorganismos fitopatógenos

Paloma Torres Lomas

Universidad Autónoma de Zacatecas
Unidad Académica de Ciencias Biológicas
Av. Preparatoria s/n, Col. Agronómica, C.P.
98066. Zacatecas, Zac., Mexico
palomat09@gmail.com

Asesora: Maria Rico Martinez

Instituto Tecnológico Superior de Abasolo
Blvd. Cuitzeo de los Naranjos #401, Col. Cuitzeo
de los Naranjos, C.P 36976, Guanajuato, México.
maria.rico@tecabasolo.edu.mx

Resumen — El control biológico es una estrategia útil para combatir diversos fitopatógenos. El objetivo de esta investigación consistió en evaluar el antagonismo de *Bacillus subtilis* contra dos fitopatógenos: *Pythium* sp y *Fusarium oxysporum*. Las especies mencionadas se aislaron de un cultivo en el Estado de Guanajuato, posteriormente se identificaron con pruebas bioquímicas y claves taxonómicas, finalmente se determinó su actividad antagónica utilizando el crecimiento en placas duales. Los datos se analizaron mediante ANOVA y las medias se compararon con la prueba de Tukey ($p < 0.01$). *Pythium* sp. mostró una reducción del 32% en el diámetro colonial mientras que en *Fusarium oxysporum* fue del 56%. Los resultados obtenidos indican que se cuenta con una cepa promisoría para el desarrollo de nuevos productos contra estos fitopatógenos.

Palabras clave — Aislamiento, *Pythium* sp, *Fusarium oxysporum*.

Abstract — Biological control is a useful strategy to combat various phytopathogens. The objective of this research was to evaluate the antagonism of *Bacillus subtilis* against two phytopathogenic: *Pythium* sp and *Fusarium oxysporum*. The mentioned species were isolated from Guanajuato State crop, later they were identified with biochemical tests and taxonomic keys and finally it was determined their antagonistic activity using the growth in dual plates. Data were analyzed using ANOVA and the means were compared with the Tukey test ($p < 0.01$). *Pythium* sp. showed a 32% reduction in colonial diameter while in *Fusarium oxysporum* it was 56%. The results obtained indicate that there is a promising strain for the development of new products against these phytopathogens.

Keywords — Isolation, *Pythium* sp, *Fusarium oxysporum*.

I. INTRODUCCIÓN

El control biológico de enfermedades utilizando microorganismos ha sido un área de investigación muy activa en los últimos años. El control biológico, en un sentido amplio se puede definir como la reducción del agente patógeno causante de la enfermedad por la acción de organismos (o de sus metabolitos) [1], estos últimos son denominados agentes de control biológico, entre los microorganismos más importantes capaces de antagonizar con los patógenos, se encuentran las bacterias de los géneros *Pseudomonas* y *Bacillus* y hongos de los géneros *Gliocladium* y *Trichoderma* [2].

Se han descrito varios mecanismos de acción de los antagonistas para controlar el desarrollo de patógenos. Algunos de estos son antibiosis, competencia por espacio o por nutrientes, producción de enzimas líticas, parasitismo e inducción de resistencia [2]. Cabe destacar que en general más de un mecanismo puede estar implicado en el efecto de biocontrol [3].

Las bacterias del género *Bacillus* presentan un gran potencial como antagonistas, principalmente por la gran cantidad de enzimas líticas, antibióticos y otras sustancias con

actividad biocida, que son capaces de producir efectos de control sobre varias especies de organismos fitopatógenos [4]. Por ejemplo, se ha reportado que las cepas de *B. subtilis* subsp *subtilis* pueden sintetizar la surfactina lipopéptida con efecto anti-*Listeria* o surfactina más una nueva bacteriocina con propiedades antibacterianas [5].

El género *Pythium* consta de aproximadamente 120 especies que ocupan diversos hábitats que van desde ecosistemas terrestres hasta estuarios de agua salada. Muchas especies son patógenos de plantas, mientras que otras son estrictamente saprófitas del suelo o parásitos de insectos, mamíferos, algas o peces [6]. Las enfermedades causadas por *Pythium* se presentan en muchas especies de plantas, las especies de este género son los patógenos más importantes en la infección de semillas o plántulas antes de la emergencia del suelo, lo que resulta en la amortiguación de preemergencia, infecta la raíz y el hipocotilo de plántulas después de la emergencia, también infecta raíces de plantas maduras, típicamente causando lesiones necróticas en las puntas de la raíz [7]. Los cultivos de alfalfa, zanahoria, remolacha, chile y tomate son afectados por algún patógeno de *Pythium* [6].

Fusarium oxysporum es un hongo que se presenta principalmente como saprófito en el suelo, o también como patógeno especializado, denominado *forma especial (f.sp)*, según la planta hospedante u hospedantes relacionados que afecte. Las hifas del hongo penetran directamente en la epidermis de las raíces, pasan directamente a la corteza y entran a los vasos del xilema lo que determina la aparición de síntomas de marchitez de hoja, un amarillamiento parcial de la hoja y eventualmente necrosis y muerte total de la planta [8].

II. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Aislamiento y caracterización de *Pythium sp.*, *Bacillus subtilis*, *Fusarium oxysporum*

El aislamiento de *Pythium sp.* se llevó a cabo por medio de la suspensión aséptica de 1 g de muestra de suelo contaminado, en 9 mL de agua destilada estéril, con agitación vigorosa en vortex por 60 s (Solución madre). A partir de la solución madre, se tomó 0.1 mL que se inoculó y esparció con espátula de Drigalsky en placas Petri con medios Agar Papa Dextrosa (PDA) y fueron incubadas a 28° durante 24 horas. Transcurrido el tiempo de incubación las placas fueron observadas al contador de colonias con lupa de aumento y se seleccionaron colonias según su forma, tamaño, bordes, elevación, color y textura. Las colonias correspondientes a hongos filamentosos fueron llevadas a placas con medio PDA [4]. Se realizó una observación microscópica de esporas a 40x utilizando la técnica de impresión con cinta adhesiva transparente.

Para los cultivos de *Bacillus subtilis* se activaron cepas conservadas a -4°C provenientes de investigaciones previas con maíz [9]. Se inoculó la cepa en medio AN y se incubó a 35°C durante 24 horas.

En el caso de *Fusarium oxysporum* se activaron cepas conservadas a -4°C donadas por el Dr. Félix Gutiérrez Corona, del laboratorio de genética y bioquímica de hongos y bacterias de la Universidad de Guanajuato. Se inoculó la cepa en medio PDA y se incubó a 28°C durante 96 horas.

B. Pruebas de antagonismo

Se desarrollaron pruebas de antagonismo usando la metodología de cultivo dual. Se empleó medio agar PDA para evaluar *B. subtilis* frente a *F. oxysporum* y a *Pythium* sp. Se utilizaron dos metodologías en la primera se hicieron dos líneas paralelas con el inóculo bacteriano (fig. 1A), cada una a 1 cm de distancia del borde de la placa Petri, seguidamente, se colocó un explante del hongo fitopatógeno en el centro de la placa [4]. En la segunda las bacterias se rayan en toda la placa y los hongos se colocan en un disco de 1 cm de diámetro en el centro de ella (fig. 1B) [10] y ambas se incubaron a 28°C.

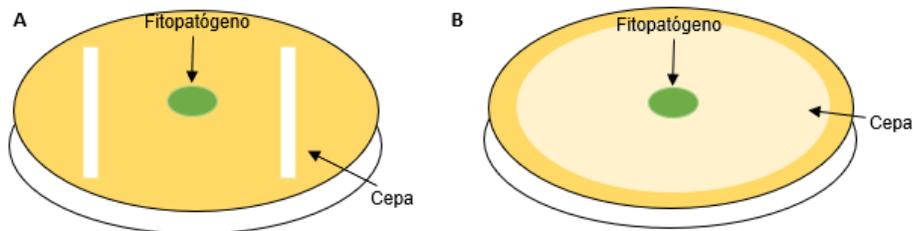


Fig 1. Cultivo dual. **A)** Cultivo con fitopatógeno en el centro doble estría. **B)** Cultivo con fitopatógeno en el centro y cepa esparcida en toda la caja.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. Identificación de aislamientos

Se determinó que los aislamientos corresponden a *Pythium* sp. tanto por la morfología de las colonias como por los resultados de las pruebas de identificación del género, la identificación la llevó a cabo el Ing. Luis Alfredo Sánchez Fuentes.

B. Análisis estadístico de pruebas de antagonismo

Los tratamientos se muestran a continuación:

C-F: control de *Fusarium oxysporum*. (fig. 2 D).

CP: control *Pythium* sp. (fig. 2 A).

F-B-1: muestra de *Fusarium oxysporum* en centro de la caja y *Bacillus subtilis* esparcida en toda la caja. (fig. 2 E).

F-B-2: muestra de *Fusarium oxysporum* en centro de la caja y doble estría de *Bacillus subtilis*. (fig. 2 F).

P-B-1: muestra de *Pythium* sp. en el centro de la caja y *Bacillus subtilis* esparcida en toda la caja. (fig. 2 B).

P-B-2: muestra de *Pythium* sp. en el centro de la caja y doble estría de *Bacillus subtilis*. (fig. 2 C).

Se realizó un análisis de varianza de una sola vía, con una diferencia significativa honesta de Tukey $p < 0.01$, por lo que se acepta la hipótesis de investigación que indica que al menos un tratamiento es diferente. Tabla 1.

Los promedios y las desviaciones estándar se muestran en la Tabla 2

En la Tabla 3, los tratamientos que comparten la (s) misma (s) letras, indican que no hay diferencias significativas, aquellos tratamientos que no comparten la misma (s) letra (s) indican que existen diferencias significativas

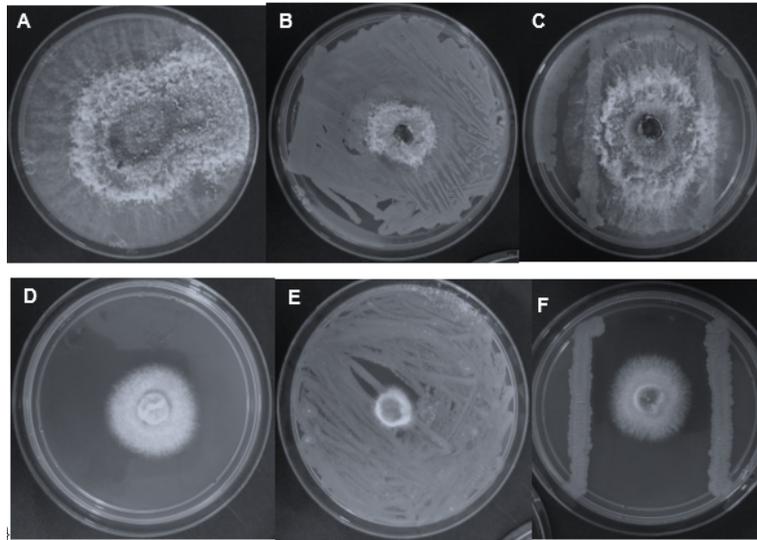


Fig 2. Pruebas de antagonismo. **A)** Control *Pythium* sp. (72 hrs.) **B)** *Phytium* sp. en el centro de la caja y *Bacillus subtilis* esparcida en toda la caja. (72 hrs.) **C)** *Phytium* sp. en el centro de la caja y doble estría de *Bacillus subtilis*. (72 hrs.) **D)** Control de *Fusarium oxysporum*. (72 hrs.) **E)** *Fusarium oxysporum* en centro de la caja y *Bacillus subtilis* esparcida en toda la caja. (72 hrs.) **F)** *Fusarium oxysporum* en centro de la caja y doble estría de *Bacillus subtilis*. (72 hrs.)

Tabla 1. ANOVA de una sola vía.

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Tratamiento	5	143.946	28.789	51.48	0.000
Error	23	12.863	0.559		
Total	28	156.808			

Tabla 2. Media y Desviación estándar de los tratamientos.

Nivel	N	Media	Desv. Est.
CF	2	5.6500	0.7778
CP	2	8.5000	0.0000
F-B-1	6	2.4500	0.2168
F-B-2	6	3.8833	0.4262
P-B-1	7	5.7714	1.3610
P-B-2	6	8.5000	0.0000

Tabla 3. ANOVA de una sola vía con análisis post-hoc: Tukey, $P < 0.01$

Tratamiento	N	Media	Agrupación		
P-B-2	6	8.5000	A		
CP	2	8.5000	A		
P-B-1	7	5.7714		B	
CF	2	5.6500		B	C
F-B-2	6	3.8833			C
F-B-1	6	2.4500			D

Se observa que hubo una disminución del 32 % en el diámetro de *Phytium* sp. cuando se coloca en una caja Petri inoculada con *Bacillus subtilis* en toda la superficie, es decir, el diámetro disminuye de 8.5 cm en el control hasta 5.77 cm en contacto con *B. subtilis*.

Mientras que *Fusarium oxysporum* muestra una disminución de diámetro del 56 % cuando es colocado en una caja Petri inoculada con *Bacillus subtilis* en toda la superficie, es decir, el diámetro disminuye de 5.65 cm en el control hasta 2.45 en contacto con *B. subtilis*.

No hubo diferencia significativa entre el diámetro de *Phytium* sp. como control con *Phytium* sp. en contacto con *Bacillus subtilis* en doble estría. Tampoco se obtuvo diferencia significativa con el diámetro de *F. oxysporum* como control con el *F. oxysporum* en contacto con *B. subtilis* en doble estría.

Por los resultados obtenidos, la cepa de *Bacillus subtilis* evaluada resultan promisorias para el control de *Pythium* sp. y *Fusarium oxysporum*, Sarti y Miyazaki [11] reportan la presencia en *B. subtilis* de metabolitos con actividad antifúngica activos hasta las 120 h con un pico de actividad a las 96 h. Se ha reportado la producción de sustancias promotoras del crecimiento por parte de *B. subtilis* para *F. oxysporum*. [12] cuando se aplica al suelo o a en las semillas.

IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La cepa de *Bacillus subtilis* provoca la mayor disminución del micelio de *Fusarium oxysporum* para un 56% de inhibición.

Bacillus subtilis inhibe el crecimiento micelial de *Pythium* sp. en un 32 %.

Se recomienda continuar el estudio de esta cepa con el objetivo de identificar los metabolitos involucrados en la actividad antifúngica.

V. RECONOCIMIENTOS

Agradezco a la Universidad Autónoma de Zacatecas junto al Comité Organizador del Verano de la Ciencia Región Centro por el apoyo económico y el espacio de intercambio entre Instituciones, y al Instituto Tecnológico Superior de Abasolo por las facilidades para la realización de la estancia de verano.

REFERENCIAS

- [1] V. del Rocío, "Potencial de la cepa CPA-8 de *Bacillus subtilis* como agente de biocontrol de enfermedades de postcosecha de fruta", Doctoral dissertation, Universitat de Lleida, Lérida, España 2012.
- [2] V.O. Fernández-Larrea, "Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. Avances en el fomento de productos fitosanitarios no sintéticos" *Manejo Integrado de Plagas*, vol. 62, pp. 96-100. 2001.
- [3] W.J. Janisiewicz and L. Korsten, "Biological control of postharvest diseases of fruits." *Annual Review of Phytopathology* vol. 40, pp. 411-441. 2002.
- [4] J. M. Méndez-Úbeda, M. F. Hernández, and L. A. Páramo-Aguilera, "Aislamiento e identificación de *Bacillus Subtilis* y evaluación del antagonismo in vitro frente hongos fitopatógenos." *Nexo Revista Científica*, vol. 30, no. 2, pp. 96-110. 2017.
- [5] M. J. Torres, G. Petroselli, M. Daz, R. Erra-Balsells and M. C. Audisio, "*Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* CBMDC3f with antimicrobial activity against Gram-positive foodborne pathogenic bacteria: UV-MALDI-TOF MS analysis of its bioactive compounds." *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 31, no. 6, pp. 929-940. 2015.
- [6] F. N. Martin and J. E. Loper, "Soilborne plant diseases caused by *Pythium* spp.: ecology, epidemiology, and prospects for biological control". *Critical reviews in plant sciences*, vol.18, no. 2, pp. 111-181. 1999.
- [7] F. F. Hendrix and W. A. Campbell, "Pythiums as plant pathogens." *Annu. Rev. Phytopathol.* Vol. 11, pp. 77-98. 1973.
- [8] E. Garcés de Granada, M. Orozco de Amézquita, G. R. Bautista and H. Valencia, "Fusarium oxysporum: El hongo que nos falta conocer." *Acta Biol. Colomb.* pp. 7-21. 2001.
- [9] J.J. Aguirre, "Identificación de Microorganismos Endófitos y Patógenos en Granos de Maíz (*Zea mays L.*)" Tesis de Licenciatura, Instituto Tecnológico Superior de Abasolo, Abasolo, Guanajuato, 2017.
- [10] K. Astorga-Quirós, K. Meneses-Montero, C. Zúñiga-Vega, J.A. Brenes-Madriz, and W. Rivera-Méndez, "Evaluación del antagonismo de *Trichoderma* sp. y *Bacillus subtilis* contra tres patógenos del ajo." *Revista Tecnología en Marcha*, vol. 27, no. 2, p. 82. 2014
- [11] G. C. Sarti, and S. S. Miyazaki, "Actividad antifúngica de extractos crudos de *Bacillus subtilis* contra fitopatógenos de soja (*Glycine max*) y efecto de su coinoculación con *Bradyrhizobium japonicum*." *Agrociencia*, vol. 47 no. 4, pp. 373-383. 2013
- [12] P. Villa, I. Alfonso, M.J. Rivero, and G. González, "Evaluación de cepas de *Bacillus subtilis* bioantagonistas de hongos fitopatógenos del género *Fusarium*." *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, vol. 41, no. 1, pp. 52-56. 2007

Aprovechamiento de residuos alimenticios vegetales para la creación de fertilizantes orgánicos

Michelle Aylín Guerrero Ángeles
Fernando Omar Mendieta González
Universidad Autónoma de Querétaro
Centro Universitario, Cerro de las Campanas s/n
C.P. 76010. Santiago de Querétaro, Qro.
michellegroang@gmail.com
omar-mendieta@hotmail.com

Asesora: Irma Cecilia Ortiz Chávez
Instituto Tecnológico Superior de Irapuato
Carretera Irapuato - Silao km 12.5 Colonia El
Copal. Irapuato, Gto.
ceortiz@itesi.edu.mx

Resumen — En el presente estudio se propone la metodología para la elaboración de un fertilizante orgánico que atienda las principales necesidades nutrimentales del cultivo de fresa y suelo, ofreciendo acción contra plagas. Para ello, se hizo el análisis bibliográfico de las empresas manufactureras de la región de Irapuato, Guanajuato, encargadas del procesamiento de frutas y hortalizas destinadas para el consumo humano con la finalidad de identificar los principales subproductos generados durante el proceso. Además, se hizo una investigación de costos en comparación a otros fertilizantes orgánicos empleados para el cultivo de fresa y se determinó la cantidad de nutrientes obtenidos a partir de los subproductos generados, encontrándose que todos los subproductos propuestos son funcionales para la elaboración del fertilizante.

Palabras clave — Fertilizante orgánico, subproductos, fresa, plagas, nutrición.

Abstract — This study proposes the methodology for the elaboration of an organic fertilizer that meets the main nutritional needs of strawberry and soil crops, offering action against pests. To this end, a bibliographic analysis of manufacturing companies in the region of Irapuato, Guanajuato, was carried out, in charge of the processing of fruits and vegetables destined for human consumption with the purpose of identifying the main byproducts generated during the process. In addition, a cost investigation was made in comparison to other organic fertilizers used for strawberry cultivation and the amount of nutrients obtained from the byproducts generated was determined, finding that all the proposed byproducts are functional for the fertilizer elaboration.

Keywords — Organic fertilizer, by-products, strawberry, pests, nutrition.

I. INTRODUCCIÓN

La región del bajo es una de las principales productoras de frutas y hortalizas en el país. En 2017, el estado Guanajuato ocupó el tercer lugar en la producción de fresa, contribuyendo con 8.8% de la producción nacional, el municipio de Irapuato, una de las principales regiones productoras del estado con una producción de 33,108.72 ton, superior a otros vegetales, que significó más de 340 millones de pesos. (SIAP, 2019).

En el municipio una de las principales limitantes para obtener mayores rendimientos de fresa es la presencia de plagas. El cultivo de fresa es atacado por varios artrópodos como la araña roja, chinche lygus y trips, que si no son controladas oportunamente reducen el rendimiento y calidad de la fruta, lo que ocasiona anualmente pérdidas a los productores del Bajío. Esta situación ha generado la necesidad de un agente químico, con la limitante de que esta táctica de manejo debe hacerse de forma consciente con los productos

recomendados y registrados para fresa que pretende comercializarse en el mercado nacional y de exportación (Bujanos y Jarillo, 2005).

Sin embargo, pese a dichas legislaciones y control, se ha reportado la generación de resistencia a estos métodos de contención complicando el control efectivo de las plagas y aumentando los costos en la producción (Díaz et al., 2017). Es por ello, que en el presente estudio se pretende identificar los principales residuos generados durante la cadena de procesamiento y a partir de ellos proponer un fertilizante orgánico que atienda las principales necesidades nutrimentales del cultivo de fresa en Irapuato y ofrezca un control contra plagas.

II. MARCO TEÓRICO

En México, entre las industrias más representativas de la región productora del bajo, se encuentran las destinadas a la conservación de frutas y hortalizas. Específicamente, en el estado de Guanajuato están registradas más de 40 empresas nacionales e internacionales que trabajan con materiales vegetales, entre las que destacan: B&G Foods Inc., Conagra Food, Cristalita, Congeladora El Niño, Empacadora del Bosque, Fresas Irapuato, General Mills, Gigante Verde, Mex Fruit, Mar Bran (León et al., 2014; DENUE, 2019).

Estas industrias generan diferentes tipos de subproductos agroalimentarios como pulpas, bagazos, fibras, aceites, cáscaras, semillas, hojas, y entre un 1-45% de producto durante el proceso de selección previo a que la fruta u hortaliza entre a la etapa de procesamiento. Dichos residuos, son destinados principalmente al sector ganadero, que puede ser suministrado fresco (mezcla con forraje) o bien ensilado (fermentado) (Porat et al., 2018).

Los productores, principalmente aquellos que se dedican al cultivo a campo abierto, han enfrentado problemáticas como plagas o degradación de los suelos de cultivo, lo que ha conducido a pérdidas de rendimiento de producción y calidad en los mismos. En el municipio de Irapuato se ha identificado suelo arcilloso (65.4%) (INEGI, 2009). De acuerdo a la FAO, se recomienda para el mejoramiento de suelos arcillosos añadir materia orgánica y compostas.

El fundamento que se sigue en la elaboración de fertilizantes orgánicos, es el del compostaje. La FAO define como compostaje a la mezcla de materia orgánica en descomposición que se emplea para mejorar la estructura del suelo y proporcionar nutrientes. En la Tabla 1, se muestran los nutrientes básicos absorbidos del suelo y necesarios para el desarrollo de la planta de fresa.

Tabla 1. Requerimiento nutricional de la fresa cultivada en suelo (Ciampitti y García, 2007)

Volumen producido en Irapuato (ton)	Rendimiento en Irapuato (ton/ha)	N (kg/ha)	Fósforo P ₂ O ₅ (kg/ha)	Potasio K ₂ O (kg/ha)	Ca (kg/ha)	Mg (kg/ha)	S (kg/ha)
33,108.7	71.89	129-160; 2.70- 10.20 kg/ton	57-87; 2.5-4.18 kg/ton	179-252; 4.16- 12.17 kg/ton	143- 179	57-72	28-44

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Se empleó durante la estancia equipo de cómputo facilitado por el ITESI con el cual se hicieron investigaciones bibliográficas sobre datos proporcionados por el gobierno mexicano a través de la SAGARPA, para recopilar información sobre los fertilizantes orgánicos disponibles en el mercado se navegó en sus páginas oficiales y en páginas de ventas de estos productos. Partiendo de la información obtenida se obtuvieron los datos científicos sobre los residuos y sus propiedades con los buscadores de Google Académico y ScienceDirect. La metodología propuesta para la creación industrial del producto fue una adaptación del trabajo realizado por de la Cruz y sus colaboradores en 2006.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 2 se muestran los informes confirmados del gobierno en cuanto a la producción agrícola en el municipio de Irapuato durante el año 2017. En este informe se destaca que el mayor volumen de producción y áreas destinadas para cultivo en la región está destinada a cereales como lo es el maíz y sorgo. Sin embargo, el precio final por tonelada de producto es superior para frutas y hortalizas. Lo anterior se debe a que el rendimiento del cultivo para éstos se ve incrementado debido a que se trata de productos con un mayor contenido de humedad, dando un mayor volumen de producto en comparación a los cereales.

En Irapuato, el vegetal que mayores ganancias genera por tonelada es el cultivo de espárrago y aunque su rendimiento es del 10.20%, es un producto bien evaluado en el municipio de Irapuato cuyo precio de venta es por arriba del promedio de otros vegetales. Mientras que para el caso de las frutas es la fresa, la cual además de generar ganancias tiene uno de los rendimientos más altos (71.98%) siendo el cultivo más rentable de la región.

Una de la característica de las industrias manufactureras encargadas del procesamiento de frutas y hortalizas es la generación de residuos. Por ello, en la tabla 3 se enlistan los principales subproductos con potencial a ser usados para la elaboración de un fertilizante orgánico. Nótese que durante la producción se genera mayor cantidad de residuos del brócoli. Lo anterior más del 70% del vegetal son las hojas, tallo y raíz. Cabe resaltar que de manera global de un 100% de producción el 48% (34,089.32 ton) se pierde durante la producción de frutas y hortalizas.

Tabla 2. Producción agrícola de Irapuato en 2017 (SIAP, 2019)

Producto	Volumen de la producción (ton)	Hectáreas destinadas	Valor de la producción (\$)	Precio (\$/ton)	Rendimiento (ton/ha)
Sorgo	99,052.20	15,602.0	350,763,687.14	3,484.26	5.79
Maíz	94,559.94	16,091.0	329,362,578.50	3,468.25	5.87
Fresa	33,108.72	460.0	340,862,644.55	10,295.25	71.98
Brócoli	16,071.90	987.0	79,859,017.12	4,919.32	17.20
Espárrago	8,170.20	801.0	281,451,624.91	34,448.56	10.20
Jitomate	1,875.50	26.5	14,042,462.50	7,533.82	101.89

Se considera que todos los residuos enlistados en la tabla 3 son viables para la elaboración del fertilizante y cumplir con los requerimientos mínimos nutrimentales de fresa (tabla 1), pues en un estudio realizado por Matiz et al. (2005) se comparó el efecto de la aplicación de diferentes fertilizantes orgánicos contra fertilizantes químicos, encontrándose que los abonos orgánicos, en especial los residuos vegetales secos y molidos (cáscaras: papa, yuca, plátano, zanahoria, tomate, arveja, habichuela, naranja, maracuyá, aguacate, cebolla), en comparación con los abonos químicos (urea, fosfato monopotásico y sulfato de potasio), tienen mayores efectos en el desarrollo y crecimiento de la planta aromática toronjil (*Melissa officinalis*).

Chojnacka et al. (2019) en un estudio comparativo de la concentración de nutrientes obtenidos en subproductos de la industria de alimentos, indicaron que el porcentaje mínimo de recuperación de nutrientes es de 0.3-0.01-0.05% de N-P-K y un máximo de 4-1-7% y cuyo costo estimado de elaboración es de 35-125 euro/Mg (0.80-2.73 pesos/kg). Lo anterior representa un reto para la elaboración del fertilizante. Sin embargo, el resto de los fertilizantes orgánicos mostrados en la tabla 4 son de forma específica para fresa, encontrándose que el mínimo costo por nutriente es de 0.50 centavos y máximo \$261.84.

Tabla 3. Cantidad de nutrientes extraídos expresado en kg de nutriente por tonelada de órgano cosechable. (Ciampitti y García, 2007; Kitinoja y Kader, 2015)

Cultivo	Producción total (ton) y % rCDP**	N kg/ton	K y K ₂ O kg/ ton	P y P ₂ O ₅ kg/ton	Ca kg/ ton	Mg kg/ ton	S kg/ ton
Apio	4,145.1 42-58%	0.3	0.4 0.5	0.1 0.2	0.1	0.1	*
Brócoli	16,071.9 70%	2.1	1.6 2.0	0.6 1.36	*	*	*
Espárrago	8,170.2 11-26%	9.6	8.5 10.2	1.6 3.6	*	*	*
Fresa	33,108.7 10-22%	2.9	3.2 3.8	0.5 1.1	*	*	*
Lechuga	4,296.5 48-61%	1.5	3.5 4.2	0.3 0.7	0.5	*	*
Jitomate	1,875.5 10-21%	1.9	3.1 3.7	0.2 0.5	0.1	0.1	0.1

Factores de conversión: P₂O₅ a P, **0.44**; K₂O a K, **0.83**.

*No especificado; **rCDP: Residuos durante la cadena de producción

Tabla 4. Comparación de la composición y costo por nutriente de fertilizantes orgánicos comerciales usados para fresas.

Producto	Modo de aplicación	Costo/kg	Proporción de nutrientes	Costo por Kg de nutriente		
				N	P	K
Compo	Polvo	\$390.64	NPK 9%-5%-13%	\$35.16	\$19.53	\$50.78
Organodel	Polvo	\$6.17	NPK 3.9%-3.7%-2.9%	\$0.24	\$0.23	\$0.18
Nova Tec	Granulado	\$32.40	12%-8%-16%	\$3.89	\$2.59	\$5.18
Flortis eco	Pellets	\$185.60	NPK 5%-8%-15%	\$9.28	\$14.85	\$27.84
Agzocol	Polvo	\$872.80	NPK 6%-12%-30%	\$52.37	\$104.74	\$261.84

Para la elaboración del fertilizante orgánico se propuso una adaptación a la metodología de la Cruz et al. (2006), en la cual se indica una metodología básica para la elaboración del fertilizante orgánico. En la adaptación (Figura 1) se especifica la necesidad de agregar los pasos de análisis nutricional de los residuos y el análisis del suelo de cultivo, para de esa forma establecer el balance de materia respecto a los nutrientes necesarios para la planta y los nutrientes disponibles de la recolección.



Fig. 1. Diagrama de proceso diseñado para la producción de fertilizante a partir de residuos de alimentos (Adaptado de de la Cruz et al., 2006)

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Con esta investigación se abre la puerta para la experimentación para la elaboración de un fertilizante orgánico pues es posible utilizar los desechos agroindustriales mencionados, principalmente de fresa, brócoli y espárrago para generar un abono con la metodología propuesta que pueda usarse en el suelo de los plantíos de fresa, que sea competente con otros fertilizantes orgánicos como Organodel® en cuanto a precio y en calidad comparado con los de mayor precio.

VII. AGRADECIMIENTOS

Expreso mi agradecimiento a la Universidad Autónoma de Querétaro, al Instituto Tecnológico Superior de Irapuato y al CONACYT por las facilidades y el apoyo otorgado. De igual manera a la maestra Irma Cecilia Ortiz Chávez por sus enseñanzas y apoyo.

REFERENCIAS

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2019). Consultado 19-06-2019 en <http://www.siap.sagarpa.gob.mx/>

- Bujanos, R., Jarillo, A. (2005). Cuadro básico de recomendación de insecticidas para el manejo de artrópodos plaga del cultivo de la fresa en la región del Bajío, México. *Memorias de Investigación*. 1: 19-24.
- Díaz, L., Dávalos, P., Jofre, A., Martínez, T. (2017). Fresa, deficiencias y síntomas nutricionales-Una guía para fertilizar. Primera edición. SAGARPA, Celaya, Gto., Folleto técnico 36: 1-6.
- León, L., Guzmán-Ortiz, D. García, J., Chávez, C. & Peña-Cabriales, J. (2014). Consideraciones para mejorar la competitividad de la región “El Bajío” en la producción nacional de fresa. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, vol. 5, núm. 4, 673-686.
- Directorio Estadístico Nacional de Unidades Económicas (DENUE). (2019). Consultado 18-06-2019 en <https://www.inegi.org.mx/app/mapa/denue/>
- Porat, R., Litcher, A., Terry, A., Harker, R., Buzby, J. (2018). Postharvest losses of fruit and vegetables during retail and in consumers' homes: Quantifications, causes, and means of prevention. *Postharvest Biology and Technology*, 139: 135-149.
- INEGI. (2009). Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos; Irapuato, Guanajuato. Consultado: 02-07-19. Disponible en: http://www3.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/11/11017.pdf.
- FAO. (2000). Mejorando la nutrición a través de huertos y granjas familiares, Manual de capacitación para trabajadores de campo de América Latina y el Caribe. Roma. Consultado: 02-07-19. Disponible en: <http://www.fao.org/3/v5290s/v5290s00.htm#TopOfPage>.
- Ciampitti, I., & Garcia, F. (2007). Requerimientos nutricionales. Absorción y extracción de macronutrientes y nutrientes secundario. *Archivo Agronómico* N° 11. En: *Informaciones Agronómicas* N° 33.
- De la Cruz, N., Aganon, C., Patricio, M., Romero, E., Lindain, A. y Galindez, J. (2006). Production of organic fertilizer from solid waste and its utilization in intensive organic based vegetable production and for sustaining soil health and productivity. *Center for Agricultural Resources and Environment Studies*. 1-12.
- Kitinoja, L., & Kader, A. (2015). Measuring postharvest losses of fresh fruits and vegetables in developing countries. *PEF White Paper* 15-02. The Postharvest Education Foundation, 5-12.
- Matiz, D. J. P., Villamil, E. O., & Torres, L. F. C. (2005). Comparación de la eficiencia de los abonos orgánicos con respecto a los abonos químicos en fertilización en el cultivo de toronjil (*Melissa officinalis*). *Tecnogestión: Una Mirada Al Ambiente*, 2(1).
- Chojnacka, K., Gorazda, K., Witek-Krowiak, A., & Moustakas, K. (2019). Recovery of fertilizer nutrients from materials - Contradictions, mistakes and future trends. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 110, 485–498.

Caracterización de comunidades microbianas del fruto de manzano y su empleo como agentes de control biológico

Evelyn Crystel Bárcenas Orozco
 Universidad de Guanajuato
 División de Ciencias Naturales y Exactas
 Noria Alta S/N, Noria Alta
 C. P. 36050 Guanajuato, Gto.
evelyn.cbo@gmail.com

Asesor: Juan Ramiro Pacheco Aguilar
 Universidad Autónoma de Querétaro
 Facultad de Química
 Cerro de las Campanas S/N, Centro Universitario
 C.P. 76010 Santiago de Querétaro, Qro.
juanramiro29@yahoo.com.mx

Resumen — En el presente trabajo se caracterizaron cepas de bacterias y de levaduras, presentes en el fruto maduro del manzano, por su posible actividad como agentes de control biológico (ACB) contra el hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea*. Se realizaron ensayos experimentales in vitro con las cepas aisladas contra tres cepas diferentes de *B. cinerea* para evaluar el potencial antagonístico, cuantificándolo como el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR). Los experimentos arrojaron resultados de hasta 75.14% en la inhibición del crecimiento, siendo las cepas bacterianas identificadas como FR1B3, FR4B4, FR4B5 y FR5B7 las más eficaces para reprimir el crecimiento in vitro de *B. cinerea*, situándolas como promisorios agentes de control biológico.

Palabras clave — Antagonismo, biocontrol, *Botrytis cinerea*, manzana.

Abstract — In the present work, were characterized strains of bacteria and yeasts, presents on the ripe apple fruit, for its possible activity as biological control agents (ACB) against the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea*. Experimental tests were performed in vitro with the isolated strains against three different strains of *B. cinerea* to evaluate, the antagonistic potential, quantifying it as the percentage of radial growth inhibition (PICR). The experiments yielded results of up to 75.14% in growth inhibition, with the bacterial strains identified as FR1B3, FR4B4, FR4B5 and FR5B7 being the most effective in suppressing in vitro growth of *B. cinerea*, placing them as promising biological control agents.

Keywords — Antagonism, biocontrol, *Botrytis cinerea*, apple fruit.

I. INTRODUCCIÓN

La agricultura ha sido una de las actividades más importantes para la humanidad desde el principio de la civilización. Actualmente en México representa el 3,3% del PIB [1], desempeñando un papel valioso en la economía del país. Una de las principales afectaciones en los cultivos se debe al impacto de plagas y enfermedades causadas por diferentes agentes biológicos. Para combatir estos daños se ha aplicado el uso indiscriminado de plaguicidas químicos que por una parte han controlado el problema inicial, sin embargo, muchos de ellos han resultado perjudiciales para la salud y el medio ambiente. [2]

Una de las alternativas prometedoras para la problemática causada por los pesticidas químicos, es el uso de microorganismos como agentes de control biológico. Este se basa principalmente en mecanismos del antagonismo microbiano en el que una especie de organismo tiene un efecto negativo, ya sea la inhibición, disminución o eliminación, sobre otra especie [3]. En la naturaleza, suele existir un equilibrio apoyado por la constante interacción entre organismos, conocido como control natural, de esa misma manera ocurre

en las superficies de las plantas donde bajo condiciones naturales podemos encontrar patógenos potenciales y sus antagonistas. [4] Bajo estos conocimientos, múltiples investigadores se han enfocado en identificar estos posibles agentes antagonistas, conocer sus mecanismos de acción y poder aplicarlos en el control de fitopatógenos de importancia económica.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Las cepas utilizadas fueron aisladas de la superficie de frutos de manzano, provenientes de un cultivo en la región de Amealco de Bonfil, en el estado de Querétaro, México.

Se analizaron un total de 13 cepas, de las cuales 8 de ellas eran levaduras, y 5 bacterianas. A cada cepa aislada se le dio un código alfanumérico para su identificación.

Tabla 1. Códigos de las cepas analizadas

Levaduras	Bacterias
FLL7	FR1B3
FLL17	FR4B12
FLL16	FR4B4
FLL62018	FR5B7
FLL22018	FR4B5
NB9	
NB124	
NB18	

Se realizaron ensayos para medir el antagonismo contra el hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea* cepas 152, 155 y 137, obtenidas de la misma región de las cepas antagonistas.

A. Ensayos de antagonismo *in vitro*

En cajas Petri con medio NYDA (Agar Nutritivo-Dextrosa para Levaduras) se realizaron ensayos por triplicado. Cada placa se dividió en 4 partes iguales. A 1 cm de la orilla se marcaron 4 líneas rectas de 1 cm de longitud, perpendiculares al diámetro.

En cada placa se inocularon 3 cepas a analizar y un control. Las cepas se sembraron con un asa bacteriológica en las líneas de 1 cm de longitud. Al centro de cada placa se colocaron discos de agar de 0.5 cm de diámetro que contenían el hongo *B. cinerea*. Como control se sembró el hongo de manera individual. Se dejaron en incubación a temperatura ambiente, hasta que el control de *B. cinerea* alcanzaba su crecimiento máximo (crecimiento completo en la superficie del agar).

B. Cuantificación del efecto antagonista

Se midió el radio de crecimiento del hongo con un vernier digital en dirección a la cepa antagonista, obteniendo un promedio para las 3 repeticiones de cada ensayo. El PICR se obtuvo mediante la fórmula de Samaniego et al. (1989). [6]

$$\text{PICR} = (R1 - R2) / R1 \times 100 \quad (1)$$

donde:

R1= radio de crecimiento del control del patógeno

R2= es el radio del crecimiento del patógeno en interacción con el antagonista.

III. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

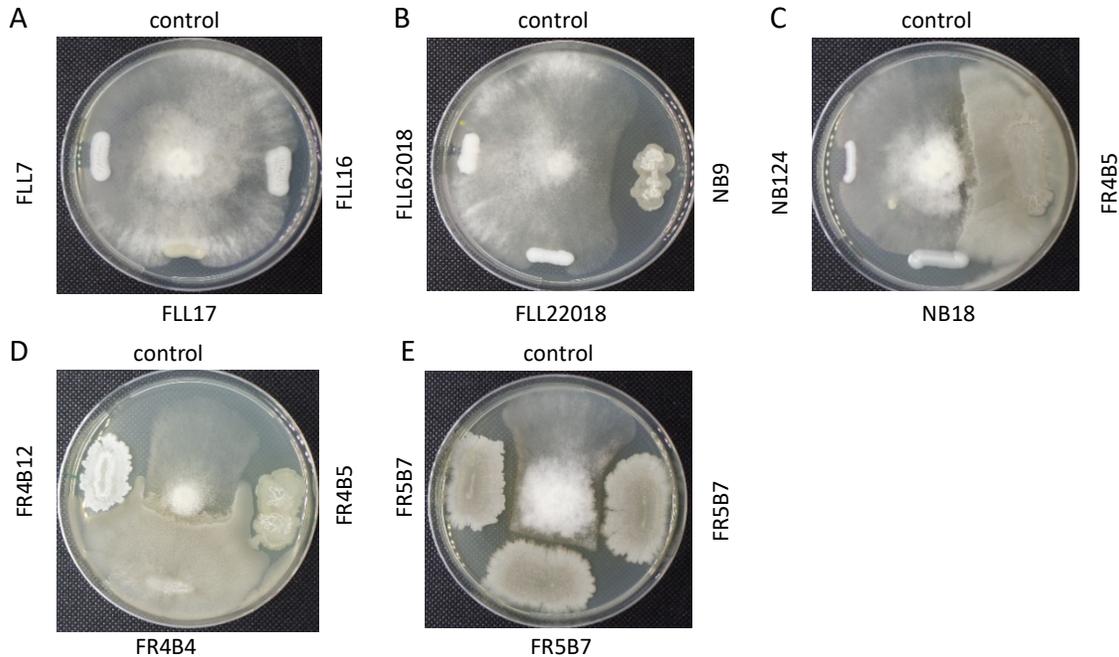


Fig 1. Ensayos de antagonismo in vitro contra *B. cinerea* 137. En las figuras D y E, el crecimiento del hongo se ve altamente reducido por sus antagonistas.

Tabla 2. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de *B. cinerea* 152

Cepa	Promedio del crecimiento radial (mm)	Promedio del crecimiento radial del control (mm)	Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (%)
FLL7	37.65	39.95	5.75
FLL16	36.50	39.95	8.64
FLL17	39.73	39.95	0.56
FLL22018	37.21	39.95	10.61
FLL62018	16.96	39.95	60.95
NB124	35.59	39.95	16.35
NB18	37.45	39.95	6.25
NB9	40.24	39.95	0.63
FR1B3	17.34	39.95	56.60
FR4B12	20.61	39.95	48.42
FR4B4	19.60	39.95	50.95
FR4B5	19.15	39.95	52.06
FR5B7	17.19	39.95	56.97

Tabla 3. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de *B. cinerea* 155

Cepa	Promedio del crecimiento radial (mm)	Promedio del crecimiento radial del control (mm)	Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (%)
FLL7	29.16	41.12	29.09
FLL16	35.95	41.12	12.56
FLL17	34.41	41.12	16.31
FLL22018	33.96	41.12	19.69
FLL62018	20.01	41.12	52.30
NB124	38.19	41.12	-0.09
NB18	-	-	-
NB9	18.42	41.12	35.51
FR1B3	16.78	41.12	59.20
FR4B12	19.10	41.12	53.54
FR4B4	18.75	41.12	54.40
FR4B5	19.41	41.12	52.80
FR5B7	18.79	41.12	54.30

Tabla 4. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de *B. cinerea* 137

Cepa	Promedio del crecimiento radial (mm)	Promedio del crecimiento radial del control (mm)	Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (%)
FLL7	38.23	40.87	6.46
FLL16	36.38	40.87	10.98
FLL17	34.65	40.87	15.21
FLL22018	37.22	38.80	4.07
FLL62018	29.53	38.80	23.88
NB9	17.02	38.80	56.14
NB124	29.23	40.92	28.55
NB18	27.90	40.92	31.80
FR1B3	11.02	40.92	73.08
FR4B12	15.63	35.90	56.47
FR4B4	11.43	35.90	68.16
FR4B5	15.13	35.90	57.86
FR5B7	15.16	40.66	75.14

Las cepas FLL62018, FR5B7, FR1B3, FR4B5 Y FR4B4 (de mayor a menor) alcanzaron PICR mayores o iguales al 50% contra *B. cinerea* 152 (Tabla 2). En el caso del antagonismo contra *B. cinerea* 155, las cepas que presentaron un PICR considerable (mayor a 50%) fueron FR1B3, FR4B4, FR5B7, FR4B12, FR4B5 Y FLL62018 (Tabla 3.). Para la inhibición del crecimiento de *B. cinerea* 137, destacaron (en orden descendente) las cepas FR1B3, FR4B4, FR5B7, FR4B5, FR4B12 Y NB9 (Tabla 4).

Se aprecian resultados variables de PICR dependiendo la cepa de *B. cinerea* contra la que fueron enfrentadas. Las cepas bacterianas FR1B3, FR4B4, FR4B5 y FR5B7 lograron PICR mayores a 50% en todos los ensayos realizados. En el caso de FR4B12, NB9 Y FLL62018 se obtuvieron porcentajes de inhibición sobresalientes contra cepas específicas de *B. cinerea*.

A excepción de algunas cepas, la mayoría de las cepas utilizadas en los ensayos mostraron, en mayor o menor medida, efectos antagonicos en el crecimiento in vitro del hongo fitopatogénico *B. cinerea*.

IV. CONCLUSIONES

Los ensayos in vitro para antagonismo son una herramienta esencial y un primer paso en la búsqueda y desarrollo de agentes de control biológico.

Este ensayo de enfrentamiento entre el agente patógeno y sus antagonistas permitió evaluar la capacidad inhibitoria de cepas bacterianas y de levaduras contra el hongo *Botrytis cinerea*, causante de enfermedades en cultivos de importancia económica, encontrando cepas con altos PICR, siendo prometedoras para futuros estudios que permitan su uso como ACB.

V. RECONOCIMIENTOS

Agradezco a la Universidad de Guanajuato y a la Universidad Autónoma de Querétaro por su apoyo para llevar a cabo los veranos de investigación.

Ofrezco un especial agradecimiento al Dr. Juan Ramiro Pacheco Aguilar y a la M. en C Rocío Crystabel López González por la orientación, enseñanzas y confianza que me otorgaron en este proyecto, y a mi compañero Juan Pablo por su apoyo en el laboratorio.

REFERENCIAS

- [1] «Porcentaje PIB». Banco Mundial. 2018. Consultado el 8 de julio de 2019.
- [2] Harsimran K.G. y Harsh G. (2014). Pesticides: environmental impacts and management strategies. En: Pesticides-toxic aspects (M.L. Larramendy y S. Soloneski, Eds.). Intech, Rijeka, Croacia, pp. 187-230.
- [3] Atlas, R.M. y Bartha, R., Ecología microbiana y Microbiología ambiental Pearson Educación, S. A. Madrid, 4ta edición, 2002
- [4] Fernandez Orietta y Vega Larrea. 2001. Microorganismos antagonistas para el control Fitosanitario, Avances en el Fomento de Productos Fitosanitarios No-Sintéticos, Manejo Integrado de Plagas, Costa Rica, No. 62 p. 96-100.
- [5] SAMANIEGO, G., S. ULLOA, S. HERRERA. Hongos del suelo antagonistas de *Phymatotrichum omnivorum*. Revista Mexicana de Fitopatología, 8: 86-95, 1989.

Caracterización de la pulpa de coco maduro para su utilización en algún producto alimenticio

Michel Alejandra Alba Montoya

Facultad de Ciencias Biológicas Unidad Torreón
Carretera Torreón-Matamoros Km. 7.5, Ciudad
Universitaria. Ejido El Águila, C.P.
27276, Torreón, Coahuila.
michelalba97@hotmail.com

Asesora: Araceli Loredo Treviño

Departamento de Investigación de Alimentos
Facultad de Ciencias Químicas Saltillo
Blvd. Venustiano Carranza S/N
Colonia República Oriente C.P.25260
aracelloredo@uadec.edu.mx

Resumen — En el presente estudio el objetivo fue caracterizar y evaluar las propiedades fisicoquímicas y funcionales de la pulpa de coco maduro que se obtiene después de obtener lechada de coco. La composición proximal fueron: 68.78% de humedad, 6.34% de grasa, 0.35% de proteína, 0.49 de ceniza y 4.30% de hidratos de carbono, para la pulpa de coco maduro. Una vez obtenida esta composición, se buscó la creación de un nuevo producto o la utilización de la pulpa de coco maduro como estabilizante en la elaboración de helados.

Palabras clave — Coco, Propiedades, Análisis

Abstract — In the present study the objective was characterize and evaluate the physicochemical and functional properties of mature coconut pulp obtained after obtaining coconut milk. The proximal composition were 68.78% moisture, 6.34% fat, 0.35% protein, 0.49% carbohydrates, for the mature coconut pulp. Once the composition was obtained, the creation of a new product or the use of the mature coconut pulp as a stabilizer in the elaboration of ice cream, was sought out.

Keywords — coconut, proprieties, analysis

I. INTRODUCCIÓN

La palma de coco se cultiva en más de 90 países tropicales y representa una fuente de ingresos importante. Indonesia, Filipinas y la India son los principales productores producen el 75% del coco mundial. El árbol de coco entero se puede utilizar, pero la productos principales se obtienen de la fruta: copra y el aceite, el ácido láurico, leche de coco, fibra, harina, agua de coco (de fruto inmaduro), que se utilizan en varias aplicaciones, por ejemplo, alimentos, jabones, detergentes y cosméticos.(Aparecida et al. 2011).

Un ejemplo claro de esto, es Brasil, ya que es el cuarto mayor productor de coco, su cultivo en Brasil no está destinado a la producción de combustible, pero la pulpa se utiliza principalmente como materia prima para la producción de coco rallado, leche de coco y otros derivados. La creciente demanda de esta bebida alcanza alrededor de 350 millones de litros por año en forma fresca e industrializado.

La pulpa de coco contiene, entre otros, agua, hidratos de carbono, proteínas, grasas, sales y también vitaminas A, B1, B2, B5 y C. El coco tiene las siguientes propiedades medicinales, entre otros: anti-inflamatorio, calmante, hidratante, nutritiva y antioxidante. La palma de coco se cultiva para producir varios productos, incluyendo el agua de coco verde (Ge et al., 2005; Matsui et al., 2008; Yong et al., 2009).

Debido a la necesidad de los consumidores de buscar alimentos de alta calidad nutricional, se han creado nuevos alimentos que se extraen de frutas o verduras con la finalidad de hacer más práctico su uso y contribuyan a la salud del consumidor.

II. MARCO TEÓRICO

La utilización del coco en general es muy usual en la industria, sin embargo, las propiedades del coco según su madurez son distintas. A pesar de eso, su contenido de ácido laurico ha hecho posible su utilización en la industria cosmética y fabricación de jabones, además de eso, tiene beneficios a la salud y propiedades antivirales, antibacteriales y antiprotozoales hace que sea atractivo para su uso en alimentos.

Los derivados del coco más utilizados son el aceite de coco, la copra, el coco deshidratado, y la fibra en ese orden de importancia. Su uso data desde alrededor del año 1949 cuando fue introducido a las costas occidentales de África a Puerto Rico, posteriormente, en 1952 se planteó la necesidad de introducir semilla de coco en la India para multiplicar la producción y la economía. (Cueto, et al. s.f.).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA. Se utilizó pulpa de coco madura la cual fue recuperada del proceso de extracción de leche de coco. Esta pulpa estaba congelada a -30°C y se descongeló a 4°C y posteriormente se procesó.

CHARACTERIZACIÓN BROMATOLÓGICA. Se llevó a cabo la caracterización bromatológica del coco usando las técnicas de la AOAC (Villalobos, Granados, Villegas.2014). Estas se describen a continuación.

CONTENIDO DE HUMEDAD

Se cortó la muestra y se puso a pesar y a secar en una charola metiéndola a una estufa a $55-60^{\circ}\text{C}$ por 24 h. Después se sacaron, se dejó enfriar y se pesó. Se registraron los pesos y se prosiguió a hacer los cálculos con la Ec 1.

$$\frac{\% \text{MSP} = (\text{Peso de la muestra seca})(100)}{\text{Peso de la muestra húmeda (gr)}} \quad (1)$$

$$100 - \% \text{MSP} = \% \text{ Humedad}$$

CONTENIDO DE CENIZAS

Se pusieron a peso constante 3 crisoles de porcelana que se metieron a la estufa por 24 h. a 100°C , se sacaron, pesaron en una balanza analítica y se metió al desecador. Se dejaron enfriar y se agregaron de 2-3 gr. de coco previamente secado, se prosiguió a precalcinárselas en una parrilla a temperatura alta, seguido de esto se metieron a la mufla por 3 horas a 600°C para ser calcinadas, al sacarse se pesaron los crisoles y se hicieron los cálculos para determinar las cenizas obtenidas, usando la Ec. 2:

$$\% \text{ de ceniza} = \frac{\text{Peso del crisol con ceniza} - \text{peso del crisol solo} (100)}{\text{g de muestra}} \quad (2)$$

CONTENIDO DE GRASA

Se comenzó poniendo a peso constante los matraces bola de fondo plano, en los que se iba a recolectar el aceite final del proceso. Después se prosiguió a montar todo el equipo necesario para realizar el método Soxhlet, También se pesaron y vaciaron 2 gr, de coco (previamente secado a 55°C) en papeles filtro (cartucho) y se introdujeron en su respectivo tubo de Buth. Al matraz bola se le agrego un disolvente (hexano), se conectaron las mangueras para la recirculación del agua a la bomba y se mantuvo el agua fría. El proceso se mantuvo durante aproximadamente 3-4 horas.

Los matraces con la grasa recuperada se metieron a la estufa a aproximadamente 100°C por 24 h. para posteriormente ser pesados y hacer los cálculos correspondientes con la Ec 3:

$$\text{Extracto Etéreo (\%)} = \frac{\text{Matraz con grasa} - \text{Matraz sin grasa}}{\text{Peso de la muestra}} (100) \quad (3)$$

CONTENIDO DE FIBRA

Se comenzó pesando 2 gr. de muestra desengrasada (obtenida del método Soxhlet para determinar el contenido de grasa) y se vació un vaso Berzelius, al que se le agregaron 100 ml de ácido sulfúrico al 0.225 N, y se conectaron los vasos (3) al equipo de reflujo. Transcurrido el tiempo, se filtró por medio de una tela de lino enjuagando con 100 ml de agua destilada hasta su neutralidad, posteriormente se vació la fibra obtenida a los vasos y se agregaron 100 ml de Hidróxido de sodio 0.313 M. y se conectaron los vasos de nuevo al equipo de reflujo por 30 min. Posteriormente se filtró de la misma manera y la fibra final se vació a crisoles de porcelana previamente puestos a peso constante y se dejaron en la estufa por 24 hrs. A 100°C.

Después se pasaron los crisoles a la mufa a 600°C por 3 horas para finalmente pesar y calcular el % de fibra utilizando la Ec 4.

$$\% \text{ Fibra} = \frac{(\text{Crisol con fibra seca}) - (\text{Crisol con fibra en cenizas}) \times 100}{\text{gr de la muestra}} \quad (4)$$

CONTENIDO DE PROTEINA

Se pesaron 30 mg de la muestra previamente desengrasada, más 0.3 gr de catalizador (n - C -NH₂ + mH₂SO₄ CO₂ + (NH₄)₂ SO₄ + SO₂), en tubos para hacer la digestión. Después se agregaron 2.5 ml de ácido sulfúrico concentrado a los tubos y se conectaron al equipo de digestión Labconco. La digestión se llevó a cabo por aproximadamente 2 h. hasta que la muestra cambió a color verde esmeralda. Para la segunda fase que es la destilación se vació la muestra con el residuo blanquecino al tubo de destilación, se agregaron despacio 5 ml de agua, y 10 ml de hidróxido de sodio al 60%. Al matraz donde se iba a recoger la muestra, se agregaron 5 ml de ácido bórico al 5%, y 2 gotas de indicador mixto (rojo de metilo al 2% y azul de metileno al 0.2%). Se destiló la muestra en el equipo Kjeldahl hasta obtener de 75 a 100 ml de muestra, misma que se tituló después con HCl al 0.01 N. Los cálculos se realizaron con la Ec 5.

$$\% N = \frac{((V2 - V1)(Eq N)(Normalidad al HCl)(100))}{\text{Peso de la muestra (mg)}} \quad (5)$$

V2= Volumen de HCl gastado para titular la muestra (ml)

V1= Volumen gastado para titular el blanco (ml)

Eq N= 14.007

38

CONTENIDO DE SODIO

Las cenizas obtenidas del proceso para determinar el contenido de cenizas se enjuagaron con poca agua destilada y se vaciaron a un matraz con 1 ml de cromato de potasio al 5% para después titularse con Nitrato de plata al 0.1 N, hasta ver el virre a color rojo ladrillo. Después se calcularon el contenido de cenizas con la Ec 6.

$$\text{Sodio (\%)} = \frac{0.0585 (\text{Gasto})(\text{Normalidad})(100)}{\text{Masa de la muestra inicial}} \quad (6)$$

CONTENIDO DE CARBOHIDRATOS INSOLUBLES

Para la determinación de azúcares totales, se realizó la hidrólisis de 20 mg de muestra tanto seca como desgrasada con 5 ml de H₂SO₄ 0.25 M y se realizó la técnica de azúcares totales con Antrona (Rodríguez. 1987) haciendo diluciones y realizando su respectiva curva según las concentraciones.

CONTENIDO DE AZUCARES SOLUBLES EN AGUA

Se utilizaron 0.5 gr. de muestra tanto seca como desengrasada y se añadieron 15 ml de etanol al 80% para homogenizarse en una ultraturrax a 8000 rpm por 30 seg, después se sónico por 15 min y se centrifugó a 4000 rpm por 15 min. El sobrenadante se separó y la fracción sólida se lavó con 10 ml de etanol al 80%, se volvió a sónico y a centrifugar a las mismas condiciones mencionadas anteriormente, se extrajo el sobrenadante del cual se tomaron 0.5 ml para evaporarlos en la estufa para determinar azúcares totales con la técnica de Antrona (Rodríguez. 1987). El sobrenadante recuperado se utilizó para medir azúcares reductores por el método de DNS (Bello Gill, et al. 2006).

PROPIEDADES FUNCIONALES**CAPACIDAD DE HINCHAMIENTO**

La capacidad de hinchamiento se determinó siguiendo el método usado por Requena *et al.* (2016). Se hidrató 0.2 g de muestra seca por 24 h con 5 ml de agua. Para obtener la diferencia entre el volumen inicial ocupado y el final.

CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE AGUA

La capacidad de retención de agua se midió por el método centrífugo. Se colocó 1 g de muestra seca en un tubo. Se adicionaron 10 ml de agua destilada para que se hidratara durante 24 horas. La suspensión se centrifugó a 2000 rpm por 15 min. Se determinó el peso húmedo, se secó en estufa a 40°C y determinó el peso seco de la fibra. (Arroyo Salas, Yoni. Carrasco, Mercedes. Bueno, Antonio. Cardeña, Rubén. Luízar, 2009)

CAPACIDAD DE ADSORCIÓN DE ACEITE

Se colocó 1 g de muestra en un tubo con 10 ml de aceite vegetal y se agitó durante 30 min. Después de centrifugar durante 10 min a 3000 rpm. se retiró el sobrenadante y se pesó el sedimento. (Arroyo Salas, Yoni. Carrasco, Mercedes. Bueno, Antonio. Cardeña, Rubén. Luízar, 2009).

CAPACIDAD DE FORMACION DE ESPUMA

La prueba se llevó a cabo pesando la pulpa de coco maduro y mezclándola con levadura en polvo en relación 10:2, posteriormente se le añadió agua en relación 2:4 y se metió a un baño de agua a 40°C, se monitoreo el volumen aumentado con respecto al tiempo (Aparecida et al. 2011).

IV. RESULTADOS

Los resultados obtenidos de los análisis bromatológicos y pruebas realizadas a la pulpa del coco maduro se expresan en las siguientes tablas y gráficas. La tabla 1 presenta los porcentajes de composición en la muestra seca y muestra húmeda, así como sus desviaciones estándar.

Tabla 1. Componentes y desviaciones estándar en muestra seca y húmeda

Componente	% muestra seca	% muestra húmeda	Desv. Est
Humedad	0	68.78	±5.34
Lípidos	20.3	6.34	±0.25
Proteínas	1.11	0.53	±0.23
Cenizas	1.57	0.49	±0.15
Fibras	48.37	15.10	±1.73
Azúcares	13.77	4.30	±3.30

Respecto al análisis de propiedades funcionales, se obtuvieron las diferentes capacidades del coco, por ejemplo, se obtuvo una capacidad de hinchamiento de 5 ml de H₂O/2 gr de muestra, en la retención de agua se obtuvo el valor de 1.13gr de agua/ gr de muestra y en la adsorción de aceite se obtuvo un valor de 4. 51 gr de aceite/ gr de muestra, lo que nos indica que el contenido de fibra insoluble es mayor al de la fibra soluble. Por otro lado, la capacidad de formar espuma, resulto en un 57.14% menor con respecto al blanco, la figura 1 muestra la diferencia de tiempo y el volumen que aumento cada una respectivamente.

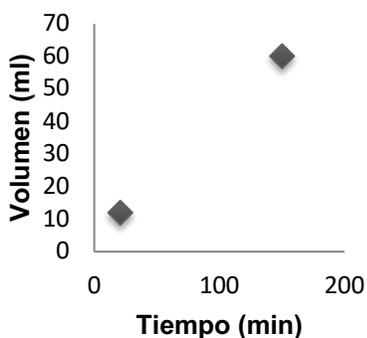


Figura 1. Capacidad de formación de espuma

V. ANÁLISIS DE RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en los análisis bromatológicos fueron diferentes a comparación con estudios realizados anteriormente, esto debido al tratamiento que la pulpa de coco recibe y también dependiendo si el coco está maduro o tierno, en este caso, la pulpa de coco maduro fue donada como residuo de un trabajo preliminar y se le dio un tratamiento con agua, lo que explica su contenido de humedad, sin embargo no se compara con el contenido de humedad de la pulpa de un coco verde fresco la cual es mayor, ni tampoco con la pulpa de coco liofilizada la cual es mucho menor debido a su deshidratación. Sin embargo, los análisis realizados fueron la base para determinar si la pulpa de coco maduro puede ser precursor para la elaboración de algún producto alimenticio, o para ser adicionado como complemento. Por lo tanto, según los resultados obtenidos, se llega a la conclusión de que esta pulpa puede ser utilizada para elaborar algún helado, debido a que posee la habilidad de formar espuma debido a su contenido de proteínas, además de eso, su contenido de lípidos hace que se fácil su manejo e integración y su contenido de fibra puede hacer que el producto sea un alimento de valor nutricional.

REFERENCIAS

- Aparecida Aantana Ines, Ribeiro Paula Eliana, Miwa Iguti Antonia. (2011). Evaluation if Green coconut (Cocos nucifera L.) pulp for use as milk, fat and emulsifer replacer in ice cream. Maua Institute of Technology. Brazil
- Bello Gil Daniel, Carrera Boccourt, Emilia; Diaz Maqueira Yuset. (2006) Determinacion de azucares reductores en jugos mezclador de caña de azúcar utilizando el método de acido 3,5 dinitrosalicílico. Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar Ciudad de La Habana, Cuba.
- Chauhan P. O., Archana B.S., Singh Asha, Raju S.P., Bawa S. A. (2012). Utilization of Tender Coconut Pulp for Jam Making and Its qualit evaluation during storage. Food Bioprocess Technol.
- Cueto R. Jorge, Maruchi Alonso, Raixa Llauger, V. González y W. Romero. Historia del cocotero (Cocos nucifera L.) en Cuba: su origen en la región de Baracoa. Instituto de Investigaciones en Fruticultura Tropical. Empresa de Coco Baracoa.
- H. Prieto W., Iguti M. A., Nitz M. (2011). Drying evaluation of Green coconut pulp for obtaining a snack-like product. 11th International Congress on Engineering and FoodMaua Institute of Technology. Brazil.
- Ministerio de Agricultura y ganadería. Boletín de mercado de coco.(2001) Programa nacional de frutas de el salvador. República de el Salvador en la América Central
- Nascimento Alves Niédila, Messaoud Ghazi Ben, Desobry Stéphane, Correia Costa José María, Rodrigues Sueli. (2016). Effect of drying technique and feed flow rateo n bacterial survival and physicochemical properties of a non-dairy fermented probiotic juice powder.Elsevier Ltd.
- Pereira da Silva Wilton, Pereira da Silva Cleide M, De Farias Aires Juarez E., Da Silva Junior Aluizio F. (2014). Osmotic dehydration and convective drying of coconut slices: Experimental determination and description using one-dimensional diffusion model. Journal of the Saudi Society of Agrucultural Sciences.Center os Sciences and Technology, Federal University of Campina Grande, Brazil.
- Rodriguez Arzave Juan Antonio (1987). Manual de Practicas de Bioquímica. 4ª edición. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey N.L.

- Silva Teixeira Natali, Torrazan Renata, Castro Freitas-Sá Daniela, Nacedo Pontes Sérgio, De Oliveira Ribeiro Leilson, Correa Cabral Lourdes, Da Matta Virgínia. (2019). Development of a fruit smoothie whit solid albumen of Green coconut. Food Technology.
- Villalobos; Granados; Villegas (2014). Tratamiento y análisis de muestras para ensayos químicos. Sección Química. Centro de Investigación en Nutrición Animal. Universidad de Costa Rica.

Caracterización funcional de fibras duras vegetales de agave

Irma Graciela Flores Cortés

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Calz Antonio Narro 1923, Buenavista, 25315
Saltillo, Coah.
irmafcts@gmail.com

Asesora: Lorena Vargas Rodríguez

Universidad de Guanajuato
El Mayorazgo, Ignacio Zaragoza No 749, Centro,
38900 Salvatierra, Gto
vargaslorena2016@outlook.com

Resumen — La industria mezcalera genera grandes cantidades de fibras el cual representa un problema de contaminación debido al mal manejo que se le da. El presente trabajo se realizo con el fin de caracterizar la fibra de Agave tequilana para una utilización posterior y un mejor aprovechamiento de las fibras. Donde se analizó la muestra en tres repeticiones, para ellos se realizo un análisis bromatológico en la muestra de fibras, las variables analizadas fueron: pectina, fibra cruda, extraíbles totales, lignina y cenizas presentes posteriormente se analizaron los datos sacando medias aritméticas comparando los resultados reportados por otras investigaciones.

Palabras clave— Agave Tequilana, Fibra de agave, caracterización de fibra.

(Ayudan a a identificar los temas o aspectos principales del trabajo y son importantes para su indexación en bases bibliográficas. Deben ser de tres a cinco palabras clave, y pueden incluirse frases cortas que describan tópicos significativos del documento.)

Abstract — The mezcalera industry generates large amounts of fibers which represents a contamination problem due to the bad handling that occurs. The present work was carried out in order to characterize the Agave tequilana fiber for later use and better use of the fibers. Where the sample was analyzed in three repetitions, for them a bromatological analysis was performed on the fiber sample, the variables analyzed were: pectin, crude fiber, total extractables, lignin and ashes present subsequently the data were analyzed taking arithmetic means comparing the results reported by other investigations.

Keywords— Agave tequilana, Agave fiber, fiber characterization.

I. INTRODUCCIÓN

México destaca en la producción de fibras naturales de origen vegetal en todo el mundo debido a que posee una amplia diversidad de especies productoras de este material, siendo mayormente de la familia Agavaceae a la cual pertenece el Agave. [1]

El agave es una de las plantas mexicanas que es reconocida a nivel mundial la cual incluye varias especies, de las cuales se reportan 197 especies incluidas dentro de los dos subgéneros reconocidos (*Litsea* y *Agaveae*). De las cuales en Mexico se pueden localizar 136 especies. [2]

El agave tequilana se logra cultivar solo en regiones muy restringidas establecidas como territorios protegidos por la denominación de origen del tequila. Estos territorios incluyen los estados de Jalisco, Nayarit, Guanajuato, Michoacan y Tamaulipas. [3]

Pertenece a la familia de las agaváceas el cual es considerado una planta con mayor diversidad de utilidades, las cuales son más de cien. Entre los usos más comunes se encuentra la elaboración de mezcal, tequila, pulque, aunque también se pueden lograr

concentrados de aguamiel, mieles, jarabes, fibras para artesanías, forrajes, extractos medicinales, etc. [4]

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo se realizó en la universidad de Guanajuato campus Celaya-Salvatierra

A. Molienda de fibras de agave

La molienda se llevó a cabo por medio de un molino manual marca estrella. Un proceso previo a la molienda fue la reducción de tamaño de partículas de las fibras posteriormente se sometió a molienda por medio de un molino manual.

B. Contenido de pectinas

Para la determinación de pectinas se utilizaron 10 gramos de muestra previamente molida la cual se mezcló con 600 ml de agua destilada y 60 gramos de ácido cítrico para ser colocado en un matraz Erlenmeyer de 200ml. Se colocó junto con un refrigerante durante 20 minutos después de su ebullición. Posteriormente la muestra fue lavada con 300ml de etanol mientras se filtraba al vacío, se dejó refrigerar la muestra por 12 horas para ser filtrada nuevamente. Por último la muestra se pone a secar en una estufa a 40°C durante 4 horas para pesar el papel filtro y obtener una diferencia de pesos y encontrar el contenido de pectinas.

C. Fibra Cruda

Se coloca 2 gramos de fibra de agave en un matraz Erlenmeyer, 2 gramos de ácido tricloroacético, 5 ml de ácido nítrico y 70ml de ácido acético al 70%. Este sistema se mantiene a reflujo con agitación constante durante 30 minutos; para enseguida filtrar al vacío, lavando el residuo con agua destilada caliente hasta eliminar por completo el olor a ácido acético, el filtro se seca en estufa a 95°C durante 12 horas y se pesa. El porcentaje de fibra cruda se calcula mediante la fórmula:

$$\% \text{ Fibra Cruda} = \frac{(\text{Peso papel filtro con residuo (g)} - \text{Peso papel filtro vacío (g)})}{\text{Peso de la muestra desengrasada (g)}} \times 100 \quad (1)$$

D. Extraíbles totales

La determinación del porcentaje de extraíbles en solvente orgánico se llevó a cabo según la metodología establecida de la TAPPI T264. Mientras el porcentaje de extraíbles en agua caliente se realizó de acuerdo a la TAPPI 207. La suma de ambos porcentajes se reporta como extraíbles totales de la muestra.

E. Porcentaje de Lignina

En un vaso de precipitado de 50 ml se pesó 1.5 gramos de muestra seca y libre de extraíbles en benceno, etanol y agua. Luego se agregaron 10.8 ml de H₂SO₄ al 72%, a 13 °C de temperatura y se agitó vigorosamente durante 1 minuto. Enseguida, se dejó reposar

durante 2 horas, con agitación frecuente a una temperatura de 19°C. La mezcla resultante se trasvasó a un matraz Erlenmeyer de 1 L, y se diluyó la concentración del ácido a 3 % adicionando 560 ml de agua destilada. La mezcla se llevó a ebullición durante 4 h con un condensador de reflujo. Trascurrido el período indicado, la mezcla en el Erlenmeyer se dejó enfriar hasta que el material insoluble decantó. Posteriormente, la muestra se filtra al vacío utilizando papel filtro No 3, el cual debe estar secado previamente a 105°C. El precipitado se lava con 500 ml de agua caliente hasta quedar libre de ácido. El papel filtro y su contenido se secan en un horno durante 4 h a 105°C. Después, se retira el papel filtro del horno y se deja enfriar dentro de un desecador por tres horas. Tras alcanzar peso constante, se pesa el papel filtro y se determina el contenido de lignina, según la Ecuación 1, de la metodología ASTM D1106.

$$\% \text{ Lignina} = \frac{(\text{Peso papel filtro} + \text{residuo secado (g)} - \text{Peso papel filtro secado (g)})}{\text{Peso de la muestra libre de extractos secada (g)}} \times 100 \quad (2)$$

F. Determinación del contenido de celulosa

El contenido porcentual se determina mediante el método de Kürshner-Höffer, al material libre de sustancias extraíbles se le añaden 5 ml de mezcla reactiva de HNO₃ y 20 ml de etanol, se colocan en reflujo en baño de agua durante una hora, se decanta y se añade nueva cantidad de mezcla reactiva, repitiendo esta operación tres veces. Posteriormente se añaden 25 ml de KOH al 1% durante 30 minutos, se filtra y el sólido se seca hasta masa constante, según técnica descrita por Melcer, I. y Kolektiv (2006).

G. Estimación del contenido de hemicelulosas totales

Las hemicelulosas totales se estiman por diferencia entre 100% y la suma del porcentaje de celulosa y el porcentaje de lignina en madera libre de extraíbles (Bland, D.E., 1985)

H. Determinación de Cenizas

De acuerdo a la metodología por la AOAC se pesaron 2 gramos de muestra, se precalcinan a fuego directo, posteriormente se colocan en mufla a una temperatura de 550-600°C durante 3-4 horas, dejar que baje la temperatura a 100°C para transferir a un desecador y esperar a que se enfrié completamente para pesar.

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{(\text{Peso del crisol con cenizas (g)} - \text{Peso del crisol vacío (g)})}{\text{Peso de la muestra (g)}} \times 100 \quad (3)$$

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la caracterización de fibra de agave tequilana se presentan en la tabla 1, donde se muestra el porcentaje de pectinas fue de 2.5%, fibra cruda 51.9998%, extraíbles totales 43.19%, lignina 37.1175%, celulosa -%, hemicelulosa -% y cenizas 1.2248%.

Tabla 1. Resultados de la caracterización de fibras de agave tequilana

Determinación	Resultado promedio (%)
Pectinas	2.5
Fibra cruda	51.9998
Extraíbles totales	43.19
Lignina	44.6910
Cenizas	1.2248

Dentro de los resultados publicados en la literatura el porcentaje de pectinas encontradas en fibras de agave se encuentra entre el 1-2%, respecto a fibra cruda se publican resultados de 44.52-56.09% según la variedad, para lignina se manejan resultados sobre 61.82% [5], para cenizas se presentan valores de aproximadamente 6.5% lo cual puede indicar que estos residuos tienen cantidad muy baja de minerales. [6]

Para la determinación de celulosa y hemicelulosa ya no se pudieron registrar valores debido a que la técnica fue muy agresiva a la materia prima debido a que consumió en su totalidad la muestra colocada a analizar debido a que esa técnica se especificaba para maderas de pinos y no para fibras.

Sin embargo existen numerosos factores que afectan los valores de la composición y características del agave, incluida la temperatura, la humedad, los ciclos naturales y la precipitación anual promedio, el producto obtenido en cada región es completamente diferente del que se encuentra en cualquier otra región.

IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Se recomienda el uso de técnicas más adecuadas para fibras debido a que el utilizar una técnica para el tratamiento de maderas dificultó el conocimiento porcentual de celulosa y hemicelulosa. Los valores obtenidos se consideran dentro de los rangos publicados en literaturas debido a que muchas de las muestras cuentan con tratamientos previos los cuales indican sus variaciones así como sus variedades, forma y manejo de la materia prima de cada región es un factor importante a considerar.

V. AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Consorcio Nacional de Ciencia y Tecnología y a la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por permitirme participar en esta edición de Verano de la Ciencia así como a la Universidad de Guanajuato por darme la oportunidad de realizar mi estancia de

investigación. También agradezco a la Dra. Lorena Vargas por brindarme su atención y apoyo durante el proyecto así como al alumno Brandon Bata por su apoyo en la realización de este proyecto.

REFERENCIAS

- [1] *Martínez Burciaga, O. U., Castillo Quiroz, D., & Mares Arreola, O. (2011). Caracterización y selección de sitios para plantaciones de lechuguilla (Agave lechuguilla Torr.) en el estado de Coahuila.*
- [2] Rodríguez, M. B. B., Shastri, R., Guzmán, R. Z., & Alcaraz, J. L. G. (2015). Compuesto de polietileno de baja densidad y fibra de agave tequilana. *Cultura científica y tecnológica*, (45).
- [3] NORMA Oficial Mexicana NOM-002-SAGARPA-2016, Relativa a las características de sanidad, calidad agroalimentaria, autenticidad, etiquetado y evaluación de la conformidad de los fructanos de agave.
- [4] Hans, L. (1994). El papel precortesiano. citado por Novelo Victoria compiladora, en *Artesanos, Artesanías y Arte Popular de México*, Consejo Nacional para la Cultura y las Artes, México.
- [5] Naranjo, C. D. D., Alamilla-Beltrán, L., Gutiérrez-Lopez, G. F., Terres-Rojas, E., Solorza-Feria, J., Romero-Vargas, S., ... & Mora-Escobedo, R. (2016). Aislamiento y caracterización de celulosas obtenidas de fibras de Agave salmiana aplicando dos métodos de extracción ácido-alcali. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 7(1), 31-43.
- [6] Heredia Solís, A., Esparza Ibarra, E. L., Romero Bautista, L., Cabral Arellano, F., & Bañuelos Valenzuela, R. (2014). Bagazos de Agave salmiana y Agave weberi utilizados como sustrato para producir *Pleurotus ostreatus*.

Caracterización microscópica y molecular de hongos asociados a líquenes

Angely Sabrina Candelario López

Universidad Autónoma de Coahuila
Facultad de Ciencias Químicas
Ing. J. Cárdenas Valdez S/N, República,
25280 Saltillo, Coah.
angelycandelario@uadec.edu.mx

Asesora: Dra. Varinia López Ramírez

Instituto Tecnológico Superior de Irapuato
Coordinación de Ingeniería Bioquímica
Silao-Irapuato km 12.5 El Copal,
36821 Irapuato, Gto
valopez@itesi.edu.mx

Resumen La extracción de ADN es un proceso por el cual el material genético del microorganismo estudiado se obtiene. Los pasos necesarios para una correcta extracción y purificación del ADN, son la lisis de las células, la degradación de la fracción proteica asociada al ADN y la purificación propia de la molécula. [1].

El objetivo del presente trabajo fue la caracterización microscópica y molecular de hongos asociados a líquenes del cepario del Instituto Tecnológico Superior de Irapuato. De los 16 aislados fúngicos evaluados se analizó su morfología macro y microscópica y se realizó la extracción de ADN. La caracterización molecular procedió a partir del análisis por PCR de la región ITS. La calidad de las muestras de ADN, así como los productos de amplificación se analizaron por electroforesis en gel de agarosa.

Palabras clave Micobionte, Líquenes, Micelio, ADN, Electroforesis, PCR

Abstract DNA extraction is the process of the separation of nucleic acid from the studied microorganism. The main steps for a successful extraction and purification of DNA involves, cell lysis, degradation of the protein fraction associated with the DNA and their purification [1].

The main goal of this project was the isolation of the fungi associated to lichens from the catalogue of Instituto Tecnológico Superior de Irapuato. We analyzed 16 different fungal strains we examined their macro and microscopic characteristics, and the DNA was extracted and purified. Molecular characterization was performed by PCR of their ITS region.

Keywords *Mycobiont, lichens, mycelium, DNA, electrophoresis, PCR*

I. INTRODUCCIÓN

Los líquenes son seres enigmáticos complejos cuyos cuerpos vegetativos (talos) son el resultado de asociaciones simbióticas cíclicas entre, al menos, un hongo heterótrofo (micobionte) y un socio fotosintético (fotobionte) y una levadura. [2] Los micobiontes de líquenes proporcionan protección al fotobionte al acumular contaminantes, sobreviviendo de esta manera a condiciones de vida hostiles.

En trabajos previos se ha reportado que los líquenes pueden presentar bacterias asociadas su superficie, en este proyecto se analizó la morfología de aislados fúngicos asociados a líquenes y se caracterizó molecularmente su identidad a partir de la extracción de ADN y amplificación por PCR de la región ITS. La extracción de ADN consta de dos etapas una de lisis donde se lleva a cabo una ruptura de las estructuras que confinan el citoplasma y se libera al medio su contenido y otra de purificación, que implica la eliminación de la mayoría de elementos que pueden interferir en la PCR. [2]

II. METODOLOGÍA

A. *Reactivación de cepas de hongos*

La reactivación del cepario de hongos se realizó inoculando por asada cepas en agar papa dextrosa e incubándolas a temperatura ambiente por 72 hrs. El micelio desarrollado en cajas Petri se analizó al microscopio a través de la impresión del micelio y posterior tinción con azul de lactofenol. Parte del micelio se depositó en tubos Eppendorf y se conservó a -20°C hasta su procesamiento. [3]

B. *Extracción de ADN total de hongos Filamentosos*

La extracción del ADN se realizó siguiendo la metodología propuesta por Park NH et al. (2014) [8] con las siguientes modificaciones. La lisis celular se llevó a cabo con la adición de 300 µL de solución reguladora de cloruro de potasio (100 mM de Tris HCl pH 8, 10 mM de EDTA pH 8 y 1 M KCl). Una vez realizada la lisis celular se le adicionaron 180 µL de cloroformo, mezclándose vigorosamente, posteriormente se centrifugó por 2 min. a 13000 rpm para separar las fases.[4]

La fase acuosa se recuperó en un tubo Eppendorf nuevo y estéril, y se le adicionó 1 µL de RNAsa (10 µL/ml), la mezcla se incubó a temperatura ambiente por 10min, posteriormente el ADN se precipitó adicionando dos volúmenes de etanol absoluto y se centrifugó por 2 min. a 12000 rpm. Finalmente, la pastilla obtenida se lavó tres veces consecutivas con etanol al 70% (v/v), centrifugándose cada vez 2 min. a 12000 rpm. El producto obtenido se dejó secar y re suspendió en solución TE 1X (10 mM de Tris HCl pH 8, 1 mM de EDTA pH 8). Las muestras de ADN se analizaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 0.8%.

C. *Amplificación de la región ITS por PCR*

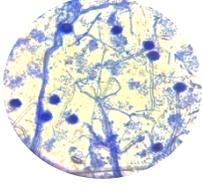
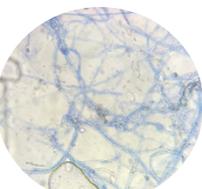
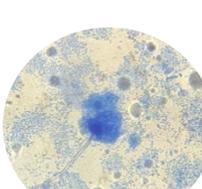
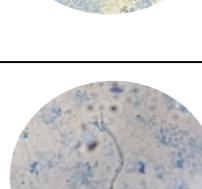
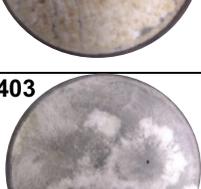
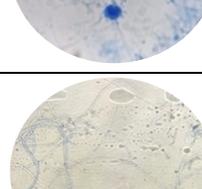
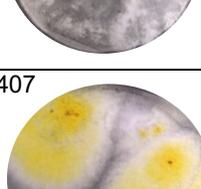
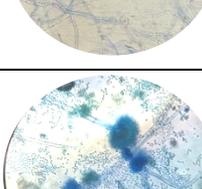
La reacción en cadena de la polimerasa, o PCR, es una técnica que sirve para sintetizar un alto número de copias de una determinada región de ADN *in vitro*. En el laboratorio, se emplea una ADN polimerasa termoestable, la Taq polimerasa, y requiere de iniciadores de ADN diseñados específicamente para la región de ADN de interés, la reacción se somete a un ciclo de cambios de tiempo y temperatura que permiten la producción de muchas copias de la región blanco. [5]

En nuestro caso, se realizó una mezcla de 50 µL volumen final, de la cual estaba conformada por 25 µL de mezcla de reacción (MasterMix 2X, Thermo Scientific®) y 22 µL de agua, 1 µL de Oligo directo (ITS 5, 5'ggaagtaaaagtgcgaacaagg3'), 1 µL de Oligo reverso (ITS4, 5'tcctccgctattgatgc3') y por último 1 µL de ADN del aislado fúngico. Las condiciones del programa de amplificación se llevaron a cabo por tres temperaturas: Primera temperatura de desnaturalización (94-96°C), Segunda temperatura de alineamiento de Oligos 45°C a 50 seg. Y finalizando con la Tercera temperatura de Extensión y polimerización a 72°C organismo termófilo a 72°C 1min 10 seg., Tuvo una duración de 35 ciclos, la extensión final a 72° a 35 min. Los productos de PCR se visualizaron en un transiluminador de las imágenes se obtuvieron con el programa Infinity Cap®

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los aislados fúngicos asociados a líquenes se caracterizaron macro y microscópicamente. En la caracterización macroscópica, se observó la morfología colonial el color y forma del micelio. En la caracterización microscópica. Se identificaron los cuerpos fructíferos tiñendo con azul de lactofenol el micelio y observando al microscopio, así mismo, se apoyó en el uso de guías dicotómicas y de la aplicación *Micellium Touch* para una identificación más precisa del aislado en cuestión. *Los resultados de las observaciones macro y microscópicas de los hongos se muestran en la Tabla 1*

Tabla 1: Caracterización Macroscópica y microscópica de los aislados fúngicos asociados a

IMAGEN MACROSCÓPICA	DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA	IMAGEN MICROSCÓPICA	DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA
292 	Colonias de crecimiento abundante, textura algodonosa, vellosa-seca y hialina. Micelio cenocítico, puede llegar a presentar rizoides		GÉNERO: Absidia FAMILIA: Mucoraceae ESPECIE: Absidia corymbifera CLASE: Zygomycota Los esporangiosporas ramificadas; esporangios abundantes, pequeños y pálidos con la base en forma de embudo y esporangio largo.
312 	Colonias de crecimiento rápido, micelio abundante, algodonoso blancas, pero cambia a gris, marrón o negro con la madurez.		GÉNERO: Mucor FAMILIA: Mucoraceae ORDEN: Mucorales CLASE: Zogomycetes MICELIO: Septado ESPORANGIO: Globoso [7]
313 	Colonias claras con micelio aéreo denso, bien desarrollado. Color inicial blanco grisáceo [7]		GÉNERO: Curvularia FAMILIA: Dematiaceae ORDEN: Moniliales CLASE: Deuteromycete SUBDIVISIÓN: Deuteromycotina Hifas septadas, conidióforos engrosados en puntos de unión de conidias.
331 	Colonias en tonalidades blancas y verdosas. La superficie de la colonia es aterciopelada a pulverulenta por la densa producción de conidias a menudo forman pliegues radiales. Puede presentar gotas de exudado en superficie de las colonias		GÉNERO: Penicillium FAMILIA: Moniliaceae ORDEN: Moniliales CLASE: Deuteromycete Ramificación en forma de cepillo, conidióforos alargados. Largas cadenas de pequeños conidias esféricas se originan en filidies con forma de botella en la parte superior [8]
398 	Colonias tienen tonalidad amarillo ocre y una superficie pulverulenta por la profusa producción de conidias con pliegues.		GÉNERO: Scopulariopsis FAMILIA: Moniliaceae ORDEN: Moniliales CLASE: Deuteromycete Conidióforos simples o ramificados. Los anélicos son similares a racimos de uvas o cilíndricos y ligeramente hinchados. Las conidias son unicelulares.
403 	Colonias de crecimiento rápido, inicialmente son de color blanco y se van cambiando de gris a negro como en su reverso, tienen textura lanosa. [6]		GÉNERO: Scytalidium ESPECIE: dimidiatum FAMILIA: Moniliaceae ORDEN: Moniliales CLASE: Deuteromycete Posee hifas septadas hialinas o gris pálidas, no posee conidióforos, artroconidias hialinas.
407 	Colonias de color amarillento de crecimiento rápido, lanosa, algodonosa a granular o purulenta.		GÉNERO: Apergillus ESPECIE: flavus FAMILIA: Moniliaceae ORDEN: Moniliales CLASE: Deuteromycete Conidióforos hialinos, de paredes gruesas generalmente rugosas. Vesículas globosas en la superficie

líquenes.

En la extracción de ADN de los aislados fúngicos

La calidad de las muestras de ADN de los aislados fúngicos obtenidas se determinó en geles de agarosa al 0.8% agarosa, con el apoyo de un fotodocumentador usando luz UV. En la Figura 1, se presenta el resultado de la extracción de ADN.

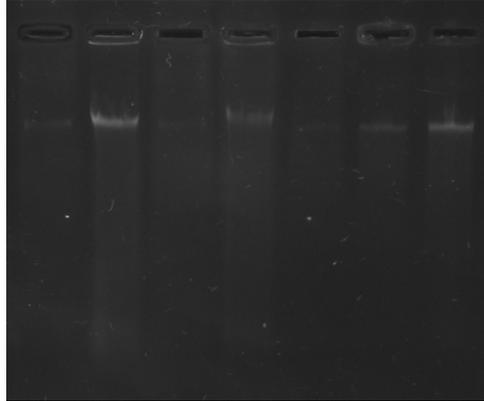


Figura 1. Electroforesis en gel de agarosa de muestras de ADN de aislados fúngicos.

Las muestras de ADN se emplearon para la amplificación por PCR de la región ITS, sin embargo no se obtuvo ningún producto de amplificación en las condiciones experimentales probadas.

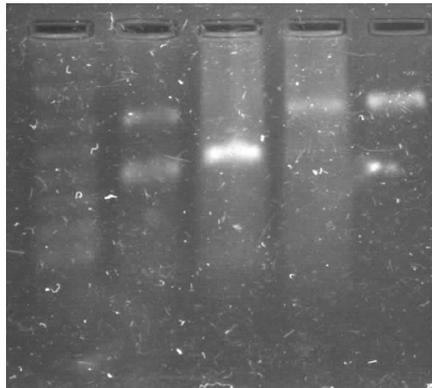


Figura 2. Se muestra la purificación de un PCR

IV. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En nuestra estancia de investigación pudimos parcialmente cumplimentar el objetivo del proyecto debido a que las cepas proporcionadas por la Institución fueron reactivadas y descritas macro y microscópicamente, de igual forma fue posible obtener su ADN. No fue posible obtener productos de amplificación utilizando los oligos ITS 5 e ITS4, con las condiciones experimentales empleadas. Se deja como perspectiva buscar las condiciones adecuadas para la amplificación de la región ITS del ADN ribosomal del hongo para poder posteriormente secuenciar y hacer comparaciones en bases de datos, de tal manera que pueda hacerse la identificación molecular de los aislados.

V. CONCLUSIONES

Se procesaron un total de 14 muestras del cepario, las cuales fueron identificadas por sus características morfológicas macro y microscópicas, lográndose identificar solo 7 de las mismas y determinando que pertenecían a los géneros *Absidia* sp, *Mucor* sp , *Curvularia* sp, *Penicillium* sp, *Scopulariopsis* sp, *Scytalidium* sp, y *Dimidiatum* sp.

Desde el punto de vista morfológico, se concluyó que las estructuras reproductivas (macroconidios, microconidios, clamidosporas) observadas se encuentran en el rango para las especies de hongos mencionadas anteriormente. Algunas de las muestras no se extrajeron su ADN debido a que se tomaron alternativas de tratamiento para cada hongo por su tipo de morfología.

VI. REFERENCIAS

- [1] J. K. A. T. A. D. P. J. Ramírez, “Elaboración de un atlas para la descripción macroscópica y microscópica de hongos fitopatógenos de interés en especies de flores de corte cultivadas en la sabana de Bogotá,” pp. 153–164, 2008.
- [2] C. Tamay de Dios, L.; Ibarra, C.; Velasquillo, “Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real. Investigación en Discapacidad,” vol. 2, no. May, pp. 70–78, 2013.
- [3] D. I. A. Alarcon, “Evaluación de técnicas de conservación para hongos filamentosos y levaduriformes en el cepario de la Pontificia Universidad Javeriana,” vol. 33, pp. 16–18, 2006.
- [4] B. Pérez, “Biología de los líquenes,” *Líquenes la Reserv. Nat. Integr. Muniellos, Astur.*, pp. 65–82, 2003.
- [5] O. B. A. Hegazy AI, “Detection of Salmonella in Food Samples by Culture and Polymerase Chain Reaction Methods,” *J. Bacteriol. Parasitol.*, vol. 05, no. 03, pp. 5–7, 2014.
- [6] B. A. Mar, “Aislamiento de microorganismos asociados a la simbiosis líquénica en especies del estado de guanajuato,” no. 1, pp. 345–349, 2018.
- [7] M. B. González, “Identificación molecular,” vol. 2, p. 20, 2001.
- [8] Park NH Zhang L, Farrell JJ, Zhou H, Elashoff D, Akin D, et al. Transcriptomic biomarkers 2014; 138 (3): 949-57.e1-7

Cultivo de tejidos vegetales in vitro de cactus y suculentas injertadas (A)

Victoria Pérez González

Universidad Autónoma de Zacatecas
Unidad Académica de Ciencias Biológicas
Av. Preparatoria, Col Hidraulica, 98068
Zacatecas, Zac.
vickyperzalez@gmail.com

Asesor: Pablo Delgado Sánchez

Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Facultad de Agronomía y Veterinaria
Km. 145 Carretera San Luis-Matehuala Soledad
de Graciano Sánchez, S.L.P
pablo.delgado@uaslp.mx

Resumen — El cultivo de tejidos comprende una serie de técnicas mediante las cuales las plantas pueden ser regeneradas a partir de poco material vegetativo. La micropropagación consiste en producir plantas a partir de porciones muy pequeñas de ellas, como son los tejidos o células cultivadas asépticamente en recipientes de vidrio. El cultivo in vitro del género *Haworthia* que es una suculenta africana se conoce desde 1968, en este experimento se cultivaron en medios de suspensiones celulares las especies *H. truncata* y *H. camptoniana* y se monitoreó su división celular y el aumento de la masa vegetal a partir de callo fiable obtenido previamente en el laboratorio.

Palabras clave — cultivo *in vitro*, *Haworthia*, suspensión celular.

Abstract — Tissue culture comprises a series of techniques by which the swamps can be regenerated from little vegetative material. Micropropagation consists of producing plants from very small portions of them, such as tissues or cells grown aseptically in glass containers. The in vitro culture of the genus *Haworthia* which is an African succulent has been known since 1968, in this experiment the species *H. truncata* and *H. camptoniana* were grown in cell suspensions and their cell division and the increase in plant mass were monitored. from reliable callus previously obtained in the laboratory.

Keywords — In vitro culture, *Haworthia*, cell suspension.

I. INTRODUCCIÓN

El cultivo de tejidos comprende una serie de técnicas basadas en el principio de totipotencialidad, mediante las cuales las plantas pueden ser regeneradas en el laboratorio a partir de poco material vegetativo (tallos, hojas, meristemos, semillas, embriones, raíz, entre otras) [1]. La micropropagación consiste en producir plantas a partir de porciones muy pequeñas de ellas, como son los tejidos o células cultivadas asépticamente en recipientes de vidrio; donde se puede controlar estrictamente las condiciones ambientales, sanitarias y de nutrición [1].

En 1968 Majumdar y Sabharwal comenzaron el cultivo in vitro con distintas especies de *Haworthia*, obteniendo resultados distintos con cada una de estas especies. Estos estudios indican que algunas especies de *Haworthia* son fáciles de cultivar in vitro, mientras que otras son difíciles de cultivar bajo las mismas condiciones [2]. Se sabe que las especies de *Haworthia* difieren en sus requerimientos hormonales, aunque no se han realizado estudios para optimizar las condiciones de regeneración para especies específicas [3]. Los métodos convencionales para la propagación de suculentas pueden llegar a ser tardados y poco eficientes, es por eso que se recurre a la propagación *in vitro*. En este trabajo se pretende trabajar con las especies *Haworthia truncata* y *Haworthia camptoniana*, del género *Haworthia*, así como el cultivo de callos fiables cultivados previamente en suspensiones

celulares. El objetivo es lograr un aumento en la masa celular, además de la multiplicación de las células vegetales.

El género *Haworthia* pertenece a la familia Xanthorrhoeaceae [4] y son conocidas como suculentas del sur de África y tiene alrededor de 68 especies con 41 subespecies [5].

Haworthia truncata presenta una distribución bastante amplia desde el sudoeste de calitzdorp hasta De Rust al este de Oudtshoom, en el pequeño karoo. Exhibe una disposición distal muy regular de los extremos de las hojas truncadas a nivel del suelo. El extremo de la hoja es estrechamente oblongo, de color verde grisáceo con pequeños tubérculos. En cultivación las plantas generalmente reciben demasiada agua y tienden a "saltar" sobre el nivel del suelo [6].

Haworthia comptoniana es una especie retirada del pequeño karoo que se encuentra entre las montañas de Swartberg en el norte y el langeberg en el sur. Su roseta es grande de 15-20 hojas, con puntas de hojas lisas y puntiagudas, de color purpurino a verde, moteado en rosa, estriado-reticulado y con frecuencia se oculta debajo de las piedras. Fue descubierto en la región oriental de la distribución en 1940 [6].

II. MARCO TEÓRICO

El protocolo de cultivo in vitro que se presenta a continuación, para las especies *Haworthia tuncata* y *Haworthia camptoniana* empleado para este experimento fue tomado de Hernández y colaboradores (2018) [7] y fue elaborado en el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la UASLP. Este protocolo se creó con el fin de otorgar las condiciones de cultivo adecuadas para suculentas de la especie *Haworthia*.

A. Selección y desinfección del material vegetativo.

Las hojas que fueron seleccionadas como explantes, se separaron cuidadosamente de la roseta. Se lavaron bajo un flujo de agua corriente constantemente durante 2 minutos, para así eliminar partículas de la superficie. En condiciones asépticas (campana de flujo laminar), los explantes fueron sumergidos en etanol al 96% durante 1 min. A continuación las hojas fueron sumergidas en una solución de hipoclorito de sodio 2% y Tween-20 (v / v) bajo agitación constante durante 15 min, seguido de esto se enjuagó tres veces con agua destilada estéril. Por último, las hojas fueron sumergidas en etanol al 70% durante 3 min y finalmente enjuagadas con agua destilada estéril.

B. El medio de cultivo para la inducción a callo.

El medio utilizado fue el medio basal MS propuesto por Murashige y Skoog (Murashige y Skoog, 1962) a 0,5X y 1X suplementado con 30 g L⁻¹ de sacarosa, 2.2 g L⁻¹ de phytigel como agente gelificante y regulador de crecimiento. Para la inducción a callo se aplicó, 6-7 Bencilaminopurina (BA) y una combinación de ácido naftaleno acético (NAA) con 8 Tidiazurón (TDZ) los cuales se añadieron a diferentes concentraciones. El pH del medio de cultivo se ajustó a 6,0 y se dosificaron en matraces con 20 ml. Después los matraces fueron esterilizados en una autoclave durante 15 min a una presión de 1.5 Lb y a 120 °C. Los explantes estériles fueron cortados en dos segmentos; apical y la base. Para el BA, medio de NAA y TDZ, fueron colocadas cinco repicas para cada tratamiento.

Uno de los métodos de proliferación del callo producido por el cultivo *In vitro* es la suspensión celular. Las suspensiones celulares consisten en células libres y agregados celulares distribuidos en un medio en movimiento. Estas suspensiones pueden ser permanentes mediante el suministro continuo de nutrimentos [8]. Esta estrategia requiere un proceso inicial que incluye la formación de callo friable y posteriormente el establecimiento de suspensiones celulares [9]. Este tipo de cultivo presenta la ventaja de permitir el control relativamente sencillo de variables como temperatura, pH y oxígeno disuelto [10].

III. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Obtención de callo friable.

Los callos utilizados para este experimento se obtuvieron en condiciones *in vitro* en el laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la UASLP, donde se desarrolló un protocolo para la desinfección y siembra de los explantes para su producción.

B. Cultivo de callos en suspensión celular.

Se utilizó 1gr de callo de cada especie; *Haworthia truncata* y *Haworthia camptoniana* y se introdujo en cuatro matraces de 250 ml que contenían 100 ml de suspensión celular hecha a base de medio Murashige y Skoog (MS) al 50% y 3 gr de Sacarosa.

El proceso de trasplante de medio sólido a suspensión celular de los callos de *Haworthias* se llevó a cabo dentro de una campana de flujo laminar para evitar la contaminación, los matraces fueron sellados y se llevaron al cuarto de crecimiento donde permanecieron sobre una placa de agitación constante a 160 rpm en condiciones de 25 °C y periodos de luz constante.

Los callos se cambiaron de medio un vez por semana para evitar el agotamiento de nutrientes, el procedimiento se llevó a cabo bajo la campana de flujo laminar, donde se dejó reposar el medio para que las células en suspensión reposen en el fondo y así poder aspirar el medio con ayuda de una pipeta, una vez que se vació todo el medio se agregó medio nuevo y una vez finalizado el procedimiento los matraces vuelven a la placa de agitación dentro del cuarto de crecimiento.

Después de un mes de cultivo en suspensión celular se pesó la cantidad de callo producido, drenando la suspensión y pesando el callo en una balanza analítica.

C. Conteo de células.

El crecimiento celular se evaluó mediante el conteo celular con ayuda de la cámara de Neubauer y un microscopio óptico. Los conteos se llevaron a cabo 2 veces por suspensión cada 3 días en un periodo de 30 días. El número de células por volumen se calculó con la siguiente fórmula (Ec. 1) [11].

$$\text{Concentración} \left(\frac{\text{cell}}{\text{mL}} \right) = \frac{\text{número de células} \cdot 10000}{\text{número de cuadros}} \quad (1)$$

IV. RESULTADOS

Se realizaron conteos celulares cada 3 días con la cámara de Neubauer, donde se pudo observar un incremento en la cantidad de células vegetales así como etapas de la división celular de las mismas, tal como se puede ver en las figuras 1 y 2.



Figura 1. Células de *H. camptoniana*



Figura 2. Células de *H. truncata*

En base a los datos obtenidos se muestra en la figura 3 el crecimiento celular de una especie respecto a la otra, donde se puede verificar que *H. camptoniana* presento un mayor crecimiento celular en comparación a *H. truncata*.

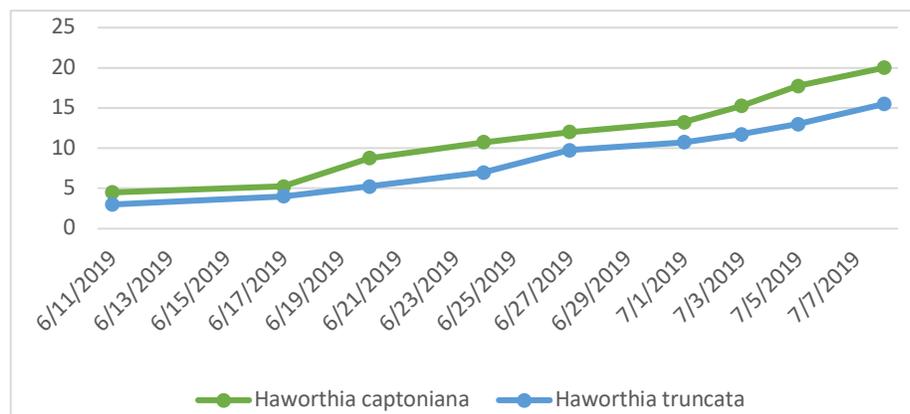


Figura 3. Curva de crecimiento de *H. camptoniana* y *H. truncata*

Un mes después de mantener los callos en la suspensión celular, se drenó la masa vegetal para realizar un cálculo de peso fresco, donde los resultados arrojaron que *Haworthia camptoniana* presentó un mayor aumento en su cantidad de masa respecto a *Haworthia truncata*, además de presentar crecimiento de brotes y raíz. En las figuras 4 y 5 se puede observar la masa vegetal producida por el callo. La tabla 2 que se muestra a continuación muestra los resultados del pesado de la masa vegetal producida por los callos de *H. camptoniana* y *H. truncata*.

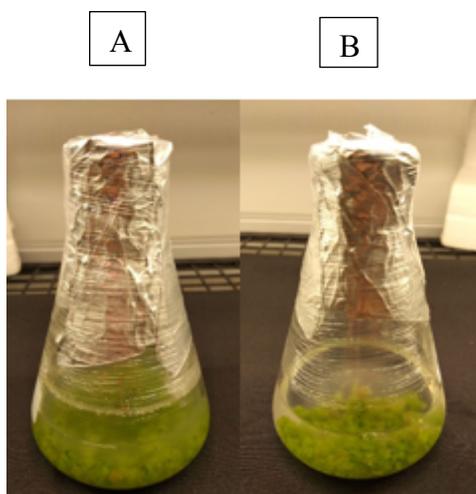


Figura 4. Callo producido por *H. camptoniana* (A. matraz 1, B. matraz 2)

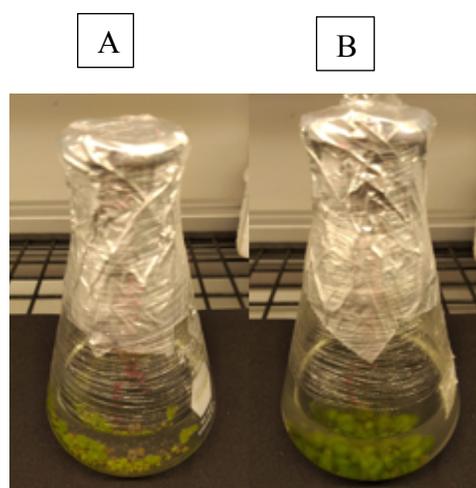


Figura 5. Callo producido por *H. truncata* (A. matraz 1, B. matraz 2)

Tabla 2. Producción de callo de *H. camptoniana* y *H. truncata*

Especie		Cantidad de callo al inicio del experimento	Cantidad de callo producida después de 1 mes
Haworthia camptoniana	Matraz 1	1.0 gr	9.73 gr
	Matraz 2	1.0 gr	4.78 gr
Haworthia truncata	Matraz 1	1.0 gr	3.76 gr
	Matraz 2	1.0 gr	4.06 gr

V. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Se logró el aumento de la masa celular de ambas especies de *Haworthia*. En ambas especies se consiguió la observación de división celular, además de que una de ellas; *Haworthia camptoniana* presentó desarrollo de brotes y raíces. *Haworthia camptoniana* presentó mejores resultados que *Haworthia truncata*, al lograr un mayor aumento de su masa celular respecto a la inicial, además de lograr el desarrollo de brotes y raíces. Mientras que *H. truncata* solamente presentó un ligero aumento de su masa vegetal. La curva de crecimiento también favorece más a *H. camptoniana* mostrando que presentó un mayor incremento en su división celular.

VI. CONCLUSIONES

Ambas especies de *Haworthia* se mostraron aptas para el cultivo en suspensión celular, cierto que *Haworthia truncata* presentó mejores resultados que *Haworthia camptoniana*, se deben buscar mejores tratamientos para que *H. truncata* pueda desarrollar un mejor crecimiento que el ya presentado.

VII. AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad Autónoma de Zacatecas junto con el comité organizador del Verano de la Ciencia Región Centro por el apoyo económico y el espacio de intercambio entre instituciones. Al Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Agronomía Y Veterinaria de la UASLP, por el apoyo de instalaciones, equipo y reactivos durante mi estancia. Al Doctor Pablo Delgado Sánchez responsable del proyecto de investigación por la oportunidad de formar parte de su equipo de trabajo y por los conocimientos adquiridos durante la esta estancia de verano.

REFERENCIAS

- [1] González C y J Vilca. 1998. "Micropropagación vegetativa "in vitro" de aliso (*Ainus acuminata*)". Red Andina de Semillas Forestales - RASEFOR, COSUDE – INTERCOOPERACION. 39 p.
- [2] Hayashi, M. (1987). "Callus characteristics and classification of *Haworthia* and allied genera". *South African Journal of Botany*, 53(6), 411-423.
- [3] Rogers, S. M. D. (1993). "Culture phenotype affects on regeneration capacity in the monocot *Haworthia comptoniana*". *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 29(1), 9-12.
- [4] The Plant List (2013). Version 1.1. Published on the Internet; <http://www.theplantlist.org/> (Última consulta 19 de junio 2019).
- [5] Jessy, N.S., R. Begum, M. Khatun, and S.S. Alam. 2005. "Differential fluorescent chromosome banding of four species in *Haworthia* Duval (Aloaceae)". *Cytologia* 70: 21 435-440.
- [6] Court, Doren. "Succulent Flora of Southern Africa". (2000). A.A. Balkema. pp. 301.
- [7] Hernández-Vázquez, E. K., H. H., Kim., G. Y., Lee., Y. H., Kim., M. L., Guerrero-González., J. H. Lee., J. H., Jung & P. Delgado-Sánchez. (2018). "An organogenic in vitro system for the conservation and mass production of *haworthia truncate*". Universidad Autónoma de San Luis Potosí.
- [8] Szabados L, Mroginski LA, Roca WM. 1991. Suspensiones celulares: descripción, manipulación y aplicaciones. In: "Cultivo de Tejidos en la Agricultura: Fundamentos y Aplicaciones (Roca WM, Mroginski LA., eds.)". Centro Internacional de Agricultura Tropical, CIAT, Cali, Colombia.
- [9] Sánchez-Calvo, L., & Alvarenga-Venutolo, S. (2015). "Callogénesis y establecimiento del cultivo de células en suspensión de *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC (uña de gato)". *Revista Tecnología en Marcha*, 28(1), pág-105.
- [10] ARIAS, M., AGUIRRE, A., ANGARITA, M., MONTOYA, C., & RESTREPO, J. (2009). "Aspectos ingenieriles del cultivo in vitro de células vegetales para la producción de metabolitos secundarios". *Dyna*, 76(157),109-121.
- [11] P. Freire (2013) "Establecimiento de suspensiones celulares de *Chenopodium ambrosioides* para una futura obtención de metabolitos secundarios, empleando la citoquinina thidiazuron (TDZ)". Tesis Ing. en Biotecnología. Universidad de las Fuerzas Armadas. ESPE. Sangolquí, Ecuador.

Cultivo de tejidos vegetales *in vitro* de cactus y suculentas injertadas (B)

Xareni Nitzaye Ávila Valadez

Universidad Autónoma de Zacatecas
Unidad Académica de Ciencias Biológicas
Av. Preparatoria S/N, Colonia Hidráulica,
Zacatecas, Zacatecas.
navilav06@gmail.com

Asesor: Pablo Delgado Sánchez

Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Facultad de Agronomía y Veterinaria
Km. 14.5 Carretera San Luis Potosí, Matehuala,
Ejido Palma de la Cruz,
Soledad de Graciano Sánchez, San Luis Potosí
pablo.delgado@uaslp.mx

Resumen — El género *Haworthia* perteneciente a la familia xanthorrhoeaceae, proviene de Sudáfrica, fue descrito por Henri A. Duval en honor a Haworth en 1809, estas suculentas se caracterizan por su pequeño tamaño y por sus hojas anchas que se encuentran dispuestas formando rosetas. Gracias al principio de totipotencialidad vegetal es posible la propagación masiva de este género a partir de cultivo *in vitro*. En este experimento se trabajó con la especie *H. retusa* y *H. maughanii*, el método empleado fue a partir de suspensiones celulares en un cultivo líquido nutritivo a base de Sacarosa como fuente de carbono y MS como medio basal que le proporciona el medio todos los macro y micro elementos necesarios para la planta.

Palabras clave — Género *Haworthia*, Cultivo *in vitro*, Suspensión celular.

Abstract — The *Haworthia* genus of xanthorrhoeaceae family, from South Africa, was described by Henri A. Duval, in honor of Haworth in 1809, these succulents are characterized for their small size and broad leaves, these are arranged to form ridges. Thanks to principle of plant totipotentiality it is possible to mass propagation on this genus. This experiment, was worked with *H. retusa* and *H. maughanii* species, the method employed was Cells suspensions in a nutritious liquid culture based on sucrose as carbon source and MS as basal medium that provides all macro and micro elements needed for the plant.

Keywords — *Haworthia* genus, Culture *in vitro*, Cell suspension.

I. INTRODUCCIÓN

Haworthia género descrito por el médico francés y experto en suculentas, Henri Auguste Duval, en 1809 en honor a un comerciante inglés, Adrian Haworth, quien dedicó la mayor parte de su vida a describir nuevas especies de la familias Aizoaceae y Asphodelaceae, las cuales llegaron desde Sudáfrica hasta Europa [1]. Anteriormente el género *Haworthia* era incluido en la familia Asphodelaceae, pero según la nueva taxonomía de este género, ahora se clasifica en la familia xanthorrhoeaceae [1] (que incluye más de 160 especies), Las haworthias son pequeñas suculentas, tienen un tallo muy corto y sus hojas son carnosas y están dispuestas formando rosetas, las flores suelen ser pequeñas, tubulares y normalmente de colores blanquecinos. Según la especie, pueden presentar variaciones significativas tanto en su morfología como en las coloraciones que poseen, verdes, rojas o marrones.

La investigación del cultivo de tejidos de *Haworthia* fue iniciada en 1968 por Majumdar y Sabharwal. Desde su trabajo, muchos investigadores han informado sobre el cultivo de tejidos de varias especies y variedades de este género. Estos estudios indican que algunas especies de *Haworthia* son fáciles de cultivar *in vitro*, mientras que otras son

difíciles de cultivar en las mismas condiciones. Este fenómeno es bastante común en el cultivo de tejidos [2].

II. MARCO TEÓRICO

El cultivo de tejidos es un conjunto de técnicas en el que un explante se cultiva asépticamente en un medio artificial y se incuba bajo condiciones ambientales controladas. El desarrollo de estas técnicas nos permite realizar la propagación masiva y obtener material vegetal para llevar a cabo análisis fisiológicos e histológicos que nos proporcionen información y así comprender las características que presentan los cultivos *in vitro* y el desarrollo de los regenerantes [3].

La propagación masiva vegetal se basa en el principio de totipotencia celular, en el que a través una célula de la planta es posible obtener nuevos organismos completos. Dentro de la propagación de tejidos vegetales se pueden presentar dos tipos de respuesta: embriogénesis directa o indirecta. Donde la directa hace referencia a que las células comienzan su diferenciación desde una fase temprana del desarrollo, mientras que la indirecta está marcada por la desdiferenciación celular, la cual está acompañada de un proceso de crecimiento tumoral que da lugar a una masa de células indiferenciadas (callo), la cual es capaz de generar órganos.

Existen varias técnicas para llevar a cabo el cultivo de tejidos las cuales residen principalmente en el tipo de medio de cultivo que se emplea, pudiendo ser semisólido a base de gelificantes o agares o bien a partir de medios líquidos gracias a las suspensiones celulares. Durante el experimento empleamos las suspensiones celulares, que consisten en células libres y agregados celulares distribuidos en un medio en movimiento. Estas suspensiones pueden ser permanentes mediante el suministro continuo de nutrientes [4].

El experimento realizado durante el verano de la ciencia se llevó a cabo a partir de trabajos previamente realizados dentro del laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de La Universidad Autónoma de San Luis Potosí, donde así mismo ya se había realizado un protocolo para el trabajo del género *Haworthia* a partir de micropropagación *in vitro*.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, en Soledad de Graciano Sánchez, San Luis Potosí durante el 21 verano de la Ciencia región centro.

A. MEDIOS DE CULTIVO

Se utilizaron suspensiones celulares como medio de propagación por ser un sistema práctico para el cultivo a gran escala y porque proporciona múltiples ventajas para su control, además de poder ser utilizado como medio permanente.

Para la preparación de las suspensiones se utilizó como medio basal Murashige & Skoog (MS) con una concentración de 2.215gr./1 l., el cual proporciona todos los macro y

microelementos esenciales para el crecimiento de la planta, sacarosa como fuente de carbono con una concentración de 30gr. / 1 l. y agua destilada; para proporcionarle el medio óptimo a la planta el PH fue ajustado a 5.8. Los medios se prepararon individualmente en matraces Erlenmeyer con capacidad de 250 ml, conteniendo solamente 100 ml de medio cada uno, los cuales fueron esterilizados por 15 minutos a 120 °C y 15 lb·pulg-2 de presión.

B. MATERIAL VEGETAL

Los callos que fueron utilizados fueron previamente desarrollados a partir de plantas madre de *H. truncata* y *H. maughanii*, mismas que fueron obtenidas del invernadero “La Biznaga Vagabunda” localizado en Ezequiel Montes, Querétaro, México; e inducidas siguiendo el protocolo de *un sistema organogénico in vitro para la conservación y producción en masa de Haworthia truncata* propuesto por Hernandez-Vazquez (et al.) en el año 2018 (publicación pendiente), dentro del mismo laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Agronomía y veterinaria de la UASLP.

C. ESTABLECIMIENTO DEL CULTIVO

Para la elaboración de la suspensión celular se utilizó 1 gr de callo para cada matraz; se usaron 4 matraces para cada especie, dividiéndolos como *H. truncata 1*, *H. truncata 2*, *H. maughanii 1*, y *H. maughanii 2*. Bajo condiciones asépticas en una campana de flujo laminar, se introdujo cada gramo de especie dentro de las suspensiones y se sellaron utilizando tapas hechas de papel aluminio estéril y plástico sellador (parafilm).

Las suspensiones se colocaron a incubación sobre un agitador giratorio a 160 rpm dentro de un cuarto para crecimiento con una temperatura constante de 25 ± 2 °C, con un fotoperiodo de 24 h de luz, en donde permanecieron durante cinco semanas.

IV. RESULTADOS

Cada tercer día las suspensiones se llevaban a una campana de flujo laminar y bajo condiciones asépticas se extraían dos muestras de cada matraz utilizando una micropipeta, esto con la finalidad de realizar un conteo celular con la ayuda de una cámara de Neubauer y bajo un microscopio óptico.

Pasados 13 días del establecimiento del callo dentro de la suspensión ambas muestras de *H. retusa* comenzaron a presentar notorio necrosamiento en el callo, y una disminución en el crecimiento celular. Pasados 15 días de la fecha inicial, tras no haberse mejorado la apariencia del callo y por la lenta proliferación celular, se establecieron dos suspensiones más (usando el mismo protocolo y condiciones) para dicha especie para un mejor monitoreo de la misma, las cuales fueron rotuladas como *H. retusa A* y *B*.

El monitoreo para el conteo celular continuó siendo cada tercer día para las seis suspensiones celulares.



Figura 1. Extracción celular para conteo

17 días después del establecimiento de las suspensiones iniciales se decidió preparar medios nuevos para proporcionarle mayores nutrientes a las células. El cambio de medio se llevó a cabo en una campana de flujo laminar bajo condiciones asépticas, extrayendo con una micropipeta el medio anterior y añadiendo el nuevo.

H. retusa comenzó a recuperar la coloración inicial y la proliferación celular empezó a aumentar a partir del cambio de medio. Desafortunadamente a partir de la misma fecha *H. maughanii* se mostró menos adaptada al medio nuevo, 7 días después las suspensiones de dicha especie presentaban una notable lisis celular en la muestra número 1. Comenzando la quinta semana y última del experimento se prepararon medios nuevos para la muestra de *H. maughanii* 1, la cual fue drenada del medio en el que se encontraba bajo condiciones asépticas utilizando papel filtro, de dicho callo se tomó 0.5 gramos y se cambió a un medio nuevo en el cual se le añadió 0.12 μ l de BASTA (herbicida de contacto no selectivo) con el fin de detener la lisis celular. El resto de la muestra se pasó a un medio nuevo.

Culminadas las 5 semanas, se realizó la extracción de muestras para el conteo celular habitual y todas las suspensiones fueron drenadas utilizando el mismo método del papel filtro que se mencionó antes, dentro de la campana de flujo laminar para pesar los callos.

V. DISCUSIÓN

A partir de la base de datos creada para el conteo celular de cada tercer día, se graficó la proliferación celular de la siguiente manera:

- La Figura 2. Toma en cuenta el crecimiento celular de ambas especies contemplando el promedio de células entre muestra 1 y 2 de cada especie a partir de las suspensiones iniciales hasta el término del conteo 5 semanas después.
- La Figura 3. Muestra el crecimiento para las segundas dos muestras de *H. retusa* desde su primer conteo hasta el término del experimento.
- La Tabla 1. Muestra el aumento del peso celular del callo para cada muestra del día de establecimiento de la suspensión hasta el día de culminación del experimento.

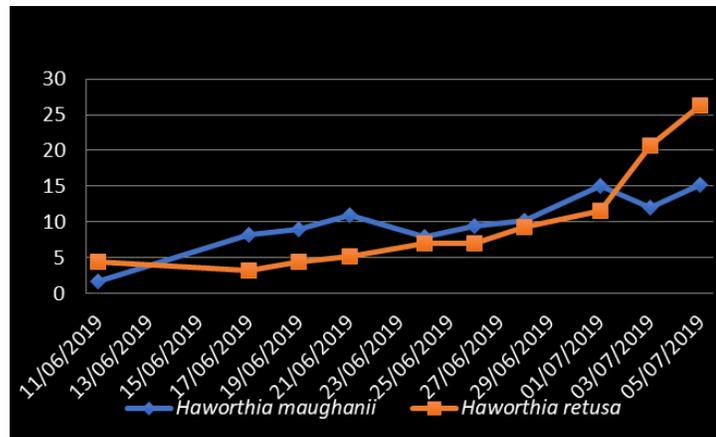


Figura 2. Crecimiento celular para *Haworthia maughanii* y *Haworthia retusa*

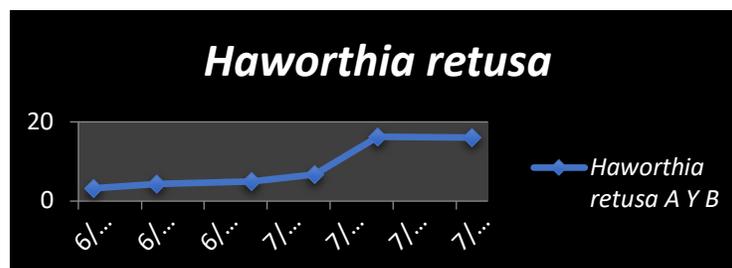


Figura 3. Crecimiento celular para *Haworthia retusa*

Tabla 1. Aumento de peso celular en cada muestra

Especie		Cantidad de callo al inicio del experimento	Cantidad de callo producida después de Cinco semanas
<i>Haworthia retusa</i>	Muestra1	1.0 gr	7.9 gr
	Muestra 2	1.0 gr	8.9 gr
<i>Haworthia retusa</i>	Muestra A	1.0 gr	6.6 gr
	MuestraB	1.0 gr	7.4 gr.
<i>Haworthia maughanii</i>	Muestra1	1.0 gr	1.6 gr
	Muestra 2	1.0 gr	4.9
<i>Haworthia maughanii</i>	Muestra+ BASTA	0.5 gr de la muestra 1 <i>H. m</i>	0.5 gr
	Muestra 1 SIN BASTA	Resto de muestra 1 <i>H.m</i>	1.1gr

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La propagación masiva a partir de suspensiones celulares para las especies *retusa* y *maughanii* del género *Haworthia* no es la más óptima, debido a que ambas son muy sensibles a los cambios, es decir, antes de comenzar el experimento ambos callos se encontraban en un cultivo nutritivo semisólido a base de phytigel, enriquecido por sacarosa y MS, los ejemplares utilizados fueron seleccionados minuciosamente para asegurarse que fueran los más viables, a pesar de ello una vez introducidos en la suspensión celular con el paso de los días fueron mostrando dificultad para adaptarse, al principio la más afectada fue *H. retusa*, misma que con el incremento de nutrientes al

cambio de medio, mejoró considerablemente, mientras que *H.maughanii* decayó poco a poco.

No se obtuvieron los resultados esperados al término del experimento, sin embargo, casi al finalizar éste cuando se le añadió el herbicida BASTA, comenzó a recuperarse. Una vez terminado el experimento se continuó monitoreando a *H. maughanii*, y la suspensión que contenía herbicida estaba mostrando mucha mejoría, mientras que la que no lo contenía, continuaba presentando lisis celular.

VII. RECONOCIMIENTOS

Agradezco a todos los integrantes del laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de La UASLP ya que durante todo el verano me hicieron sentir como en casa e incluida dentro del laboratorio, y quiero agradecer en especial al doctor anfitrión Pablo Delgado Sánchez por todo el apoyo y orientación que recibí durante toda mi estancia, así como también a todo el comité organizador del Verano de la ciencia por permitirme formar parte de esta gran experiencia.

REFERENCIAS

- [1] N. Nuzhyna & M. Gaydarzhy, "Comparative characteristics of anatomical and morphological adaptations of plants of two subgenera *Haworthia* Duval to arid environmental conditions". *Acta Agrobot* 68(1):23–31. 2015.
- [2] M. Hayashi, "Callus characteristics and classification of *Haworthia* and allied genera". *South African Journal of Botany*, 53(6): 411-423. 1987.
- [3] J. Gaytán Oyarzún, *Catedra Nacional de Biología (2008) "Juan Luis Cifuentes Lemus" Biología de la Conservación II.* Ed. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Pachuca Hidalgo, 2009.
- [4] W. Roca & L. Mroginski. *Cultivo de tejidos en la agricultura: fundamentos y aplicaciones.* Ed. Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia, 1991.

Determinación de la capacidad antioxidante y la concentración fenólica contenida en metabolitos secundarios de *Chrysactinia mexicana*

Yesenia Damaris Franco Aguirre

Universidad Autónoma de Coahuila,
Facultad de Ciencias Químicas
Ing. Cárdenas Valdez S/N, República,
25280 Saltillo, Coah.
yesenia.franco@uadec.edu.mx

Asesora:

Emma Fabiola Magallan Hernández

Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales
Av. de las Ciencias s/n, 76230 Juriquilla, Qro.
fabiola.magallan@uaq.mx

Resumen — *Chrysactinia mexicana* es una especie nativa de México, que pertenece a la familia asteraceae, cuya distribución se asocia principalmente a la Sierra Madre Oriental la cual se caracteriza por tener compuestos fenólicos y terpenicos que han sido de nuestro interés para llevar a cabo esta investigación. En el presente trabajo, se identificó la concentración fenólica y la capacidad antioxidante contenidas en metabolitos secundarios de *Chrysactinia mexicana* de distintas muestras obtenidas de forma amigable con el medio ambiente donde se obtuvo un promedio de concentración fenólica de 0.019 M y una capacidad antioxidante con valores en su porcentaje de inhibición que rondaban entre 84.924 y 80.430 en un factor de dilución 1:20.

Palabras clave — *Chrysactinia mexicana*, Folin-ciocalteu, polifenoles, DPPH

Abstract — *Chrysactinia mexicana* is a species native to Mexico, which belongs to the Asteraceae family, whose distribution is mainly associated with the Sierra Madre Oriental which is characterized by having phenolic and terpenic compounds that have been of our interest to carry out this research. In the present work, was identified the phenolic concentration and the antioxidant capacity contained in secondary metabolites of Mexican *Chrysactinia* of different samples obtained in a friendly way with the environment where an average phenolic concentration of 0.019 M and an antioxidant capacity with values in Their percentage of inhibition was between 84,924 and 80,430 in a 1:20 dilution factor.

Keywords — *Chrysactinia mexicana*, Folin-ciocalteu, polyphenols, DPPH.

I. INTRODUCCIÓN

El presente trabajo forma parte de una investigación llevada a cabo en la Facultad de Ciencias Naturales en la Universidad Autónoma de Querétaro en la que se busca evaluar la capacidad que tiene el aceite esencial y diversos extractos de *Chrysactinia mexicana* para el control de plagas, específicamente de *Sitophilus oryzae* mejor conocidos como gorgojos del maíz.

Chrysactinia mexicana es una especie nativa de México, que pertenece a la familia asteraceae, cuya distribución se asocia principalmente a la Sierra Madre Oriental (Villaseñor et al., 2009). *Chrysactinia mexicana* contiene polifenoles, monoterpenos, diterpenos fenólicos y flavonoides caracterizados principalmente por su capacidad para disminuir la producción de los radicales libres (Martínez-Flórez et al., 2002).

Los compuestos fenólicos constituyen una de las principales clases de metabolitos secundarios de los vegetales, los cuales desempeñan diversas funciones fisiológicas. La actividad biológica de los polifenoles está relacionada con su carácter antioxidante, la cual

se debe a su habilidad para inhibir la actividad de la enzima lipooxigenasa y actuar como atrapadores de radicales libres (García Martínez et.al, 2009).

Los objetivos de este trabajo fueron extraer los metabolitos secundarios de *Chrysactinia mexicana* utilizando métodos amigables con el medio ambiente y determinar la capacidad antioxidante de los aceites esenciales y la concentración de fenoles totales contenidos en las infusiones y los extractos de *Chrysactinia mexicana*.

II. MARCO TEÓRICO

Chrysactinia mexicana es una especie nativa de México, que pertenece a la familia Asteraceae, cuya distribución se asocia principalmente a la Sierra Madre Oriental. Son arbustos de 20 a 40 cm alto, con hojas alternas, simples, lineares, cilíndricas, de 5 a 20 mm de largo y 1 a 2 mm de ancho, con glándulas oleíferas notorias. Las flores se presentan en cabezuelas, las liguladas usualmente son 13 de color amarillo (Villaseñor y Redonda-Martínez, 2009). *Chrysactinia mexicana* ha sido estudiada desde un enfoque fitoquímico identificando diferentes metabolitos secundarios con actividad biológica (Cárdenas-Ortega et al. 2005), encontraron que su aceite esencial contiene eucalyptol (41.3%), piperitona (37.7%) y linalyl acetato (9.1%). Guerra-Boone et al. (2013) mostraron que los principales componentes de su aceite esencial fueron monoterpenos (52.5%), siendo los más abundantes el Sylvestreno (41.1%) y el limoneno (26.1%). Diferentes estudios de la actividad biológica de su aceite esencial, mostraron efectos antimicrobianos, antifúngicos, espasmolíticos, antinociceptivos y antioxidantes (Zavala-Mendoza et al., 2016). La actividad antioxidante de *Chrysactinia mexicana* fue analizada por Salazar-Aranda y colaboradores en 2009, en extractos de las hojas, flores y raíz, mediante la técnica de DPPH, determinando una CE50 menor a 10 µg/mL (Salazar-Aranda R., et al., 2009)

A. Fundamentos del método de Folin-Ciocalteu

El ensayo Folin-Ciocalteu se basa en que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu, a pH básico, dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm. (García Martínez et al., 2009).

B. Fundamentos del método de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)

En su forma de radical libre, el DPPH absorbe a 515 nm y cuando sufre reducción por un antioxidante, esta absorción desaparece (Guija-Poma et al., 2015). La actividad antioxidante se expresa como porcentaje de inhibición lo cual corresponde a la cantidad de radical DPPH neutralizado por el extracto a una determinada concentración, de acuerdo a la siguiente ecuación (Muñoz Juárez M. A. et al., 2008).

$$\%inhibición = \frac{A-A1}{A} * 100 \quad (1)$$

dónde: A= Absorbancia del blanco A1= Absorbancia de la muestra

III. METODOLOGÍA

A. *Obtención de la planta*

De forma previa se colectó *Chrysactinia mexicana* en una población silvestre en el municipio de Cadereyta Querétaro en un campo ubicado en las coordenadas N 21°07'37.7'' W 0099°38'10.3'' a una altitud de 2240 msnm la cual se colectó el día 18 de febrero del 2019.

B. *Extracción por hidrodestilación*

Se llevó a cabo la extracción de tres diferentes muestras siendo estos los aceites esenciales, los hidrolato y una infusión de la planta en un equipo de hidrodestilación del tipo Clevenger con 50 g del material vegetal, se introdujeron en un matraz bola de un litro, el cual contenía 500 ml de agua destilada. El tiempo de extracción fue de 4 horas. Posteriormente se separó el aceite esencial del hidrolato, se filtró el residuo de la planta contenida en el matraz bola, se recolectó la infusión en un envase de vidrio ámbar y se refrigeró a 6°C. Este proceso se realizó por triplicado.

C. *Extracción etanólica*

En un frasco ámbar de un litro se disolvieron 400 ml de etanol de grado analítico (90%) con 200 ml de agua destilada y posteriormente se le adicionaron 60 g de hojas secas de *Chrysactinia mexicana*. A continuación, se dejó reposar en la obscuridad durante 15 días a temperatura ambiente con agitación constante. Después se filtró y se recolectaron 500 ml de disolución y posteriormente se sometió a calentamiento el cual se llevó a cabo con agua, simulando un baño maría y con el auxilio de un termómetro para medir la temperatura y evitar que llegue al punto de ebullición del etanol (78,37 °C). Este proceso tuvo una duración de 3 horas. El extracto final se conservó en un frasco ámbar y se refrigeró a una temperatura de 6°C.

D. *Determinación de la concentración fenólica*

Para determinar el contenido de fenoles totales se realizó una curva de calibración con concentraciones de 0, 50, 100, 150, 200, 250 y 300 µL /ml preparadas a partir de una disolución stock de ácido gálico en donde se disolvieron 0.017 gr de ácido gálico en 10 ml de agua destilada. Posteriormente, se hicieron disoluciones del extracto y las infusiones a 5 diferentes concentraciones siendo estas presentadas en la **Tabla 1**. En una microplaca de 96 pozos se colocaron 20 µL de la concentración a ensayar, cada una de estas por triplicado, para después adicionarle 150 µL de agua destilada y 50 µL del reactivo *Folin-Ciocalteu* (1 N). La mezcla se homogeneizó y se pre-incubó por ocho minutos. A continuación, se adicionaron 50 µL de una disolución de carbonato de sodio al 10%, para luego homogeneizar la mezcla e incubarla durante dos horas a temperatura ambiente, protegida de la luz. Finalmente, se procedió a medir la absorbancia de la muestra a 765 nm en un espectrofotómetro UVVisible (Shimadzu, UV-1700 PharmaSpec, Japón).

Tabla 1. Concentraciones utilizadas del extracto y las infusiones en la prueba de Folin-Ciocalteu.

Concentración	Extracto	Agua destilada
1	100 μ L	900 μ L
2	75 μ L	925 μ L
3	50 μ L	950 μ L
4	25 μ L	975 μ L
5	10 μ L	990 μ L

E) Determinación de la capacidad antioxidante

Para la determinación de la actividad antioxidante se tomaron 20 μ L de las 3 muestras del aceite esencial de *Chrysactinia mexicana* a 3 concentraciones diferentes (1:100, 1:50, 1:20) por triplicado y se colocaron en una microplaca de 96 pozos, se le adicionó a cada uno 200 μ L de la disolución de DPPH. Se dejó reposar durante 30 minutos a temperatura ambiente protegidas de la luz y posteriormente se midió la absorbancia a 520 nm en un espectrofotómetro UVVisible (Shimadzu, UV-1700 PharmaSpec, Japón)

IV. RESULTADOS

A. Extracción por hidrodestilación

Se extrajeron tres diferentes muestras de extracción en triplicado como se muestra en la **Tabla 2**. La hidrodestilación demostró ser una excelente forma de extracción ya que se obtienen tres diferentes tipos de formas farmacéuticas con compuestos activos y además el tiempo de la extracción es relativamente corto (4 horas). El promedio del porcentaje de rendimiento del aceite en 50 g de planta seca de *Chrysactinia mexicana* fue de 2.006% mientras que del hidrolato fue de 17.68%.

Tabla 2. Pesos en g de los tres diferentes extractos obtenidos en tres diferentes repeticiones.

Repeticiones (50 g materia vegetal / 500 ml de agua)	Aceite esencial	Hidrolato	Infusión
1	0.8342 g	8.3 g	489.85 g
2	0.9536 g	10.06 g	515.03 g
3	1.2301 g	8.16 g	493.92 g

B. Extracción etanólica

El extracto final que se obtuvo fue de 250 ml por lo tanto la extracción por arreste etanolica no resulta tan eficiente ya que esta lleva un largo proceso en el que requiere de mucho tiempo (15 días). Sin embargo, su porcentaje de rendimiento en 60 g de planta seca de *Chrysactinia mexicana* es de 37.87% lo cual representa un valor muy alto a comparación de los rendimientos obtenidos por hidrodestilación.

C. Determinación de la concentración fenólica

El porcentaje de variación de la recta patrón de ácido gálico fue de 97.7% indicando confiabilidad. La concentración fenólica fue más alta en los extractos que se obtuvieron mediante la hidrodestilación y menor en los extractos obtenidos por arrastre etanólica. Es necesario además notar que el factor de dilución en las infusiones fue de 1:100 mientras que en el extracto etanólico hubo diluciones 1:20 y 1:40 y aun así la concentración fenólica siempre fue mayor en las infusiones obtenidas por hidrodestilación. En promedio en una masa de 0.0032 g de hojas secas de *Chrysactinia mexicana* se obtiene una concentración fenólica de 0.019 Molar.

Tabla 3. Resultados de la absorción y análisis de la concentración fenólica obtenida en la prueba de Folin-Ciocalteu del extracto de *Chrysactinia mexicana*. **XAλ**= Promedio de la abs **[XR]** **μM**= Promedio de la concentración real en μM **[XR] M**= Promedio de la concentración real en molaridad.

	F. d	XAλ	[XR] μM	[XR] M	g de planta contenidos
Infusión 1	1:100	0.295	23170	0.0232	0.0039
Infusión 2	1:100	0.130	6736.67	0.0067	0.0011
Infusión 3	1:100	0.336	27203.2	0.0272	0.0046
Extracto	1:20	0.219	3114	0.0031	0.0005
Extracto	1:40	0.134	2841.33	0.0028	0.0005
Extracto	1:100	0.092	1746.67	0.0017	0.0003

D. Determinación de la capacidad antioxidante

El porcentaje de inhibición en el aceite esencial de *Chrysactinia mexicana* varía dependiendo de su concentración siendo mayor en las diluciones 1:20 teniendo valores entre 84.924-80.430 y menores en diluciones 1:100 con valores entre 38.425-28.878 y por lo tanto podemos deducir que mientras mayor concentración del extracto haya en la dilución, mayor capacidad antioxidante tendrá.

Tabla 4. Porcentaje de inhibición de la capacidad antioxidante encontrada en las tres diferentes extracciones de aceite esencial de *Chrysactinia mexicana*. **F.d**= Factor de dilución **XAλ**= Promedio de la absorbancia, **%I**= Porcentaje de inhibición, **σ**= Desviación estándar.

	F. d	XAλ	%I	σ
Muestra 1	1:20	0.126	84.924	2.149076
Muestra 1	1:50	0.303	63.842	6.24984
Muestra 1	1:100	0.516	38.425	4.646282
Muestra 2	1:20	0.164	80.430	1.909308
Muestra 2	1:50	0.416	50.398	3.430312
Muestra 2	1:100	0.558	33.413	3.83536
Muestra 3	1:20	0.146	82.617	1.55742
Muestra 3	1:50	0.259	69.053	11.32101
Muestra 3	1:100	0.596	28.878	0.206689

V. DISCUSIÓN

Chrysactinia mexicana es una planta con grandes beneficios que además es fácil de cultivar. La extracción de sus compuestos activos es más favorable mediante hidrodestilación ya que se obtienen tres diferentes extractos en menor tiempo y con mejores porcentajes de rendimiento de la obtención en masa del extracto y en su concentración fenólica. En cuanto a la capacidad antioxidante del aceite esencial se descubrió que a mayor concentración mayor capacidad antioxidante sin embargo la capacidad antioxidante no se le puede atribuir por completo a la presencia de ácidos fenólicos, flavonoides y otro tipo de polifenoles, ya que el DPPH no reacciona con los flavonoides carentes de grupos hidroxilo en el anillo, ni con ácidos aromáticos que contengan un solo grupo hidroxilo. Creemos que es necesario realizar diferentes tipos de pruebas posteriores para una mejor investigación.

VI. CONCLUSIÓN

- 1- Se extrajeron los metabolitos secundarios de *Chrysactinia mexicana* utilizando métodos amigables con el medio ambiente siendo estos la extracción etanólica y la hidrodestilación donde se obtuvieron tres diferentes tipos de muestras (aceite esencial, hidrolato e infusiones).
- 2- Se determinó la concentración de fenoles totales contenidos en las infusiones y los extractos de *Chrysactinia mexicana* encontrando mayor concentración fenólica en las muestras obtenidas por hidrodestilación en donde el promedio fue una concentración fenólica de 0.019 Molar en una masa de 0.0032 g de hojas secas de *Chrysactinia mexicana*.
- 3- Se determinó la capacidad antioxidante de los aceites esenciales de *Chrysactinia mexicana* encontrando que mientras mayor concentración del extracto haya en la dilución, mayor capacidad antioxidante tendrá.

VII. RECONOCIMIENTOS

Agradecemos al 21° verano de la ciencia región centro y colaboradores por organizar y proporcionar las herramientas necesarias para que se haya logrado el intercambio entre universidades. Se agradece a la Universidad autónoma de Querétaro y a la Facultad de Ciencias Naturales especialmente a la Dra. Fabiola Magallan por otorgarme la oportunidad de colaborar en un trabajo de investigación. También agradecemos al Tecnológico de Monterrey por darnos la oportunidad de trabajar dentro de las instalaciones para el uso del equipo necesario durante esta investigación especialmente a la Dra. Ana Cardador.

REFERENCIAS

- Cárdenas-Ortega, N., M. Zavala-Sánchez, R. Aguirre-Rivera, C. Pérez-González, S. Pérez-Gutiérrez. 2005. Chemical composition and antifungal activity of essential oil of *Chrysactinia mexicana* Gray. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 4347-4349.
- Carcía Martínez, Fernández Segovia I., Fuentes López A. "Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu". Universidad politécnica de Valencia. Departamento de tecnología de alimentos. 2009

- Guerra-Boone, L., R. Álvarez-Romána, R. Salazar-Arandaa, A. Torres-Cirioa, V. Rivas-Galindoa, N. Waksman, G. González y L. Pérez-López. 2013. Chemical Compositions and Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Essential Oils from *Magnolia grandiflora*, *Chrysactinia mexicana*, and *Schinus molle* Found in Northeast Mexico. *Natural Product Communications* 8 (1): 135-138.
- Guija-Poma E., Inocente-Camones M.A., Ponce-Pardo J. Zarsosa-Norabuena E. "Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante" Vol. 15 (1): 57-60 *Horiz Med* 2015
- Muñoz Juárez M. A., Gutiérrez D. M. "Determinación de actividad antioxidante de diversas partes del árbol" *Nicotiana Glauca*, Memorias del Verano de la Ciencias de la región Centro Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro. Junio-agosto 2008.
- R. Palomino., G. García P., A. Rojano.,, L. Durango "Determination of phenolic content and evaluation of antioxidant activity of propolis from antioquia". *Vitae*, Revista de la facultad de química farmacéutica ISSN 0121-4004, ISSNe 2145-2660. Volumen 16 número 3, año 2009. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. págs. 388-395
- Salazar-Aranda R., Pérez-López L.A., López-Arroyo J., Alanís-Garza B., Waksman N. Antimicrobial and antioxidant activities of plants from Northeast Mexico. *Evidence-based complementary and alternative medicine*. 2011: 1-6 (2009).
- Villaseñor, J. 2016. Checklist of the native vascular plants of México. Universidad Nacional Autónoma de México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*; vol. 87, núm. 3, pp. 559-902. Distrito Federal, México.
- Zavala-Mendoza, D., L. Grasa, M. Zavala-Sánchez, S. Pérez-Gutiérrez, M. Murillo, M., 2016. Antispasmodic effects and action mechanism of essential oil of *Chrysactinia mexicana* A. gray on rabbit ileum. *Molecules* 21: 783.

Determinaciones bioquímicos-clínicos en animales en cautiverio

Lorena García Díaz

Instituto Tecnológico Superior de Irapuato
Carr. Irapuato-Silao Km. 12.5
C.P. 36821, Irapuato, Gto.
lorena_grey@outlook.com

Asesor: Francisco Alejo Irtuvide

Instituto Tecnológico Superior de Irapuato
Carr. Irapuato-Silao Km. 12.5
C.P. 36821, Irapuato, Gto.
fralejo@itesi.edu.mx

Resumen — En este proyecto se trabajó con muestras biológicas sanguíneas de animales elegidos aleatoriamente para así realizar mediciones bioquímico-clínicas que se obtuvieron mediante la técnica de espectrofotometría UV-Vis, para la cual se utilizaron kits bioquímicos de la marca Spinreact los cuales miden las concentraciones de las muestras en función de la longitud de onda con relación a la radiación que emite el espectrofotómetro con la concentración química a la que se sometió la muestra. Las cantidades de reactivo y muestras se redujeron proporcionalmente para optimizar el tiempo y el uso de los kits Spinreact y así poder obtener mediciones bioquímicas-clínicas confiables en animales en cautiverio, los cuales se clasificaron en animales sanos y animales con deficiencia y/o enfermedades.

Palabras clave — Espectrofotometría, Concentración, Mediciones.

Abstract — This project was focused on blood biological samples of animals randomly chosen to perform biochemical-clinical measurements that were obtained using the UV-Vis spectrophotometry technique. Spinreact brand biochemical kits were used to measure the concentrations of the samples depending on the wavelength in relation to the radiation emitted by the spectrophotometer with the chemical concentration to which the sample was subjected. The quantities of reagent and samples were reduced proportionally to optimize the time and use of Spinreact kits and thus be able to obtain reliable biochemical-clinical measurements in captive animals, which were classified in healthy or deficiency and / or disease animals.

Keywords — Spectrophotometry, Concentration, Measurements.

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad existen lugares donde se mantienen en cautiverio a los animales los cuales se han encargado de su bienestar, por ello es importante el estudio de todos los parámetros clínicos que conlleva el cuidado de los especímenes. Las pruebas de laboratorio permiten usualmente confirmar o descartar el diagnóstico presuntivo [1].

El Laboratorio Clínico es un lugar en el cual se tiene como objetivo brindar un apoyo primordial al área médica, ya que cuenta con una gran diversidad de procedimientos de los cuales se obtiene una documentación del estado de salud. Por lo cual lo hace una herramienta indispensable para la toma de decisiones respecto a procedimientos médicos [2].

En la actualidad hay numerosos parámetros bioquímicos que pueden ser determinados los cuales reflejan el cuadro clínico de uno o varios sistemas orgánicos, existirán variaciones según el momento evolutivo de la enfermedad y muchas veces coexistirán simultáneamente dos o más afecciones. Algunas pruebas de laboratorio útiles para patologías humanas no resultarían confiables al aplicarlas en animales [3].

II. MARCO TEÓRICO

El Laboratorio Clínico es un lugar en el cual se tiene como objetivo brindar un apoyo primordial al área médica, ya que cuenta con una gran diversidad de procedimientos de los cuales se obtiene una documentación del estado de salud, por lo cual lo hace una herramienta indispensable para la toma de decisiones respecto a procedimientos médicos [2].

En los Laboratorios Clínicos se pueden abarcar distintas áreas de estudios, sin embargo, las más básicas y clásicas son: Hematología, Química Sanguínea, Microbiología, Inmunología y Parasitología.

A. Química Sanguínea

El perfil químico tiene como objetivo analizar cierto tipo de sustancias que están presentes en la sangre, así como dar información sobre el estado de los diferentes órganos [4]. Ayuda a evaluar el estado clínico del organismo sobre el funcionamiento de los riñones, hígado, glándulas adrenales, páncreas y algunas presencias de tipos de tumores.

El perfil hepático entra como un estudio de la química sanguínea el cual tiene como objetivo la medición de las enzimas, así como también incluye a la albúmina que es la principal proteína sanguínea que es sintetizada por el hígado; además de la actividad enzimática y proteica del hígado se miden estrechamente elementos que esta de alguna forma relacionados con la actividad hepática para así poder detectar un daño o el causante del mismo [5].

El suero es el indicado para este tipo de determinaciones, se obtiene a partir de una muestra sanguínea sin anticoagulante.

La calidad y utilidad de los análisis de Laboratorio dependen de la manera en la que se manejen las muestras, para esto es necesario seguir las indicaciones, ya que un mal manejo o descuido puede hacer que la muestra se deteriore o simplemente se pierda [2]. El principal objetivo del transporte de muestras (Material Biológico) es mantenerlo con un deterioro mínimo o nulo [6].

III. METODOLOGÍA

El estudio se divide en 2 fases: Pre-analítica y Analítica, para poder abarcar todas las dimensiones que conlleva el análisis en animales mantenidos en cautiverio.

- a) En la fase pre-analítica se eligen los animales aleatoriamente de los cuales se obtienen muestras sanguíneas las cuales se les da una identificación que consiste en la clasificación de análisis químico- clínico al que se le va a someter y un transporte adecuado de la muestra, se recomienda empacar las muestras que son refrigeradas, las muestras que no son refrigeradas es conveniente que lleguen al laboratorio en menos de 4 horas y se transportan en un lugar fresco y protegido de los rayos directos de la luz.
- b) La fase analítica utiliza 2 tipos de muestra: el plasma se obtiene por centrifugación la cual se realiza únicamente si la muestra esta conservada con anticoagulante, se somete a

3000 rpm de 10 a 15 minutos. El suero se obtiene siempre y cuando la muestra no contenga anticoagulante, ya que se deja coagular hasta obtener una retracción del coagulo lo cual toma de 30 minutos a 1 hora. Los análisis bioquímicos- clínicos se realizan en base a la absorbancia utilizando un espectrofotómetro para la preparación de las muestras se basa en los lineamientos y metodología perteneciente a los kits de reactivos Spinreact.

Lineamientos y metodología reducida proporcionalmente de los kits Spinreact mostrado en la Tabla 1.

Tabla 1. Los lineamientos presentados en los Kits Spinreact fueron ajustados a 1/3 del volumen indicado en las instrucciones para optimizar uso de reactivos.

Analito	Unidad	Temperatura	Longitud	Volumen Muestra	Volumen Patrón	Volumen Reactivo
Acido úrico	mg/dl	37°C/ 15-25°C	520 nm	8.33 uL	8.33 uL	0.333 ml
LDH	U/l	37°C /30°C /25° C	340 nm	33.33 uL	—	1 ml
Creatinina	mg/dl	37°C/ 15-25°C	492 nm	33.33 uL	33.33 uL	0.333 ml
Colesterol	mg/dl	37°C/ 15-25°C	505 nm	3.33 uL	3.33 uL	0.333 ml
Triglicéridos	mg/dl	37°C/ 15-25°C	505 nm	3.33 uL	3.33 uL	0.333 ml
Glucosa	mg/dl	37°C/ 15-25°C	505 nm	3.33 uL	3.33 uL	0.333 ml
Albumina	mg/dl	15-25°C	630 nm	1.6 uL	1.6 uL	0.333 ml
Magnesio	mg/dl	37°C/ 15-25°C	546 nm	3.33 uL	3.33 uL	0.333 ml
Fosforo	mg/dl	37°C /30°C /25° C	340 nm	3.33 uL	3.33 uL	0.333 ml
Bilirubina Total	mg/dl	15-25°C	555 nm	33.33 uL	16.66 uL	0.5 ml
Bilirubina Directa	mg/dl	15-25°C	555 nm	33.33 uL	16.66 uL	0.5 ml
Hierro	ug/dL	37°C/ 15-25°C	562 nm	66.66 uL	66.66 uL	0.333 ml
Urea	mg/dl	37°C/ 15-25°C	340 nm	3.33 uL	3.33 uL	0.333 ml
Calcio	mg/dl	37°C/ 15-25°C	570nm	6.66 uL	6.66 uL	0.666 ml

IV. RESULTADOS

Se realiza una relación entre los resultados obtenidos de los análisis bioquímicos- clínicos y valores de referencia, los cuales nos muestra que se presentaron anomalías en varios de los analitos (Tabla 2). Se realizaron 11 determinaciones de las cuales se utilizaron 30 muestras de animales diferentes.

Tabla 2. Determinaciones obtenidas de los 11 analitos y 30 muestras analizadas. Donde A.U. (Ácido úrico), Crt (Creatinina), Col (Colesterol), Tri (Triglicéridos), Gl (Glucosa), Alb (Albumina), Mg (Magnesio), P (Fosforo), BD (Bilirrubina Directa), BT (Bilirrubina Total), Ca (Calcio), y las celdillas de color más oscuro representan los animales que se ubican dentro de los valores de referencia indicando que son animales sanos.

Muestra	A. U. mg/dl	Crt mg/dl	Col mg/dl	Tri mg/dl	Gl mg/dl	Alb mg/dl	Mg mg/dl	P mg/dl	BD mg/dl	BT mg/dl	Ca mg/dl
V.R	0.5-2	0.6-1.4	135-260	19-133	69-120	2.3-3.8	1.4-2.8	4.8-9.0	0.09-0.4	0.2-0.4	7.5-11
1	3.2	0.26	148.78	233.9	90.18	2.88	2.98	3.56	0.34	2.98	13.45
2	1.2	0.37	155.1	253.45	197.77	3.05	1.96	4.72	0.56	1.96	11.9
3	1.44	-0.1395	157.14	246.08	107.77	4.1	0.56	2.18	0.87	0.56	15.01
4	4.55	1.11	159.18	278.34	72.22	2.11	0.68	4.024	0.45	0.68	12.87
5	1.2	-0.22	163.26	293.08	96.66	3.37	1.9	4.36	0.78	1.9	12.98
6	4.04	-0.18	144.89	201.84	48.88	0.101	2.14	4.9	0.658	2.14	13.67
7	3.96	0.14	162.89	290.09	78.77	2.56	2.09	3.98	0.89	2.09	13.11
8	4.33	-9.33	167.13	133.85	87.62	4.56	2.39	4.53	0.924	1.604	6.19
9	7.4	-13.4	176.67	157.97	81.43	4.64	2.3	4.39	0.07	0.4584	1.83
10	11.32	-9.33	187.63	170.42	106.18	4.67	2.24	4.59	3.164	0.1337	2.02
11	15.02	-20	189.39	200.77	100.39	5.03	3.85	4.22	1.064	0.1146	3.87
12	7.56	-11.33	175.97	168.87	106.78	4.66	4.46	4.63	0.77	1.719	3.23
13	10.48	-16	183.39	150.97	97.8	4.62	2.003	4.23	0.588	0.9168	2.96
14	11.22	-8.54	142.76	183.89	112.14	4.8	2.56	4.02	0.004	0.129	3.5
15	3.52	-5.49	104.96	135.38	280.8	4.3	1.88	3.82	0.602	0.2292	8.25
16	26.75	2.99	139.52	172.3	76.78	3.38	1.68	4.7	0.658	0.191	8.35
17	116.22	1.4	153.92	176.61	243.75	4.24	1.82	4.41	0.588	0.191	5.5
18	84.3	10.49	179.52	200	207.58	4.32	2.05	0.58	0.21	0.4011	6.34
19	63.41	-13.39	82.24	121.23	212.05	3.73	2.5	7.94	0.546	1.8336	10.15
20	59.86	15.09	187.2	144	160.71	4.19	2.21	6.47	0.294	1.146	10.79
21	6.09	1.28	228.91	160	153.78	3.06	2.31	4.41	0.098	0.8213	13.43
22	1.05	2.44	176.5	122.85	56.17	2.98	2.27	7.34	0.056	0.2101	12.51
23	7.62	2.66	295.18	137.85	147.8	3.71	2.19	7.27	0.098	0.2101	14.01
24	10.5	2.44	236.14	142.14	244.22	2.56	2.2	12.94	0.056	0.4475	15
25	2.64	2.46	237.34	238.57	53.38	3.16	2.75	8.65	0.098	0.0191	15.26
26	4.56	2.22	195.78	142.14	157.37	2.18	2.44	2.45	0.126	0.4393	14.37
27	2.76	2.44	104.81	131.42	115.93	2.95	2.68	9.12	0.056	0.1528	13.13
28	4.95	2.66	268.07	147.14	169.32	3.73	2.57	12.14	0.14	0.1719	18.13
29	6.36	2.67	167.46	165	150.19	2.95	2.62	12.57	0.042	0.1337	15.13
30	5.01	2	239.15	151.42	147.8	2.85	2.64	12.99	0.182	0.2101	19.7

V. CONCLUSIONES

En este proyecto se implementaron determinaciones bioquímicas- clínicas en animales en cautiverio, al momento de realizar las determinaciones se redujo proporcionalmente la cantidad de reactivo y muestra para así hacer el análisis más eficiente y obtener una menor cantidad de residuo, se obtuvieron valores como Triglicéridos, Creatinina, Calcio, Acido úrico, Bilirrubinas D&T y Fosforo que fueron las determinaciones con más animalias de acuerdo a los valores de referencia que se tiene; así como Colesterol, Glucosa, Albumina y Magnesio que fueron las determinaciones que entran en el rango de referencia e indica que esos animales se les considera como sanos.

Con la finalidad de evaluar la causa de las variaciones y revisando la literatura, se encuentra que dichas diferencias pudieron originarse fisiológicamente de los organismos o bien por la reducción de los kits Spinreact por lo que se sugiere seguir con la optimización del procedimiento para normalizar los resultados.

VI. RECONOCIMIENTOS

Expreso mi agradecimiento al Instituto Tecnológico de Irapuato por permitir la estancia y el poder realizar el proyecto en sus instalaciones y al Dr. Francisco Alejo Irtuvide y la Dra. María Azucena Márquez Lucio por las facilidades y el apoyo otorgado para la realización de la estancia de verano.

REFERENCIAS

- [1] C. Sodikoff, Pruebas Diagnosticas y de Laboratorio en Pequeños Animales, Estados Unidos: Mosby Inc., 2001.
- [2] C. A. G. Lamping, Manual de Diagnostico con énfasis en el Laboratorio Clínico Veterinario, Managua, Nicaragua: Carrera de Medicina Veterinaria- Facultad de Ciencia Animal- Universidad Nacional Agraria, 2014.
- [3] A. Marquez Ceballos, Generalidades sobre Hematología, Colombia: Universidad de Caldas, 2004.
- [4] J. Rodríguez Ruiz, «Aproximación al Análisis de Bioquímica Sanguínea y Uroanálisis en Animales Silvestres,» 2013.
- [5] L. A. Delgado Moreira, *Determinación del perfil hepático de perros geriátricos mediante pruebas específicas de Laboratorio*, Guayaquil, Ecuador : Universidad de Guayaquil, 2012.
- [6] J. Velasco Velasco, M. d. C. Araque, E. Araujo, A. Longa, B. Nieves, A. C. Ramirez y E. Kiralba Sanchez , *Manual práctico de bacteriología clínica*, Venezuela: Editorial Venezuela C.A., 2008.

Distribución e identificación de líquenes en la unidad deportiva El Copal, en Irapuato, Gto.

Laihsa Valeria Rodríguez González

Universidad Autónoma de Coahuila.
Ing.J. Cárdenas Valdez S/N, República,
25280 Saltillo, Coah

laihsa.rodriquez@uadec.edu.mx

Asesora: Varinia López Ramírez

Tecnológico Nacional de México
Instituto Tecnológico Superior de Irapuato
Silao-Irapuato km 12.5 El Copal,
36821 Irapuato, Gto.

valopez@itesi.edu.mx

Resumen — Los líquenes son formas de vida simbiótica estables formadas por organismos de 2 o 3 diferentes grupos biológicos. Están constituidos por un hongo (micobionte), 1 o 2 autótrofos algas o cianobacterias (fotobionte) y una levadura. Por su morfología los líquenes se pueden clasificar en crustosos, foliosos y fruticosos. La importancia del estudio y distribución de los líquenes radica en que estos ecosistemas en miniatura tienen un importante papel como bioindicadores de lectura inmediata de la contaminación ambiental. En este trabajo, nos propusimos determinar la diversidad de líquenes en la unidad deportiva "El Copal" ubicada al norte del municipio de Irapuato, con el fin de determinar la diversidad de líquenes en dicha área. A partir del muestreo de especies de líquenes, se llevó a cabo un análisis morfológico y respuesta química con KOH (10% w/v), NaClO comercial y sus combinaciones, HNO₃ (50% v/v) y lugol. En este muestreo encontramos únicamente especies de líquenes foliosos, dentro de los que destacan los géneros *Phaeophyscia*, *Parmelia*, *Hypogymnia* y *Lepraria*. adicionalmente se llevó a cabo la reactivación e identificación de hongos asociados a líquenes, de los cuales se obtuvieron 14 géneros entre los que destacan *Botrytis*, *Aspergillus* y *Fusarium*. El conocimiento de los hongos que se asocian a líquenes ayudará a comprender si existe o no una selectividad de este grupo de organismos por parte de los líquenes.

Palabras clave — Especies liquénicas, simbiosis, biomonitores, hongos asociados a líquenes, micobionte.

Abstract — Lichens are stable symbiotic life forms formed by organisms of 2 or 3 different biological groups. They consist of a fungus (mycobiont), 1 or 2 autotrophic algae or cyanobacteria (photobiont) and a yeast. Due to its morphology, lichens can be classified as crustose, foliose and fruticose. The importance of the study and distribution of lichens is that these miniature ecosystems have an important role as bioindicators of immediate reading of environmental pollution. In this work, we set out to determine the diversity of lichens in the sports unit "El Copal" located at north of Irapuato city, to determine the diversity of lichens in that area. We sampled lichen species and evaluated their morphological features and their chemical reactivity through dot test with KOH (10% w/v), commercial NaClO and its combinations, HNO₃ (50% v/v) and lugol, in this sampling we found only foliate lichen species, the genera found were *Phaeophyscia*, *Parmelia*, *Hypogymnia* and *Lepraria*. In addition, the reactivation and identification of fungi associated to lichens was carried out, we identified 14 genera among which *Botrytis*, *Aspergillus* and *Fusarium* were distinctive. The knowledge of fungi that could be associated to lichens, will let us understand if there is a selectivity to this group by lichens species.

Keywords — Lichen species, Symbiosis, fungi associated with lichens, biomonitors, mycobiont.

I. INTRODUCCIÓN

Los líquenes son organismos formados por la asociación simbiótica de un hongo con un organismo fotosintético, ya sea un alga, una cianobacteria o ambas, en esta asociación el hongo recibe el nombre de *micobionte* y el componente fotosintético de *fotobionte* [1], de esta interacción se origina un talo estable con estructura y fisiología específica diferente a los hongos o algas por separado [2]. El hongo es el encargado del

soporte del líquen formando un cuerpo vegetativo constituido por su mayoría en hifas y esto protege al fotobionte. El alga a su vez realiza fotosíntesis y suministra al micobionte azúcares simples y vitaminas [3].

Los líquenes se han considerado como ecosistemas en miniatura con un productor primario (el fotobionte), un consumidor primario (micobionte) y, en algunos casos, con descomponedores, como cuando un líquen es parasitado por otro hongo [4].

Los líquenes son capaces de desarrollarse sobre todo tipo de sustratos inertes u orgánicos como minerales, hojas, caparazones de animales entre otros, especialmente son abundantes en los medios más extremos como son los desiertos fríos y cálidos o las altas montañas, donde las plantas vasculares tienen dificultades para desarrollarse [5]. Por ello, son excelentes bioindicadores de las condiciones ambientales de su hábitat y constituyen una de las principales fuentes de innovaciones simbioespecíficas [4].

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección de la muestra: Las muestras de líquenes fueron colectadas en la unidad deportiva “El Copal” en la ciudad de Irapuato, Guanajuato. Las muestras se removieron de su sustrato, seleccionando el líquen, con el mayor tamaño, ubicado en la parte media del árbol, tomando aproximadamente la cuarta parte del total del líquen. Las muestras colectadas se depositaron en sobres de papel manila, etiquetándose con las iniciales de la persona quien los colectó y enumerándolos por orden de muestreo, para cada muestra se registraron las coordenadas correspondientes al sitio de colecta.

Identificación química de especies: Después de su colecta, las muestras fueron llevadas al laboratorio para su observación y descripción de sus características morfológicas observadas al estereoscopio (20X), así como la evaluación de su respuesta frente a diferentes sustancias químicas. Para la realización de las pruebas químicas se tomó un trozo de la muestra y se colocó en una placa de porcelana horadada y se evaluó su reacción con hipoclorito de sodio comercial (NaClO; C), hidróxido de potasio al 10% w/v (KOH; K) y sus combinaciones (CK, KC), lugol y ácido nítrico al 50% v/v.

Reactivación de hongos: Se llevó a cabo la reactivación de asilados fúngicos asociados a líquenes, pertenecientes al cepario del Laboratorio de Diversidad e Interacción Microbiana del Instituto Tecnológico Superior de Irapuato. Las cepas se reactivaron en agar de papa y dextrosa (PDA), distribuyendo una asada por toda la caja Petri con posterior, incubación a temperatura ambiente por 72 horas.

III. RESULTADOS

Se recolectaron un total de 13 muestras de líquenes foliosos en la Unidad Deportiva “El Copal” en Irapuato, Guanajuato (Figuras 1 y 2).



Figura 1. Especies de líquenes colectados en la Unidad deportiva “El Copal” en Irapuato, Guanajuato. A. Muestra de *Parmelia saxatilis*; B. Muestra de *Flavoparmelia* sp.



Figura 2. Mapa de distribución de los sitios de colecta de líquenes en la Unidad deportiva “El Copal” en Irapuato, Guanajuato.

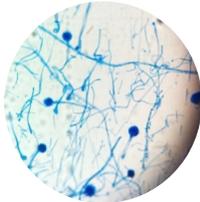
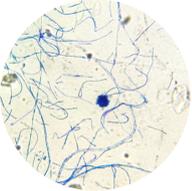
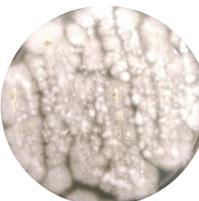
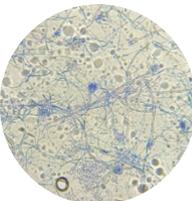
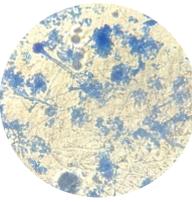
Para la identificación de las especies colectadas, se analizaron las características morfológicas de las muestras, así como la presencia y ubicación de las estructuras reproductivas a lo largo de los talos liquénicos, además de evaluar su reactividad químicas. Los géneros identificados se muestran en la Tabla 1, así como el número de muestras obtenidas de cada género y el resultado de las pruebas químicas, otorgando un panorama de la diversidad liquénica presente en la unidad deportiva “El Copal” en Irapuato, Guanajuato, ya que se encontraron especies de diversas morfologías, y esto nos ayuda a medir la contaminación ambiental, ya que los líquenes actúan como bioindicadores de lectura inmediata de la contaminación, de los cambios climáticos y de la estabilización del suelo [6].

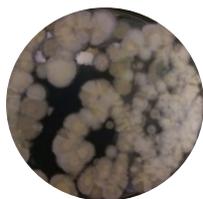
Tabla 1. Género de muestras liquénicas y resultado de pruebas químicas (C: Cloro, K: Potasio, C/K: mezcla de cloro y potasio, K/C: mezcla de potasio y cloro, L: Lugol, N: Acido nítrico)

Especie	Número de muestras obtenidas	Pruebas químicas					
		C	K	C/K	K/C	L	N
<i>Phaeophyscia orbicularis</i>	3	-	-	-	+	-	-
<i>Parmelia saxatilis</i>	1	-	+	+	-	-	+
<i>Flavoparmelia sp.</i>	1	-	-	-	+	-	-
<i>Punctelia redelena</i>	1	+	+	-	+	+	+
<i>Pleurosticta acetabulum</i>	2	-	+	+	+	-	+
<i>Hypogymnia tubulosa</i>	3	-	-	-	-	-	-
<i>Lepraria sp.</i>	1	+	+	+	+	-	-

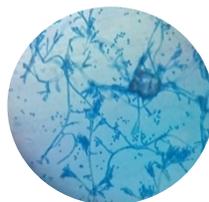
Adicionalmente, se realizó la caracterización macro y microscópica de aislados fúngicos (Tabla 2). Las cepas proporcionadas por el Laboratorio de Diversidad e Interacción Microbiana fueron previamente obtenidas en el proyecto de aislamiento de microorganismos asociados a la simbiosis líquénica en especies del estado de Guanajuato [7].

Tabla 2. Descripción morfológica de hongos asociados a líquenes

IMAGEN MACROSCÓPICA	DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA	IMAGEN MICROSCÓPICA	DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA
	Colonias de crecimiento moderado, blancas o grises, textura lanosa, color superficial blanco [8].		GÉNERO: <i>Botrytis</i> FAMILIA: <i>Moniliaceae</i> ORDEN: <i>Moniliales</i> CLASE: <i>Deuteromycetes</i> Los conidióforos se pueden encontrar agrupados o solos y los conidios son lisos y casi hialinos no septados de forma ovalada o globosa.
	Colonia con pliegues, de micelio blanco que cambia a amarillo. La producción de conidios da, por la presencia en la superficie del micelio de puntos negros similares a la pimienta. El reverso de la colonia queda de color gamuza o crema.		GÉNERO: <i>Aspergillus</i> ESPECIE: <i>niger</i> FAMILIA: <i>Moniliaceae</i> ORDEN: <i>Moniliales</i> CLASE: <i>Deuteromycete</i> Hifas tabicadas, Conidióforos largos y lisos, vesícula esférica, da origen a fiálides que producen conidios negros, que oscurecen la superficie de vesícula.
	Colonias de crecimiento rápido, algunas parecen estar sumergidas por debajo de la superficie del medio [8].		GÉNERO: <i>Ulocladium</i> FAMILIA: <i>moniliaceae</i> ORDEN: <i>Moniliales</i> CLASE: <i>Deuteromycete</i> Hifas septadas, los conidios se producen a un costado de la otra porción del conidióforo.
	Colonias de crecimiento rápido, inicialmente por un micelio plumoso muy desarrollado, al madurar producen un pigmento color lavanda a rojo en el micelio al reverso del agar, suele presentarse en forma de panal algodonosa o lanosa y granulosa.		GÉNERO: <i>Fusarium</i> ESPECIE: <i>oxysporum</i> FAMILIA: <i>Tuberculariaceae</i> ORDEN: <i>Moniliales</i> CLASE: <i>Deuteromycete</i> Micronidias unicelulares en pequeñas cabezuelas en las puntas de las fiálides cortas, formando algunos racimos, macroconidios, grandes e hifas hialinas septadas.
	Colonias de crecimiento moderado, blancas o grises, textura lanosa, color superficial blanco.		GÉNERO: <i>Fusarium</i> ESPECIE: <i>graminearum</i> FAMILIA: <i>Nectriaceae</i> ORDEN: <i>Hipocreales</i> CLASE: <i>Sordariomycetes</i> Micronidias unicelulares en puntas de las fiálides cortas, formando algunos macroconidios grandes e hifas hialinas septadas.



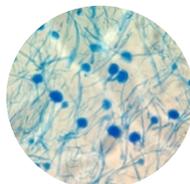
Colonias de color verdoso intenso a negro, lisas, cariáceas y rugosas, o bien variantes aterciopeladas, cubiertas por un micelio bajo y veloso.



GÉNERO: *Cladosporium*
CLASE: *Deuteromycete*
FAMILIA: *Dematiaceae*
ORDEN: *Moniliales*
SUBDIVISIÓN: *Deuteromycotina*
 Hifas septadas, conidióforos libremente ramificados de aspecto de pincel, extremos parten largas cadenas de conidios [8].



Colonias de crecimiento rápido, de textura membranosa, húmedas a algodonosas de color blanco o crema [8].



GÉNERO: *Geotrichum*
FAMILIA: *Endomycetaceae*
ORDEN: *Saccharomycetales*
CLASE: *Ascomycotina*
 No poseen conidióforos, sino que el micelio septado se fracciona en arthroconidias unicelulares, hialinas de diferente longitud y grosor.

IV. CONCLUSIONES

Los líquenes foliosos presentes en la unidad deportiva “El Copal” en Irapuato, Guanajuato se localizaron asociados a los árboles presentes en el área, no encontramos líquenes de otros tipos de morfologías, surgiendo que las características de la zona son restrictivas para el desarrollo de otras especies. Con la ayuda de la guía dicotómica de OPAL Air Centre, imperial Collage London and British Lichen Society se pudieron identificar 7 géneros diferentes entre los que podemos encontrar *Phaeophyscia*, *Parmelia*, *Flavoparmelia*, *Punctelia*, *Pleurosticta*, *Hypogymnia* y *Lepraria*, mostrando que los líquenes foliosos son predominantes en la zona y estos ejemplares presentan diferentes características morfológicas, fisiológicas y destacan por el potencial biológico de sus metabolitos.

A partir del crecimiento, observación e identificación de hongos asociados a líquenes proporcionados por el cepario del Laboratorio de Diversidad e Interacción Microbiana mediante el uso de Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi, se analizaron 26 cepas distribuidos en 14 géneros diferentes entre los que destacan, *Botrytis sp.*, *Aspergillus sp.*, *Fusarium sp.*, entre otros, resaltando la importancia y la necesidad de conocer la diversidad microbiana asociada a las distintas especies liquénicas. Algunos de los géneros identificados en este trabajo se han descrito previamente como epifitos de plantas.

REFERENCIAS

- [1] B. Coutiño and A. L. Montañez, “Los líquenes,” *Lab. Etnobotánica, Depto. Biol. Fac. Ciencias, Univ. Nac. Autónoma México.*, pp. 64–65, 2000.
- [2] D. I. Vaillant-flores, “Los líquenes, una alternativa para el control de fitopatógenos,” *Fitosanidad*, vol. 18, 2014.
- [3] D. L. . I. T. C. A. Hawkswort, “Liquenes como bioindicadores inmediatos de contaminación y cambios medio-ambientales en los tropicos.,” *Rev. Iberoamericana Micol.*, vol. 22, pp. 71–82, 2005.
- [4] M. Herrera-Campos, R. Lücking, R.E. Pérez, R .M. González, N. Sánchez, A. Barceras, A. Carrizosa, A. Zambrano B. D. Ryan and T. Nash., “Biodiversidad de líquenes en México,” *Rev. Mex. Biodivers.*, vol. 85, no. SUPPL., pp. 82–99, 2014.
- [5] Barreno and Pérez, “Biología de los líquenes,” *Líquenes la Reserv. Nat. Integr. Muniellos, Astur.*, pp. 65–82, 2003.
- [7] M. Bajonero Arroyo, “Aislamiento de microorganismos asociados a la simbiosis liquénica en

especies del estado de Guanajuato,” no. 1, pp. 345–349.

- [8] D. I. A. Alarcon, “Evaluación de técnicas de conservación para hongos filamentosos y levaduriformes en el cepario de la Pontificia Universidad Javeriana,” vol. 33, pp. 16–18, 2006.

Efecto de la suplementación de metionina durante el último tercio de la gestación sobre el desarrollo postnatal e inicio de la pubertad en hembras caprinas

Juan Carlos Baltazar Camacho

Instituto Tecnológico Superior de Irapuato
Carretera Irapuato-Silao km 12.5, Col. El Copal,
C.P. 36821 Irapuato, Gto.
juancarlosmv321998@hotmail.com

Asesor: César Augusto Rosales Nieto

Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Carretera San Luis Potosí, Matehuala, Ejido Palma
de la Cruz, Soledad de Graciano Sánchez,
C.P. 78321, San Luis Potosí, S.L.P., México.
cesar.rosales@uaslp.mx

Resumen — El objetivo fue determinar el efecto de la suplementación de metionina durante el último tercio de gestación sobre desarrollo y pubertad de la progenie. Se utilizaron 60 hembras caprinas multiparas distribuidas en cuatro tratamientos (0%, 0.1%, 0.5%, 1.0%). Al parto se registró el peso, IMC, tipo de parto y sexo de toda la progenie; sin embargo, solamente se utilizaron las hembras. A los cuatro meses de edad, se introdujeron machos celadores para la detección de la pubertad. El peso, IMC y muestras sanguíneas fueron obtenidas semanalmente. El peso al nacimiento no difirió entre tratamientos ($P>0.05$). El IMC difirió entre tratamientos ($P=0.05$), pero no el peso postnatal ($P>0.05$).

Abstract — The objective was to determine the effect of methionine supplementation during the last third of pregnancy on postnatal development and puberty of the progeny. We used 60 multiparous female goats distributed in four treatments (0%, 0.1%, 0.5%, 1.0%). At birth, birth weight, body mass index (BMI), birth type and sex of the progeny were recorded; however, only females were used. When females were 4 months old, vasectomized males were introduced to detect the onset of puberty. Live weight, IMC and blood samples were collected weekly. Birth weight did not differ among treatments ($P>0.05$). Through the experiment, BMI differed among treatments ($P=0.05$), but not body weight ($P>0.05$).

I. INTRODUCCIÓN

Diferentes estudios han demostrado que la alimentación materna durante las diferentes etapas de la gestación es importante ya que definirá el crecimiento y desarrollo fetal, así como probables enfermedades metabólicas durante la vida adulta (Barker et al., 1989; Abu-Saad y Fraser, 2010). Una dieta materna deficiente en energía o proteína durante la gestación y que no cumpla con los requerimientos nutricionales puede traer como consecuencia crías con bajo peso al nacimiento (Bertram and Hanson, 2001). Las crías con menor peso al nacimiento son más susceptibles a enfermedades por lo que incrementa la tasa de mortalidad tanto neonatal como postnatal (Barker et al., 1989; Brien et al., 2014). Por otro lado, las crías que son más pesadas al nacimiento son más vigorosas y tienden a crecer más rápido y son más pesadas al destete independientemente del sexo (Banchemo et al., 2010; Rosales Nieto et al., 2016; 2018a). De acuerdo a las investigaciones de Rosales Nieto et al. (2013a; 2013b), un rápido crecimiento postnatal ayudará a alcanzar más rápido la pubertad.

De tal manera, que el inicio de la pubertad está relacionado con diferentes factores tanto externos (fotoperiodo, nutrición, señales socio-sexuales, clima) como internos (raza, peso corporal, condición corporal y edad; Rosales Nieto et al., 2018b). El inicio de la pubertad se puede ver retrasado cuando estos factores se relacionan o cuando

la hembra presenta cierta deficiencia en el crecimiento; sin embargo, Rosales Nieto et al. (2018b) mencionó que la edad pasa a segundo término y que los factores genéticos sobre la acumulación de los diferentes tejidos del animal ayudaran a alcanzar más rápido la pubertad en hembras jóvenes. Adicionalmente, un factor importante a considerar en hembras jóvenes caprinas es la estacionalidad reproductiva; la cual está influenciada por el fotoperiodo y la época de nacimiento. La estacionalidad reproductiva es una adaptación ambiental a las condiciones climáticas en las diferentes épocas del año para que las crías puedan nacer en la época más adecuada (Rosales Nieto et al., 2011; Urrutia et al., 2016; Martín y Rosales Nieto, 2014); sin embargo, es un factor importante en la pubertad ya que influye directamente sobre el inicio (Delgadillo et al., 2007).

La disponibilidad de proteínas es un factor importante para el crecimiento fetal ya que los aminoácidos son los encargados de la secreción de insulina; la cual juega un papel indispensable junto con otros factores de crecimiento (IGF-1, IGF2, oxígeno) en el crecimiento fetal (Heasman et al., 2000; Bertram y Hanson, 2001; Rumball et al. 2009; Jenkinson et al. 2012). Bertram y Hanson (2001) explicaron que una dieta materna deficiente en proteína pudiera no tener impacto en la primera generación; pero si impactará directamente el desarrollo fetal y peso al nacimiento de la segunda y tercera generación. Sin embargo, esta investigación requiere mayor profundidad para determinar si puede ser aplicada en todas las especies y/o si la restricción nutricional materna ocurre en los diferentes estadios de la gestación. La metionina es uno de los aminoácidos esenciales y no puede ser sintetizar en el organismo; por lo que se debe de obtener a través de la dieta. La metionina es importante para el crecimiento; dado que aporta azufre y otros compuestos que el organismo necesita (Merchen y Tigemeyer, 1992; Campbell et al., 1996; Sun et al., 2007). Sin embargo, hasta el momento no se ha definido la importancia de la suplementación de metionina sobre el crecimiento fetal y postnatal. De tal manera que el objetivo del presente trabajo fue determinar la suplementación de metionina en diferentes concentraciones durante el último tercio de gestación sobre el peso al nacimiento, desarrollo postnatal e inicio de la pubertad en hembras caprinas.

II. METODOLOGÍA

A. *Animales y tratamientos*

El estudio se realizó en la Unidad Caprina de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Se utilizaron 60 hembras caprinas multíparas (n=60) nacidas y criadas en estas instalaciones y apareadas con dos machos. A partir del último tercio de gestación (d -50), las hembras fueron asignadas en base al peso corporal a uno de los cuatro tratamientos con o sin suplementación de metionina. Los tratamientos fueron los siguientes:

1. Tratamiento control: 0.0% inclusión de metionina en dieta y se asignaron 15 cabras.
2. Tratamiento 0.1: 0.1% inclusión de metionina en dieta y se asignaron 15 cabras.
3. Tratamiento 0.5: 0.5% inclusión de metionina en dieta y se asignaron 15 cabras.
4. Tratamiento 1.0: 1.0% inclusión de metionina en dieta y se asignaron 15 cabras.

La inclusión de la metionina fue en base al peso corporal individual de la cabra y el porcentaje de inclusión fue 0.0, 0.1, 0.5 y 1.0% de la materia seca de Optimetionina Nuprox₈₄

S. A. de C. V., México. La suplementación de metionina fue en la mañana de manera individual. Para ello, se preparó la dosis de metionina correspondiente al animal y se le proporcionó en la sala de ordeña que tiene espacio para 12 cabras en línea. La suplementación con metionina inició 50 (-50) días antes del parto y finalizó al parto (0).

Al parto se registró el peso al nacimiento, tipo de parto, sexo e índice de masa corporal (IMC) de la progenie. Solamente se les dio seguimiento a las hembras y el peso e IMC se está registrando semanalmente hasta el inicio de la pubertad. Adicionalmente, se continúan tomando muestras sanguíneas dos veces por semana a partir del destete y hasta el inicio de la pubertad que posteriormente serán analizadas para progesterona, insulina, IGF-1, leptina, proteína total, colesterol y urea. Machos con el pene desviado fueron introducidos con las hembras cuando tenían 114 días de edad en promedio. La información servirá para determinar el inicio (edad y peso) de la pubertad y ver el efecto de la suplementación maternal durante el último tercio de gestación.

La información se analizó con el paquete estadístico SAS versión 9.3 (SAS Institute Inc, Cary, NC, EE.UU.). La ganancia de peso diaria e IMC se determinó para cada hembra utilizando una regresión de coeficientes aleatorios incluyendo una línea cúbica por el tiempo, que se considera apropiado cuando la respuesta es lineal (TRANSREG). El peso al nacimiento e IMC de la progenie se analizaron mediante modelos mixtos y técnica de estimación de máxima verosimilitud restringida (PROC MIXED). El efecto fijo fue tratamiento.

III. RESULTADOS

A. *Peso al Nacimiento*

En la tabla 1 se representa el peso corporal al nacimiento y al final del estudio de las crías nacidas de las madres que recibieron distintas concentraciones de metionina a partir del último tercio de gestación. El peso al nacimiento y al final no difirió entre tratamientos ($P > 0.05$).

Tabla 1. Peso al nacimiento y al finalizar el estudio de las crías nacidas de hembras que recibieron suplementación de metionina con diferente concentración a partir del último tercio de gestación y hasta el parto.

Tratamiento	Peso Nacimiento (kg±SEM)	Peso Final (kg±SEM)
Control (0%)	3.0±0.1	12.6±0.8
0.05	3.0±0.1	12.8±0.9
0.5	3.2±0.1	12.7±0.8
0.1	3.1±0.2	11.6±0.6
P > f	NS	NS

B. *Desarrollo Postnatal*

En la Figura 1 se representa el desarrollo postnatal de la progenie de la semana 0 hasta la semana 17; en esta se observa que durante cada semana el incremento del peso corporal de las hembras de los distintos tratamientos de metionina fue variando; sin embargo, el análisis estadístico a través del tiempo del experimento indica que la variación no difirió significativamente.

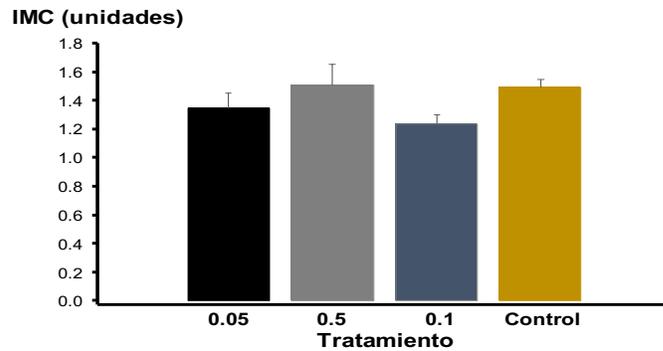


Figura 1. Cambio de peso corporal de la progenie de hembras que recibieron suplementación de metionina con diferente concentración a partir del último tercio de gestación y hasta el parto. Línea negra (0.05%), línea gris (0.5%), línea azul (1.0%) y línea naranja (0.0%; control) representa las hembras que recibieron suplementación de metionina en base a su peso corporal.

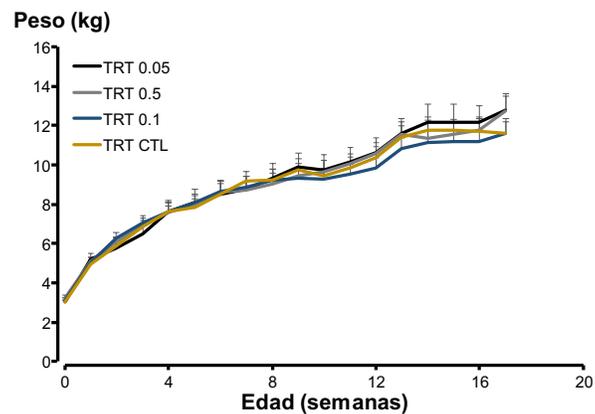


Figura 2. Índice de masa corporal en la última semana de la progenie de hembras que recibieron suplementación de metionina con diferente concentración a partir del último tercio de gestación y hasta el parto. Barra negra (0.05%), barra gris (0.5%), barra azul (1.0%) y barra naranja (0.0%; control) representa el tratamiento de las hembras que recibieron suplementación de metionina en base a su peso corporal.

C. Inicio de la Pubertad

Las muestras sanguíneas obtenidas semanalmente serán analizadas posteriormente para determinar con exactitud el peso y edad del inicio de la pubertad. Sin embargo, el análisis de sangre está en proceso ya que aún se siguen obteniendo muestras sanguíneas. Durante el estudio una hembra no pudo finalizar el procedimiento por lo que fue contabilizada como resultado del tratamiento.



Figura 3. Progenie sin finalizar el procedimiento.



Figura 1. Detección de hembras en etapa de la pubertad mediante la introducción de machos con el pene desviado.

IV. ANALISIS DE RESULTADOS

El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la suplementación de metionina durante el último tercio de gestación sobre el peso al nacimiento, desarrollo postnatal e inicio de la pubertad en hembras caprinas. Nuestros resultados demuestran que la suplementación de metionina durante la gestación no influyó el peso al nacimiento. Monsen et al. (2006) determinó que la concentración materna de metionina pudiera ser un indicativo sobre el tamaño y peso al nacimiento. Estas observaciones fueron apoyadas por Muthayya (2009) quien determinó que bajos niveles maternos de metionina impactaron el desarrollo fetal. De tal manera que era posible hipotizar que la suplementación de metionina incrementaría el peso al nacimiento y que el efecto era adicional a los factores genéticos. El mayor crecimiento fetal ocurre en el último tercio de gestación; sin embargo, la miogénesis y adipogénesis ocurren en el primero y segundo tercio de gestación (Du et al., 2010); de tal manera, que es posible que la ventana de suplementación utilizada en el presente estudio no haya influenciado positivamente el desarrollo de las fibras musculares y/o tejido adiposo y que impactara directamente en el peso al nacimiento.

Por otro lado, nuestros resultados demuestran que la suplementación influyó el IMC, pero no el peso corporal. Diferentes autores han reportado en bovinos que el suministro adicional de metionina durante el desarrollo puede mejorar la ganancia de peso diaria (Merchen y Tigemeyer, 1992; Campbell et al., 1996; Sun et al., 2007). Por otro lado, en ovinos Sánchez Acosta et al. (2012) no observó diferencia en la ganancia de peso después de la suplementación con metionina. Sin embargo, estos estudios utilizaron la suplementación después del nacimiento más no durante la gestación; de tal manera que aún queda por determinar el impacto de la metionina durante diferentes trimestres de la gestación sobre el desarrollo corporal postnatal.

El impacto de la suplementación de metionina durante la gestación sobre el inicio de la pubertad está pendiente de ser reportado. Sin embargo, estudios previos indican que las hembras con mejor desarrollo postnatal inician más rápido la pubertad y son más fértiles en comparación con aquellas hembras que se desarrollan más lento (Rosales Nieto et al., 2013a; 2013b)

V. CONCLUSIÓN

Se concluye que la manipulación de la dieta materna durante el último tercio de gestación incrementa el tamaño corporal de las hembras caprinas. Falta por determinar el impacto que tendrá sobre el inicio de la pubertad.

VI. AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la UASLP por la estancia del verano, así como al Dr. César Augusto Rosales Nieto por brindarme la oportunidad de participar el proyecto.

REFERENCIAS

- Abu-Saad K and Fraser D 2010. Maternal Nutrition and Birth Outcomes. *Epidemiologic Reviews* 32, 5-25.
- Banchero G, Vázquez A, Montossi F, de Barbieri I and Quintans G 2010. Pre-partum shearing of ewes under pastoral conditions improves the early vigour of both single and twin lambs. *Animal Production Science* 50, 309-314.
- Barker DJ, Osmond C, Golding J, Kuh D and Wadsworth ME 1989. Growth in utero, blood pressure in childhood and adult life, and mortality from cardiovascular disease. *British Medical Journal* 298, 564-567.
- Bertram CE and Hanson MA 2001. Animal models and programming of the metabolic syndrome Type 2 diabetes. *British Medical Bulletin* 60, 103-121.
- Brien FD, Cloete SWP, Fogarty NM, Greeff JC, Hebart ML, Hiendleder S, Edwards JEH, Kelly JM, Kind KL, Kleemann DO, Plush KL and Miller DR 2014. A review of the genetic and epigenetic factors affecting lamb survival. *Animal Production Science* 54, 667-693.
- Campbell CG, Titgemeyer EC and St-Jean G 1996. Efficiency of D- vs L-methionine utilization by growing steers². *Journal of animal science* 74, 2482-2487.
- Delgadillo JA, De Santiago-Miramontes MA and Carrillo E 2007. Season of birth modifies puberty in female and male goats raised under subtropical conditions. *animal* 1, 858-864.
- Du M, Tong J, Zhao J, Underwood KR, Zhu M, Ford SP and Nathanielsz PW 2010. Fetal programming of skeletal muscle development in ruminant animals¹. *Journal of animal science* 88, E51-E60.
- Heasman L, Brameld J, Mostyn A, Budge H, Dawson J, Buttery P, Stephenson T and Symonds ME 2000. Maternal nutrient restriction during early to mid gestation alters the relationship between insulin-like growth factor I and bodyweight at term in fetal sheep. *Reproduction, Fertility and Development* 12, 345-350.
- Jenkinson CMC, Earl AK, Kenyon PR and Blair HT 2012. Effects of maternal nutrition during pregnancy on fetal growth and maternal constraint in sheep. *Animal Production Science* 52, 524-532.
- Martin y Rosales Nieto. (2014). El futuro en la industria animal -Dónde se necesita la ciencia para desarrollar métodos 'limpios, verdes y éticos' sobre el manejo de la reproducción. 22-40.
- Merchen NR and Titgemeyer EC 1992. Manipulation of amino acid supply to the growing ruminant¹. *Journal of animal science* 70, 3238-3247.
- Monsen A-LB, Schneede J and Ueland PM 2006. Mid-trimester amniotic fluid methionine concentrations: a predictor of birth weight and length. *Metabolism* 55, 1186-1191.
- Muthayya S 2009. Maternal nutrition & low birth weight - what is really important? *Indian Journal of Medical Research* 660-608.
- Rosales-Nieto CA, Gamez-Vazquez HG, Gudino-Reyes J, Reyes-Ramirez EA, Eaton M, Stanko RL, Meza-Herrera CA and Gonzalez-Bulnes A 2011. Nutritional and metabolic modulation of the

- male effect on the resumption of ovulatory activity in goats. *Animal Production Science* 51, 115-122.
- Rosales Nieto CA, Ferguson MB, Macleay CA, Briegel JR, Martin GB and Thompson AN 2013a. Selection for superior growth advances the onset of puberty and increases reproductive performance in ewe lambs. *animal* 7, 990-997.
- Rosales Nieto CA, Ferguson MB, Macleay CA, Briegel JR, Wood DA, Martin GB and Thompson AN 2013b. Ewe lambs with higher breeding values for growth achieve higher reproductive performance when mated at age 8 months. *Theriogenology* 80, 427-435.
- Rosales Nieto CA, Meza-Herrera CA, Moron Cedillo FdJ, Flores Najera MdJ, Gámez Vázquez HG, Ventura Pérez FdJ and Liu S 2016. Vitamin E supplementation of undernourished ewes pre- and post-lambing reduces weight loss of ewes and increases weight of lambs. *Tropical Animal Health and Production* 48, 613-618.
- Rosales Nieto CA, Ferguson MB, Macleay CA, Briegel JR, Wood DA, Martin GB, Bencini R and Thompson AN 2018a. Milk production and composition, and progeny performance in young ewes with high merit for rapid growth and muscle and fat accumulation. *animal* 12, 2292-2299.
- Rosales Nieto CA, Thompson AN and Martin GB 2018b. A new perspective on managing the onset of puberty and early reproductive performance in ewe lambs: a review. *Animal Production Science* 58, 1967-1975.
- Rumball CWH, Bloomfield FH, Oliver MH and Harding JE 2009. Different Periods of Periconceptional Undernutrition Have Different Effects on Growth, Metabolic and Endocrine Status in Fetal Sheep. *Pediatr Res* 66, 605-613.
- Sánchez Acosta E, Ortega Cerrilla ME, Mendoza Martínez GD, Montañez Valdez OD and Buntinx Dios SE 2012. Rastrojo de maíz tratado con urea y metionina protegida en dietas para ovinos en crecimiento. *Interciencia* 37, 395-399.
- Sun ZH, Tan ZL, Liu SM, Tayo GO, Lin B, Teng B, Tang SX, Wang WJ, Liao YP, Pan YF, Wang JR, Zhao XG and Hu Y 2007. Effects of dietary methionine and lysine sources on nutrient digestion, nitrogen utilization, and duodenal amino acid flow in growing goats¹. *Journal of animal science* 85, 3340-3347.
- Urrutia Morales J, Rosales Nieto CA, Ávila HRV and Manjarres EVA 2016. Resumption of ovarian activity is modified by non-photoperiodic environmental cues in Criollo goats in tropical latitudes. *Small Ruminant Research* 137, 9-16.

Efecto de la suplementación de una cepa probiótica sobre los parámetros productivos en pollos de engorda

Ezer Alonso Yniesta Aguilar

Universidad de Guanajuato
Campus Irapuato-Salamanca
Ex Hacienda El Copal k.m. 9; carretera Irapuato-Silao; A.P. 311; C.P. 36500; Irapuato, Gto.
alfonsoaguilar3@hotmail.com

Asesora: Elena Franco Robles

Universidad de Guanajuato
Campus Irapuato-Salamanca
Ex Hacienda El Copal k.m. 9; carretera Irapuato-Silao; A.P. 311; C.P. 36500; Irapuato, Gto.
e.franco@ugto.mx

Resumen — Los antibióticos promotores de crecimiento en la industria avícola han generado problemas asociados a la resistencia antibiótica, se están buscando nuevas alternativas que puedan sustituir a estos, entre ellos se encuentran los probióticos. Se realizó un estudio experimental con 72 pollos machos en 3 grupos: control, antibiótico y *Bifidobacterium animalis*. Se evaluó consumo de alimento, ganancia de peso y conversión alimenticia. Los resultados arrojaron una mejor ganancia de peso en el grupo con probiótico (3037.04 ± 55.03 gr) y una mejor conversión alimenticia (2.25) parecida a la del grupo tratado con antibiótico (2.22). Se demostró que la cepa probiótica de *Bifidobacterium animalis* a una concentración de 1×10^9 UFC/kg es una buena alternativa para sustituir a los antibióticos promotores de crecimiento en la industria avícola.

Palabras clave — Ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia.

Abstract — Growth promoting antibiotics in the poultry industry have generated problems associated with antibiotic resistance, new alternatives are being sought that can replace these, among them are probiotics. An experimental study was carried out with 72 male broiler chicken in 3 groups: control, antibiotic and *Bifidobacterium animalis*. Food consumption, weight gain and feed conversion were evaluated. The results showed a better weight gain in the probiotic group (3037.04 ± 55.03 gr) and a better nutritional conversion (2.25) similar to that of the antibiotic treated group (2.22). It was shown that the probiotic strain of *Bifidobacterium animalis* at a concentration of 1×10^9 UFC/kg is a good alternative to replace the growth-promoting antibiotics in the poultry industry.

Keywords — Weight gain, food consumption, food conversion.

I. INTRODUCCIÓN

Los sistemas avícolas destinados a la producción de pollo de engorda se caracterizan por manejar altas densidades en búsqueda de un mayor rendimiento productivo de carne por área de confinamiento [1]. En ese intento de ser altamente productivos y de registrar mayores ganancias de peso y conversiones alimenticias, el uso de los antibióticos promotores de crecimiento (APC) se instauró como una práctica cotidiana entre los avicultores; sin embargo, el uso indiscriminado de estos productos, ha venido generando problemas asociados a la resistencia antibiótica de algunas cepas bacterianas, provocando altos costos sanitarios que disminuyen el rendimiento productivo de las empresas, arriesgando la calidad e inocuidad de la carne [2].

Ante este panorama, los alimentos funcionales destinados a suplir requerimientos nutricionales y generar beneficios adicionales en el animal, aparecen como una alternativa de reemplazo a los APC, por ser productos naturales con efectos nutraceuticos [3]. Dentro

de este grupo se encuentran los probióticos, los cuales son microorganismos vivos, que una vez ingeridos en cantidades suficientes permanecen activos en el intestino contribuyendo al equilibrio de la microbiota intestinal del huésped y potenciando el sistema inmunitario [4-5].

El modo de acción de los probióticos no solo incluye cambios en el pH del contenido gastrointestinal, sino que se suman una serie de efectos directos como: acción antagonista a la colonización de bacterias enteropatógenas o exclusión competitiva [6], disminución del pH [7], neutralización de toxinas, actividad bactericida y efecto benéfico sobre el sistema inmune [4]. De igual manera, aumentan la disponibilidad de aminoácidos y mejoran la eficiencia de utilización de energía [8-9] y otros componentes de la dieta como la fibra para ser utilizada como fuente de energía [10]. Por las ventajas que generan los probióticos en los sistemas productivos se evaluó el efecto de la adición de *Bifidobacterium animalis* en la alimentación de pollos de engorda sobre los parámetros de importancia zootécnica, tales como ganancia de peso, consumo de alimento y conversión alimenticia.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio experimental comparativo con 72 pollos machos de la estirpe Ross 308 machos, de un día de nacidos, no vacunados y con un peso promedio de 42 g. La distribución de los pollos en los grupos de tratamiento se realizó completamente al azar considerando un tamaño de muestra de 24 animales por grupo (3 repeticiones de 8). Los animales se dividieron en los siguientes grupos:

- Grupo SPC, animales administrados con dieta comercial iniciadora al día 21 (23% proteína; 5% grasa; 4% fibra), continuando con dieta comercial finalizadora al día 49 (21% proteína; 5% grasa; 4% fibra) y agua *ad libitum*.
- Grupo APC, animales administrados con dieta comercial iniciadora al día 21 (23% proteína; 5% grasa; 4% fibra; monensina sódica 54-90 g/ton), continuando con dieta comercial finalizadora al día 49 (21% proteína; 5% grasa; 4% fibra; monensina sódica 54-90 g/ton) y agua *ad libitum*.
- Grupo PRO, tratamiento con *Bifidobacterium animalis* a una concentración de 1×10^9 UFC/kg como aditivo en la dieta estándar (23% proteína; 5% grasa; 4% fibra) en las dos etapas y agua *ad libitum*.

A. Determinación de la ganancia de peso, ingesta de alimento y conversión alimenticia

Los animales de los 4 grupos fueron pesados al inicio del experimento y luego una vez a la semana para monitorizar la ganancia de peso corporal de los animales con la báscula electrónica para bebés marca VELAB® modelo SM-20, con la siguiente fórmula:

$$\text{Ganancia media de peso} = (\text{peso final} - \text{peso inicial}) / \text{tiempo}$$

La ración alimenticia se ofreció diariamente en la mañana, se retiró y pesó el sobrante de un día anterior con una balanza electrónica marca OHAUS® modelo V11P6T. El consumo de alimento es la diferencia entre el alimento suministrado y no consumido por día, como se muestra en la siguiente fórmula:

Consumo de alimento (g/día) = Alimento ofrecido – Alimento rechazado

La conversión alimenticia está dada por la relación del peso del alimento, sobre la ganancia diaria de peso, también dice que generalmente sus unidades se expresan en kg de alimento por kg de peso vivo. Tomando en cuenta esto, se siguió la siguiente fórmula:

$$\text{Conversión alimenticia} = (\text{consumo de alimento}) / (\text{ganancia media de peso})$$

B. Análisis estadístico

Se realizó pruebas de normalidad a los datos para posteriormente ser evaluados mediante la prueba de ANOVA para verificar si existe significancia entre grupos. Se usó una prueba de post hoc de Tukey para encontrar cuales grupos fueron diferentes. Los datos se presentarán como media \pm desviación estándar, considerando una $p < 0.05$ como significativa.

III. RESULTADOS

Los resultados mostraron una mejoría en las variables productivas del grupo tratado con la cepa probiótica en comparación con los grupos a los que se les adicionó antibiótico promotor de crecimiento y el grupo control. A pesar de no mostrar diferencias estadísticamente significativas, fueron mejores los resultados del grupo tratado con *Bifidobacterium animalis*.

A. Ganancia de peso

La ganancia de peso total fue mayor para el grupo tratado con *Bifidobacterium animalis* 3037.04 \pm 55.03 gr, seguido del grupo con antibiótico promotor de crecimiento 3028.77 \pm 86.25 gr y por debajo de estos el grupo control 2837.55 \pm 118.9 gr. En la figura 1 se muestra la ganancia de peso durante las 7 semanas.

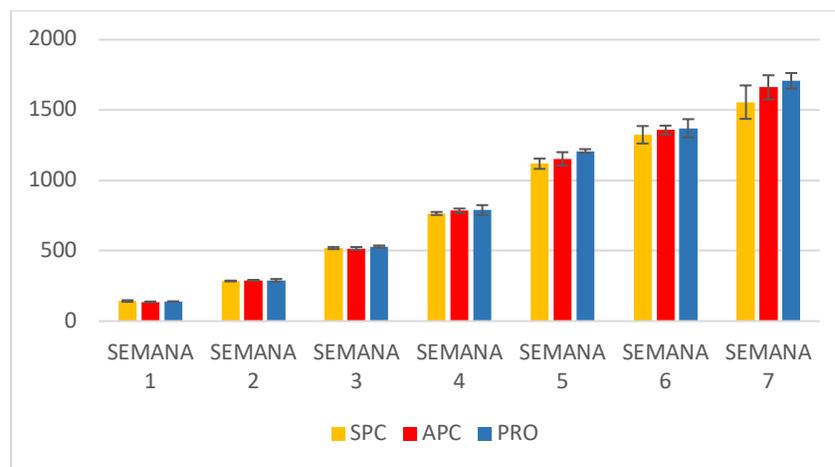


Fig. 1. Ganancia de peso semanal en pollos de engorda con diferentes tratamientos promotores de crecimiento. SPC: Sin promotor de crecimiento; APC: Antibiótico promotor de crecimiento; PRO: Probiótico *Bifidobacterium animalis*.

B. Consumo de alimento

El consumo de alimento acumulado fue menor para el grupo tratado con antibiótico promotor de crecimiento 6740.02 ± 55.031 gr, seguido del grupo tratado con *Bifidobacterium animalis* 6857.11 ± 60.15 gr y el grupo que más alimento consumió fue el grupo control 7064.61 ± 49.06 gr, como se muestra en la figura 2 donde se demuestra que los grupos tratados con promotor de crecimiento consumieron menos alimento durante toda la engorda, siendo hasta la semana 4 donde el grupo control comenzó a consumir menos alimento.

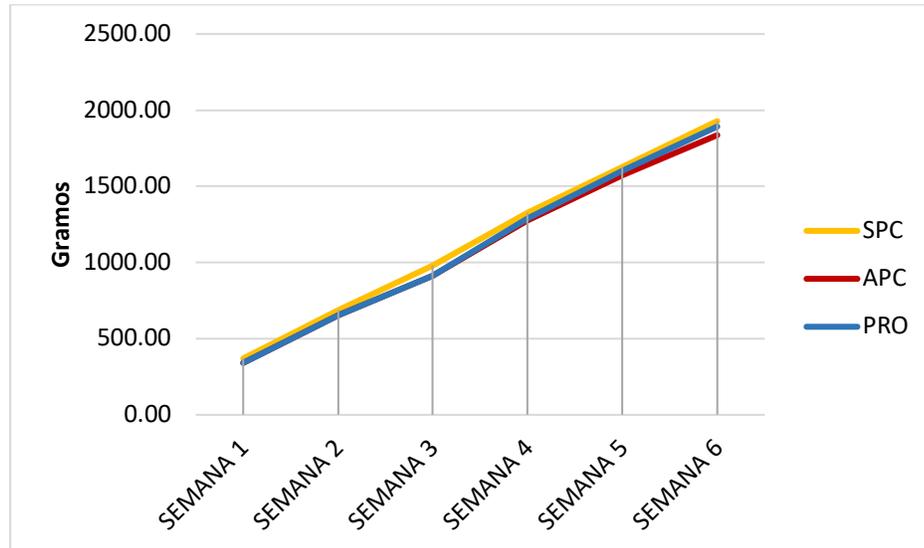


Fig. 2. Consumo de alimento semanal en pollos de engorda con diferentes tratamientos promotores de crecimiento. SPC: Sin promotor de crecimiento; APC: Antibiótico promotor de crecimiento; PRO: Probiótico *Bifidobacterium animalis*.

C. Conversión alimenticia

El grupo con mejor índice de conversión, es decir los kg de alimento que se necesitan para producir un kg de carne, fue el grupo tratado con la cepa probiótica siendo de 2.25, valor muy parecido al resultado obtenido con el antibiótico promotor de crecimiento al obtener 2.22. El grupo control fue el que obtuvo la conversión más alta siendo de 2.48.

IV. DISCUSIÓN

Los resultados demuestran que la cepa probiótica de *Bifidobacterium animalis* es una buena alternativa para sustituir a los antibióticos promotores de crecimiento ya que logran mejorar la conversión alimenticia de los pollos de engorda a las 7 semanas, representando una buena alternativa de acuerdo con las exigencias actuales. Estos resultados coinciden con lo reportado por Osorio et al. [11] donde la conversión alimenticia del grupo tratado con probióticos y con antibióticos promotores de crecimiento fue muy similar (1.75 y 1.78 respectivamente).

Según Gutiérrez-Ramírez et al. [12] entre las estrategias más importantes de los probióticos se encuentran: la adhesión a la pared del tracto digestivo que evita la colonización de patógenos, compite con ellos por los nutrientes y los sitios de adhesión, y la

producción de sustancias antimicrobianas, como el ácido láctico, que afectan las membranas celulares de microorganismos patógenos alterando su permeabilidad, y los niveles de pH y de oxígeno que los hacen desfavorables a los patógenos. Por lo cual se entiende que el efecto positivo de los probióticos en los parámetros productivos recae en su acción sobre los mecanismos inmunológicos.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Se demostró que la cepa probiótica de *Bifidobacterium animalis* a una concentración de 1×10^9 UFC/kg son una buena alternativa para sustituir a los antibióticos promotores de crecimiento en la industria avícola. A pesar de esto, se ha demostrado que el uso de mezclas probióticas como promotores de crecimiento obtienen mejores resultados que los aditivos usando un probiótico, por lo cual se recomiendan estudios similares al realizado usando una combinación de cepas probióticas [13].

VI. RECONOCIMIENTOS (O AGRADECIMIENTOS)

Hago extensivo mi agradecimiento a la Universidad de Guanajuato, a la División de Ciencias de la Vida y muy particularmente al Departamento de Medicina Veterinaria y Zootecnia; así como también al CONACyT, quienes han hecho posible la realización de este Verano de Investigación.

De igual manera considero un reconocimiento para la Dra. Elena Franco Robles y a la Licenciada en M.V.Z. María José Hernández Granados, como Directora y Co-Directora, respectivamente de este proyecto de investigación; quienes con su asesoría, ejemplo y dedicación, han motivado el compromiso fehaciente de un desarrollo profesional.

REFERENCIAS

- [1] L.A. Gutiérrez, O. Bedoya and J.E. Arenas. "Evaluación de parámetros productivos en pollos de engorde suplementados con microorganismos probióticos", Temas agrarios, Vol. 20, pp. 81-85, 2015.
- [2] I. Phillips, M. Casewell, T. Cox, B. Groot, C. Friss, R. Jones, C. Nightingale, R. Preston and J. Waddell. "Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A reply to critics", Journal of Antimicrobial Chemotherapy, Vol. 54, pp. 276-278, 2004.
- [3] B. Mollet and I. Rowland. "Functional foods: at the frontier between food and pharma", Current in Opinion and Biotechnology, Vol. 13, pp. 483-485, 2002.
- [4] D.F. Apata. "Growth performance, nutrient digestibility and immune response of broiler chicks fed diets supplemented with a culture of *Lactobacillus bulgaricus*", J Sci Food Agric, Vol. 88, pp. 1253-1258, 2008.
- [5] M.C. Collado, E. Isolauri, S. Salminen and Y. Sanz. "The impact of probiotic on gut health", Curr Drug Metab, Vol: 10, pp. 68-78, 2009.
- [6] K. Genovese, R. Anderson., R. Harvey and D. Nisbet. "Competitive exclusion treatment reduces the mortality and fecal shedding associated with enterotoxigenic *Escherichia coli* infection in nursery-raised neonatal pigs", Can J Vet Res, Vol: 64, pp. 204-207, 2000.
- [7] P. Blanchard and F. Wright. "Less buffering more enzymes and organic acids", Pig Progr, Vol. 16, pp. 23-25, 2000.
- [8] M. Vassalo, E. Fialo, A. Oliviera, A. Teixeira, A. Bertechini and A. De-Oliveira. "Probiotic of piglets from 10 to 30 kg liveweight", Rev Soc Bras Zoot, Vol. 26, pp. 131-138, 1997.

- [9] Z. Mroz, A. Jongbloed, K. Partanen, K. Vreman, P. Kemme and J. Kogut. "The effects of calcium benzoate in diets with or without organic acids on dietary buffering capacity, apparent digestibility, retention of nutrients, and manure characteristics in swine", J Anim Sci, Vol. 78, pp. 2622-2632, 2000.
- [10] A. Matew, S. Chatin, C. Robbins and D. Golden. "Effect of a direct-fed yeast culture on enteric microbial populations, fermentation acids, performance of weanling pigs", J Anim Sci, Vol. 76, pp. 2138-2145, 1998.
- [11] C. Osorio, E. Icochea, P. Reyna, J. Guzmán, C. Fernando and F. Carcelén. "Comparación del rendimiento productivo de pollos de carne suplementados con un probiótico versus un abtibiótico", Rev Inv Ver Perú, Vol. 2, pp. 219-222, 2010.
- [12] L.A. Gutiérrez-Ramírez, O.I. Montoya and J.M. Vélez. "Probióticos: una alternativa de producción limpia y de remplazo a los antibióticos promotores de crecimiento en la alimentación animal", Producción + limpia, Vol. 8, pp. 135-146, 2013.
- [13] K. Gunther. "Taxonomy, ecology and resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract", International J. Food Microbiology, Vol 88, pp. 123, 2003.

Evaluación de la composición química de los cecotrofos y heces duras de conejos alimentados con sorgo y diferentes niveles de fibra detergente neutro

Islas Cadillo Arturo Arnulfo

Universidad Autónoma de Querétaro
Cerro de Las Campanas, s/n,
Centro Universitario, C.P. 76010,
Santiago de Querétaro, Querétaro.
arturo.islas95@gmail.com

Asesor: Gómez Soto José Guadalupe

Universidad Autónoma de Querétaro
Área Cunicola (ARCUN UAQ)
Av. de las Ciencias, Juriquilla, C.P. 76230
Santiago de Querétaro, Querétaro
jose.gomez@uaq.mx

Resumen — Para evaluar el efecto del contenido de fibra detergente neutro (FDN) y de la cecotrofia sobre la composición química de las heces en conejos, se alimentaron 48 conejos con una dieta control a base de maíz (33% de FDN) y tres dietas experimentales a base de sorgo con distintas concentraciones de FDN (28, 33 y 38%). Se obtuvieron y analizaron las heces duras y blandas, determinando materia seca, cenizas, FDN, extracto etéreo, energía y proteína cruda. El nivel de FDN sólo afectó a los datos de energía, mientras la cecotrofia sólo no impactó la concentración de cenizas. La cecotrofia permite aprovechar digestivamente la FDN, energía y proteína, además de que incrementa el nivel de proteína cruda en heces blandas.

Palabras clave — Cecotrofia, cecotrofos, cunicultura.

Abstract — In order to evaluate the effect of neutral detergent fiber (NDF) content and caecotrophy on the chemical composition of feces in, 48 rabbits were fed a corn-based control diet (33 % of FDN) and three experimental sorghum-based diets with different concentrations of NDF (28, 33 and 38%). Afterwards, hard and soft feces were obtained and analyzed, determining dry matter, ashes, neutral detergent fiber, ethereal extract, energy and crude protein. The level of NDF only affected the energy data, while caecotrophy only did not impact the chemical composition of the ashes. Caecotrophy allows NDF, energy and protein to be used digestively, in addition to increasing the level of crude protein in caecotrophs.

Keywords — Caecotrophy, caecotrophs, cuniculture.

I. INTRODUCCIÓN

La producción de conejos, denominada cunicultura, es aún subestimada mundialmente, a pesar de conllevar menores costos de producción, contar con una mayor prolificidad y ser una carne suave y nutritiva con alto contenido de proteína y bajo contenido de grasas saturadas [1]. Además, para el año 2050 se estima que la población mundial crezca en 2.3 mil millones de personas [2] y la carne de conejo puede considerarse como una opción viable de producción de carne animal para países en vías de desarrollo. Para ello conviene considerar ingredientes nutritivos producidos en México en gran escala, como lo es el grano de sorgo [3][4], que es principalmente utilizado para fines de alimentación ganadera, tiene una composición química comparable al maíz y un perfil nutricional similar al trigo [5].

El sorgo está constituido por alrededor de 56 a 73% de almidón [6], de 11.3 a 13.7% de proteína [7], alrededor del 12.3% de fibra detergente neutro (FDN) y 0.49% de taninos [8]. El grano de sorgo puede ser cultivado en zonas áridas, donde otros cereales como maíz, trigo

y arroz no podrían proliferar [9]; sin embargo, gracias a su baja digestibilidad comparado con éstos y otros granos es considerado un cultivo de bajo valor. Algunas razones incluyen el entrecruzamiento de enlaces covalentes de las kafirinas, sus proteínas más abundantes, a través de enlaces disulfuro que disminuyen la digestión enzimática [10]. Los taninos son también altamente influyentes, ya que éstos se unen a las enzimas digestivas, ácidos nucleicos, aminoácidos y ácidos grasos, disminuyendo la utilización de energía y proteína disponible [11]. Esta menor actividad digestiva característica del grano de sorgo se vuelve interesante de investigar al considerar el proceso de digestión en los conejos. Los conejos excretan dos tipos de heces: heces blandas o cecotrofos, y heces duras, las cuales son separadas en el ciego, donde se retienen sólo las de menor tamaño y las más solubles, mientras que las partículas más grandes continúan su trayecto y forman heces duras que se defecan durante el día. En el ciego se fermentan las partículas retenidas y se digiere la fibra para producir compuestos como ácidos grasos volátiles y vitaminas y dar lugar a las heces blandas [12]. El conejo, al no absorber todos los nutrientes necesarios del alimento en el paso del ciego al ano, reingiere las heces blandas o cecotrofos para ser digeridas una segunda vez en un proceso llamado cecotrofia, con el fin de dar una segunda oportunidad para digerirlas y absorberlas [13].

La fibra, definida por Trowell [14] como la suma de lignina y polisacáridos que no son hidrolizados por actividad enzimática, juega un papel vital en la dieta de los conejos y debe contener alrededor de 33% de FDN, ya que ayuda a mantener un óptimo tránsito del alimento. Algunos parámetros precisos para calcular la cantidad y calidad de fibra en verduras y forrajes son las técnicas de FDN y fibra detergente ácido (FDA) desarrolladas en 1963 por el Dr. Peter J. Van Soest [15], las cuales se mantienen como uno de los análisis más importantes de las dietas en la nutrición animal. Se fundamenta en el conocimiento de las células vegetales, en cuya pared celular hay compuestos digeribles (almidón y azúcar) y otros menos digeribles (hemicelulosa, celulosa y lignina), los cuales se separan con la ayuda de una solución de detergente neutro y detergente ácido y nos indica el contenido unificado de hemicelulosa, celulosa y lignina [12].

Dado que los conejos son de los pocos mamíferos que realizan cecotrofia, es importante conocer cómo es el aprovechamiento de los nutrientes antes y después del proceso de cecotrofia considerando las características digestivas del sorgo, para lo cual se puede analizar la composición química de heces duras y cecotrofos.

II. METODOLOGÍA

Para el desarrollo del presente experimento, el protocolo se sometió a revisión al Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Naturales, el cual fue aprobado (37FCN2018). El trabajo se realizó en tres etapas:

- a) Formulación, elaboración y peletizado de cuatro dietas experimentales destinadas para la etapa de engorda, todas con un nivel de 16% de proteína fueron analizadas químicamente, determinándoseles la materia seca (MS), PC, cenizas y extracto etéreo (EE) de acuerdo con los métodos 925.45, 976.05, 923.03 y 920.35 del AOAC [18], respectivamente; energía bruta mediante calorimetría y FDN y FDA [19]. Dichos análisis

se realizaron en el Laboratorio de Nutrición Animal de la facultad de Ciencias Naturales de la misma Universidad y se presentan en la Tabla 1.

- b) Prueba de comportamiento productivo que se realizó en el módulo de conejos del Área Cunicola de la UAQ (ARCUN-UAQ), en el campus Amazcala, municipio de El Marqués, Querétaro, Qro. Se emplearon en total 48 conejos recién destetados de un mes de edad, de la raza Nueva Zelanda, los cuales fueron distribuidos de forma aleatoria en 6 unidades experimentales (UE; 2 gazapos por UE) por dieta. Se les ofreció alimento a libre acceso y semanalmente se pesaron los conejos durante la etapa de engorda (6 semanas), calculándose de esta manera la ganancia diaria de peso (GDP) por semana.
- c) Al día 71 de engorda, por la mañana se colectaron la heces duras y por la tarde se les colocó un collarín isabelino y se colectaron los cecotrofos al día siguiente. Al momento de la colecta de heces éstas se congelaron hasta ser analizadas químicamente. Antes de proceder al análisis químico, las muestras se liofilizaron y se calculó la humedad perdida por este proceso.

Las variables evaluadas se analizaron empleando el paquete estadístico SAS (2008) mediante un diseño completamente aleatorizado, comparando las medias mediante la prueba de Tukey [20]. Las diferencias estadísticas se consideraron con una significancia de $P < 0.05$.

III. RESULTADOS

En la Tabla 2 se muestran los resultados de la composición química de las heces a la semana seis de engorda.

Tabla 1. Composición de las dietas experimentales

Ingredientes (%)	Dietas experimentales			
	Tx1	Tx2	Tx3	Tx4
Maíz	17.0	---	---	---
Sorgo	---	18.5	19.0	18.4
Harina de alfalfa	19.8	21.0	24.9	6.7
Rastrojo de maíz	20.1	20.6	12.8	32.8
Pasta de soya	13.8	14.7	20.4	2.7
Pasta de canola	20.7	19.6	13.2	32.9
Melaza	7.0	5.0	7.0	5.0
Sal	0.5	0.5	0.5	0.5
Vitaminas ¹	0.2	0.2	0.2	0.2
Minerales ²	0.1	0.1	0.1	0.1
Fosfato bicálcico	---	---	2.0	---
Carbonato de calcio	---	---	---	0.7

¹Cada kg de producto contiene: vitamina A 10.20 unidades internacionales (UI), vitamina D 1.98 UI, vitamina E 0.06 UI, vitamina K 1.20 mg, riboflavina (B2) 7.20 mg, vitamina B12 (cianocobalamina) 0.04 mg, colina 968.58 mg, niacina 36 mg, ácido pantoténico 16.55 mg, tiamina (B1) 0.30 mg, piridoxina (B6) 0.31 mg, biotina 0.08 mg, ácido fólico 0.75 mg.²Cada kg de producto contiene: sulfuro 0.02 %, cobalto 0.72 mg, cobre 14.4 mg, hierro 120 mg, manganeso 36 mg, selenio 0.30 mg, yodo 0.96 mg, zinc 144 mg, cloro 0.03%.

Tabla 2. Composición química de heces duras y cecotrofos a la sexta semana de engorda

Composición química (%)	Dieta				Heces		P			EEM
	1	2	3	4	Blandas	Duras	Dieta	Heces	Dieta*Heces	
Materia seca	44.7	45.3	45.6	45.9	31.3 ^b	59.6 ^a	NS	<.0001	NS	0.0578
Cenizas	13.6	13.9	13.4	13.3	13.5	13.6	NS	NS	NS	0.0221
FDN*	52.5	51.2	51.7	52.4	60.8 ^a	42.8 ^b	NS	<.0001	NS	0.1109
Extracto etéreo	0.5	0.5	0.5	0.5	0.47 ^b	0.6 ^a	NS	0.0299	NS	0.0064
Energía (kcal/Kg MS)	4051.8 ^a	3926.4 ^b	4048.3 ^a	3940.2 ^b	4038.8 ^a	3932.2 ^b	<.0001	<.0001	NS	1.7090
Proteína cruda	22.0	21.9	21.9	20.3	28.5 ^a	14.4 ^b	NS	<.0001	NS	0.0717

^{abc} Las letras diferentes en la misma línea para el mismo parámetro indican diferencias estadísticas.

P: Probabilidad. EEM: Error estándar de la media. *FDN: fibra detergente neutro.

La composición química de las heces duras y cecotrofos respecto a las dietas experimentales sólo afectó el contenido de energía, siendo menor en promedio en los animales que consumieron 28 y 38 % de FDN. La composición química de las heces blandas fue menor en cuanto a materia seca y extracto etéreo, y mayor en FDN, energía y proteína cruda, respecto a las heces duras. La proteína cruda de las heces blandas es mayor incluso que el nivel de proteína dietario.

IV. DISCUSIÓN

De acuerdo con De Blas [12], un incremento en el contenido de fibra puede tener efectos adversos en la digestión, absorción y utilización de los nutrientes, tales como la reducción de la eficiencia en la retención de energía digestible. De la misma forma, Rodríguez-Palenzuela [21] menciona que la inclusión de fibra soluble en el tracto digestivo incrementa la viscosidad de la digesta intestinal y aumenta su fermentabilidad. Este incremento produce un aumento de la viscosidad en la capa de agua adyacente a la mucosa, lo que perjudica la absorción de nutrientes. Los conejos que consumieron la dieta 4 a base de sorgo con un alto porcentaje de FDN presentaron un decremento en la cantidad de energía en comparación con la dieta 1 y 3, aunque de acuerdo con los procesos fisicoquímicos antes mencionados, esperaríamos obtener valores más altos, debido al alto porcentaje de inclusión de fibra en esta dieta.

El contenido de materia seca se encuentra dentro del rango [22] para cecotrofos de 18-37% y para heces duras de 48-66%. De la misma forma, Carabaño [23] menciona un porcentaje de materia seca de 30.29-36.81% en cecotrofos y de 46.40-58.35% en heces duras. Sin embargo, se encuentran ligeramente por encima de los datos publicados por Pérez de Rozas [24] (cecotrofos: 27.1%; heces duras: 53.3%).

El porcentaje de FDN obtenido en los cecotrofos se encuentra por encima de los datos publicados por García [25], donde se menciona un rango de 37.5-44.1%, sugiriendo que las dietas utilizadas en el presente trabajo tuvieron un porcentaje de inclusión mayor al mencionado de FDN. Sin embargo, se obtuvo un valor de 42.8% de FDN en heces duras, cercano a los datos publicados por García [25] en el contenido cecal, mencionando un rango de 36.1-42.7%. Cabe mencionar que esta comparación puede no ser muy precisa, debido a que a nivel cecal se encuentran tanto heces duras como cecotrofos.

Las dietas altas en fibra han demostrado que incrementan la excreción en nitrógeno fecal [26] y por lo tanto se esperaría observar un alto porcentaje de PC en las heces duras y cecotrofos de la dieta 4, alta en FDN, dato que no concuerda con los resultados obtenidos (Tabla 2). Sin embargo, Halls [27] menciona que la digestibilidad de la proteína se ve influenciada por el crecimiento del conejo, el cual disminuye después del destete hasta alcanzar un nivel estable a las nueve semanas de edad, siendo la disminución más baja a las 5 semanas, que pudiera explicarse por el incremento en el consumo de alimento.

V. CONCLUSIONES

El nivel dietario de FDN no afectó la mayoría de las variables evaluadas y la cecotrofia permite el aprovechamiento digestivo de la proteína microbiana de los cecotrofos. Se debe seguir realizando investigación para entender de mejor manera el efecto del nivel de FDN sobre el aprovechamiento digestivo de los nutrientes que pueden ser evaluados indirectamente a través del análisis químico de las heces.

VI. AGRADECIMIENTOS

Al Dr. José Guadalupe Gómez Soto, los estudiantes Rolando Ramos, Mariana Rocha, Christian Narváez y Alberto Godoy su apoyo para llevar a cabo este estudio. A la Universidad Autónoma de Querétaro por permitir el desarrollo del proyecto y darme la oportunidad de formar equipo con estudiantes y docentes comprometidos y entusiastas por la investigación en nutrición animal.

REFERENCIAS

- [1] A. Payá, J. Payá, M. Pontes, "Requerimientos nutritivos del conejo". *Asociación española de cunicultura, III Symposium de cunicultura*, Valencia, España, pp. 65-78, marzo 1978.
- [2] FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. *High-level expert forum: How to feed the world in 2050*. Roma, Italia, 2009.
- [3] E. S. A. Méndez, *Conversión y eficiencia en la ganancia de peso con el uso de seis fuentes diferentes de ácido graso en conejos Nueva Zelanda* [Tesis]. Universidad de la Salle, Bogotá, Colombia, 2006.
- [4] SAGARPA. *Planeación Agrícola Nacional. Sorgo Grano Mexicano*. Disponible en https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/256433/B_sico-Sorgo_Grano.pdf. Fecha de consulta: 1 de agosto de 2019.
- [5] A. Stefoska-Needham, E. Beck, S. K. Johnson and L. C. Tapsell, "Sorghum: An Underutilized Cereal Whole Grain with the Potential to Assist in the Prevention of Chronic Disease", *Food Reviews International*, Vol. 31:4, pp. 401-437, April 2015.
- [6] R. Jambunathan and V. Subramanian, "Grain quality and utilization of sorghum and pearl millet", in *Proceedings of Biotechnology in tropical crop improvement. Proceedings of the International Biotechnology Workshop*, Patancheru, India, pp. 133-139, October 1988.
- [7] U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. 20xx. *USDA Branded Food Products Database*. Nutrient Data Laboratory Home Page, Release 27. 2014.
- [8] E. Ramírez, A.M. Anaya and G. Mariscal, "Predicting the chemical composition of sorghum grain by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS)", *Técnica Pecuaria en México*, Vol. 43, pp. 1-11, June-April 2005.

- [9] J.R.N. Taylor, T.J. Schober and S.R. Bean, "Novel food and non food uses for sorghum and millets", *Journal of Cereal Science*, Vol. 44, pp. 252-271, June 2006.
- [10] K.G. Duodu, J.R.N. Taylor, P.S. Belton, B.R. Hamaker, "Factors affecting sorghum protein digestibility", *Journal of Cereal Science*, Vol. 38, pp. 117-131, January 2003.
- [11] L. G. Butler, D. J. Riedl, D. G. Lebryk, H. J. Blytt, "Interaction of proteins with sorghum tannin: mechanism, specificity and significance", *Journal of the American Oil Chemistry Society*, Vol. 61, n. 5, pp. 916-920, 1984.
- [12] C. De Blas and J. Wiseman, *Nutrition of the Rabbit*, Ed. Commonwealth Agricultural Bureau Internaional, Wallingford, U.K., 2010.
- [13] C.A. Johnson-Delaney, "Anatomy and Physiology of the Rabbit and Rodent Gastrointestinal System", *Association of Avian Veterinarians*, pp. 9-17, January 2006.
- [14] H. Trowell, 1976. "Definition of dietary fiber and hypothesis that it is a protective factor in certain diseases", *Am J Clin Nutr*, Vol. 29, pp. 417-427, April 1976.
- [15] J. Van Soest, J. B. Robertson and B. A. Lewis, "Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition", *Journal of Dairy Science*, Vol. 74, pp 3583-3597, October 1991.
- [16] R. Carabaño, C. De Blas and A. I. García, "Recent advance in nitrogen nutrition in rabbits", *7th World Rabbit Congress*, World Rabbit Science, 8 sup. 1C, pp.
- [17] National Research Council. *Nutrient Requirements of Rabbits,: Second Revised Edition*. The National Academies Press, Washington, DC, 1997. <https://doi.org/10.17226/35>.
- [18] AOAC, Association Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis. 17th ed.* Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA, USA, 2002.
- [19] J. V. Bateman. *Nutrición animal: manual de métodos analíticos*, Herrero Hnos., Sucesores, S.A., México, 1970.
- [20] R. G. D. Steel and J. H. Torrie, *Principles and procedures of statistics. A biometrical approach*, 2nd Edition, McGraw-Hill Book Company, New York, 1980.
- [21] Rodríguez-Palenzuela, J. García and C. de Blas, "Fibra Soluble y su Implicación en nutrición animal: enzimas y probióticos", *XIV Curso de Especialización. Avances en nutrición y alimento animal*, 1998.
- [22] A. E. Halls, "Caecotrophy in rabbits", *Nutrifax.Nutrition News and Information Updates*, Shur-Gain, Nutreco Canada Inc, January 2008.
- [23] R. Carabaño, M. J. Fraga, G. Santomá and J. C. de Blas, "Effect of diet on composition of cecal contents and on excretion and composition of soft and hard feces of rabbits", *J Anim Sci*, Vol. 66, pp. 901-910, April 1988.
- [24] A. M. Pérez de Rosas, *Utilización de cepas de Bacteroides spp. Como probiótico en conejos*, [Tesis], Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, septiembre 2014.
- [25] J. García, J. C. De Blas, R. Carabaño, P. García, "Effect of type of lucerne hay on caecal fermentation and nitrogen contribution through caecotrophy in rabbits", *Reprod Nutr Dev*, Vol. 35, pp. 267-275, Madrid, Spain, February 1995.
- [26] M. R. Falcóm, J. M. Barrón, A. L. Romero and M. F. Domínguez, "Efecto adverso en la calidad proteica de los alimentos de fibra dietaria", *Revista Chil Nutr*, Vol. 38:3, pp. 369-375, septiembre 2011.
- [27] A. E. Halls, "Nutritional Requirements for Rabbits", *Shur-Grainn Nutreco Canada Inc.*, Canada, October 2010.

Evaluación de las condiciones de nixtamalización sobre las propiedades reológicas y físico químicas de las harinas instantáneas de maíz enriquecidas con diferentes fuentes de proteínas vegetales

Josué Esaú Cruz Espinoza

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista 23315,
Saltillo, Coah.
esau_29outlook.com

Asesor: Ma. Francisco Javier Espitia Orozco

Instituto Tecnológico Superior de Abasolo
Cuitzeo de 401 Cuitzeo de los Naranjos ,
36976 Los Naranjos, Abasolo, Gto.
Javier.espitia@tecabasolo.edu.mx

Resumen —Esta investigación tuvo como objetivo evaluar la influencia de distintas condiciones de nixtamalización en harinas enriquecidas con distintas fuentes de proteínas vegetales (chícharo, soya, amaranto), se realizaron dos formulaciones con nueve tratamientos cada una, a temperaturas de 85, 92, y 96°C con tiempos de reposo de 6, 12, y 16 horas a las cuales se les realizaron pruebas de absorción de agua y pruebas de textura como dureza y cohesividad, como muestra control se utilizó harina de maíz la marca MASECA, los tratamientos analizados presentaron una dureza de 4.3163 hasta 8.242 y una absorción de agua por debajo del control, se sigue trabajando con la investigación en el Instituto Tecnológico Superior de Abasolo.

Palabras clave — Nixtamalización, Dureza, Adsorción

Abstract - This research aimed to evaluate the influence of different nixtamalization conditions in flours enriched with different sources of vegetable proteins (pea, soy, amaranth), two formulations were made with nine treatments each, at temperatures of 85, 92, and 96 ° C with resting times of 6, 12, and 16 hours at which water absorption tests and texture tests such as hardness and cohesivity were performed, as control sample was used MASECA brand corn flour, the treatments analyzed They had a hardness of 4.3163 up to 8.242 and a beam absorption below the control, work is continuing with research at the Abasolo Institute of Technology.

Keywords - Nixtamalization, Hardness, Adsorption

I. INTRODUCCIÓN

El maíz es el cereal más importante a nivel mundial ya que este grano puede ser utilizado para consumo humano como para pecuario, es la base de la alimentación mexicana aparte que el maíz es una de las culturas más antiguas de México y este producto lo representa como país. Uno de los principales productos obtenidos del maíz es la tortilla, que es el resultado de pasar el maíz por un proceso de nixtamalización y base energética de la dieta, dicha dieta es de baja calidad y cantidad de proteína, es deficiente en dos aminoácidos lisina y triptófano que son esenciales para el ser humano es por ello que deben ser adquiridas a partir de la dieta diaria (Rodríguez-Martínez et al., 2015).

Es por ello que se buscan alternativas para desarrollar un alimento completo, hacer formulaciones con diferentes granos para obtener una masa con la consistencia adecuada para la elaboración de tortilla es una opción viable para mejorar su valor nutricional.

El grano soya entero es prometedor para ser introducido en la mezcla ya que es un grano de alto valor nutricional, propiedades funcionales deseables y bajo costo (Agrahar-Murugkar et al., 2015); estudios afirman que la el grano de soya mejora no solo la cantidad y calidad de las proteínas, sino también el consumo energético ya que es rico en lípidos (Bressani et al., 1978).

Sudha en el 2011 desarrollo una pasta a base de chícharos y amaranto mejorando el valor nutricional de este alimento, aumentando el porcentaje de proteína y adicionando fibras propias del amaranto. También obtuvo resultados positivos en la textura de la pasta.

Un factor importante para la elaboración de tortillas es la textura de la masa, esta debe de tener la consistencia adecuada para poder ser utilizada para la elaboración de tortillas.

En esta investigación se evaluó la influencia de las diferentes temperaturas y tiempos de reposo en el proceso de nixtamalización en las propiedades principalmente mecánicas y reológicas de una masa a base de maíz, soya, chícharo y amaranto.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Obtención de materia prima

Para la elaboración de los tratamientos a evaluar se utilizó maíz, chícharo seco, amaranto y grano de joya obtenidos en el mercado local de Abasolo Guanajuato, la muestra control de realizo utilizando harina de maíz de la marca MASECA.

B. Nixtamalización

Se utilizaron dos formulaciones con diferentes temperaturas y tiempos de reposo cada formulación.

Se utilizaron ollas de acero inoxidable, una balanza digital, una parrilla de gas, un termómetro, cal común.

Las muestras se nixtamalizaron en porciones de un kg, en la formulación optimas el amaranto fue nixtamalizado aparte con 5 y 2g de cal respectivamente y en la formulación triptófano todo junto utilizando 5g de cal, con sus temperaturas y tiempos de reposo respectivos.

Tabla 1. Distintas formulaciones de granos

Formulación optima	Formulación triptófano
Maíz 0.5%	Maíz 0.5%
Amaranto 0.14%	Amaranto 0.01%
Soya 0.35%	Soya 0.35%
Chícharo 0.01%	Chícharo 0.14%

Tabla 2. Condiciones de los tratamientos

Tratamiento Formulación optima	Temperatura	Tiempo de reposo (Maíz, chícharo, soya)	Tiempo de reposo (Amaranto)
TO1.1	85°C	6 h	2h
TO1.2	85°C	12h	4h
TO1.3	85°C	16h	6h
TO2.1	92°C	6h	2h
TO2.2	92°C	12h	4h
TO2.3	92°C	16h	6h
TO3.1	96°C	6h	2h
TO3.2	96°C	12h	4h
TO3.3	96°C	16h	6h
Tratamiento Formulación triptófano	Temperatura	Tiempo de reposo (Maíz, chícharo, soya)	Tiempo de reposo (Amaranto)
TT1.1	85°C	6 h	2h
TT1.2	85°C	12h	4h
TT1.3	85°C	16h	6h
TT2.1	92°C	6h	2h
TT2.2	92°C	12h	4h
TT2.3	92°C	16h	6h
TT3.1	96°C	6h	2h
TT3.2	96°C	12h	4h
TT3.3	96°C	16h	6h

C. Harina

Una vez nixtamalizados los granos se pasaron a moler en un molino manual para obtener la masa fresca colocándola en charolas de aluminio para posteriormente introducirlas en un horno de secado a 70°C/24h.

Una vez seca la masa se pasa por un molino manual y pasa por un tamiz para eliminar las partículas de mayor tamaño.

D. Pruebas de textura

Estas pruebas se llevaron a cabo guiándonos en Gasea-Mncera y Casas-Alencáster en el 2007, Para realizar estas pruebas se utilizó un texturometro brookfield ubicado en el laboratorio de industrias alimentarias en Abasolo, Guanajuato.

En las pruebas de dureza por penetración se utilizó un molde cilíndrico de pvc, con unas dimensiones de 2.5 cm de altura y 3.7 cm de diámetro, se preparó la masa y se llenó el molde después paso a una prensa por dos minutos, para evitar espacios de aire por últimos se desmoldo y dejo reposar por 15 minutos a temperatura ambiente.

Se utilizó un cono de acrílico de 70°, una velocidad de 2 mm s⁻¹ y una distancia de penetración de 1.5 cm (alrededor del 30% en relación a la altura de la muestra).

Las pruebas de perfil de textura se llevaron a cabo con muestras iguales a las anteriores, utilizando una base cilíndrica de acrílico con un diámetro de 7 cm, las muestras fueron

sometidas a dos ciclos de compresión con una deformación relativa aparente de 10, 25 y 40%, a una velocidad del cabezal de 1 mm s^{-1} con un tiempo de espera entre cada ciclo de 5 s. Las pruebas de perfil de textura están diseñadas para medir propiedades como elasticidad y cohesividad.

En las pruebas de dureza por penetración se utilizó un molde cilíndrico de pvc, con unas dimensiones de 2.5 cm de altura y 3.7 cm de diámetro, se preparó la masa y se llenó el molde después paso a una prensa por dos minutos, para evitar espacios de aire por últimos se desmoldo y deajo reposar por 15 minutos a temperatura ambiente.

Se utilizó un cono de acrílico de 70° , una velocidad de 2 mm s^{-1} y una distancia de penetración de 1.5 cm (alrededor del 30% en relación a la altura de la muestra).

Las pruebas de perfil de textura se llevaron a cabo con muestras iguales a las anteriores, utilizando una base cilíndrica de acrílico con un diámetro de 7 cm, las muestras fueron sometidas a dos ciclos de compresión con una deformación relativa aparente de 10, 25 y 40%, a una velocidad del cabezal de 1 mm s^{-1} con un tiempo de espera entre cada ciclo de 5 s. Las pruebas de perfil de textura están diseñadas para medir propiedades como elasticidad y cohesividad.

E. Capacidad de adsorción de agua subjetiva (CAAS)

Esta prueba se lleva a cabo para medir la cantidad de agua que se necesita obtener una masa con la consistencia adecuada para poder ser procesada. Se pesaron 50g de muestra a la cual se le agrego agua de forma gradual seguida de un amasado, hasta formar una masa con buena consistencia.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. Capacidad de adsorción de agua subjetiva

Tabla 3. Resultados de capacidad de adsorción de agua subjetiva

Formulación optima	Agua utilizada	Formulación triptófano	Agua utilizada
T1.1	45.33 ml	TT1.1	45.66 ml
TO1.2	51 ml	TT1.2	53.33 ml
TO1.3	46.33 ml	TT1.3	45.33 ml
TO2.1	45 ml	TT2.1	45 ml
TO2.2	49 ml	TT2.2	52 ml
TO2.3	41 ml	TT2.3	45.66 ml
TO3.1	42.33 ml	TT3.1	43.33 ml
TO3.2	41.66 ml	TT3.2	52.66 ml
TO3.3	40.33 ml	TT3.3	45.33 ml
Control	73.33		

En la tabla 3 se observa que los tratamientos analizados requieren una cantidad de agua significativamente menor a la muestra control que es de solo de maíz, los tratamientos con la formulación triptófano tuvieron mayor adsorción de agua debido a que esta formulación contiene mayor cantidad de granos ricos en almidón pero aun así fue menor a nuestro control.

Tabla 4. Promedios de resultados de dureza por penetración

Formulación optima	Dureza por penetración (N)	Formulación triptófano	Dureza por penetración (N)
T1.1	4.3163	TT1.1	7.556
TO1.2	4.5423	TT1.2	6.587
TO1.3	6.6666	TT1.3	9.463
TO2.1	4.699	TT2.1	6.585
TO2.2	4.302	TT2.2	5.787
TO2.3	5.1843	TT2.3	7.729
TO3.1	5.565	TT3.1	6.747
TO3.2	5.436	TT3.2	7.195
TO3.3	5.084	TT3.3	8.242
Control	3.7573		

En la tabla 4 se muestran los resultados de dureza por penetración en los que se puede observar que la muestra control fue menos dura que las demás, los tratamientos con la formulación optima fueron menos duras que las de triptófano, las temperaturas en el proceso de nixtamalización no influyeron ya que hay datos muy variados, los mejores tiempos de reposo fueron de 6 y 12 horas.

Faltaron realizar pruebas que por cuestiones de tiempo no se pudieron realizar, pero se sigue investigando en el Instituto Tecnológico Superior de Abasolo.

IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los tratamientos con formulación optima fueron los más cercanos en cuestión de textura a la muestra control pero aun así no son valores significativos, presentaron valores muy altos de dureza. Se recomienda que para trabajar con este tipo de muestras se trabaje de manera individual debido a que puedan existir variaciones en las pruebas y estas influyen en los resultados finales de la investigación.

V. RECONOCIMIENTOS (O AGRADECIMIENTOS)

Agradezco a CONACYT que nos dio la oportunidad de trabajar en otra universidad, ampliando y aplicando nuestros conocimientos y a la Universidad Autónoma Agraria Antonio

Narro que tiene convenio con este tipo de instituciones nos motiva a formar parte de proyectos con fin educativo. También agradezco a mi asesor Javier Espitia que me compartió parte de su trabajo, al laboratorista Adán que me apoyo en laboratorio, a mis compañeros Itzel, Malú, Brenda, Cruz, Iveth, Marco, Abigail por acogerme en su universidad yapoyarme en toda mi estancia.

REFERENCIAS

- Rodríguez-Martínez, N. A., Salazar-García, M. G., Ramírez-Wong, B., Islas-Rubio, A. R., Platt-Lucero, L. C., Morales-Rosas, I., ... & Martínez-Bustos, F. (2015). Effect of malting and nixtamalization processes on the physicochemical properties of instant extruded corn flour and tortilla quality. *Plant foods for human nutrition*, 70(3), 275-280.
- Bressani, R., Elías, L. G., & Braham, J. E. (1978). Improvement of the protein quality of corn with soybean protein. In *Nutritional Improvement of Food and Feed Proteins* (pp. 29- 65). Springer, Boston, MA.
- Agrahar-Murugkar, D., Gulati, P., Kotwaliwale, N., & Gupta, C. (2015). Evaluation of nutritional, textural and particle size characteristics of dough and biscuits made from composite flours containing sprouted and malted ingredients. *Journal of food science and technology*, 52(8), 5129-5137.
- Sudha, M. L., & Leelavathi, K. (2012). Effect of blends of dehydrated green pea flour and amaranth seed flour on the rheological, microstructure and pasta making quality. *Journal of food science and technology*, 49(6), 713-720.
- Gasca-Mancera, J. C., & Casas-Alencáster, N. B. (2007). Adición de harina de maíz nixtamalizado a masa fresca de maíz nixtamalizado. Efecto en las propiedades texturales de masa y tortilla. *Revista mexicana de ingeniería química*, 6(3), 317-328.

Evaluación de las propiedades físicas y químicas de semilla de calabaza

Ania Guadalupe Isidro Luis

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Calzada Antonio Narro 1923
C.P.23315, Buenavista, Saltillo, Coah.
ania.gpe.06110@gmail.com

Asesora: Laura Araceli López Martínez

Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Facultad de Ingeniería
Av. Dr. Salvador Nava s/n
C.P. 78290, San Luis Potosí, S.L.P.
araceli.lopez@uaslp.mx

Resumen — El uso de semilla de calabaza no ha sido explotado, se decidió dar un aprovechamiento realizando panques con harina de semilla de calabaza e implementando una película para aumentar la vida de anaquel. La película que mostró mejores resultados fue en el experimento 7 y 10. Estas formulaciones mostraron que los panques no ganaron ni perdieron humedad, la Aw no fue alta, además los valores de textura fueron intermedios. Esta investigación es preliminar, hacen falta experimentos para mejorar el producto y películas. Se pretendía evaluar las propiedades físicas y químicas de semilla de calabaza, sin embargo, se encontró atractivo darle una aplicación, con un título; “Aplicación de recubrimientos comestibles a panques a base de semilla de calabaza para alargar su vida de anaquel”.

Palabras clave — Películas, recubrimientos comestibles, panques

Abstract — The use of pumpkin seed has not been exploited, it was decided to take advantage by making pancakes with pumpkin seed flour and implementing a film to increase the shelf life. The film that showed the best results was in experiment 7 and 10. These formulations showed that the pancakes did not gain or lose moisture, the Aw was not high, and the texture values were intermediate. This research is preliminary, experiments are needed to improve the product and films. It was intended to evaluate the physical and chemical properties of pumpkin seed, however, it was found attractive.

Keywords — Films, edible coatings, pancakes.

I. INTRODUCCIÓN

Los polímeros sintéticos a base de petróleo se han usado actualmente ampliamente, un ejemplo de esto son los materiales de embalaje que causan grandes problemas ambientales debido a que no son biodegradables en corto tiempo. Hay cierto interés en desarrollar nuevos materiales de embalaje, basados en biopolímeros para sustituir a los polímeros sintéticos a base de petróleo, los biopolímeros son amigables con el medio ambiente, presentan bajo costo y son renovables [1]. Para poder decir que el embalaje es adecuado debe ser apto para conservar la vida de anaquel del producto por largos tiempos. Para que la vida de anaquel en los alimentos sea adecuada, se debe de controlar la pérdida de agua de los alimentos, controlar la respiración, retrasar el envejecimiento, así como mantener los atributos de calidad. Una opción para lograr estos atributos son los bioempaques comestibles.

Una modalidad de un bioempaque comestible se puede definir como una matriz transparente continua, comestible y delgada, que se estructura alrededor de un alimento mediante la inmersión de este en una solución formadora del bioempaque con el fin de preservar su calidad y servir como barrera de protección para prevenir el deterioro del

alimento. Las soluciones formadoras del bioempaques pueden estar conformadas por un carbohidrato de alto peso molecular, un compuesto de naturaleza proteica, lipídica o por una mezcla de éstos, que actúan sobre el alimento como barrera frente al transporte de gases y vapor de agua durante su conservación [2]. Para la formación de estos materiales los carbohidratos actúan como gelificantes, espesantes, estabilizantes y se obtienen a través de vegetales, algas y microorganismos. Para la formación del bioempaques es necesario adicionar plastificantes naturales para poder mejorar las propiedades mecánicas como pueden ser polioles que contribuyen en reducir los enlaces intermoleculares entre las cadenas de las moléculas de los biopolímeros [3]. Estos bioempaques pueden ser aplicados en un gran número de productos perecederos como son frutas, hortalizas, quesos e incluso productos de panificación.

En cuanto al consumo de productos de panificación en la actualidad este se ha visto muy limitado por considerarse como perjudiciales para la salud, por su alto contenido en carbohidratos y grasa resultando en un elevado aporte calórico. Por lo tanto ha sido necesario buscar alternativas en cuanto a sus ingredientes que sean agradables para el consumidor pero también nutritivas. Una opción derivada de esta necesidad a sido el empleo de la semilla de calabaza como materia prima para la obtención de harina y aceite para la elaboración de productos de panificación. La semilla de calabaza tiene propiedades nutrimentales importantes tiene 50% de aceite, 33% de proteína, entre 7.69 -10% de carbohidratos y 4.4% de fibra dietética. Cuenta también con minerales como el cobre, zinc, hierro, manganeso, magnesio, sodio, calcio, potasio y fósforo y algunas vitaminas como la E y la provitamina A. El aceite en su mayoría se compone de ácidos grasos insaturados (AGI) (76 - 80%). De estos un 20.8 - 30.1% son ácidos grasos monoinsaturados y entre el 55.6 y 60.15% son ácidos grasos polinsaturados. A la semilla de calabaza se le atribuyen algunos beneficios como propiedades antidiabéticas, antiinflamatorio y efectos antioxidantes [4,5]

Considerando las nuevas tendencias de los consumidores de tener acceso a preparar alimentos fáciles, seguros, con propiedades biológicas, y nutritivos, sin perder las características sensoriales de frescura de un alimento es que realizar un producto de panificación con la semilla de calabaza, que no están ampliamente industrializadas, así como conservarlos con el uso de bioempaques comestibles para incrementar la vida de anaquel y contribuir a conservar el ambiente es una opción adecuada a este respecto [6].

II. MATERIALES Y MÉTODOS

A. *Elaboración de panques a base de semilla de calabaza*

Se realizó la molienda de la semilla de calabaza sin cáscara con ayuda de un molino manual (Estrella, México) para la elaboración de la harina de semilla de calabaza. Los panques se realizaron mezclando azúcar, royal, splenda, huevos y la harina, como principal ingrediente en las proporciones que se muestran en la tabla 1. Una vez obtenida la mezcla se puso en moldes de panque y se hornearon en un horno de acero inoxidable (INMEZA HUGMi, México) a una temperatura de 150°C por un tiempo de 30 min.

Tabla 1. Formulación de panques de semilla de calabaza

Ingredientes	Cantidad en gr.
Harina de semilla sin cascara	304gr
Royal	8gr
Splenda	28gr
Claras de huevo	120gr
Yema de huevo	40gr

B. Preparación de bioempaques

Se estructuró un bioempaques comestible a base de carbohidratos de alto peso molecular (C1 y C2) como material gelatinizante y polimérico, así como una proteína (P) para favorecer la capacidad impermeable del material estructurado como medio para inhibir o retrasar el crecimiento de hongos y de numerosas bacterias patógenas en la superficie del producto. Para este estudio se realizó un diseño de mezclas de 3 ingredientes para evaluar el efecto de los materiales estructurantes sobre el bioempaques a desarrollar y aplicar en el producto elaborado. Obteniéndose un total de 12 formulaciones a evaluar (Tabla 2). La estructuración del bioempaques se realizó con la disolución en agua de los sólidos correspondientes (C1, C2 y P) con agitación constante hasta formar un sistema homogéneo.

Tabla 2. Formulaciones para la elaboración de películas comestibles

Exp	C1 (%)	P (%)	C2 (%)
1	100	0	0
2	50	50	0
3	50	0	50
4	0	100	0
5	0	50	50
6	0	0	100
7	67	16.5	16.5
8	16.5	67	16.5
9	16.5	16.5	67
10	33	33	33
11	0	0	100
12	100	0	0

C. Aplicación de la película comestible al producto

Para determinar la cantidad de solución para estructurar el bioempaques en el producto, este se modeló como un casquete para determinar el volumen y así determinar los gramos del bioempaques a aplicar. La solución para la estructuración del material de empaque se aplicó manualmente con la ayuda de una brocha y posteriormente se seco en estufa de convección a una temperatura de 60°C por 40 minutos y se evaluó el producto.

D. Prueba de textura

Se realizó una prueba de compresión a cada muestra evaluada con la ayuda de un texturometro (Brookfield analizador de textura CT3, Estado Unidos), utilizando una sonda cilíndrica de acrílico. La compresión se realizó a 10 mm de penetración a una velocidad de 5 mm/s por triplicado

E. Determinación de actividad de agua (Aw)

La Aw de las muestras se midieron con un AquaLab (PRE, España), usando sales estándar de calibración con valores conocidos de 0,500 y 0,984. Las mediciones se realizaron por triplicado

F. Determinación de humedad

Se utilizó el método gravimétrico en el cuál en charolas de aluminio a peso constante cada se colocaron 2 gr de muestra (Wi). Posteriormente se secan en una estufa a 110°C por 2 h. Las muestras se dejaron enfriar en un desecador por 20 min. Finalmente se pesan las muestras secas (Wf). El contenido de humedad se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{W_i - W_f}{W_i} \times 100 \quad (1)$$

El análisis se realizó por triplicado.

III. RESULTADOS

En esta investigación se estudió el efecto del uso de un bioempaque comestible para conservar las características sensoriales de un pan novedoso elaborado a partir de semilla de calabaza. Los resultados se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Tabla de resultados

Exp.	% Humedad	Aw	Textura
1	30.16	1.00	950.50
2	26.36	0.74	1134
3	28.20	0.98	1045
4	26.20	0.97	1021
5	28.05	0.97	902
6	28.60	0.98	1185
7	30.59	1.00	1006
8	26.71	0.98	1250
9	29.91	1.00	974
10	27.42	0.99	1179
11	27.56	0.97	983
12	26.62	0.77	1088
Control	24.80	0.97	962

IV. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En lo referente a la aplicación del bioempaque sobre el producto se pudo observar que existió una diferencia en cuanto a la estructuración de este con base a su composición, siendo evidente que en las formulaciones donde C2 no estuvo presente, el bioempaque no se estructuró de forma correcta a la superficie del producto y fácilmente se podía desprender.

En las formulaciones que solo contenían P la solución quedó muy líquida dificultando su aplicación y no se estructuró el recubrimiento. Las formulaciones con C1 fueron soluciones muy viscosas lo que dificultó también su aplicación en la superficie y que nuevamente no se estructurara correctamente el material. Fueron las formulaciones donde con mayor porcentaje de C2 o en las que los tres componentes estaban en proporciones iguales las que permitieron estructurar correctamente el bioempaques en el producto. Las formulaciones 3, 6, 8 y 9 presentaron desprendimiento de los bioempaques al momento de su manipulación para la realización de los análisis propuestos verificando nuevamente que estos bioempaques no fueron adecuados para estas muestras, por la facilidad con que se separaron de la superficie del producto. Esto nos indica que las proporciones de materia prima con las que fueron elaboradas estas películas no son las adecuadas para proteger este producto específico. Las formulaciones 7 y 10 fueron las que tuvieron una viscosidad adecuada para aplicarse al producto, además de una vez que se estructuró contribuyó a mejorar la apariencia visual de este dando un aspecto más brillante.

En cuanto a la determinación de la humedad la muestra control presentó una mayor pérdida de esta, incluso visualmente se alcanzaba a ver que el producto estaba más reseco en su superficie. Sin embargo su actividad de agua fue alta. Los bioempaques que ayudaron en que no existiera ni ganancia ni pérdida de humedad con el ambiente (no cambio su peso inicial con respecto a su peso final) fueron la 1, 6, 7,8, 9, 10 y 11. Incluso las muestras 1, 9 y 11 tuvieron una textura suave similar al control. Sin embargo las actividades de agua de las muestras 1 y 9 fueron muy altas, lo que no es un resultado favorable y lo que nos estaría indicando que probablemente la alta humedad esté relacionada con los bajos valores de textura indicando un pan blando no agradable para el consumidor. Las menores actividades de agua se observaron 2 y 12, sin embargo la humedad aumento, lo que nos indica que muy probablemente el bioempaques si forma una barrera impermeable y que la humedad que este tiene migra hacia el producto dando como resultado una ganancia de humedad, además de que es una película muy difícil de colocar y no brinda características visuales muy atractivas al producto.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En esta investigación se concluye que la mayoría de las formulaciones evaluadas para estructurar el bioempaques contribuyeron a que no existiera pérdida ni ganancia de humedad en el producto, esto es un resultado favorable ya que contribuye a aumentar la vida de anaquel de estos. La mejor formulación fue la del experimento 7 que contenía y el experimento 10. En estas formulaciones no existió ni ganancia ni pérdida de humedad, la actividad de agua no fue tan alta, además de que los valores de textura fueron intermedios. Estos resultados son preliminares, se tiene que realizar mayor investigación para evaluar la funcionalidad de estos bioempaques, continuando con análisis sensorial para determinar la aceptación por parte de los consumidores, además de realizar estudios de vida de anaquel acelerada. Finalmente otra área de oportunidad es trabajar en la optimización de la formulación del pan para que contribuya a mejorar sus características organolépticas y nutrimentales.

VI. AGRADECIMIENTOS

Agradezco al CONACYT y a la Universidad Autónoma Agraria de Antonio Narro, por darme la oportunidad de hacer una estancia de investigación, en la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, con el objetivo de aportar nuevos conocimientos. También agradezco a mi asesora principal la Dra. Laura Araceli López Martínez, así como a la Dra. Claudia Álvarez Salas, al Dr. Héctor Reynoso Ponce, a la Ing. Magdalena Alvarado Galván y a Brenda por sus valiosas aportaciones a este trabajo, por facilitarme sus laboratorios y de igual manera agradezco por su amabilidad, solidaridad, confianza y paciencia.

REFERENCIAS

- [1] Chaichi, M. (2016) Preparation and characterization of a novel bionanocomposite edible film based on pectin and crystalline nanocellulose. *Revista Carbohydrate Polymers*, vol. 127 (167-175).
- [2] Fernández, D (2015) Películas y recubrimientos comestibles: una alternativa favorable en la conservación poscosecha de frutas y hortalizas. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*. Vol. 24, núm. 3.
- [3] Domínguez, M.F. (2012) Películas comestibles formuladas con polisacáridos: propiedades y aplicaciones. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*. vol. 6, núm. 2.
- [4] Hernández, M. Á. (2006). Determinación del tamaño adecuado de parcela experimental en calabaza pipiana (*Cucurbita argyrosperma* Huber var. *stenosperma*). *Revista Mexicana*, 29(4), 339-348.
- [5] López, H. O. (2009). López Hernández, O. D., Márquez ConExtracción de lípidos de las semillas de *Cucurbita pepo* L.(calabaza). *Revista Cubana de Plantas Medicinales.*, 14(2).
- [6] De Ancos, B. (2015) Uso de películas/recubrimientos comestibles en los productos de IV y V gama. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, vol.16, num.1, pp.8-17,

Evaluación in vivo de hongos fitopatógenos en hortalizas para productores de INFOOD

Daniela León Ramírez

Universidad Politécnica Bicentenario
Carr. Silao-Romita km 2,
Col. San Juan de los Duran C.P 36283.
15030337@upbicentenario.edu.mx

Asesor:

Christian Salvador Mendoza Hernández

Universidad Politécnica Bicentenario
Carr. Silao-Romita km 2,
Col. San Juan de los Duran C.P 36283.
cmendozah@upbicentenario.edu.mx

Resumen — En Guanajuato los productores de pimiento en la empresa INFOOD con problemas de “secadera”, requieren de estrategias para enfrentar esta enfermedad. De raíces de plántulas de estos invernaderos se aislaron tres hongos *Fusarium oxisporum*, *Phytophthora capsici* y *Alternaria solani* identificados por morfología colonial y microscópica. El experimento consistió en plántulas pimiento morrón var. Dársena con 45 días en invernadero a T promedio 25°C en cámara húmeda con diseño al azar. Los tratamientos fueron: testigo, *F. oxisporum* (F), *P. capsici* (P) y *A. solani* (A), sin microorganismos benéficos. 3 cepas *Bacillus subtilis* B1, B2 y B3; dos inóculos de micorrizas M1 y M2, sin y con fitopatógenos (2 ml suspensiones con 1×10^5 conidias/ml de F, P y A) con 3 repeticiones. Se evaluó % de incidencia de enfermedad (I), peso seco de follaje (PS) y área foliar (AF). Los resultados muestran 0% de incidencia de enfermedad en B1 Y B3 con *A. solani*; B2 con *P. capsici* y *F. oxisporum*. Así como en M2 con F y A. Mientras B2 presentó mayor AF (125 cm^2) en plantas con F y el PSF fue afectado significativamente solo en M1 y *F. oxisporum* (0.10g) (Minitab 15 DMS 0.05). Esto sugiere que la protección depende de cepas de microorganismos benéficos y el hongo a controlar.

Palabras clave — Hongos, Secadera, Pimientos

Abstract — In Guanajuato, pepper producers in the INFOOD company with “dryer” problems require strategies to deal with this disease. Three *Fusarium oxisporum*, *Phytophthora capsici* and *Alternaria solani* fungi identified by colonial and microscopic morphology were isolated from seedling roots of these greenhouses. The experiment consisted of seedlings of bell pepper var. Dársena with 45 days in the greenhouse at an average T 25 ° C in a humid chamber with a random design. The treatments were: control, *F. oxisporum* (F), *P. capsici* (P) and *A. solani* (A), without beneficial microorganisms. 3 strains *Bacillus subtilis* B1, B2 and B3; two inocula of mycorrhizae M1 and M2, without and with phytopathogens (2 ml suspensions with 1×10^5 conidia / ml of F, P and A) with 3 repetitions. % Incidence of disease (I), dry foliage weight (PS) and leaf area (AF) were evaluated. The results show 0% incidence of disease in B1 and B3 with *A. solani*; B2 with *P. capsici* and *F. oxisporum*. As in M2 with F and A. While B2 presented greater AF (125 cm^2) in plants with F and PSF was significantly affected only in M1 and *F. oxisporum* (0.10g) (Minitab 15 DMS 0.05). This suggests that protection depends on strains of beneficial microorganisms and the fungus to be controlled.

Keywords — Fungi, Dryer, Peppers.

I. INTRODUCCIÓN

Los agricultores utilizan productos químicos con el consecuente aumento en los costos de producción y pérdidas económicas que conducen al abandono de cultivo. (Lozano-Alejo et al, 2014). Las aplicaciones de funguicidas en la mayoría de los casos no son suficientes para el control de la enfermedad si las condiciones son favorables para el desarrollo de esta, por lo cual se buscan nuevas alternativas de control. (Akgül y Mirik, 2008).

Una problemática fitosanitaria muy aguda desde hace varias décadas que sufre el cultivo de chile pimiento es la marchitez de las plantas. (Hernández, et al, 2010). Las pérdidas ocasionadas varían del 40% al 100%, el daño se manifiesta en bajo rendimiento y disminución de la calidad, y con ello un costo elevado de inversión por el alto número de aplicaciones de productos químicos. (Macías, et al, 2010). Se ha asociado esta problemática a diferentes microorganismos como *Fusarium oxisporum*, *Phytophthora capsici*, *Alternaria solani* y *Rhizoctonia solani*.

Como consecuencia, algunas regiones productoras importantes han disminuido su superficie de siembra o la producción se ha desplazado a nuevas áreas (Guijón y González, 2001).

Se ha señalado al hongo *Phytophthora capsici* como el único agente causal de la secadera o marchitez de las plantas de chile, existen algunos estudios que han indicado que otros hongos fitopatógenos comúnmente aislados de raíces enfermas de plantas de chile, pudieran estar involucrados en la producción del síndrome de la enfermedad. (Velásquez, Medina y Luna 2001).

La especie de Bacillus antagonista son una alternativa para el control de fitopatógenos, causantes de enfermedades en cultivos como el chile (Mejia,2016).

La infección se presenta en las raíces o en la base del tallo; los órganos de la planta al ser afectados muestran una pudrición suave, acuosa e inodora, y tejidos de color pardo oscuro (INIFAP 2010).

II. MARCO TEÓRICO (OPCIONAL)

México cuenta con una producción de 104.4 mil toneladas, con un valor de mil 491 millones de pesos. Sus principales estados productores son Guanajuato, Jalisco, Querétaro, Durango y Coahuila, con esto se posiciona en el segundo lugar de producción de pimiento en el mundo, siendo superado por China. El importador más fuerte es Estados Unidos con un 90% de las exportaciones. (Seminis, 2017).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Los tratamientos se realizaron en los invernaderos de la Ingeniería en Agroecología de la Universidad Politécnica del Bicentenario, ubicada en el municipio de Silao de la Victoria (entre los paralelos 21°10' y 20° 47' de latitud norte; los meridianos 101°19' y 101° 35' de longitud oeste; altitud entre 1700 y 2700m), Guanajuato, México.

Se utilizó un aislamiento de 3 hongos fitopatógenos que se encontraron en los invernaderos de INFOOD los cuales son: *Fusarium oxisporum* (F), *Phytophthora capsici* (P) y *Aletenaria solani* (A), que se identificaron a través de microscopia y morfología colonial

El experimento consistió en plántulas de pimiento variedad, Dársena con 45 días en invernadero.

El trabajo parte de la germinación de las semillas variedad. Dársena con la que se evaluaron los tratamientos. Las plántulas crecieron en vasos con un radio de 3 in, con peat moos y vermiculita, como sustrato.

Los 45 días de riego se realizó con agua destilada, 15 días después de la germinación y hasta su terminación se fertilizaron con una solución nutritiva “Long – Hasthon”: KNO₃ 0.08 gr ; MgSO₄ 0.0022 gr; H₃PO₄ 0.00310 gr; FeSO₄ 1%; (NH₄)₆Mo₇O₂₄ 0.00590 gr; ZnSO₄ 0.00029 gr; CuSO₄ 0.00025 gr; NaCl 0.00590 gr; NaH₂PO₄ 0.18 gr; Ca(NO₃)₂ 0.944 gr.

Al mismo tiempo se aplicaron los tratamientos preventivos de Bacillus subtilis (B1) 1.5gr; Bacillus subtilis (B2) 2ml; Bacillus subtilis (B3) 1 ml; Micorrizas (M1) 0.05gr; Consorcio de Micorrizas (M2) 0.05 gr, cada 15 días.

Se mantuvo en una temperatura aproximada de 25° C, dentro de una cámara húmeda con diseño al azar.

A los 20 días de su crecimiento se infectaron con los patógenos previamente desarrollados en caldo de papa liquido (PDA), 2 ml suspensiones con 1X10⁵ conidias/ml de Fusarium oxisporum (F), Phytophthora capsici (P) y Aletenaria solani (A).

La infección se realizó con una incisión con bisturí en el tallo, hoja y raíz de la plántula de pimiento var, Dársena.

IV. RESULTADOS

Los resultados muestran 0% de incidencia de enfermedad en B1 Y B3 con A.solani; B2 con P.capsici y F. oxisporum. Así como en M2 con F y A. Mientras B2 presentó mayor AF (125cm²) en plantas con F y el PSF fue afectado significativamente solo en M1 y F. oxisporum (0.10g) (Minitab 15 DMS 0.05).

En las siguientes imágenes se pueden observar en la Fig.1 Plántulas variedad Dársena en invernaderos; Fig.2 cámara de humedad; Fig.3 Plántulas con tratamientos, B1(A), B2 (F), B3(P); Fig.4 Plántulas con tratamientos, M1(P), M2 (P); Fig.5 Testigos; Fig.6 Tratamientos B1(A), Tratamiento B2(F), Tratamiento B3(P), Tratamiento M1(P), Tratamiento M2(P), testigos; Fig.7 raíz de plantula; Fig.8 Medicion de tallo de la plantula; Fig.9 Infección de la plántulas .



Fig.1



Fig.2



Fig.3



Fig.4

Fig.5

Fig.6



Fig.7

Fig.8

Fig.9

V. CONCLUSIONES

Esto sugiere que la protección depende de cepas de microorganismos benéficos y el hongo a controlar.

VI. RECONOCIMIENTOS (O AGRADECIMIENTOS)

Expreso mi agradecimiento a la Universidad Politécnica Bicentenario, por brindarme las instalaciones materiales y conocimientos, para la realización de esta investigación.

A mi asesor Christian Salvador Mendoza Hernández, por siempre motivarme y exigirme hasta el límite para lograr cada uno de mis objetivos.

De igual manera a mi mentora Ma. Eugenia Salas Galván por siempre creer en mí, y enseñarme el maravilloso mundo de la investigación, la fitopatología y la botánica.

También al profesor Hugo Alberto Velázquez Ruiz que me ha impulsado en mi desarrollo académico con cada una de sus consejos y asesoramiento.

A José Luis Moreno Ortiz laboratorista de ingeniería en agrotecnología por brindarme su servicio en mi estancia en laboratorio.

Y, por último, pero no menos importante a mis fieles compañeras de investigación Karina del Rocío Buzo Reyes y Gabriela Huera Zacarías.

REFERENCIAS

Seminis. (2019). *El éxito e importancia del pimiento en el campo mexicano - Seminis*. [online] Available at: <https://www.seminis.mx/el-exito-e-importancia-del-pimiento-en-el-campo-mexicano/> [Accessed 30 Aug. 2019].

Anon, (2019). .

Inta.gob.ar. (2019). https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta-guia_identificacion_de_las_enfermedades_de_pimiento_en_invernadero.pdf. [online] Available at: <https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta->

guia_identificacion_de_las_enfermedades_de_pimiento_en_invernadero.pdf [Accessed 31 Aug. 2019].

Redalyc.org. (2019). [online] Available at: <http://www.redalyc.org/pdf/302/30251182006.pdf> [Accessed 31 Aug. 2019].

Uaaan.mx. (2019). [online] Available at:

http://www.uaaan.mx/transparencia/images/documentos/art70/Fracc_XLI/2018/Dr_Gabriel_Gallagos_Morales_38111-425101001-2255.pdf [Accessed 31 Aug. 2019].

Zacatecas.inifap.gob.mx. (2019). [online] Available at:

<http://www.zacatecas.inifap.gob.mx/publicaciones/Folleto%20Tecnico%2090.pdf> [Accessed 31 Aug. 2019].

Extracción y caracterización de macromoléculas de origen animal para la fortificación de alimentos

Mauricio Serrano Ramírez

Universidad Autónoma de Aguascalientes
Av. Universidad #940, C.P. 20010,
Aguascalientes, Ags.
mau.sermirez@gmail.com

Asesor: Carlos Hernán Herrera Cortez

Universidad de Guanajuato
El mayorazgo Calle Zaragoza # 749. C.P. 38900,
Zona centro, Salvatierra, Gto.
caherhe@hotmail.com

Resumen — En este trabajo se presenta el contenido promedio de proteínas miofibrilares y sarcoplasmicas obtenido a partir de dos extracciones sucesivas a carne de res obtenida de retazos de carnicerías de la región, con el fin de cuantificar su concentración proteica mediante la realización del ensayo de proteínas de Bradford obteniendo una concentración promedio de 344.33 µg/ml para miofibrilares y 57.83 µg/ml para sarcoplasmicas; así como el desarrollo de una electroforesis para lograr separar las proteínas por su peso molecular y al compararlas con un estándar de proteínas lograr conocer las proteínas contenidas en los extractos, con el fin de que en trabajos posteriores se utilice esta investigación como base para su posible incorporación a la fortificación de alimentos.

Palabras clave — Miofibrilares, Sarcoplasmicas, carne de res.

Abstract — In this work is presented the average content of myofibrillary and sarcoplasmic proteins, getting from two successive extractions to beef meat obtained from scraps given by regional butcheries, in order to quantify its protein concentration by performing the Bradford Protein Assay, getting an average concentration of 344.33 µg/ml for myofibrillary proteins and 57.83 µg/ml for sarcoplasmic proteins; as well as the development of an electrophoresis to achieve separating proteins by their molecular weight and, comparing them with a protein standard, to achieve recognizing the proteins contained in the extracts, with the final purpose that in later works this research will be used as a basis for a possible incorporation to food fortification.

Keywords — Myofibrillary, Sarcoplasmic, Beef meat

I. INTRODUCCIÓN

El Codex Alimentarius define la carne como “todas las partes de un animal que han sido dictaminadas como inocuas y aptas para el consumo humano o se destinan para este fin”. La carne se compone de agua, proteínas y aminoácidos, minerales, grasas y ácidos grasos, vitaminas y otros componentes bioactivos, así como pequeñas cantidades de carbohidratos. [1]

De esta definición el producto de interés serán las proteínas en particular dos grupos, las miofibrilares y sarcoplasmicas; las proteínas miofibrilares o proteínas contráctiles son las que conforman estructuralmente el tejido muscular y además las que transforman la energía química en mecánica durante la contracción y relajación de los distintos músculos. Son solubles en soluciones salinas concentradas, miosina: estructura helicoidal con 55% de α -hélice, con peso molecular de 4800000 Dalton, rica en lisina y ácido glutámico; Actina: presenta 2 fracciones la G (actina globular) y la F (actina fibrosa), la G tiene un peso molecular de 46000 Dalton y consta de 450 amino ácidos, esférica, la F se produce por una polimerización de la G en presencia de magnesio y se combina con la miosina

para formar la actomiosina. Tropomiosina: peso molecular de 70000, construyen fibrillas polimerizadas en complejos con actina F en los filamentos delgados. [2]

Por otra parte las proteínas sarcoplasmicas son principalmente globulinas y albuminas las cuales son endocelulares e hidrosolubles. Constituyen la masa fluida que baña a las miofibrillas, proporcionándole energía y capacidad de sintetizar proteína y haciendo posible la eliminación de ciertos desechos metabólicos. [3]

Por lo tanto el objetivo de este proyecto al extraer y caracterizar estas proteínas tiene como finalidad ser parte de un proyecto mayor el cual tendrá como objetivo utilizar estos extractos de proteínas sarcoplasmicas y miofibrilares para la fortificación de alimentos.

II. MARCO TEÓRICO

Método de Bradford: Se basa en la unión de un colorante, Comassie Blue G-250 (también Serva Blue) a las proteínas. El colorante, en solución ácida, existe en dos formas una azul y otra naranja. Las proteínas se unen a la forma azul para formar un complejo proteína-colorante con un coeficiente de extinción mayor que el colorante libre. Este método es sensible (1-15 µg), simple, rápido, barato y pocas sustancias interfieren en su determinación. Entre las sustancias que interfieren están los detergentes y las soluciones básicas. [4]

PAGE-SDS: Permite el cálculo de parámetros moleculares (al contrario que el resto de los tipos de electroforesis), pues los complejos SDS-proteína se separan estrictamente según su tamaño molecular. El SDS interacciona con las proteínas formando complejos de características comunes independientemente de las de cada proteína. Las proteínas unen una molécula de SDS por cada dos aminoácidos, lo que implica que las cargas propias de las proteínas quedan enmascaradas o anuladas; asimismo, la molécula de SDS proporciona una carga negativa, por lo que los complejos SDS-proteína están cargados negativamente de forma uniforme (la carga por unidad de masa es prácticamente constante para todos los complejos). Como ya se ha comentado, la movilidad electroforética en una PAGE es función del tamaño y de la carga por unidad de masa; como ésta es constante para todos los complejos SDS-proteína (que, además, tienen la misma forma elipsoide), esta movilidad es solamente función de la masa molecular, es decir, cuanto menor sea la masa molecular de la proteína, mayor será la movilidad de la misma y viceversa. [5]

III. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Extracción de proteínas

10 gr. de carne de res

Tampón: Tris 0.03 M, KCl 0.06 M, agua destilada, a pH 7.3

Para realizar la extracción de proteínas se pesan 10 gr. de carne de res y se toman 300 ml del tampón, se homogeneizaron en una licuadora Oster modelo best 02-E01 durante 30 segundos, una vez homogeneizado se centrifugo a 3914g por 30 minutos en una centrifuga marca HERMLE modelo Z323K, se colecto el sobrenadante el cual es el extracto de

proteínas miofibrilares; se pesó el precipitado para añadirle la solución tampón en una relación 1:10, se homogeneizó el precipitado y el tampón en la misma licuadora durante 45 segundos, una vez homogeneizado se centrifugó a 3914g por 30 minutos, se colectó el sobrenadante el cual es el extracto de proteínas sarcoplasmicas y se descartó el precipitado.

B. Cuantificación de proteínas método de Bradford

Bio-Rad Protein Assay

Patrón de albumina bovina

Extractos de proteínas miofibrilares y sarcoplasmicas

Agua destilada

Tampón: Tris 0.03 M, KCl 0.06 M, agua destilada, a pH 7.3

Patrón: Se preparó una solución de 1 mg del patrón de albumina bovina en 1 ml de agua destilada para la curva patrón.

Se preparó una solución 1:4 de Bio-Rad Protein Assay

Se preparó la curva patrón de albumina bovina en un rango de 0 a 50 µg haciendo que se tenga un volumen final de 300 µl. Se realizaron diluciones 1,1:5, 1:20 y 1:50 de los extractos de proteínas miofibrilares y sarcoplasmicas con la solución tampón y se tomaron 300 µl de cada dilución y se colocaron en un tubo de ensaye, finalmente se añaden 5 ml de la solución 1:4 de Bio-Rad Protein Assay a todos los tubos, se agitan y se toman 240 µl de cada tubo y se coloca cada muestra en un pocillo de una microplaca para ser leído a 595 nm en un espectrofotómetro lector de microplacas marca Bio-Rad modelo imark.

C. Electroforesis en gel de poliacrilamida SDS PAGE

Tampón de extracción: Tris 0.03 M, KCl 0.06 M, agua destilada, a pH 7.3

Extractos de proteínas miofibrilares y sarcoplasmicas

Gel de electroforesis: se preparó de acuerdo a la metodología proporcionada por SIGMA para el reactivo Acrylamide/Bis-acrylamide, 30% solution con número de catálogo A3574 con una concentración final del 10%

Tampón de desnaturalización: Tris 0.05 M, SDS 3%, 2-mercaptoetanol 1%, Glicerol 7.5%, Azul de bromofenol 2 gotas; a pH 6.8

Tampón de migración: Tris 0.025 M, Glicina 0.192 M, SDS 0.1%, 2-mercaptoetanol 0.1%, a pH 8.3

Tampón de fijación: Ácido acético 5%, Etanol 30 %, Agua destilada 65%

Tampón de coloración: Ácido acético 5%, Etanol 30 %, Agua destilada 65%, Azul de Coomassie 0.12%

Tampón de decoloración: Ácido acético 5%, Etanol 30 %, Agua destilada 65%

Una vez que se conoce la concentración de los extractos de proteínas miofibrilares y sarcoplasmicas, se ajusta su concentración a un máximo de 20 µg/ml diluyendo con el

tampón de extracción, de esta dilución se toman muestras de 100µl de cada extracto y se le añaden 2 gotas del tampón de desnaturalización, se introducen a baño maría por 5 minutos a ebullición.

Una vez que se preparó el gel de electroforesis se introduce en la cubeta de electroforesis marca Bio-Rad modelo mini protean tetra-cell y se ajusta el volumen del tampón de migración necesario para la cantidad de geles utilizados, se retira el peine del gel y se colocan las muestras en los pocillos en el gel más una muestra del estándar de proteínas marca Bio-Rad con número de catálogo 161-0305; se hace pasar una corriente de 100 V por el tiempo necesario hasta que el frente migre hasta el final del gel. Se retira el gel de los cristales y se pasa al tampón de fijación por 30 minutos en agitación, posteriormente se pasa el gel al tampón de coloración por 40 minutos, finalmente se coloca en el tampón de decoloración.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 1. Absorbancia de las distintas concentraciones de la recta patrón

Concentración µg/ml	Lectura
	0
10	0.174
20	0.264
30	0.391
40	0.493
50	0.58

Tabla 2. Promedio de la concentración obtenida de proteínas sarcoplasmicas y miofibrilares

	Concentración promedio
Miofibrilares	344.33
Sarcoplasmicas	57.83

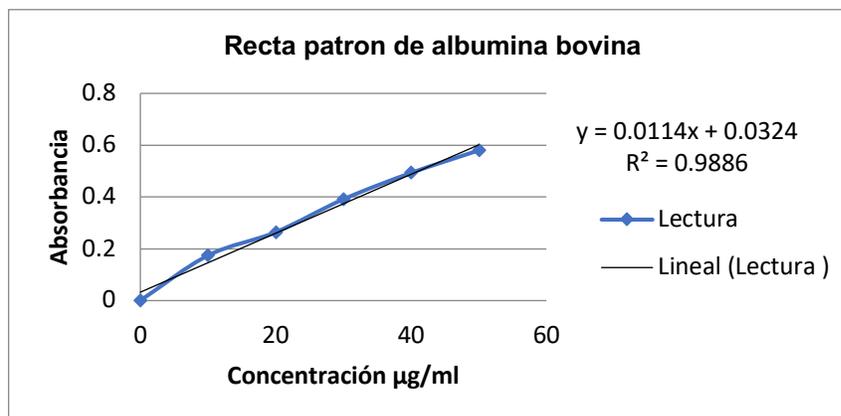


Figura 1. Gráfico de la recta patrón obtenido a partir de la tabla 1

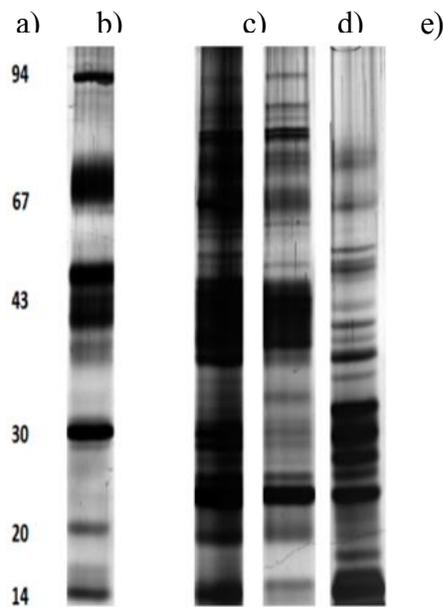


Figura 2. Gel de electroforesis, a) peso en KDa, b) marcador peso molecular, c) Extracto completo, d) Extracto miofibrilares, e) Extracto sarcoplásmicas

Durante este proyecto se llevó a cabo una recta de calibración a partir de albumina bovina por lo cual para corroborar su validación Riu J. y Boqué R. [6] mencionan que dado un procedimiento de modelo de línea recta está dado por un coeficiente de determinación comprendido por un valor de 1 o muy cercano a este por lo que tal como se muestra en la figura 1 este valor tiene un coeficiente de 0.9886 siendo válido para realizar la determinación de la concentración proteica en $\mu\text{g/ml}$ de los extractos de proteínas miofibrilares y sarcoplásmicas.

Los valores promedio obtenidos a partir de las distintas diluciones y realizadas por duplicado de los extractos de proteínas miofibrilares y sarcoplásmicas se muestran en la tabla 2 y al comparar estos valores con los proporcionados por Fadda S. et al [7] presentan un contenido de proteínas sarcoplásmicas de 1.80 mg/ml, mientras que para los extractos de proteínas miofibrilares es de 0.75 mg/ml, siendo valores nada similares, sin embargo existen diversos factores que afectan al contenido proteico como pueden ser desde el método de extracción hasta el almacenamiento del extracto, incluso la FAO [8] menciona que el contenido de proteínas puede variar por la alimentación del animal, la parte de la cual se obtuvo la carne, de ahí que los valores no sean semejantes, sin embargo para este proyecto se obtuvieron valores mayores de concentración de proteínas miofibrilares tal como lo indica Forrest J.C. et al [9] las proteínas miofibrilares constituyen un 55 a 60 % del contenido total de proteína.

De acuerdo con Badui-Dergal S. [2] y la figura 2 se puede identificar algunas proteínas contenidas en los extractos como lo son la Actina (42KDa), la Troponina (68KDa) y la Troponina I (22KDa), para las proteínas miofibrilares; mientras que en las sarcoplásmicas se tiene una alta concentración entre 20 y 35 KDa que corresponde a diversas enzimas,

sin embargo debido al tamaño del marcador de peso molecular no fue posible identificar a la mioglobina que es la principal proteína sarcoplásmica

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Se logró obtener satisfactoriamente extractos de proteínas miofibrilares y sarcoplásmicas, así como su cuantificación y caracterización.

Se recomienda utilizar un marcador de peso molecular con mayor rango para identificar mayor cantidad de proteínas en los extractos, así como su posible uso para la fortificación de alimentos

VI. AGRADECIMIENTOS

Expreso mi agradecimiento a todo el personal de la Universidad de Guanajuato así como compañeros de laboratorio que me brindaron su apoyo durante mi estancia para la realización del proyecto.

REFERENCIAS

- [1] FAO (2019), [Online], Disponible en:
http://www.fao.org/ag/aginfo/themes/es/meat/backgr_composition.html
- [2] Badui-Dergal S., *Química de los alimentos*, 5ª edición, Ed. Pearson, México, 2013
- [3] Olson D.G., Parrish J.R. y Stromer M.H., *Myofibril fragmentation and shear resistance of three bovine muscles during postmortem storage*, Journal of food science, 41:1036-1041. 1976
- [4] Fernández-Reyes E. y Galván-Cejudo A., *Métodos para la cuantificación de proteínas*, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Campus Universitario de Rabanales, 14071-Cordova, 2014
- [5] Morales-Sanchez D. y Gallo-Ramirez L., *Plataformas de proteómica*, Curso: "Métodos Físico-Químicos en Biotecnología", 2006
- [6] Riu J. y Boqué R. 2001, Calibración lineal, Universitat Rovira i Virgili., Pl. Imperial Tàrraco, 1, 43005-Tarragona, 2006
- [7] Fadda S., Sanz Y., Vignolo G., Aristoy M.C., Oliver G. y Toldrá F., *Characterization of Muscle Sarcoplasmic and Myofibrillar Protein Hydrolysis Caused by Lactobacillus plantarum Applied and Environmental Microbiology*, Aug 1999, 65 (8) 3540-3546; DOI
- [8] FAO (2019), [Online], Disponible en
<http://www.fao.org/tempref/docrep/fao/005/w0073s/W0073S01.pdf>
- [9] Forrest J.C., Aberle E.D., Hedrich H.D., Hudge M.D. y Merkel R.A., *Fundamentos de ciencia de la carne*, Ed. Acribia, Zaragoza: España, 1979

Factores implicados en el movimiento viral del *virus del mosaico de la caña de azúcar* (SCMV) en plantas de maíz

Raúl Antonio García Martínez

Tecnológico nacional de México en Celaya
Ingeniería Bioquímica
Antonio García Cubas #600 Fovisste
C.P. 38010, Celaya, Gto.
16030433@itcelaya.edu.mx

Asesora: Laura Silva Rosales

Centro de Investigaciones y Estudios Avanzados del Politécnico (CINVESTAV), Unidad Irapuato, Departamento de Ingeniería Genética
Km. 9.6 Libramiento Norte Carr. Irapuato-León
36824 Irapuato Gto. México
laura.silva@cinvestav.mx

Resumen — El virus del mosaico de la caña de azúcar uno de los virus mayoritariamente incidente en maíz, en el presente reporte se muestra la experimentación con líneas de maíz y como el virus infecta la planta. Observando los síntomas las líneas puras como B73, liguleless 1 y 2 además de dos híbridos B73x liguleless 1 y B73xliguleless 2 producto de la inoculación de la cepa de SCMV-VER1 por medio de heridas superficiales hechas en la tercera hoja verdadera de cada planta. Posteriormente realizando un análisis a fondo usando técnicas como RT-PCR para detectar el ARN viral en hojas siguientes (cuarta y quinta hoja verdadera), además del uso de la técnica de western blotting para proteínas principales virales (proteína formadora de la cápside) igual en las hojas siguientes. Esto para comprobar el movimiento del virus a lo largo de 10 días posteriores a la inoculación.

Palabras clave — Maíz, SCMV, proteína de la cápside, western blotting, movimiento viral.

Abstract — The sugarcane mosaic virus is one of the mostly incident viruses in corn, in this report the experimentation with corn lines and how the virus infects the plant is shown. Observing the symptoms of pure lines such as B73, liguleless 1 and 2 in addition to two hybrids B73x liguleless 1 and B73xliguleless 2 resulting from the inoculation of the strain of SCMV-VER1 by means of superficial wounds made on the third true leaf of each plant. Subsequently conducting a thorough analysis using techniques such as RT-PCR to detect viral RNA in subsequent leaves (fourth and fifth true leaf), in addition to the use of the western blotting technique for viral main proteins (capsid-forming protein) equal to the following sheets. This to check the movement of the virus over 10 days after inoculation.

Keywords — Corn, capsid protein, western blotting, viral movement.

I. INTRODUCCIÓN

Los virus vegetales son formas intracelulares obligados. Su genoma está conformado de un ácido nucleico (RNA o DNA) rodeado de diversas copias de una proteína de cobertura llamada cápside [1]. El auge masivo de viriones facilita la transmisión del virus de una planta a otra sin importar cualquiera que sea el modo de propagación: semillas, polen, injertos, heridas mecánicas [2] o vectores [3]. Una vez dentro de la célula vegetal, los virus usan la maquinaria celular para completar su ciclo infectivo (traducción, replicación, encapsidación, movimiento de célula a célula y movimiento de larga distancia) en la planta [2]. El virus del mosaico de la caña de azúcar (SCMV) pertenece al género *Potyvirus*, dentro de la familia *Potyviridae* [4,2]. Se encuentra distribuido a nivel mundial causando pérdidas en el rendimiento de especies de interés económico susceptibles como caña de azúcar, maíz y sorgo [5]. Sus síntomas en plantas de maíz se caracterizan por la presencia de clorosis en forma de mosaicos irregulares en las hojas, plantas con visible enanismo y mazorcas

pequeñas con llenado de grano irregular [3]. SCMV ingresa a las células vegetales a través del mesófilo por medio de una herida o se transmite de una planta a otra por varias especies de áfidos [3, 6]. Tras ingresar a la célula el SCMV pierde la cápside quedando expuesto su genoma. Este tiene aproximadamente 9.6 kb de longitud, en su extremo 5', se haya una proteína unida covalentemente (VPg) y, en su extremo 3' una cola poli (A) [6]. El genoma codifica una poliproteína, que posteriormente se divide en 10 proteínas maduras (P1, HC-Pro, P3, 6K1, CI, 6K2, NIa-VPg, NIa Pro, NIb, CP) por 3 proteasas autocodificadas [7]. Varias proteínas de Potyvirus son multifuncionales, CP está involucrado en la transmisión por pulgones [8], formación de viriones y movimiento de virus [9]. P1 funciona también como un factor accesorio transactivo durante la amplificación del genoma [10]. HC-Pro es necesario para la transmisión de virus por áfidos [11] y diseminación sistémica en plantas [12] VPg es importante para la amplificación del genoma del virus [13] y movimiento del virus. En este movimiento a corta distancia la modificación de plasmodesmos es regulada por proteínas de transporte facilitando la propagación. El SCMV, inicia el movimiento de célula a célula (o de corta distancia) pasando por los diferentes tipos celulares hasta entrar en las células acompañantes y después al floema. Ahí se transportará en savia a lugares distantes del sitio original de inoculación, para iniciar nuevos focos de infección. [4-5] Pasando por todos los tejidos de la planta, supongamos que la infección ocurrió en la lámina de la planta del maíz, el virus migrara a través de la lígula (fig. 1) después llegara a la vaina y finalmente al tallo.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales vegetales e infección por virus

Se usaron las líneas de maíz (*Zea mays*) B73, *liguleless 1 (lg1)*, *liguleless 2 (lg2)*, además de dos líneas resultantes de la cruce de B73 con *liguleless 1* y *2* (B73X*liguleless 1* y B73X*liguleless 2*, respectivamente). Se sembraron cuatro réplicas biológicas de cada línea, las cuales se inocularon con el aislado SCMV-VER1. Conjuntamente se sembraron dos réplicas de cada línea para usarlas como control negativo. Todas las plantas se mantuvieron en invernadero. Luego de 20 días de la siembra se inocularon con una mezcla que contenía 100 mg de lámina macerada con síntomas característicos de mosaico (fig.2), buffer de fosfato ((0,1 M KPO₄, pH 7,5)), y polvo de carborundum como agente abrasivo.

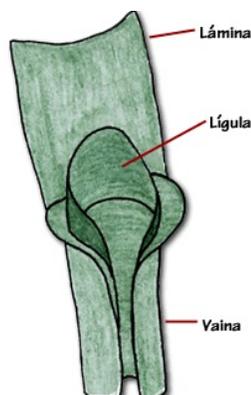


Fig. 1. Las hojas de maíz que se desprenden de los nodos son alternas, lanceoladas y acuminadas, con pequeñas lígulas, naciendo en los nudos de forma alternada.

Se homogeneizó la mezcla para después hacer la aplicación en la tercera hoja distal (fig.3) ayudado de un hisopo



Fig. 2. Planta de maíz Rogers con síntomas típicos de SCMV-VER1.

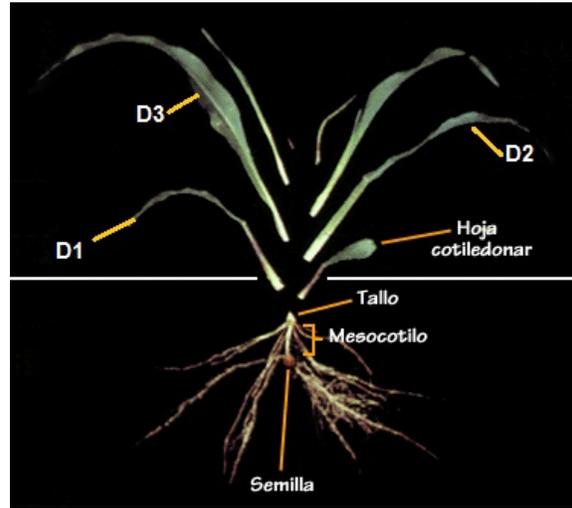


Fig. 3. Distribución de los tipos de hoja en planta de maíz. Distal 1 (D1), Distal 2 (D2) y Distal (3).

Extracción y cuantificación del RNA total

La extracción de RNA total se hizo, usando el reactivo TRIzol™ Reagent y siguiendo las instrucciones del fabricante.

Detección de SCMV por RT-PCR

La reacción de transcripción reversa (RT) del RNA total se hizo utilizando el protocolo de la enzima “RevertAid H Minus Reverse Transcriptase” de ThermoScientific™, siguiendo las instrucciones del fabricante. El cDNA resultante se usó en una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) usando la enzima “Taq DNA Polymerase (recombinant) de ThermoScientific”. Se usaron cebadores para amplificar una banda de aproximadamente 835 pb, correspondiente a un cistron de la proteína de la cápside (CP) del virus

Extracción de proteínas y detección de SCMV por Western blotting

Para la extracción de proteínas se usaron las láminas infectadas de cada una de las líneas. Se maceraron y posteriormente se les agrego buffer de extracción de proteínas (2.5ml glicerol, 500mg SDS, 1.25 ml tris-HCl 0.25mM, 385 mg DTT, 25 mg azul de bromo-fenol, 1 mL de agua estéril), tras ser homogeneizadas se incubaron en hielo por 5 minutos.

Una vez preparadas las muestras, se procedió a la técnica Western blot que consiste en 3 etapas: separación de proteínas (SDS-PAGE), transferencia a membrana y tratamiento con anticuerpos. Además, también se tiño un gel con azul de coomassie, para comprobar la presencia de proteínas.

i) Separación de proteínas: se tomó una alícuota de 20µl del extracto de proteínas. Se cargaron en los pozos de 2 geles de poliacrilamida (10% gel separador y 4% gel

compactador) para separar las proteínas mediante electroforesis, primero a 60v por 30min y luego a 120v.

ii) **Transferencia a membrana:** una vez que las muestras se separaron en el gel de poliacrilamida se montó el sándwich de transferencia en el siguiente orden: papel filtro -gel- membrana (Nitrocelulosa)-papel filtro. Los papeles filtro se humedecieron en solución buffer de transferencia (48mM Tris, 39mM Glicina, 0,04% SDS, y 20% Metanol). Ya ensamblado el montaje se colocó en el TRANS-BLOT.

iii) **Incubación con anticuerpo:** La membrana se sumergió en un buffer de bloqueo (PBS 1x, skim milk 0.04 g, triton 20 μ L y BSA 0.1 g) y se mantuvo en agitación lenta durante una hora. Al terminar, se hicieron tres lavados con TBST durante cinco minutos. Se agregó el anticuerpo anti-SCMV-CP conjugado con fosfatasa alcalina y diluido 1:2000 en solución con TBST y BSA, incubándose por una hora. Después se hicieron 4 lavados con TBST y se incubó la membrana en 10 mL de solución BCIP/NBT (BD 10 mL, BCID 16 μ L y NBT 22 μ L, TRIS 1M, NaCl 4M y MgCl 1M) revisando cada 10 min hasta observar coloración.

Tinción con azul de coomassie.

Terminada la electroforesis uno de los geles de poliacrilamida se lavó durante 2 min en agua Milli-Q. Después se sumergió en solución fijadora (50% metanol, 10% ácido acético y 40% H₂O) durante una hora en agitación. Posteriormente se tiñó el gel con solución de coomassie, agregando la suficiente cantidad para cubrir el gel. Se agitó suavemente durante 20 min. Por último, se destiñó con solución decolorante (45% metanol, 10% ácido acético y 45% H₂O) por 10 minutos.

III. RESULTADOS

Materiales vegetales e infección por virus

Luego de 10 días posteriores a la inoculación (dpi) con el aislado SCMV-VER1, las 5 líneas de plantas de maíz, mostraron síntomas de clorosis y mosaico, (Fig. 4) patrón característico de la infección con SCMV.

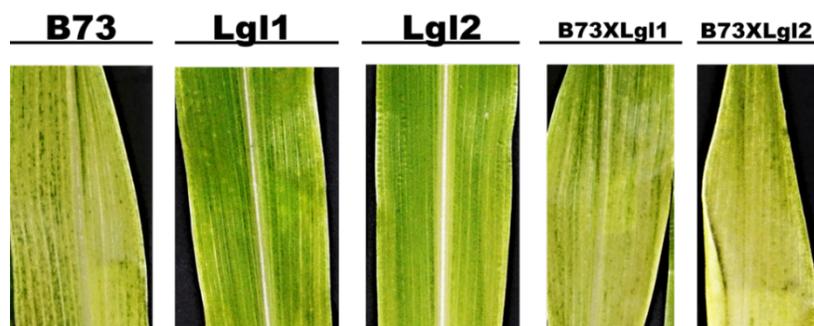


Fig. 4. Hoja cuatro (D2) de las 5 líneas de maíz con síntomas característicos de SCMV-VER1 a los 10 días posteriores a la inoculación.

Detección de SCMV por Western blotting

Para examinar la presencia o ausencia de la proteína de la cápside (CP), se hizo un western blot de hoja distal 2 de la réplica 4, debido a que mostraba la sintomatología más intensa. Su resultado exhibió la presencia de la CP en el control positivo (planta Rogers infectada), la línea B73 y en las líneas híbridas B73Xlgl1 y B73Xlgl2 (Fig.5-A). También se hizo una tinción con azul de coomassie para visualizar el las proteínas totales y asegurar que mantuvieron su integridad (Fig.5-B).

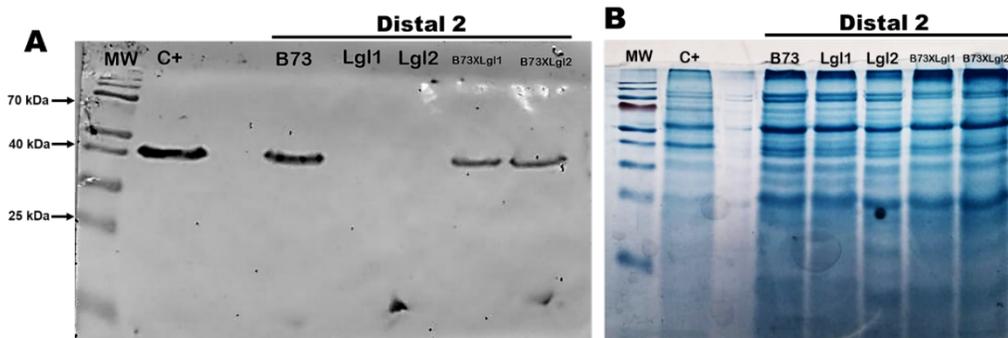


Fig. 5. Análisis de Western blot de CP expresado en hojas de maíz.

- A. Análisis de transferencia Western usando anticuerpo policlonal contra la proteína de la cápside (CP), tamaño aproximado de 40 kDa.
 B. Separación de proteínas por SDS-PAGE (10%), tido con azul de coomassie.
 C+ → Planta Rogers infectada con SCMV

IV. DISCUSIÓN (O ANÁLISIS DE RESULTADOS)

Las líneas *liguleless 1* y *2* expresaron síntomas a los 5 dpi. Contrastando con el resto de las líneas, que presentaron síntomas a los 9 dpi. Podría ser que las estas líneas facilitarían el paso del virus, al no tener lígula es posible que dentro del tejido adquiriera las condiciones ideales para replicarse, sin embargo al realizar el western blotting resultó ausente la señalización para la proteína CP, cosa totalmente diferente con las bandas mostradas en el gel teñido.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Mediante el uso de las técnicas de RT-PCR y Western blotting se concluye que en las líneas, B73, B73x*lgl 1* y B73x*lgl 2* la lígula juega un papel importante durante la infección viral, ya que en plantas mutantes sin lígula se observó la aparición de síntomas a los 5 dpi, mientras que en plantas silvestres la aparición de síntomas tomó alrededor de 10 dpi. Esto coloca a la lígula y a los genes implicados en la formación de la misma como candidatos importantes en la infección de maíz con SCMV.

VI. RECONOCIMIENTOS (O AGRADECIMIENTOS)

Expreso mi agradecimiento al CINVESTAV unidad Irapuato, al TecNM en Celaya y al Programa verano de la ciencia región centro, por las facilidades y el apoyo otorgado para la realización de la estancia de verano. También al Dr. Humberto R. Medina y a Santiago Cepeda C., por creer en mí.

REFERENCIAS

- [1] K. Subramanya Sastry, virus and sub-virus agents, En: Plant virus and viroid disease in the tropics Vol. 1, pagina 20, Springer Dordrecht Heidelberg, New York, 2013
- [2] C. Hipper, V. Brault, V. Ziegler-Graff, F. Revers, "Viral and cellular factors involved in phloem transport of plant viruses", *Frontiers in plant science*, Vol 4, Disponible en doi: 10.3389/fpls.2013.00154 [consultado en 2019]
- [3] J. L. Zambrano-Mendoza, L. C. Paz, M. G. Redinbaugh, 2019, "Evaluación de la resistencia genética de híbridos de maíz al virus del mosaico de la caña de azúcar (SCMV)", XXII Reunión Latinoamericana del MAÍZ, Vol. 11 Núm. 1: Número especial de la XXII Reunión Latinoamericana del Maíz, pp 64-71. Disponible en: <https://revistas.usfq.edu.ec/index.php/avances/article/view/1092/1406> [consultado en 2019].
- [4] Chaves-Bedoya, G., Espejel, F., Alcalá-Briseño, R. I., Hernández-Vela, J., Silva-Rosales L., 2011, "Short distance movement of genomic negative strands in a host and nonhost for Sugarcane mosaic virus (SCMV)", *Virology journal*, 8, 15. doi:10.1186/1743-422X-8-15 [consultado en 2019].
- [5] Yang ZN and Mirkov TE. 1997. Sequence and relationships of sugarcane mosaic and Sorghum mosaic virus strains and development of RT-PCR-based RFLPs for strain discrimination. *Phytopathology* 87(9):932-939. Disponible en línea: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18945064>
- [6] Gell G, Sebestyen E, Balazs E. "Recombination analysis of Maize dwarf mosaic virus (MDMV) in the Sugarcane mosaic virus (SCMV) subgroup of potyviruses". *Virus Genes*. 2015; 1: 79–86. doi: 10.1007/s11262-014-1142-0
- [7] Xie X, Chen W, Fu Q, Zhang P, An T, Cui A, An D, 2016, "Molecular Variability and Distribution of Sugarcane Mosaic Virus in Shanxi", China. *PLoS ONE* 11: e0151549. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151549> [consultado en 2019].
- [8] Atreya, C. D., Raccah, B. & Pirone, T. P. (1990). A point mutation in the coat protein abolishes aphid transmission of a potyvirus. *Virology* 178, 161–165.
- [9] Dolja, V. V., Haldeman, R., Robertson, N. L., Dougherty, W. G. & Carrington, J. C. (1994). "Distinct functions of capsid protein in assembly and movement of tobacco etch potyvirus in plants". *EMBO Journal* 13, 1482–1491.
- [10] Verchot, J. & Carrington, J. C. (1995). Evidence that potyvirus P1 protein functions as an accessory factor for genome amplification. *Journal of Virology* 69, 3668–3674.
- [11] Atreya, C. D., Atreya, P. L., Thornbury, D. W. & Pirone, T. P. (1992). Site directed mutations in the potyvirus HC-Pro gene affect helper component activity, virus accumulation, and symptom expression in infected tobacco plants. *Virology* 191, 106–111.
- [12] Klein, P. G., Klein, R. R., Rodríguez-Cerezo, E., Hunt, A. G. & Shaw, J.G. (1994). Mutational analysis of the tobacco vein mottling virus genome. *Virology* 204, 759–769.
- [13] Schaad, M. C., Haldeman-Cahill, R., Cronin, S. & Carrington, J. C., (1996), Analysis of the VPg-proteinase (N1a) encoded by tobacco etch potyvirus : effects of mutations on subcellular transport, proteolytic processing, and genome amplification. *Journal of Virology* 70, 7039–7048.

Identificación de factores que modulan transcripcionalmente la expresión de tres poli amino oxidasas de nopal

José Francisco Rubio Aguilera

Universidad Autónoma de Querétaro Facultad
de Química-Ciudad Universitaria Av. 5 de
Febrero s/n
C.P. 76140, Querétaro, Qro.
y2jrubio@gmail.com

Asesora:

Dra. María de la Luz Guerrero González

Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Facultad de Agronomía y Veterinaria
San Luis Potosí, S.L.P.
luz.guerrero@uaslp.mx

Resumen — En este trabajo se presenta una serie de proteínas poliamino oxidasas de *Opuntia ficus-indica* (nopal) como lo son OsPAO2, OsPAO4 y OsPAO5; que dan resistencia bajo condiciones de estrés. Para observar su resistencia se realizó una PCR semicuantitativa y se realizó la construcción de un árbol filogenético. Se observó un incremento de OsPAO5 en condiciones frías y una cercanía a *Arabidopsis thaliana*. Por lo que se puede considerar al gen de OsPAO5 como un serio candidato para la inserción en hortalizas que no soporten condiciones frías del país.

Palabras clave — Poliamino oxidasas, árbol filogenético, PCR semicuantitativa. *Opuntia ficus-indica*

Abstract — In this work, a series of polyamine oxidases proteins from *Opuntia ficus-indica* (nopal) are presented, such as OsPAO2, OsPAO4 and OsPAO5; that give resistance under stress conditions. To observe its resistance, a semi-quantitative PCR was performed and the construction of a phylogenetic tree was performed. An increase of OsPAO5 is observed in cold conditions and a proximity to *Arabidopsis thaliana*. Therefore, the OsPAO5 gene can be considered as a serious candidate for insertion into vegetables that do not support cold conditions in the country.

Keywords — Polyamine oxidase, phylogenetic tree, semiquantitative PCR. *Opuntia ficus-indica*

I. INTRODUCCIÓN

En la Actualidad más del 80% de las pérdidas económicas totales de los desastres relacionados con el clima ocurrieron en el sector agrícola y se espera una reducción en la producción agrícola y una reducción significativa en la producción ganadera también se puede producir si los pastos templados se ven afectados negativamente por el cambio climático. Hoy en día está previsto que el cambio climático en México ocasionará una disminución del 40-70% en las tierras agrícolas para 2030. La falta de tierras de cultivo puede significar una escasez de alimento en tendencia de que cada vez haya menos tierras y la población siga en aumento.

México posee un gran número de terrenos donde solo se aprovecha para un cierto tipo de cultivo de hortalizas o que no tienen uso. Gracias al avance de la tecnología se puede afrontar este contexto y es en el uso de organismos genética modificados (OGM) que pueden crecer y sobrevivir a condiciones muy adversas y dan un mayor aporte nutricional. El objetivo de este trabajo es el análisis de genes prospectos (OsPAO2, OsPAO4 y OsPAO5) de nopal (*Opuntia ficus-indica*) en condiciones de estrés abiótico (calor y frio) mediante una PCR semicuantitativa y el análisis filogenético debido a que se desconoce su secuencia

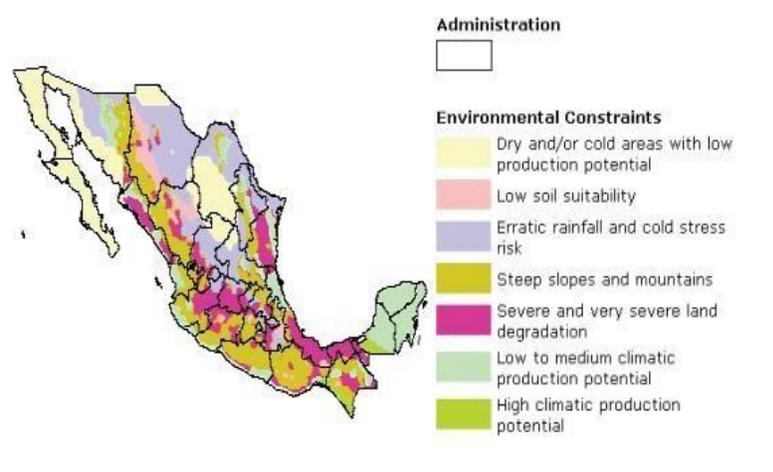


Figura 1. Mapa de condiciones ambientales en el país.

II. MARCO TEÓRICO

A. Poliaminas

Las poliaminas (PAs) son pequeñas moléculas alifáticas con carga positiva que se presentan animales, bacterias y plantas de forma ubicua (todas partes). Las poliaminas más comunes en plantas son la putrescina (Put), espermidina (Spd) y espermina (Spm). Aunque en algunas variedades de plantas se encuentran también la tetramina y termoespermina. [1]. Put se origina de la descarboxilación de arginina o ornitina, Spd se sintetiza a partir de Put en conjunto de la descarboxilación de S-adenosilmetionina y Spm se origina a partir de la síntesis de Spd [2].

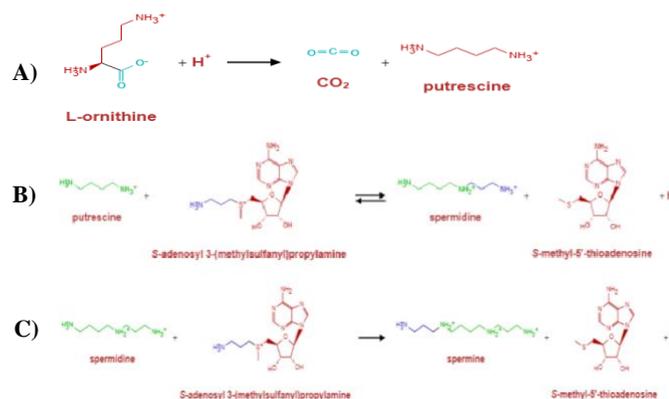


Figura 2. Biosíntesis de las poliaminas en *Arabidopsis Thaliana* A) Biosíntesis de la putrescina B) Biosíntesis de la espermidina C) Biosíntesis de la espermina [2]

B. Amino Oxidasas.

Las oxidasas de amina de cobre (CuAOs) y las oxidasas de amina que contienen flavina (PAOs) llevan a cabo la desaminación oxidativa de las poliaminas. Las amino oxidasas contribuyen al equilibrio de las poliamina y en la producción de peróxido de hidrógeno derivado que se ha correlacionado con la maduración de la pared celular y la lignificación durante el desarrollo de la planta. Como molécula de señal, el peróxido de hidrogeno derivado media la muerte celular, la respuesta hipersensible y la expresión de genes de defensa. Además, los aminoaldehídos y el 1,3-diaminopropano que son también productos derivados de la oxidación de las poliaminas participan en la síntesis de metabolitos secundarios y la tolerancia al estrés abiótico [3]. CuAO es una proteína homodimérica en la que cada subunidad contiene un ión Cu^{2+} y un cofactor 2,4,5-trihidroxifenilalanina quinona (TPQ) generado por una modificación postraduccional. CuAO de microbios, animales y plantas oxida a Put y cadaverina (Cad) en los grupos amino primarios. PAO lleva un cofactor Flavín adenín dinucleótido (FAD) unido no covalentemente y oxida a Spm y Spd en los grupos amino secundarios. La PAO bacteriana y vegetal ataca en el carbono del lado endo en el N4 de Spd y Spm también participa en el catabolismo terminal de las poliaminas.

D) Poli amino oxidasas (PAOs)

Las PAOs son altamente expresadas en monocotiledóneas. Las PAOs no solo regulan los niveles de poliaminas en la célula, sino que también contribuyen en procesos fisiológicos a través de sus productos de reacción como aminoaldehídos, 1,3-diaminopropano (DAP) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2). El 4-aminobutanal puede metabolizarse a GABA que es un metabolito importante asociado con varios procesos fisiológicos que se produce en gran parte a la respuesta del estrés biótico y abiótico. Mientras que el DAP es precursor de la b-alanina y las PAs poco comunes que se asocian con la tolerancia al estrés. Lo mismo sucede con el peróxido de hidrogeno el cuál se produce en los compartimientos del apoplasto e intracelularmente. [4]

III. METODOLOGÍA

Se realizó una PCR Se realizó un master mix en tubo Eppendorf de 1 mL el cual contenía:

- Buffer $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 15 x 2.5 μL
- MgCl_2 50 Mm 15 x 1.5 μL
- dNTPs 10 mM 15 x 0.5 μL
- Primer FWD 10 pm 15 x 0.5 μL
- Primer REV 10 pm 15 x 0.5 μL
- Taq polimerasa [2u/ μL] 15 x 0.12 μL
- Agua s/n nucleasa 15 x 20 μL

Nota: Para cada tubo eppendorf de 50 μL se agregaron 24 μL del master mix y 1 μL de DNA a una concentración de 100 ng

Se mezcló por pipeteo, luego de esto se colocó el tubo en la microcentrífuga y se le dio un spin. Posteriormente de que se mezcló el contenido del tubo, se colocaron en el termociclador y se programó lo siguiente:

94°C x 2'	}	35 x
94°C x 30"		
53°C x 45"		
72°C x 45"		
72°C x 5'		
4°C x α		

Se procedió a verificar el producto obtenido realizando una electroforesis en gel de agarosa con una concentración de 1.8 %. En el carril 1 se cargó un marcador de peso molecular de 100 bp, posteriormente se carga 5 µL de la PCR y 1 µL de buffer de carga en los carriles siguientes. Durante 30 minutos se corrió el gel a 80 V con buffer SB y al finalizar se observó en el UVP.

IV. RESULTADOS

Bajo condiciones de estrés, las PA podrían realizar estas funciones mejor cuando los cambios en su metabolismo son transitorios y dentro de límites más estrechos, evitando así perturbaciones catastróficas en la homeostasis celular general de C y N. En la actualidad hay cuatro tipos de estudios que respaldan la importancia de las PAs en la respuesta al estrés en plantas:

- (i) Un incremento en la biosíntesis de PAs en plantas a través de la expresión transgénica generalmente aumenta su tolerancia a una variedad de tensiones.
- (ii) La acumulación de PAs en plantas bajo condiciones de estrés se acompaña de un aumento en la actividad de las enzimas biosintéticas de PA y la expresión de sus genes.
- (iii) Las plantas que presentan mutaciones en los genes biosintéticos de PAs generalmente tienen menos tolerancia al estrés abiótico.
- (iv) El suministro de PAs hace que las plantas toleren el estrés mientras que la inhibición de su biosíntesis las hace más propensas al daño por estrés. [5,6]

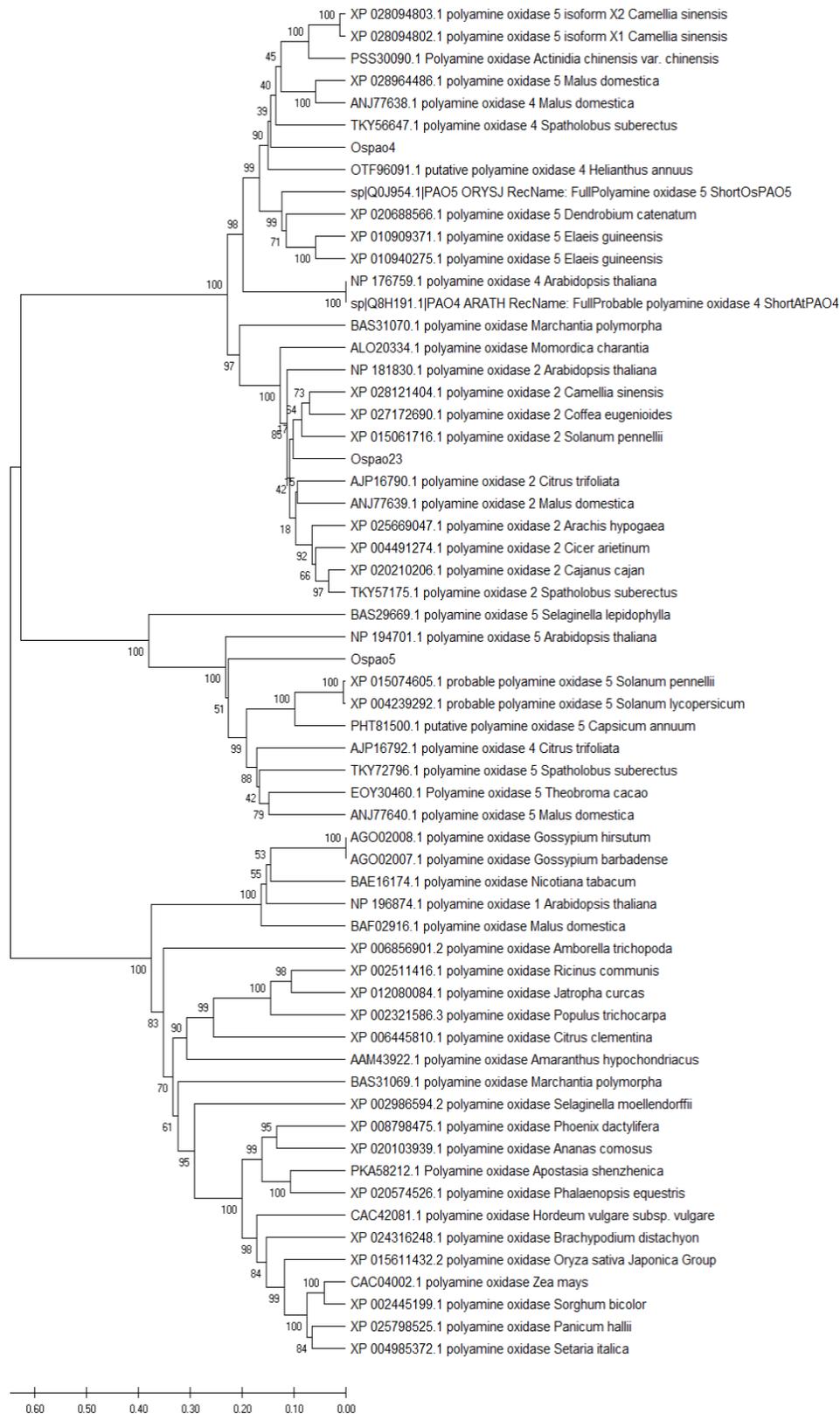


Figura 3. Árbol filogenético de las Poliamino oxidasas en plantas y su relación con la OsPao2, OsPao4 y OsPao5

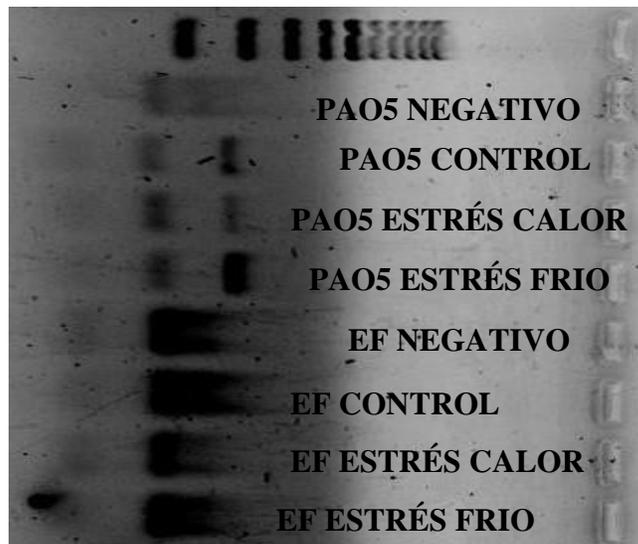


Figura 4. Gel de electroforesis de una PCR de OsPao5 y EF.

V. CONCLUSIONES

En este proyecto se propusieron los genes OsPAO2, OsPAO4 y OsPAO5 de *Opuntia ficus* como candidatos para la tolerancia a estrés abiótico y solamente OsPAO5 mostró resultados positivos a un incremento en condiciones de estrés a bajas temperaturas por lo que se puede tomar como un gen modelo para la inserción en una hortaliza.

Aunque no se conozca su secuencia como tal en el análisis de la filogenia muestra una distancia cercana a *Arabidopsis Thaliana* la cuál es una plana modelo y se puede basar en ella para su posterior estudio de la secuencia.

VI. RECONOCIMIENTOS

Expreso mi agradecimiento a la Universidad de San Luis Potosí en especial a la facultad de Agronomía y Veterinaria por su gran recibimiento. A la doctora María de la Luz Guerrero González por permitirme colaborar en su proyecto y facilitarme los recursos necesarios para cumplir el objetivo de la estancia y para finalizar una mención honorífica a la técnica de laboratorio Marcela por todo el apoyo brindado durante mi estancia.

REFERENCIAS

- [1] Gao, Ji-Ping; et al. (2007). "Understanding Abiotic Stress Tolerance Mechanisms: Recent Studies on Stress Response in Rice". *Journal of Integrative Plant Biology*. 49 (6): 742–750. doi:10.1111/j.1744-7909.2007.00495.
- [2] Cona, A., Rea, G., Angelini, R., Federico, R., & Tavladoraki, P. (2006). Functions of amine oxidases in plant development and defence. *Trends in Plant Science*, 11(2), 80–88. doi:10.1016/j.tplants.2005.12.009
- [3] Sebela, M. et al. (2001) FAD-containing polyamine oxidases: a timely challenge for researchers in biochemistry and physiology of plants. *Plant Sci*. 160, 197–207
- [4] Apel, K. and Hirt, H. (2004) Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal

transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55, 373–399

- [5] Rea, G. et al. (2004) Ectopic expression of maize polyamine oxidase and pea copper amine oxidase in the cell wall of tobacco plants. *Plant Physiol.* 134, 1414–1426
- [6] Yoda, H. et al. (2003) Induction of hypersensitive cell death by hydrogen peroxide produced through polyamine degradation in tobacco plants. *Plant Physiol.* 132, 1973–1981.

Identificación molecular de hongos fitopatógenos de hortalizas para productores de INFOOD

Karina del Rocío Buzo Reyes¹

María Gabriela Huerta Zacarías²

Universidad Politécnica del Bicentenario

Carr. Nacional Romita Km. 2,

San Juan los Durán, 36283 Silao, Gto.

¹16030202@upbicentenario.edu.mx

²16030228@upbicentenario.edu.mx

Asesor: Christian Salvador Mendoza Hernández

Universidad Politécnica del Bicentenario

Carr. Nacional Romita Km. 2,

San Juan los Durán, 36283 Silao, Gto.

cmendozah@upbicentenario.edu.mx

Resumen — En Guanajuato los productores de pimiento en la empresa INFOOD con problemas de “secadera”, requieren de estrategias para enfrentar esta enfermedad. De raíces de plántulas de estos invernaderos se aislaron tres hongos *Fusarium oxisporum*, *Phytophthora capsici* y *Alternaria solani* identificados por morfología colonial y microscópica. Se amplificaron por PCR las secuencias de hongos aislados de muestras vegetales pertenecientes a diferentes sitios de cultivo de la empresa INFOOD. Esta investigación tiene como objetivo caracterizar los agentes fúngicos causales de la secadera de *Capsicum annum*, de acuerdo a sus estructuras microscópicas y corroborar su identidad mediante técnicas de biología molecular. No obstante, es un trabajo en curso, se está haciendo un análisis más amplio de muestras de raíces provenientes de distintos sitios.

Palabras clave — Hongos, fitopatógenos, secadera, *Capsicum annum*, PCR, biología molecular.

Abstract — In Guanajuato, pepper producers in the INFOOD company with “dryer” problems require strategies to deal with this disease. Three *Fusarium oxisporum*, *Phytophthora capsici* and *Alternaria solani* fungi identified by colonial and microscopic morphology were isolated from seedling roots of these greenhouses. The fungal sequences isolated from plant samples belonging to different cultivation sites of the INFOOD company were amplified by PCR. This research aims to characterize the causal fungal agents of the *Capsicum annum* dryer, according to their microscopic structures and corroborate their identity through molecular biology techniques. However, it is a work in progress, a broader analysis of root samples from different sites is being made.

Keywords — Fungi, phytopathogens, dryer, *Capsicum annum*, PCR, molecular biology.

I. INTRODUCCIÓN

La agricultura constituye uno de los pilares fundamentales en la economía mundial y el sustento principal para la vida humana. Por esta razón, la acción de ciertos organismos fitopatógenos sobre las cosechas puede provocar graves problemas, como la baja producción y desarrollo de cultivos o incluso la desaparición de los mismos, lo que supondría graves pérdidas económicas. (Juárez-Becerra et al., 2010). La marchitez del chile también es asociada a un complejo de hongos fitopatógenos, donde se incluye a *Phytophthora capsici*, *Fusarium spp* y *Rhizoctonia solani*. En trabajos de invernadero, se ha detectado que cuando se inoculan plantas de chile con *P. capsici* solo o en combinación con otros dos fitopatógenos, las plantas mueren en 10 días aproximadamente. Cuando se inoculan con *Fusarium spp* y *R. solani*, las plantas presentan un amarillamiento y se requiere más tiempo para que la planta muera (30-60 días) (González, et al; 2002). Otra diferencia en la sintomatología que presentan estos hongos es que cuando la infección es por *R. solani*, la lesión en el cuello no es compacta y la epidermis se desprende, mientras que con *P. capsici*, la podrición es dura y no se descascara (Mendoza y Pinto, 1985).

Esta problemática varía en la incidencia, control y/o tratamiento de las enfermedades, provocando una identificación imprecisa de hongos fitopatógenos y una pobre información sobre el rol ecológico de cada especie y su impacto ambiental (Rebollar-Alviter y Nita 2011). La identificación preliminar de fitopatógenos basada en estudios taxonómicos de los hongos y su patología sobre hospedero (Aoki et al., 2005), requiere tiempo y experiencia considerable, sin embargo, los métodos moleculares como PCR agilizan la identificación analizando regiones específicas dentro de genes. Las secuencias de espaciadores transcritos internos (ITS) y regiones como el factor de elongación 1-alfa (TEF 1- α) son las más utilizadas en la identificación, como código de barras estándar para hongos (Fernández-Orduño et al., 2010), y una vez identificados ejercer medidas para controlar su proliferación.

II. MARCO TEÓRICO

México registra una superficie sembrada mayor a 9,200 hectáreas de pimiento Morrón. El pimiento morrón en México es un cultivo de alta rentabilidad debido a que se exporta en gran medida hacia diversos países del mundo, siendo el principal socio comercial Estados Unidos de América. Jalisco y Guanajuato son los estados con mayor superficie de pimiento morrón bajo invernadero registradas, ambos aportan el 6% del total de la superficie, toda esta superficie en producción bajo invernadero. Cada estado aporta el 3% de la superficie. (Agroproductores, S/F).

PCR

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una técnica sensible y muy útil para obtener y generar muchas copias de secuencias específicas de ADN de una muestra compleja de ADN con una diversidad y abundancia diferencial de secuencias; a este proceso se le conoce como: amplificación del ADN. Para llevar a cabo este proceso, se requiere de la utilización de una enzima llamada Taq Polimerasa que es ampliamente utilizada en estos métodos y sus variantes. (Checa, 2017).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Los bioensayos se realizaron en el laboratorio de Agrotecnología perteneciente a la Universidad Politécnica del Bicentenario. El trabajo parte de una colección de cepas de *Fusarium oxisporum*, *Phytophthora capsici* y *Alternaria solani* identificados previamente por morfología colonial y microscópica.

A. Identificación molecular

Multiplicación del hongo para extracción de ADN. Aislamientos de *Fusarium oxisporum*, *Phytophthora capsici* y *Alternaria solani* se cultivaron durante seis días en medio líquido (PDA), a temperatura ambiente. Se hicieron tres repeticiones por aislamiento éstos se dejaron crecer diez días. El micelio obtenido de cada aislamiento fue filtrado en cámara de flujo laminar y enviado a liofilizar al departamento CIATEJ, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C.

Extracción de ADN. La extracción de ADN de los aislamientos de *Fusarium oxisporum*, *Phytophthora capsici* y *Alternaria solani* se llevó a cabo en el laboratorio de Agrotecnología de la Universidad Politécnica del Bicentenario, empleando la técnica PCR *Polymerase Chain Reaction*.

Con las muestras liofilizadas en tubos se pesaron para la extracción 20 mg de cada tejido. Se calentó la incubadora a 65°C.

Se prepararon 10 ml de buffer de extracción CTAB (NaCl 0.818 ml, EDTA pH 8.0 0.4 ml, Tris HCl 1 ml pH 8.0, CTAB 0.20 Mm). Posteriormente, se colocó el tubo con el buffer a una temperatura de 60°C por 15 minutos a baño maría. Se afora con agua destilada a 10 mililitros y se agregan 200 µL de B-mercaptoetanol al 20% cuando el tubo enfria.

Se agregan 700 µL a cada tubo de muestra y se incuban por 30 minutos. Después de agregan 600 µL de cloroformo: Alcohol isoamílico 24:1 a 20°C. Se centrifuga por 15 minutos a 10,000 rev/min a 4°C.

Se agregan 500 µL de isopropanol para precipitar los ácidos nucleicos. Se incuba a 80°C por una hora o bien, a 4°C por 24 horas. Se vuelve a centrifugar a 13,000 rev/min por 15 minutos a 4°C para que la pastilla de DNA (o pellet) se pegue en la pared. Después de incubarse se vuelve a centrifugar 15 minutos a 10,000 rev/min a 4°C.

Se lava la pastilla con 600 µL de etanol absoluto frío, a 4°C.

B. Preparación de Gel de Agarosa

50 ml-1,2%- Se realiza la relación para utilizar en la mezcla 50 ml de TAE. La mezcla se coloca en el horno para que se solubilizará, se cuida que no se derrame dentro del horno. A la mezcla fría se le agrega 1 µL gel red para teñir. Esperar a que solidifique.

C. Cámara de electroforesis

En la cámara se corre el gel a 65 volts durante 1 hora. Se agregan 30 ml de agua miliQ a las muestras y disolver con pipeteo, re suspender con pipeta.

D. En espectrofotómetro

Se coloca el testigo para verificar que no haya nada o que no esté contaminado en el espectrofotómetro 808 ng/ µL. Se colocan todas las muestras.

Se utiliza el programa BioRad (se programa) y se realizan cálculos con los datos obtenidos para tener 100 nanogramos/microlitos. Agregar la cantidad de muestra de DNA al tubo nuevo. Agregar el restante de 50 µL con agua miliQ. Almacenar los tubos a 4°C. A 24°C.

El termociclador corre a 30 ciclos en los siguientes cambios de temperatura:

- 94°C por 30 segundos
- 58°C por 40 segundos
- 72°C por 40 segundos

Al final se hace una extensión de 72°C por 5 minutos.

E. Gel

Hidratar gel con TAE. Para teñir DNA usar buffer de carga. Cuando las muestras son mayores a 3,000 ng/ μ L se utiliza menos buffer, más DNA o la misma cantidad. (1 μ L de DNA y 1 μ L de Buffer)

En un parafilm se colocan las gotas de DNA y el buffer, con el correspondiente volumen en la pipeta. Se colocan las muestras en los pozos del gel. El gel se corre a 90 miliamps/volts por 40 minutos aproximadamente.

Se hace otro gel para observar los PCR's. Agregar 2 μ L de buffer y 2 μ L de PCR a cada tubo. Introducir el gel al transiluminador para observar la calidad del ADN. Observar láminas de DNA.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvo el siguiente gel con las correspondientes muestras para observar la amplificación del ADN.



Figura 1. Gel de agarosa con muestras de hongos fitopatógenos.

En espectrofotómetro se obtuvo el siguiente resultado

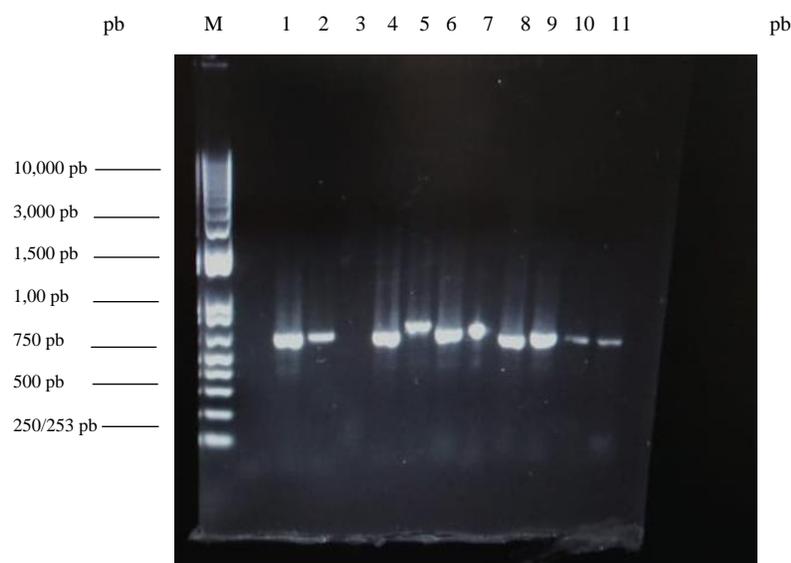


Figura 2. Amplificación de ADN de *Fusarium oxisporum*, *Phytophthora capsici* y *Alternaria solani*. Obtenido de muestras vegetales de *Capsicum Annum*.

Como se puede apreciar, se obtuvo ADN de buena calidad. En el carril 11 se depositó el ADN total de *Fusarium oxisporum*, *Phytophthora capsici* y *Alternaria solani* el cual fue extraído por micelio como todas las demás muestras. Se puede observar en la Figura 2 que no existe un barrido, lo que significa que el ADP no fue degradado, por tal motivo, ésta muestra fue seleccionada para su amplificación.

En el carril 3 no se presenta ninguna banda, probablemente la cantidad de ADN utilizada como templete no fue suficiente.

En el carril 7 se presenta una anomalía en el barrido debido a que hubo mala inyección de muestra en el gel.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La amplificación obtenida del ADN no fue secuenciada debido a que en nuestras instalaciones no se cuenta con el equipo necesario para realizar dicha práctica. Se pretende enviar la amplificación a un laboratorio accesible y continuar con la investigación. Como recomendaciones se exponen las siguientes:

Complementar la identificación de los hongos por medio de otras técnicas como el análisis de ácidos grasos y métodos basados de ADN y ARN.

Realizar estudios evaluando diferentes temperaturas de incubación en el momento para lograr condiciones similares a las de los parámetros.

Utilizar otros métodos de aislamiento que permitan la obtención de la mayor variedad de géneros y especies, incluyendo métodos para recuperación de microorganismos no cultivables como lo son la extracción de ADN directamente en el suelo y la secuenciación de la subunidad pequeña de rADN.

VI. RECONOCIMIENTOS

A Universidad Politécnica del Bicentenario por permitirme realizar la parte experimental de este trabajo en el laboratorio de Agrotecnología.

A mi asesor durante este proyecto M.C. Christian Salvador Mendoza Hernández y a mis profesores M.C. Ma. Eugenia Salas Galván y M.C. Hugo Alberto Velázquez Ruíz que me asesoraron en el proceso de experimentación, y a Luis laboratorista de Agrotecnología.

A mis compañeras de proyecto María Gabriela Huerta Zacarías y Daniela León Ramírez.

REFERENCIAS

- Juárez-Becerra, G. P., Sosa-Morales, M. E., López-Malo, A. (2010). Hongos fitopatógenos de alta importancia económica: descripción y métodos de control. Temas selectos de Ingeniería de Alimentos Vol.4, 14-23.
- Mendoza Z. C. y B. Pinto C. 1985. Principios de fitopatología y enfermedades causadas por hongos. Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Parasitología Agrícola. Chapingo, México. P. 153-159, 248, 286-287.

- Rebollar-Alviter A., Nita M. 2011. Optimizing Fungicide Applications for Plant Disease Management: Case studies on Strawberry and Grape. Fungicides Beneficial and Harmful Aspects. Thajuddin N (Ed), ISBN: 978-953-307-451-1
- Fernández-Ortuño Dolores, Loza-Reyes E, Atkins S, Fraaije B. 2010. The CYP51C gene, a reliable marker to resolve interspecific phylogenetic relationships within the Fusarium speces complex and a novel target for species-specific PCR. International Journal of Food Microbiology. 144:301-309.
- González Ch. M. M., I. Torres P. y H. Guzmán M. 2002. Patógenos involucrados en la marchitez del chile. In: Proceedings of the 16th International Pepper Conference. Tampico, Tam. México. November 10-12.
- Agroproductores. (S/f). El cultivo de pimiento morrón en México. Sitio web:
<http://agroproductores.com/pimiento-morron-en-mexico/>
- Alberto Checa Rojas. (2017). Método: PCR. 2019, Agosto 29, Conogasi.org Sitio web:
<http://conogasi.org/articulos/metodo-pcr/>

Los sarcófágidos (Diptera: Sarcophagidae) del Cañón de Fernández, Lerdo, Durango

Ángel Mauricio Cano Sandoval

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Unidad Laguna
Periférico Raúl López Sánchez s/n. Col. Valle Verde, CP 27059, Torreón, Coahuila.
amcanos@hotmail.com

Asesor: Fabián García-Espinoza

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Unidad Laguna
Periférico Raúl López Sánchez s/n. Col. Valle Verde, CP 27059, Torreón, Coahuila.
garcia-espinoza@hotmail.com

Resumen — Durante las estaciones de primavera, verano y otoño del año 2018 se llevó a cabo el presente trabajo para obtener información sobre la diversidad, distribución y biología de los sarcófágidos que se presentan en el Cañón de Fernández, Lerdo, Durango. Las colectas se realizaron utilizando redes entomológicas y por medio de cebo preparado que fue elaborado con carne de pollo, pescado y estiércol de bovino. Los especímenes colectados fueron preservados en frascos con etanol al 70%, y transportados al laboratorio del departamento de Parasitología de la UAAAN UL para su posterior montaje e identificación. Se colectaron un total de 108 especímenes de la familia Sarcophagidae, todos estos distribuidos en 18 generos.

Palabras clave — diversidad, cebo preparado, especímenes.

Abstract — During the spring, summer and autumn seasons of 2018, this work was carried out to obtain information on the diversity, distribution and biology of the sarcophagi that occur in the Fernández Canyon, Lerdo, Durango. The collections were made using entomological networks and by means of prepared bait that was made with chicken meat, fish and bovine manure. The specimens collected were preserved in bottles with 70% ethanol, and transported to the laboratory of the Department of Parasitology of the UAAAN UL for subsequent assembly and identification. A total of 108 specimens of the Sarcophagidae family were collected, all of them distributed in 18 genera.

Keywords — diversity, prepared bait, specimens.

I. INTRODUCCIÓN

El orden Diptera constituye uno de los órdenes con mayor riqueza de especies, varias de ellas muy abundantes, estando presentes en prácticamente todas las áreas terrestres del planeta. Agrupa a aquellos insectos que se conocen bajo los epítetos comunes de “moscas”, “mosquitos”, “jejenes” y “chaquistes”, entre otros nombres más regionales o bien un poco más específicos aplicados a las familias o categorías superiores (Ibáñez-Bernal y Hernández-Ortiz, 2006).

Los dípteros cumplen diversas funciones en los ecosistemas como polinizadores, depredadores, parasitoides, fitófagos, entre otros, las cuales son de gran importancia para el mantenimiento y equilibrio de los ecosistemas (Hughes et al., 2000; Yeates et al., 2007).

El infraorden Muscomorpha es uno de los grupos más diversos del orden Diptera, se distribuye en todas las regiones biogeográficas del mundo; entre los caliptrados se destacan las familias Calliphoridae, Sarcophagidae y Muscidae, porque poseen especies con estados larvarios implicados en la descomposición de materia orgánica de origen animal, por ello son importantes a nivel médico, veterinario y forense (Blacio, 2018).

Los sarcófagidos, dípteros de hábitos sinantrópicos, son importantes como vectores mecánicos de agentes patógenos y por su capacidad para causar una parasitosis conocida como miasis, que define la infestación producida por larvas de moscas que invaden los tejidos y los órganos del hombre o de otros animales vertebrados (Rey, 1991). Las hembras de Sarcophagidae, todas larvíparas, depositan las larvas de primer estadio sobre carroña o cadáveres frescos, debido a ello muchas especies de esta familia son de interés forense (De Arriba y Sixto, 2006).

Estos son de cuerpo robusto y tamaño variable (de 2 a 23 mm). Coloración predominantemente grisácea, tórax y abdomen cubiertos con abundante pruinosidad, presentando el primero una disposición en fajas longitudinales, mientras que el abdomen presenta habitualmente una disposición de manchas del tipo tablero de ajedrez (Mello-Patiu et al., 2014).

Por lo anterior, el objetivo implícito de este proyecto de investigación es verificar la diversidad de los géneros de moscas de la familia Sarcophagidae que se encuentran establecidas en el Cañón de Fernández, así también conocer más acerca de su comportamiento y con ello contribuir al aumento de conocimiento de estos dípteros.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en el área protegida Cañón de Fernández, municipio de Lerdo, en el noreste del estado de Durango (25° 20' 02" N 103° 44' 07" O). Esta región se caracteriza por su clima seco, con temperaturas medias anuales de 20 °C y una precipitación media anual de 230 mm. Su altitud varía entre los 1165 y 1890 msnm.

Para la colecta de los especímenes, se utilizó la técnica de transecto de longitud aproximada de no menos de dos kilómetros de distancia, para esta actividad se utilizaron cebos con carne de pollo, carne de pescado y estiércol de bovino, también se utilizaron redes entomológicas.

Cinco a 12 cebos se colocaron en cada sitio de muestreo. Los cebos se posicionaron a una distancia de 200 a 300 metros entre sí, se tomaron 10 minutos en cada punto o cebo para colectar la mayor cantidad de especímenes en ese lugar. También se usaron redes entomológicas (ligeras y de golpeo) para colectar moscas en un radio de 20 metros alrededor del sitio donde se colocaron las trampas.

Los especímenes colectados se colocaron en frascos con etanol al 70% con su respectiva etiqueta y se transportaron al Laboratorio del Departamento de Parasitología de la UAAAN UL.

Las colectas se hicieron en tres estaciones del año (primavera, verano y otoño). Las colectas de primavera y verano, abarcaron preferentemente los meses de marzo a septiembre, mientras que las colectas de otoño se hicieron durante el mes de septiembre.

Se hicieron anotaciones durante cada colecta sobre el sitio de estudio en particular, esto con la finalidad de registrar el hábitat de los especímenes colectados.

Los especímenes colectados se montaron con alfileres entomológicos, cada uno de ellos con su respectiva etiqueta y colocados en cajas para colecciones entomológicas y se registraron en la base de datos de insectos de importancia forense de la Comarca Lagunera.

Los especímenes montados en alfileres entomológicos se usaron para la identificación a nivel género en el laboratorio de Parasitología de la UAAAN UL.



Figura 1. Identificación de los especímenes a nivel género en el laboratorio de Parasitología de la UAAAN – UL. Foto de José Alex Jiménez Cruz



Figura 2. Especímenes montados y colocados en una caja entomológica, cada uno de ellos con su respectiva etiqueta. Foto de Fabián García Espinoza

III. RESULTADOS

A continuación se presentan los principales resultados de la estancia dentro del 21 Verano de la Ciencia. Se identificaron principalmente especímenes pertenecientes al orden Diptera. En la tabla 1 se presentan los géneros de la familia Sarcophagidae y en la tabla 2 se presentan los géneros de la familia Calliphoridae y Muscidae.

Tabla 1. Géneros identificados de la familia Sarcophagidae

Géneros	Cantidad
<i>Archimimus</i>	1
<i>Bercaeopsis</i>	1
<i>Brachicoma</i>	1
<i>Comasarcophaga</i>	2
<i>Emblemasoma</i>	1
<i>Euboettcheria</i>	10
<i>Fletcherimya</i>	1
<i>Liosarcophaga</i>	1
<i>Neobellieria</i>	11
<i>Opsophyto</i>	2
<i>Oxysarcodexia</i>	1
<i>Pierretia</i>	1
<i>Ptychoneura</i>	1
<i>Ravinia</i>	2
<i>Robineauella</i>	28
<i>Sarraceniomyia</i>	34
<i>Spirobolomyia</i>	2
<i>Udamopyga</i>	8

Tabla 2. Otras familias, géneros y especies de dípteros colectados identificados

Familias	Géneros	Especie
Calliphoridae	<i>Chrysomya</i>	<i>Ch. rufifacies</i>
		<i>Ch. megacephala</i>
	<i>Lucilia</i>	<i>L. sericata</i>
		<i>L. mexicana</i>
	<i>Cochliomyia</i>	<i>Co. hominivorax</i>
		<i>Co. Macellaria</i>
Muscidae	<i>Identificación hasta nivel familia</i>	<i>Identificación hasta nivel familia</i>

IV. DISCUSIÓN (O ANÁLISIS DE RESULTADOS)

Durante las colectas realizadas en este estudio se obtuvieron un total de 108 especímenes pertenecientes a la familia Sarcophagidae, los cuales se colectaron en tres estaciones del año, primavera, verano y otoño del año 2018.

García (2011), García-Espinoza y Valdés-Perezgasga (2012) y Valdés (2009) consignan para la Comarca Lagunera los géneros: *Euboettcheria*, *Neobellieria*, *Paraphrissopoda*,

Tytanogrypa, *Aracnidomyia*, *Comasarcophaga*, *Boettcheria*, *Kellymyia*, *Bellieria*, *Bercaea*, *Liopygia*, *Oxysarcodesia*, *Archimimus camatus*, *Eumacronychia*. En este estudio se consignan los géneros: *Archimimus*, *Bercaeopsis*, *Brachicoma*, *Comasarcophaga*, *Emblemasoma*, *Euboettcheria*, *Fletcherimya*, *Liosarcophaga*, *Neobellieria*, *Opsophyto*, *Oxysarcodexia*, *Pierretia*, *Ptychoneura*, *Ravinia*, *Robineauella*, *Sarraceniomyia*, *Spirobolomyia* y *Udamopyga*. Los géneros *Bercaeopsis*, *Brachicoma*, *Emblemasoma*, *Fletcherimya*, *Liosarcophaga*, *Opsophyto*, *Pierretia*, *Ptychoneura*, *Ravinia*, *Robineauella*, *Sarraceniomyia*, *Spirobolomyia* y *Udamopyga* constituyen nuevos registros para la familia Sarcophagidae en el norte de México.

Cabe mencionar que además de moscas de la familia Sarcophagidae, también se colectaron especímenes de otras familias como Muscidae y Calliphoridae, sin embargo se colectaron principalmente sarcófagidos.

Los géneros y especies de califóridos encontrados en este estudio ya han sido mencionado en otras investigaciones previas (Valdés, 2009), siendo, por ejemplo *Ch. rufifacies* y *Co. macellaria* las especies más abundantes durante la época calurosa, mientras que para la época fría predominan las especies de género *Lucilia* (García, 2011).

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En la investigación realizada se lograron identificar 18 generos de moscas pertenecientes a la familia Sarcophagidae, 3 géneros y 6 especies a la familia Calliphoridae y hasta nivel familia ha Muscidae.

De acuerdo a la investigación y a los resultados obtenidos se concluyó que el área del Cañón de Fernández alberga gran diversidad de géneros de moscas de la familia Sarcophagidae, además de otras familias como Calliphoridae y Muscidae.

VI. RECONOCIMIENTOS (O AGRADECIMIENTOS)

Al M.C. Fabián García Espinoza por brindarme la oportunidad de participar en el 21° Verano de la Ciencia de la Región Centro. Junio-agosto 2019 y su apoyo durante el desarrollo de este trabajo.

REFERENCIAS

- Blacio C.,K.V. 2018. Importancia forense en el cantón Pedro Moncayo, Pichincha, Ecuador. Tesis de licenciatura. Universidad Central del Ecuador. 93 p.
- De Arriba, A.V., y S.R. Costamagna. 2006. Desarrollo post-embrionario de *Microcerella acrydiorum* (Diptera: Sarcophagidae) bajo condiciones de laboratorio. Revista Sociedad Entomológica Argentina, 65(1-2):55-61.
- García F. 2011. Estudio del desarrollo y ciclo vital de califóridos y biotipificación de géneros de sarcófagidos de torreón, Coahuila. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro – Unidad Laguna. Torreón, Coahuila. 124 pp
- García-Espinoza F. y M. T. Valdés-Perezgasga. 2012. Listado de géneros de la familia Sarcophagidae (Diptera) asociados a carroña en Torreón, Coahuila. Departamento de Parasitología Agrícola, UAAAN-UL. Torreón Coahuila. 5 Pp.

- Hughes, J., G. Daily & P. Ehrlich. 2000. Conservation of insect diversity: a habitat approach. *The journal of the society for conservation biology*, 14(6):1788-1796.
- Ibáñez-Bernal, S., y V. Hernández-Ortiz. 2006. Catálogo de autoridad taxonómica orden díptera (Insecta) en México. Parte 1. Suborden Nematocera. (En línea). <http://www.conabio.gob.mx/institucion/proyectos/resultados/InfCS004%201.pdf> (Fecha de consulta: 14/vii/2019).
- Mello-Patiu, C.A., J.C. Mariluis, K.P. Silva, L.D. Patitucci. y P.R. Mulieri. 2014. Sarcophagidae. *Biodiversidad de Artrópodos*, 4:475-490.
- Valdés P., .M.T. 2009. Estudio inicial de insectos sobre carroña de cerdo en un área semidesértica de Coahuila. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro – Unidad Laguna. 218 pp.
- Yeates, D.K., B.M. Wiegmann, G.W. Courtney, R. Meier, C. Lambkin & T. Pape. 2007. Phylogeny and systematics of Diptera: Two decades of progress and prospects. *Zootaxa*, 1668:565-590.

Los Sarcófágidos (Diptera: Sarcophagidae) del Puerto de Ventanillas, San Pedro de las Colonias, Coahuila

José Alex Jiménez Cruz

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Unidad Laguna
Periférico y carretera a Santa Fe s/n, Torreón,
Coahuila
josaalex15@hotmail.com

Asesor: Fabián García-Espinoza

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Unidad Laguna
Periférico y carretera a Santa Fe s/n, Torreón,
Coahuila
garcia-espinoza@hotmail.com

Resumen — Durante el verano del 2019, se llevó a cabo el presente proyecto, con la finalidad de coleccionar, montar e identificar, moscas de la familia Sarcophagidae, en el Puerto de Ventanillas, San Pedro de las Colonias, Coahuila, se realizaron colectas por medio de cebo preparado, a partir de carne de pescado, pollo, res, estiércol de bovino y agua. Para la colecta de especímenes se utilizó la técnica de transecto, 200 metros de un punto a otro. Se recorrieron 2 kilómetros aproximadamente, en esta distancia se colocaron 5 o 6 puntos de colecta. Los especímenes recolectados fueron preservados en etanol al 70%, y transportados al departamento de Parasitología de la UAAAN UL para posteriormente identificarlos y colocarlos en una base de datos.

Palabras clave — Moscas, Sarcophagidae, puerto, colecta

Abstract — During the summer of 2019, this project was carried out, in order to collect, assemble and identify, flies of the Sarcophagidae family, in the Port of Ventanillas, San Pedro de las Colonias, Coahuila, collections were made through prepared bait, from fish meat, chicken, beef, bovine manure and water. The transect technique, 200 meters from one point to another, was used to collect specimens. Approximately 2 kilometers were traveled, in this distance 5 or 6 collection points were placed. The collected specimens were preserved in 70% ethanol, and transported to the Department of Parasitology of the UAAAN UL to later identify them and place them in a database.

Keywords — Flies, Sarcophagidae, harbor, collection

I. INTRODUCCIÓN

La familia Sarcophagidae es casi cosmopolita con más de 2,000 especies descritas en alrededor de 400 géneros; aproximadamente 327 especies están consignadas para Estados Unidos y Canadá. Representantes de esta familia son encontrados alrededor del mundo, con la mayoría de especies en regiones tropicales o de clima templado (Shewell, 1987 b; Byrd y Castner, 2010).

Los sarcófágidos pueden reconocerse por la presencia de tres bandas negras conspicuas sobre fondo gris en el tórax, así como por la combinación de características como la presencia de dos a cuatro setas notopleurales, la coxa posterior con setas sobre la superficie posterior y arista comúnmente plumosa. Las hembras son vivíparas u ovovivíparas, depositando larvas vivas de primer instar (Shewell 1987).

Sus hábitos son variados, comportándose como necrófagas, coprófagas, depredadoras y parasitoides (Pape 1996). En un importante número de especies las larvas son carroñeras, alimentándose de materia orgánica en descomposición, lo cual las ubica dentro

de los insectos de importancia forense como uno de los primeros organismos que colonizan cadáveres (Smith 1986).

Los sarcófágidos son elementos muy importantes en el componente necrófago, debido a que ciertas especies aparecen frecuentemente en cadáveres humanos (Goff, 1991; Anderson, 1995; Oliva 1997). Los sarcófágidos, dípteros de hábitos sinantrópicos, son importantes como vectores mecánicos de agentes patógenos y por su capacidad para causar una parasitosis conocida como miasis, que define la infestación producida por larvas de moscas que invaden los tejidos y los órganos del hombre o de otros animales vertebrados (Rey, 1991).

II. METODOLOGÍA

Ubicación de la zona de estudio. El presente estudio se llevó a cabo en el Puerto de Ventanillas, San Pedro de Las Colonias, Coahuila. El Puerto de Ventanillas se localiza en el Municipio San Pedro del Estado de Coahuila de Zaragoza México y se encuentra en las coordenadas GPS: Longitud: -102.735000, Latitud: 26.030278. La localidad se encuentra a una mediana altura de 1095 metros sobre el nivel del mar.

Época de estudio. Las colectas realizadas, se llevó a cabo durante el verano del 2019, con el fin de conocer, la diversidad de sarcophagidos en esta época.

Procedimiento experimental y sitios de estudios: Durante el verano del 2019, se realizaron colectas de dípteros sarcófagos en el Puerto de Ventanillas, municipio de San Pedro de Las Colonias, Coahuila. Las moscas se colectaron con una mezcla de estiércol de bovino, carne de res, carne de pollo, carne de pescado y agua

Método de recolección de especímenes: Para la colecta de los especímenes se utilizó la técnica de transecto de 200 metros de un punto a otro. Se recorrieron 2 kilómetros aproximadamente, en esta distancia se colocaron 5 o 6 puntos, en la cual en cada punto, se colocó el cebo preparado, y con la ayuda de una red entomológica, se colectaron las moscas y se preservaron en etanol al 70%, para posteriormente identificarlos.

Preservación e identificación de especímenes: Los especímenes colectados, fueron preservados en etanol al 70%, posteriormente fueron transportados al Laboratorio de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro – Unidad Laguna para su montaje e identificación.

La identificación de los especímenes se realizó a nivel género y/o especie bajo estereoscopio con las claves de Whitworth (2006) y Shewell (1987). Posteriormente se seleccionaron muestras para ser enviadas, con fines de identificación por expertos en los grupos colectados.

Manejo y presentación de datos: Los datos obtenidos, se registró en una base, en la cual se registró, familia, genero, localidad, coordenadas, sexo, etc.



Figura 1. Puerto de Ventanillas, área de estudio. Foto José Alex Jiménez Cruz



Figura 2. Elaboración del cebo. Foto Fabián García Espinoza

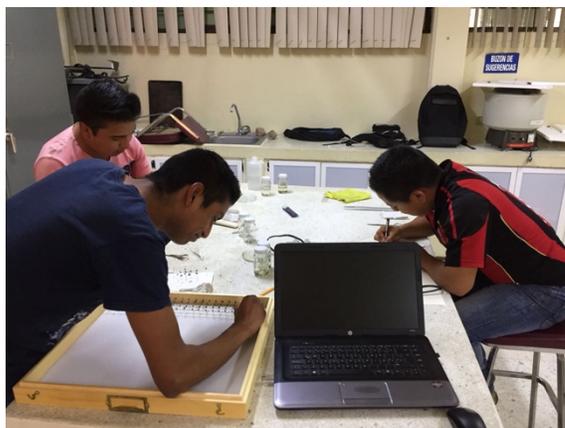


Figura 3. Montaje, identificación y traspaso de resultados a la base de datos. Foto Fabián García Espinoza

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante la época de verano se realizó la recolecta de moscas muscomorfas, especialmente de la familia sarcophagídea, con el fin de conocer su diversidad, se encontraron, moscas sarcophagas, calliforidos y múscidos, todas pertenecientes al orden díptera. De la familia sarcophagidae se encontraron los géneros; *Archimimus*, *Baercaeopsis*, *Brachichoma*, *Comasarcophaga*, *Euboettcheria*, *Liosarcophaga*, *Neobellera*, *Neosarcophaga*, *Paraphrissopoda*, *Ptyconeura*, *Ravinia*, *Robineauella*, y *Sarraceniomya*.

Tabla 1. Géneros identificados de la familia Sarcophagidae

Géneros	Cantidad
<i>Archimimus</i>	1
<i>Bercaeopsis</i>	2
<i>Brachicoma</i>	1
<i>Comasarcophaga</i>	43
<i>Euboettcheria</i>	48
<i>Neobellera</i>	33
<i>Liosarcophaga</i>	9
<i>Neosarcophaga</i>	1
<i>Paraphrissopoda</i>	9
<i>Ptyconeura</i>	5
<i>Ravinia</i>	2
<i>Robineauella</i>	56
<i>Sarraceniomya</i>	28

Tabla 2. Otras familias de dípteros encontrados

Familias	Géneros	Especie
Calliphoridae	<i>Chrysomya</i>	<i>Ch. rufifacies</i>
		<i>Ch. megacephala</i>
	<i>Lucilia</i>	<i>L. sericata</i>
		<i>L. mexicana</i>
<i>L. silvarum</i>		
<i>Cochliomyia</i>	<i>Co. hominivorax</i>	
	<i>Co. Macellaria</i>	
Muscidae	Identificación hasta nivel familia	Identificación hasta nivel familia

La diversidad de los dípteros muscomorfos del estado de Coahuila es amplio, concretamente en la Comarca Lagunera, en este estudio realizado en el Puerto de Ventanillas, San Pedro de las Colonias, Coahuila, se registraron 13 géneros de moscas de la familia sarcophagidae, siendo *Robineauella* la más dominada seguido por *Euboettcheria*, *Comasarcophaga* y *Sarraceniomya*, de los géneros con especímenes menos encontrados fueron, *Archimimus*, *Baercaeopsis*, *Brachihoma* y *Neosarcophaga*.

Perez, 2019, en su estudio realizado en la Comarca lagunera encontró un total de 181 sarcófagos, ubicándolos dentro de 18 géneros, un género coincide con las encontradas en este estudio realizado, que es *Neobellieria*, por lo cual se puede decir que esta familia de dípteros es muy diversa. Mientras que García (2011), Valdés (2009) y García-Espinoza y Valdés-Perezgasga (2012) consignan para la Comarca Lagunera los géneros: *Euboettcheria*, *Neobellieria*, *Paraphrissopoda*, *Tytanogrypa*, *Aracnidomyia*, *Comasarcophaga*, *Boettcheria*, *Kellymyia*, *Bellieria*, *Bercaea*, *Liopygia*, *Oxysarcodesia*, *Archimimus camatus*, *Eumacronychia*.

También se encontraron moscas de la familia Calliphoridae y Muscidae, estas últimas solo se identificaron a nivel familia, mientras que los califoridos se encontraron los géneros *Chrysomya*, *Lucillia* y *Cochliomya*.

IV. CONCLUSIONES

Durante este proyecto se pudo, recolectar e identificar, dípteros muscomorfos, en total se encontraron 13 géneros de moscas de la familia Sarcophagidae, y 3 de la familia Calliphoridae. Se puede concluir que el puerto de Ventanillas alberga una gran diversidad de dípteros muscomorfos.

REFERENCIAS

- Anderson, G.S. 1995. The use of insects in death investigations: an analysis of forensic entomology cases in British Colombia over a five year period. *Can. Soc.J. Forensic Sci*, 28(4):277-292.
- Byrd, H.J. y Castner J.L. 2010. Insects of forensic importance. En: Byrd y Castner (Eds.). *Forensic Entomology. The Utility of Arthropods in Legal Investigations*. Second edition. CRC Press, Boca Raton, FL, USA. 681 pp.
- García E., F. 2011. Estudio del desarrollo y ciclo vital de califoridos y biotipificación de géneros de sarcófagos de torreón, Coahuila. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro – Unidad Laguna. Torreón, Coahuila. 124 pp
- García-Espinoza F. Valdés-Perezgasga M. 2012. Listado de géneros de la familia Sarcophagidae (Diptera) asociados a carroña en Torreón, Coahuila. Departamento de Parasitología Agrícola, UAAAN-UL. Torreón Coahuila. 5 Pp.
- Goff, M.L. 1991. Comparison of insect species associated with decomposing remains recovered inside dwellings and outdoors on the Island Of Oahu, Hawaii. *J. Forensic Sci*, 36(3):748-753.
- Oliva, A. 1997. Insectos de interés forense de Buenos Aires (Argentina). Primera lista ilustrada y datos binómicos. *Revista del museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardo Rivadavia" e Instituto Nacional de Investigaciones de la Ciencia Buenos Aires*, 7(2):13-59.
- Pape, T. 1996. Catalogue of Sarcophagidae of the world (Insecta: Diptera). *Mem. Entomol. Inter*, 8:-558.
- Rey, L. 1991. *Parasitología*. Editorial Guanabara-Koogan, Río de Janeiro.
- Shewell, G.E. 1987. Sarcophagidae, In: *Manual of nearctic Diptera*. J. F McAlpine. Ottawa, Ontario, Canada, Biosystematic Research Center, Research Branch Agriculture Canada, 2:1159-1186.
- Smith, K. 1986. *A manual of forensic entomology*. The Trustees of the British Museum. Natural History, Londres, 205 p.

Valdés P., .M.T. 2009. Estudio inicial de insectos sobre carroña de cerdo en un área semidesértica de Coahuila. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro – Unidad Laguna. 218 pp.

Manipulación del metabolismo de poliaminas en hongos entomopatógenos para incrementar la eficiencia del control biológico de insectos plaga que atacan cultivos de importancia económica

Diana Marcela Velazquez Gil
Instituto Tecnológico Superior de Irapuato
Silao-Irapuato km 12.5 El copal,
36821 Irapuato, Gto.
marcela_velazquez22@hotmail.com

Asesora: Laura Valdés Santiago
Instituto Tecnológico Superior de Irapuato
Silao-Irapuato km 12.5 El copal,
36821 Irapuato, Gto.
laura.valdes@itesi.edu.mx

Resumen — La putrescina, espermidina y espermina son moléculas esenciales, sus niveles regulan el crecimiento, desarrollo y diferenciación de hongos. Para conocer el metabolismo de poliaminas en hongos entomopatógenos (HE) y así, eventualmente, manipularlo para incrementar su virulencia y por lo tanto, la eficiencia del control biológico de insectos plaga se realizó un escrutinio de las secuencias de proteínas reportadas para HE de la primera enzima de la vía la ornitina descarboxilasa (ODC) y la antienzima (AZ) proteína reguladora de la ODC. Se realizó un modelado por homología a partir de las secuencias de aminoácidos depositadas en la base de datos GenBank y en NCBI. El modelado por homología se efectuó utilizando el servidor SWISS-MODEL.

Palabras clave — Ornitina descarboxilasa, putrescina, espermidina, espermina, DLI-MA, SWISS-MODEL.

Abstract — Putrescine, spermidine and spermine are essential molecules, their levels regulate growth, development and differentiation fungi. The knowledge of polyamine metabolism in entomopathogenic fungi allows us to manipulate it, and this way, increase virulence and the efficiency of biological control of insect pests. We made and examination of reported proteins of the first polyamine pathway enzyme ornithine decarboxylase (ODC) and antizyme (AZ), the protein that regulated it. The aminoacid sequences found at GeneBank and NBCI database were used to protein homology modeling with SWISSMODEL.

Keywords — Ornithine decarboxylase, putrescine, spermidine, spermine, DLI-MS, SWISSMODEL.

I. INTRODUCCIÓN

Las poliaminas son moléculas de tamaño diminuto alifáticas involucradas en crecimiento y desarrollo celular en una amplia gama de organismos (Tabor, 1985; Ruiz-Herrera, 1994). Las tres poliaminas más comunes son putrescina, espermidina y espermina.

Según Pucheta Díaz et al.(2006), los hongos entomopatógenos tienen un gran potencial como agentes controladores, constituyendo un grupo con más de 750 especies, diseminándose en el medio ambiente y provocando infecciones fungosas a poblaciones de artrópodos; entre los géneros más importantes esta: *Metarhizium*, *Beauveria*, *Aschersonia*, *Entoophthora*, *Zoophthora*, *Erynia*, *Eryniopsis*, *Akanthomyces*, *Fusarium*, *Hirsutella*, *Cordyceps*, *Hymenostilbe*, *Paecilomyces* y *Verticillium* (Monzon, 2001), *Beauveria* genera efectos importantes, uno de ellos es que ayuda disminuir o bien retrasar la madurez de algunos insectos, además de la infertilidad de estos de acuerdo con los experimentos de Wang et al (2018). *Metarhizium* llega a presentar crecimiento radial en condiciones de

laboratorio y varía de acuerdo con los días va de 15 hasta 30 días esto después de la incubación. (Padilla-Melo et al 2000).

La ornitina descarboxisa ODC es la primera enzima de la vía de síntesis de poliaminas. La ODC da lugar a la putrescina, quien es la precursora de la espermidina y la espermina (Figura 1). La ODC es regulada mediante la intervención de una anti enzima (AZ) (ValdésSantiago y Ruiz-Herrera, 2015). Por ser esta enzima la primera en la ruta de biosíntesis de poliaminas y la precursora de la espermidina y la espermina (Bachrach U. et al, 2010), Chattopadhyay et al., 2006) este trabajo tuvo por objetivo el escrutinio de la presencia de la ODC y la AZ en los principales hongos entomopatógenos a nivel proteína, utilizando modelado por homología a partir de las secuencias de aminoácidos depositadas en la base de datos GenBank. El modelado por homología se hizo utilizando el servidor SWISSMODEL (Brunger, A. T et al., 1997).

II. MATERIALES Y METODOS

Se realizó un búsqueda en el Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) [1] de la ODC y las AZ's reportada para los HE: *Bauveria*, *Cordyceps brongniartii*, *Metarhizium*, *Hirsutella* y *Purpureocillium*.

Se obtuvieron datos claves de estas, como es el número de aminoácidos, identificación, acceso, organismo origen. También se tuvo acceso a la secuencia de los genes que dan lugar a la ODC (Figura 2).

Para la modelación de la proteínas presentes en 3D, se utilizaron las secuencias de proteínas de las ODC y se utilizaron en la plataforma swissmodel.expasy.org. [2], Este programa genera una posible estructura proteica en 3D, comparando además con ODC de otros organismos registradas en la plataforma (Figura 3).

Gracias a esta información se logró construir la posible estructura de la proteína tanto en su forma 3D en diferentes tipos de ángulos así como información general de la proteína (Figura 4).

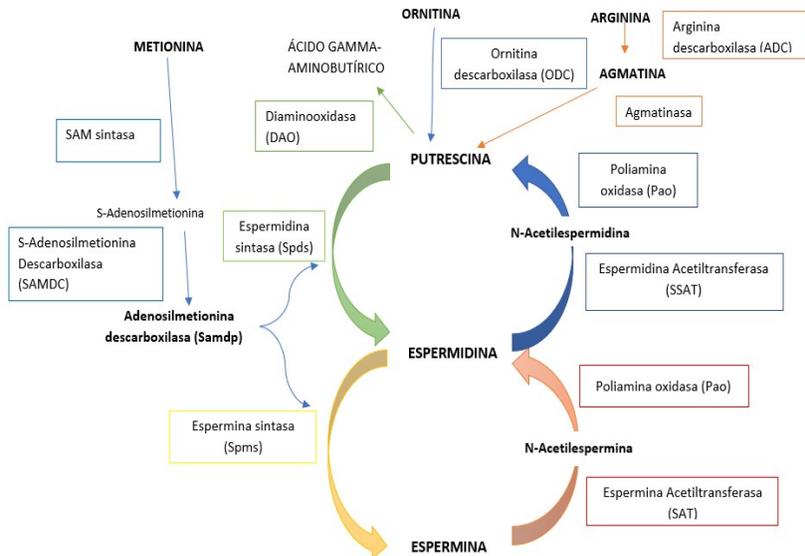


Figura 1 Metabolismo de las poliaminas. Mediante la adición de la ODC se genera la síntesis de la putrescina.

Beauveria brongniartii RCEF 3172 Scf_3, **whole genome shotgun sequence**
 >AZHA01000003.1:c69295-67861 **Beauveria brongniartii** RCEF 3172 Scf_3, **whole genome shotgun sequence**
 ATGTCGCAGATTACTCACCTACCATCAAGGGTATGTTTACTGTTACCAGCTGGAAAATAATGAAGTCG
 TTGCTGCCCGCTGCTGCTGCCCTCCTCGTGGGACGAAAGAGGGGGAGCTTGAAGCCATCGCAATTGC
 TCAAGAAAAGAGAAACGGAAAAACAGCTTTCGCGATTGATTCTCCATCGCTAACGTTGACAGATGGCT
 GGTCCGCGAAATCTCCAACATGTGGCCCGGCCAGGCCATGACCCTCAAGGTGCAAAAAGGTCCTCGACCA
 CGAAAAGTCCAAGTACCAGGACGTGCTCTCAAGTCGACCGACTACGGCCACGTGCTCGCTCGAC
 AACGTATCCAGTGCCTGAGCGGACGAGTTCTCCTACCAGGAAATGATTGCCACCTCGCCTTGAAC
 CGACCCCAACCCCAAGAAGGTGCTCGTCAATGGCGGCGGACGGCGGCGTCTCCGCGAGGTTGTCAA
 GCACGACTCGTTGAGGAGGCCATTCTCGCGACTTGCAGAGGATGATGCTCATCACCACCCAGCCTC
 TCATTGCGCAGATGTAACACTCGAGTCAATCAGGCTGTCCCCGCGTCTCCAAGAGTTCCTGCCCGA
 GATGGCCTCTGGCTCACCCAGCAAGACCCGTCACATCGGGACGGCTTCAAGTTCCTCAACGAT
 TACAAGAACCCTCGATGTCATCATTACCGACTTCTGACCCGAGGGCCCGCCGAGAGCCTCTTCC
 AGAAGCCCTACTTCCAGTCTCCATGACGCCCTCCGCGATGGCGGCGTCACTCCACCCAGGTTGTAT
 GTCTACTTTTTTCAACGGAAAAGTCGAGGTGCGCATGTTGATGATGGACAGGGGGCCAGCAGCGAGC
 CAATCTCGTGTGAGAGAAGTCTGCTACTTGCCTGCTGCTACAGGGCTTCTCCGCCCCGTTGCTGCGC
 TCCTGCTCTAGAGTAGTCCGCCATGAGCCAGTCTGACTTTTTCCGGACCCCAAGTCCGCGCTCGG
 TAGTCCGCGTGGCAGGGGTTCCCTATTTTCTGAAAAGCTGCCATTCTGATTCCGATGCTACTGT
 TTAATTGCGCGTGTACATGCTCTCTCACAGCCGAGAACAGTGGCTCCACCTCTCCCTCATCA
 CCCAGTCAAGAAGGACTGCAAGGAAATCTTCCCGCTGTCGAGTACGCTACAGCATTCCCGCCCTA
 CCCCTGGCCAGATTGGCTTCAATGGTCTGACGCAAGGACGCTCGCGGACGTCGAAGTCCCGCTCGC
 TCCTGGACCCCGCGAGGAGGAGGAAAAGTCCGCTACTACAATGCCGAAATTCACAAGGCTAGCTTG
 TCCTGCCAACCTTGGCAAGAAGGCCCTTCAATAG

Figura 2 Secuencia de nucleótidos en formato FASTA obtenido de la búsqueda.

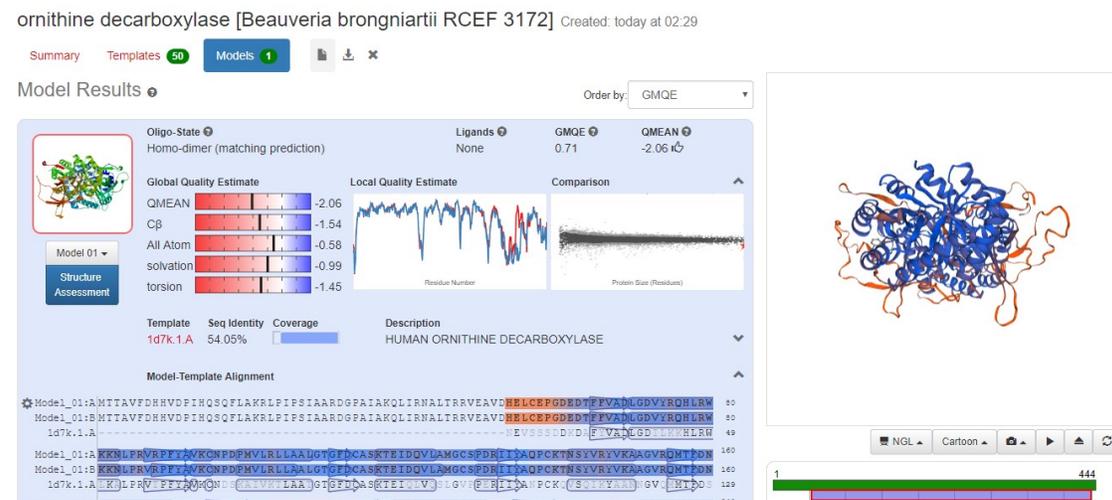


Figura 3 Obtención de modelado en 3D de las proteínas.

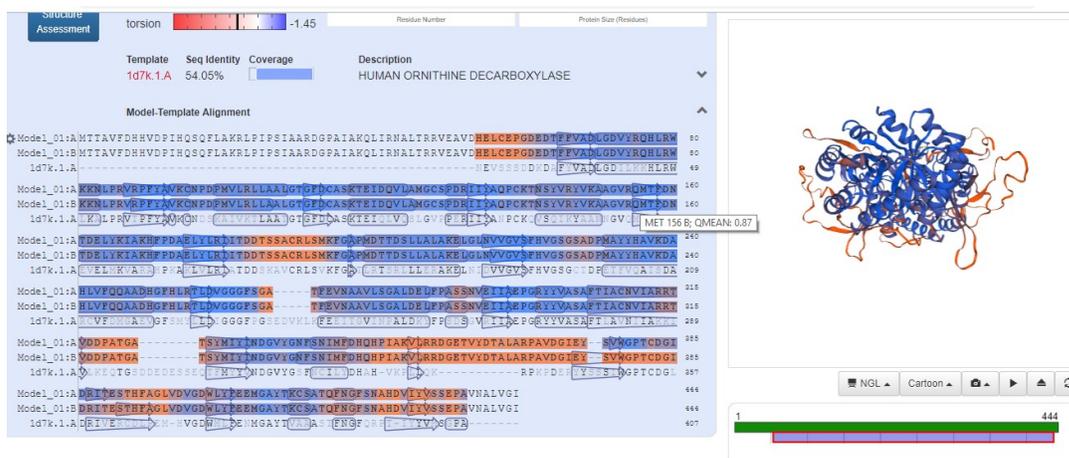


Figura 4 Modelado en 3D de la proteína.

III. RESULTADOS

Se encontraron 21 secuencias de proteínas para la ODC (Tabla 1) y 17 para la AZ (Tabla 2) en diferentes tipos de HE como son: *Purpureocillium*, *Hirsutella*, *Metarhizium* y *Cordyceps brongniartii* (Tabla 1).

Tabla 1 Resultados del modelado de la ODC.

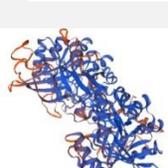
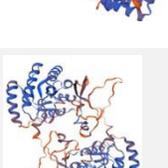
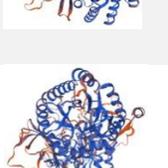
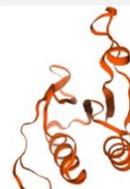
ENZIMA	HONGO ENTOMOPATÓGENO	NOMBRE DE LA PROTEÍNA	CLAVE/GENBANK	NO. DE AMINOÁCIDOS	FIGURA EN 3D
ODC	Cordyceps brongniartii	ornithine decarboxylase [Beauveria brongniartii RCEF 3172]	OAA38432.1	444 aa	
	Metarhizium	Ornithine Decarboxylase, partial [Metarhizium anisopliae]	AAQ91788.1	276 aa	
		ornithine decarboxylase [Metarhizium anisopliae]	KFG81722.1	447 aa	
	Hirsutella	Ornithine decarboxylase [Hirsutella minnesotensis 3608]	KJZ75001.1	449 aa	
		hypothetical protein HIM_04376 [Hirsutella minnesotensis 3608]	KJZ76294.1	269 aa	
	Purpureocillium	ornithine decarboxylase [Purpureocillium lilacinum]	PWI71256.1	449 aa	
		ornithine decarboxylase [Purpureocillium lilacinum]	XP_018176826.1	430 aa	

Tabla 2. Resultados del modelado de la AZ

ENZIMA	HONGO ENTOMOPATÓGENO	NOMBRE DE LA PROTEÍNA	CLAVE/GENBANK AMINOÁCIDOS	NO. DE FIGURA EN 3D E	
	Cordyceps brongniartii	ornithine decarboxylase antizyme [Beauveria brongniartii RCEF 3172]	OAA52346.1	182 aa	
	Metarhizium	ornithine decarboxylase antizyme [Metarhizium acridum CQMa 102]	EFY91432.1	388 aa	
AZ		ornithine decarboxylase antizyme [Metarhizium robertsii ARSEF 23]	EFZ01814.1	295 aa	
	Purpureocillium	ornithine decarboxylase antizyme [Purpureocillium lilacinum]	PWI75424.1	563 aa	
		ornithine decarboxylase antizyme [Pochonia chlamydosporia 170]	OAA61786.1	278 aa	

IV. DISCUSIÓN (O ANÁLISIS DE RESULTADOS)

Hay muy poca información sobre el metabolismo de poliaminas en hongos entomopatógenos y su efecto sobre el desarrollo, diferenciación y virulencia de ellos. En este trabajo se encontró que la ODC reportada varía entre 269 a 647 aminoácidos (Tabla1) y la AZ oscila entre 182-563. Se observó con detalle cada una de las proteínas presentes en la enzima ODC y también su estructura en 3D. Los datos encontrados para la ODC de entomopatógenos, son diferentes a los reportados para otros ascomicetos, cuya secuencias de proteína está entre 444-472 (Valdés-Santiago y Ruiz-Herrera, 2015), lo que indica que tienen regiones que no están presentes en otros hongos, a pesar de su cercanía filogenética. Por otro lado la presencia de la AZ, demuestra que los hongos entomopatógenos tienen este sistema para regular los niveles de poliaminas al igual que hongos pertenecientes a otros phylum.

IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En el trabajo se encontraron 21 secuencias de proteína registradas en hongos entomopatógenos que dan lugar a la ODC y 17 para la AZ variando los hongos y cepas, aunque no se debe descartar la idea de encontrarse más secuencias de otros hongos entomopatógenos que den lugar a estas enzimas.

V. RECONOCIMIENTOS

Expreso mi agradecimiento al Instituto Tecnológico Superior de Irapuato (ITESI) por brindarme la oportunidad de participar en el verano regional, a la Dra. Laura Valdés Santiago y al Dr. José Luis Castro, por el apoyo otorgado.

REFERENCIAS

- [1] Plataforma para la obtención de datos. Disponibles en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- [2] Plataforma para la modelación en 3D de proteínas. Disponibles en: <https://swissmodel.expasy.org/interactive/PT5L7q/models/> Libros:
- Bachrach U. (2010). The early history of polyamine research. *Plant Physiology and Biochemistry*. 48(1), 490-495. Involvement of polyamines in plant response to abiotic stress. *Biotechnol Lett*. 28(23), 1867-1876.
- Brunger, A. T. (1997).
X-ray crystallography and NMR reveal complementary views of structure and dynamics. *Nat.Struct.Biol.*, 4 Suppl:862-825.
- Chattopadhyay M.K., Park M.H. y Tabor H. (2008). Hypusine modification for growth is the major function of spermidine in *Saccharomyces cerevisiae* polyamine auxotrophs grown in limiting spermidine. *PNAS*. 105 (18), 6554-6559.
- Knott J. M., Römer P. y Sumper M. (2007). Putative spermine synthases from *Thalassiosira pseudonana* and *Arabidopsis thaliana* synthesize thermospermine rather than spermine. *FEBS Lett*. 581(16), 3081-3086
- Padilla-Melo G.N., Bernal-Urbe M.G., Vélez-Arango P.E. y Montoya-Restrepo E.C. (2000). Caracterización patógena y morfológica de aislamientos de *Metarhizium anisopliae* obtenidos de diferentes insectiles.
- Pucheta-Díaz M., Flores-Macias A., Rodríguez-Navarro S. y De la Torre M. (2006) Mecanismos de acción de los hongos entomopatógenos. *INCI*, 31(12), 856-860.
- Valdés-Santiago L. and Ruiz-Herrera J. Libro: Polyamines in Fungi: Their distribution, metabolism and their role in cell differentiation and morphogenesis. *Mycology Series, Volume 30*. Boca Raton (Florida): CRC Press (Taylor & Francis Group), ISBN: 978-1-4987-1742-7, 2016.
- Wang Y., Yu N., Chu F., Khan S. y Liu Z. (2018). Sublethal effects of *Beauveria bassiana* sensu lato isolate NJBb2101 on biological fitness and insecticide sensitivity of parental and offspring generations of brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Biological Control*.

Monitoreo de *Delia* spp. (Diptera: Anthomyiidae) en cultivos hortícolas de Coahuila y Durango

Karla Leticia Martínez Ramos

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Periférico Raúl López Sánchez S/N. Torreón,
Coahuila, México. C. P. 27054
Carrita97_kmr@outlook.es

Asesor: Fabián García Espinoza

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Periférico Raúl López Sánchez S/N. Torreón,
Coahuila, México. C. P. 27054
garcia-espinoza@hotmail.com

Resumen — Las larvas del género *Delia* destruyen las semillas y pequeñas plántulas. El daño es más grave cuanto más joven es la planta. Las especies de importancia agrícolas son: *Delia antiqua*, mosca de la cebolla, *Delia platura*, la mosca de los sembrados, *Delia radicum* es la mosca de la col y ataca a exclusivamente a crucíferas. El objetivo del presente trabajo es identificar y coleccionar por primera vez la presencia de moscas del género *Delia* en zonas de la Comarca Lagunera. Se recolectaron 25 individuos de *Delia* spp. Utilizando 10 trampas al azar de 300 a 400 metros de distancia cada uno.

Palabras clave — Mosca, trampas, crucíferas, semilla.

Abstract — the larvae of the genus *Delia* destroy the seeds and small seedlings. The damage is more serious the younger the plant is. Agriculturally important species are: *Delia antiqua*, onion fly, *Delia platura*, the seeded fly, *Delia radicum* is the cabbage fly and attacks crucifers exclusively. The objective of this work is to identify and collect for the first time the presence of flies of the *Delia* genus in areas of the Lagunera Region. 25 individuals of *Delia* spp. Using 10 random traps 300 to 400 meters away each.

Keywords — Fly, traps, cruciferous, seed

I. INTRODUCCIÓN

Los insectos como plaga, representan un problema para la producción agrícola, por sus hábitos alimenticios fitófagos, es decir, se alimentan de plantas o partes de ellas. Órdenes como Orthoptera, Hemiptera, Thysanoptera, Coleoptera, Lepidoptera y Diptera, incluyen especies que son plagas de importancia para algunos cultivos (Triplehorn y Johnson, 2005; Gullan y Cranston, 2010).

Las moscas de importancia como plagas agrícolas, de acuerdo con Malais y Ravensberg (2006), pertenecen al orden Diptera, un orden muy diverso que incluye 100,000 de especies; tiene como característica un solo par de alas adaptadas para el vuelo y el segundo par modificado en un balancín, sin embargo, hay algunas especies ápteras. Sin embargo, esta característica no es exclusiva de ellos, pues existen otras especies de insectos, muy pocas, que también presentan dos alas (por ejemplo, algunas efímeras y unos pocos homópteros). Son de apariencia similar a la mosca común. Algunos de sus miembros son llamados comúnmente moscas de las flores. Las larvas se encuentran normalmente en los tallos que decaen y las raíces de plantas, donde se alimentan de materia vegetal en descomposición. La familia incluye también inquilinos, comensales, y larvas parasitarias.

Las especies que son fitófagas, en estado larvario suelen causar daños a las plantas cultivadas. Las larvas tienen un aparato bucal masticador y viven mayoritariamente de

material en descomposición y hongos, aunque algunas especies pueden consumir materia vegetal viva y tierna (Malais y Ravensberg, 2006), como es el caso de algunos géneros y especies de Anthomyiidae, que incluye a las moscas de la semilla o de la col y la cebolla. Esta familia está integrada por 600 especies que se distribuyen en América del Norte, la mayoría son negruzcas y casi del mismo tamaño que una mosca doméstica o un poco más pequeña.

Gran parte de los antómidos, son fitófagos en estado larval y muchos de ellos se alimentan de las raíces de las plantas huéspedes (Triplehorn y Johnson, 2005). Algunas especies son plagas severas de cultivos agrícolas o plantas de jardín (Triplehorn y Johnson, 2005), particularmente algunas del género *Delia*. Este género contiene aproximadamente 112 especies (ITIS, 2019); incluye la mosca de la cebolla *Delia antiqua* (Meigen), la mosca del bulbo del trigo o de la semilla del maíz *D. coarctata* Weise, la mosca de la raíz del nabo *D. floralis* (Fallén), la mosca de la semilla del frijol *D. platura* (Meigen) y la mosca de la raíz del repollo *D. radicum* (L.) (Metcalf y Flint, 1967; Bermejo, 2011; Savage et al., 2016; Yang, 2018).

Los dípteros son insectos holometábolos con metamorfosis completa que normalmente incluye cuatro fases: huevo, larva, pupa y adulto. Ello significa que el aspecto que presentan como adulto es diametralmente opuesto al del aspecto larvario. Las larvas viven generalmente en hábitats claramente diferentes a los de los adultos. (Miguel Carles-Tolrá Hjorth-Andersen, 2015).

La práctica totalidad de dípteros presentan machos y hembras que copularán cuando corresponda. Excepcionalmente, unas pocas especies son partenogenéticas (reproducción sin machos) o los machos son extremadamente raros (por ejemplo, Lonchopteridae: *Lonchoptera bifurcata*). En unas pocas especies de la familia Cecidomyiidae se da la pedogénesis, es decir, reproducción de fases inmaduras. (Miguel Carles-Tolrá Hjorth-Andersen, 2015).

Los adultos del género *Delia* aparecen en primavera, se reproducen y la hembra realiza la puesta de forma aislada en el suelo, cerca de la planta o en el propio cuello de esta. Tras la eclosión, las larvas penetran en el tejido vegetal, alimentándose del bulbo como *D. antiqua*, de las raíces por parte de *D. radicum*, o de las semillas en germinación como lo hace *D. platura*. Cuando completan su desarrollo larvario pupan en el suelo, a menos de 15 cm de profundidad o en ocasiones en el interior de la galería alimenticia, apareciendo los adultos en verano, los cuales darán lugar a otra generación más. El invierno lo pasan en forma de pupa hasta la próxima primavera, cerrándose así el ciclo (Bermejo, 2011).

Las moscas del género *Delia* presentan generalmente tres generaciones por año. Las larvas destruyen las semillas y pequeñas plántulas. El daño es más grave cuanto más joven es la planta; provocando marcas o fallos en la nacencia con el cultivo y un debilitamiento en estado vegetativo. ((Bermejo, 2011).

El presente trabajo, tiene como objetivo reportar por primera vez la presencia de moscas del género *Delia* en una zona agrícola de la Comarca Lagunera de Durango.

II. MATERIALES Y MÉTODO

El material examinado fue recolectado en la localidad de Ignacio Ramírez está situado en el Municipio de Guadalupe Victoria en el Estado de Durango, el día sábado 20 de Julio.

La localidad se encuentra a una mediana altura de 2020 metros sobre el nivel del mar. La localidad mencionada se encuentra en la región conocida como Comarca Lagunera.

Se recolectaron especímenes adultos del orden Diptera mediante el uso de trampas colocadas al azar, desde un día antes; se hicieron 10 trampas con nailo amarillo con pegatac, colocándolas a una distancia de 300 a 400 m.

El recorrido para el monitoreo de las trampas se basó de acuerdo como estaban distribuidas, obteniendo un promedio de 2 a 3 moscas (*Delia* spp.) por trampa; mismos que fueron transportados en alcohol al 70% al laboratorio del departamento de parasitología, UAAAN-UL para posteriormente identificarlos.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se identificaron 25 especímenes del orden Diptera, de la familia Anthomyiidae, 15 de ellas de la especie *Delia platyura* y 10 de la especie *Delia antiqua*. Savage et al. (2016), separan a los adultos del género *Delia* de *Botanophila*, un género hermano muy similar, mediante la observación de la seta prealar. En el género *Botanophila* está presente y bien desarrollada pero siempre más corta que la seta notopleural. Además, es posible la separación por medio de la observación pelos anepisternales. Darvas y Szappanos (2003) y Savage et al. (2016), coinciden al identificar a *D. platyura* por una fila de más de 18 pelos en la tibia trasera (Fig. 2), mientras que *D. antiqua* presenta de siete a 15 pelos en esta zona.

De las especies mencionadas, tres son las más importantes, *D. antiqua* o mosca de la cebolla, que afecta a cultivos de la familia liliáceas (cebolla, ajo y puerro); *D. platyura*, la mosca de los sembrados, es una especie muy polífaga pudiendo atacar al frijol y maíz y otros cereales, judía, tomate, espárrago, crucíferas; y *D. radicum* es la mosca de la col y ataca a exclusivamente a crucíferas, siendo el colinabo la especie más sensible a la plaga (Dughetti, 2002; Bermejo, 2011; Jaramillo y Sáenz, 2013). Bermejo (2011), consigna que los adultos del género *Delia* aparecen en primavera. En el presente reporte fueron hallados a finales del invierno; además, Bermejo señala que las especies de este género pasan el invierno en forma de pupa, sin embargo, cabe mencionar que se pudieron observar adultos, coriones eclosionados, larvas y pupas en plantas de las crucíferas inspeccionadas.



Fig. 1. Arreglo de trampas.



Fig. 2. Monitoreo de trampas.

IV. CONCLUSIONES

Se reporta a *Delia platura*, conocida como la mosca de la semilla (del maíz en especial), es una especie polífaga y puede afectar numerosos cultivos y *D. antiqua*, conocida como mosca de la cebolla, las larvas de esta especie se alimentan del bulbo y causan grandes pérdidas. Es necesario establecer un programa de monitoreo durante las cuatro épocas del año para especies de este género en la región y determinar así su presencia y distribución, así como conocer los cultivos a los que se asocian, y de esta manera poder establecer estrategias que prevengan daños en cultivos locales, tales como hortalizas y forrajes.

V. AGRADECIMIENTOS

A mi asesor el M.C. Fabián García Espinoza por su apoyo durante el proyecto.

REFERENCIAS

- Bermejo, J. 2011. Información sobre *Delia* spp.; *D. antiqua*, *D. platura* y *D. radicum*. Disponible en: <http://www.agrologica.es/informacion-plaga/mosca-cebolla-mosca-sembrados-y-mosca-col-Deliaspp/>. (Fecha de consulta: 20-JULIO-2019).
- Dughetti, A. C. 2002. Estudio de los gusanos que atacan a la cebolla utilizando diferentes trampas como base del monitoreo. Estación Experimental Agropecuaria INTA Hilario Ascasubi. Buenos Aires, Argentina. 15 pp.
- Gullan, P. J. and P. S. Cranston. 2010. The insects. An outline of entomology. 4th edition. Wiley-Blackwell. A John Wiley & Sons, Ltd., Publication. Malaysia. 565 pp.
- Jaramillo, C. M. y A. Sáenz. 2013. Control de *Delia platura* (Diptera: Anthomyiidae) en un cultivo comercial de espinaca con *Steinernema* sp. Cepa JCL027 (Rhabditida: Steinernematidae). *Nema trópica*, 43(1): 97–104.
- Malais, M. H. y W. J. Ravensberg. 2006. Conocer y reconocer las plagas de los cultivos protegidos y sus enemigos naturales. Koppert B.V. Edición revisada de la 1ª edición de 1992. Países Bajos. 288 pp.
- Savage, J., Fortier, A. M., Fournier, F. and V. Bellavance. 2016. Identification of *Delia* pest species (Diptera: Anthomyiidae) in cultivated crucifers and other vegetable crops in Canadá. *Canadian Journal of Arthropod Identification*, 29: 1–40. DOI:10.3752/cjai.2016.29.

Potencial de uso de cultivos de la microalga *Chlorella vulgaris* AAI-1 como biofertilizante en garbanzo (*Cicer arietinum* L.) var "jumbo" *in vitro*

Ruth Mendoza Escamilla

Instituto Tecnológico Superior de Irapuato
Silao-Irapuato km 12.5 El Copal, 36821
Irapuato, Gto.
ruthme21@hotmail.com

Asesora: Laura Valdés Santiago

Instituto Tecnológico Superior de Irapuato
Silao-Irapuato km 12.5 El Copal, 36821
Irapuato, Gto.
valdes.santiago.laura@gmail.com

Resumen — Se determinó la efectividad de la microalga *Chlorella vulgaris* como un posible biofertilizante en semillas de garbanzo (*Cicer arietinum*) variedad jumbo. Se comparó la efectividad de las microalgas comparado con un fertilizante químico. Las semillas se sumergieron en 40 ml de microalgas durante 5 minutos, el crecimiento de raíz y tallo se midió diariamente con el programa imageJ. Las semillas germinaron más rápido con la aplicación del fertilizante químico, sin embargo cuando se colocaron en tierra los tratamientos de *C. vulgaris* tuvieron mayor velocidad de crecimiento. Esto podría ser utilizado como biofertilizante gracias a los nutrientes que aporta a la planta y a la tierra, reduciendo así la contaminación causada por los fertilizantes químicos.

Palabras clave — garbanzo, biofertilizante, microalgas, *Chlorella vulgaris*.

Abstract —The purpose of this work was to determine the modification of the *Chlorella vulgaris* microalgae as a possible biofertilizer. Currently, jumbo chickpea seeds have undergone treatments with *Chlorella vulgaris* and compared with chemical fertilizer, they were immersed in 40 ml of microalgae for 5 minutes, root and stem growth was measured daily and analyzed the imageJ program. The seeds germinated faster with the application of the chemical fertilizer, however after transferring the plant to the soil treated plants grew up faster than the control. The results showed that *C. vulgaris* could be used as a biofertilizer, thus reducing the pollution caused to chemical fertilizers.

Keywords — chickpea, biofertilizer, microalgae, , *Chlorella vulgaris*.

I. INTRODUCCIÓN

Un fertilizante es cualquier tipo de sustancia orgánica o inorgánica que contenga nutrientes de manera digerible por las plantas, y cuyo objetivo es mantener o incrementar el contenido de elementos presentes en el suelo, mejorar la calidad del sustrato a nivel nutricional y estimular el crecimiento vegetativo de las plantas.

Un biofertilizante es una sustancia que contiene microorganismos como bacterias y hongos o en algunos casos microalgas, estos ayudan a la planta a desarrollarse de forma óptima por diferentes mecanismos, por ejemplo, mejorando la disponibilidad de los micronutrientes y macronutrientes.

Las microalgas se emplean en sistemas agrícolas como biofertilizantes y acondicionadores del suelo, especialmente las cianobacterias fijadoras de nitrógeno (algas azul-verdes) que tienen un papel importante en el mantenimiento y el aumento de la fertilidad del suelo en los campos de arroz, (Youssef, 2015). Las microalgas son consideradas como biofertilizantes potenciales, se ha probado su efectividad en arroz

(Dineshkumar et al 2018), en trigo y cebada (Odgerel y Tserendulam 2016) y en lechuga (Faheed and Fattah 2008). Las microalgas están directamente involucradas en la fijación del nitrógeno y se consideran una fuente barata de nitrógeno no contaminante (Dineshkumar et al 2018).

El garbanzo (*Cicer arietinum L.*) junto con la judía (*Phaseolus vulgaris L.*) y el guisante (*Pisum sativum L.*) constituye uno de los cultivos de leguminosas más importantes del mundo, representando una fuente relevante de alimentación humana y animal (Yanitzza Meriño, 2017).

En la actualidad existen diversos tipos de fertilizantes químicos que, si bien su función en el ciclo biogeoquímico de la planta ayuda a su desarrollo de manera más rápida, pero esto se ha vuelto un problema al ser uno de los contaminantes del suelo por el uso excesivo y por su toxicidad. Se ha probado la efectividad de las microalgas como biofertilizantes en arroz, trigo, cebada y lechuga. En este estudio se evaluó si la microalga *C. vulgaris* AAI- aislada del río Lerma, Salamanca Gto, (Valdés-Santiago Laura, 2018) puede ser utilizada como biofertilizante en garbanzo.

II. MARCO TEÓRICO

A. Biofertilizantes

Un biofertilizante puede ser cualquier sustancia que contenga microorganismos vivos, que pueden colonizar la rizosfera o el interior de las plantas y promover el crecimiento de las plantas al mejorar su estado de nutrientes (Youssef, 2015).

B. Microalgas

Las microalgas son organismos microscópicos presentes no solo en el agua sino también en el ecosistema terrestre, representan una gran variedad de especies, que pueden vivir en una amplia gama de ambientes. Las microalgas necesitan principalmente tres componentes para el crecimiento, fuente de luz solar, agua y carbono. Obtienen nutrientes de los hábitats acuáticos, absorben la luz solar, capturan CO₂ del aire y producen aproximadamente el 50% del oxígeno atmosférico (Singh, 2011).

C. Microalgas como biofertilizantes

Las microalgas se emplean en sistemas agrícolas acondicionadores del suelo, especialmente las cianobacterias fijadoras de nitrógeno (algas azul-verdes) que tienen un papel importante en el mantenimiento y el aumento de la fertilidad del suelo en los campos de arroz (Youssef, 2015).

Chlorella vulgaris contiene altas cantidades de macro y micronutrientes, como constituyentes o metabolitos, así como carbohidratos y proteínas (Youssef, 2015).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Probetas, Hipoclorito de sodio, Pinzas de disección, Cajas transparentes 10L, Agua esterilizada, Cultivos de *Chlorella vulgaris* AAI-1 (*Cicer arietinum L.*) var "jumbo", Garbanzo,

Vaso de precipitado de 250 ml, Fertilizante químico: YaraMila™ ACTYVA en una dosis 300 kg/Ha.



Fig 1. Esterilización química de la semilla de garbanzo

Esterilización química de las semillas. Las semillas se sumergieron por un periodo de 15 min en hipoclorito de sodio y se lavan 5 veces con agua destilada. Después de una semana completa de germinación se pasó a tierra esterilizada, sus composiciones son perlita, vermiculita y sphagnum (1:1:1).

IV. RESULTADOS

A continuación, se muestran los resultados de las semillas tratadas y el control con fertilizante químico, después de 24 h de incubación a temperatura ambiente (Fig 2,3,4 y 5). Se observó mayor germinación en el fertilizante químico comparado con la microalga *C. vulgaris* (Tabla 1).



Fig. 2 Tratamiento 1B tratado con fertilizante químico



Fig. 3. Tratamiento 1B tratado con cultivo de microalgas



Fig. 4 Control A tratado con fertilizante químico

Fig. 5 Control A tratado con cultivo de microalgas

Diariamente se midió la raíz de cada semilla y se analizaron las fotos en imageJ (Fig. 6) el cual nos ayudó a reconocer la variabilidad en cada uno de los tratamientos.

Tabla 1. Porcentaje de germinación de garbanzo

Día(s)	Control A negativo (%) Agua destilada	Control A Microalgas (%) Semillas tratadas con microalgas	Control A Fertilizante químico (%) Semillas con YaraMila™ ACTYVA	Control A Medio BBM (%)
1	73.33	86.66	80	73.33
2	80	93.33	100	93.33
3	80	93.33	100	93.33
4	80	93.33	100	93.33
6	80	93.33	100	93.33

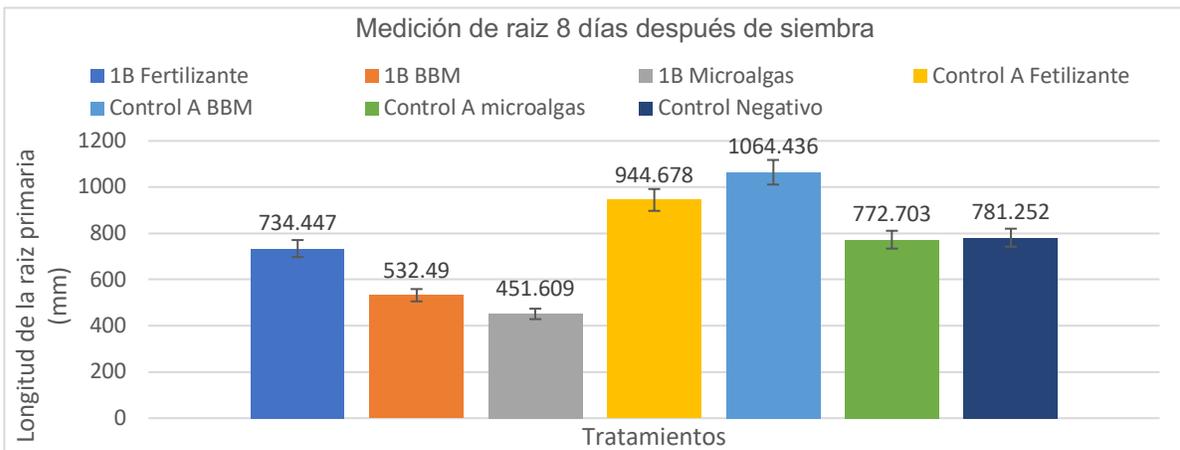


Fig. 6 Medida de la raíz por día por cada semilla (15 en total) transcurridos ocho días de la siembra.

V. DISCUSIÓN

Las microalgas han mostrado efectividad como biofertilizantes en diferentes cultivos, en este estudio se probó *C. vulgaris* AAI-1 en semillas de garbanzo, se observó que las microalgas estimularon la germinación de ellas ya que un 93% germinaron comparado con el fertilizante químico que alcanzó el 100% de efectividad, sin embargo el efecto fue dado por el medio en el que están disueltas las microalgas, el medio BBM, el cual es rico en macro y micronutrientes.

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los resultados no indican que la microalga *C. vulgaris* AAI-1 puede ser utilizada como un biofertilizante, sin embargo es necesario hacer más ensayos para verificar la reproductibilidad y eliminar el medio BBM de los cultivos, lavando las células con agua y así enfocar el efecto en las microalgas.

VII. RECONOCIMIENTOS (O AGRADECIMIENTOS)

Se agradece notablemente el apoyo económico, disposición y por compartir su conocimiento a la Dra. Alejandra Hernández Barrera, a la Dra. Laura Valdés Santiago por su apoyo y por brindar una actitud de fortaleza para mí, la colaboración, apoyo y entrega total de Dulce Jackeline Gutiérrez Flores y a ITESI por el lugar disponible y laboratorios para llevar a cabo los experimentos.

REFERENCIAS

- Youssef, T. M. (2015). Mejora de los parámetros de crecimiento de Zea y propiedades del suelo inoculado con dos especies de *Chlorella*. Report and Opinion
- Yanitza Meriño, T. B. (2017). Respuesta agronómica de dos cultivares de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) bajo diferentes condiciones de humedad del suelo en la provincia de Granma. *Ctro. Agr. [online]*, vol.44, n.2, pp.22-28. ISSN 2072-2001.
- Singh, A. N. (2011). Combustibles renovables de microalgas: una respuesta a los combustibles debatibles basados en tierra. *Bioresource Thechnology*, 102, 10-16.
- FATTAH, F. A. (2008). Efecto de *Chlorella vulgaris* como biofertilizante en parámetros de crecimiento y aspectos metabólicos de la planta de lechuga. *JOURNAL OF AGRICULTURE & SOCIAL SCIENCES*, 165-169.
- Onder Uysal, F. O. (2015). EVALUACIÓN DE MICROALGAS COMO FERTILIZANTE MICROBIANO. *Revista Europea de Desarrollo Sostenible*, Vol. 4, Núm. 2 .
- Dineshkumar, R., Kumaravel, R., Gopalsamy, J. y col, 2018, Microalgas como biofertilizantes para el crecimiento del arroz y la productividad del rendimiento de semillas, *Waste Biomass valor*, Vol 9, Núm. 5, 793-800
- Valdés Santiago Laura, Ayala Islas Alberto, Colli Mull Juan Gualberto. Capítulo de e-Book: Hacia el reemplazo de pesticidas químicos: Explorando las microalgas para su uso en control biológico. Pag. 366-381. En E-book: El impacto de la integración disciplinaria de la ingeniería y las ciencias químicas, en la innovación y el desarrollo sostenible. Instituto de Ciencias Básicas, Universidad Veracruzana ISBN: 978-607-95737-9-9; 2018. Editorial: Fundación para la Educación Superior Internacional, A. C.).

Prevalencia de diabetes mellitus en perros y gatos del municipio de Irapuato Guanajuato

Saraí Sánchez Camacho

Universidad de Guanajuato

Departamento de Medicina Veterinaria y Zootecnia,
Ex Hacienda El Copal k.m. 9; carretera Irapuato-Silao; A.P. 311; C.P. 36500; Irapuato, Gto

saracams96@gmail.com

Asesor: Mauricio Arredondo Castro

Universidad de Guanajuato

Departamento de Medicina Veterinaria y Zootecnia,
Ex Hacienda El Copal k.m. 9; carretera Irapuato-Silao; A.P. 311; C.P. 36500; Irapuato, Gto

arredondo.m@ugto.mx

Resumen — Con el objetivo de evaluar la prevalencia de diabetes mellitus en perros y gatos de la ciudad de Irapuato, Guanajuato se recolectaron 100 muestras de sangre obtenidas por punción venosa de 91 perros y 9 gatos, esto fue analizado con un glucómetro marca AccuChek® siguiendo las instrucciones del fabricante, las muestras se tomaron del Centro de Atención Canina y se analizaron en la Universidad de Guanajuato. Un total de 13% resultaron superiores a los rangos normales de glucosa en sangre, según los análisis estadísticos de chi cuadrada se observó que la especie, género, talla y condición corporal se comportaron de manera independiente, con un valor de ($P = \leq 0.05$), concluyendo que se debe de hacer un análisis en mayor tiempo y con mayor número de muestras.

Palabras clave — Hiperglucemia, insulina, glucómetro

Abstract — With the objective of evaluate the prevalence of diabetes mellitus in dogs and cats in the city of Irapuato, Guanajuato 100 blood samples were obtained by venous puncture collected from 91 dogs and 9 cats, analyzed with an AccuChek® brand glucometer following the manufacturer's instructions. The samples were taken from the Canine Care Center and analyzed at the University of Guanajuato. A total of 13% of the samples were higher than the normal blood glucose ranges, according to the statistical analysis of chi-square, it was observed that the variants of species, gender, size and corporal condition behaved independently with a value of ($P = \leq 0.05$), concluding that a future analysis should be done in a longer time and with a larger number of samples.

Keywords — Hyperglycemia, insulin, glucometer

I. INTRODUCCIÓN

Las células necesitan glucosa como combustible, por lo tanto, es importante que el organismo regule la concentración de glucosa [1]. La falta de la regulación de esta forma una afección denominada hiperglucemia (diabetes mellitus) en la que los niveles de glucosa del cuerpo están mal regulados, debido a la falta de producción de la hormona insulina, producida por el páncreas, o al aumento de la resistencia de los tejidos del cuerpo a los efectos de la insulina [2]. La disminución de la utilización de la glucosa, los aminoácidos y los ácidos grasos en el perro tienen numerosas y variadas consecuencias: letargia, pérdida de peso, menor estimulación del centro de la saciedad, mala calidad del pelaje e inmunosupresión [3]. El diagnóstico se basa principalmente en estos y otros signos clínicos importantes como lo son las cataratas (10 a 20% de los casos, afecciones a nivel ocular que en algunos casos llega a provocar ceguera en las mascotas convencionales) [4].

La importancia del patrón estacional en el inicio de la diabetes humana y canina sigue sin estar clara, aunque sugiere que puede haber similitudes subyacentes en los factores ambientales. En la diabetes autoinmune humana, se ha propuesto que existen cinco etapas

de la enfermedad: susceptibilidad genética, un evento desencadenante, autoinmunidad activa, intolerancia progresiva a la glucosa y diabetes manifiesta [5]. Los signos iniciales de la diabetes pueden pasar desapercibidos, con el resultado de que los perros a veces presentan cetoacidosis diabética con anorexia, letargo, vómitos y deshidratación. Esto puede ser potencialmente mortal sin la terapia adecuada [6], el aumento de la proteólisis conduce al desgaste muscular y la cicatrización deficiente de las heridas, y a medida que el catabolismo lipídico acelerado persiste, se desarrolla una lipidosis hepática y la cetoacidosis puede dar lugar a una producción secundaria de cetonas potenciadas, un daño endotelial y una inmunodepresión [2].

La historia clínica, el examen físico y las pruebas de diagnóstico son cruciales para ayudar a diferenciar el tipo de DMC necesaria para proporcionar el tratamiento adecuado y determinar el pronóstico [4]. El uso de medidores de glucosa en sangre portátiles se ha vuelto común en la medicina veterinaria como un medio rápido para controlar la glucosa en sangre de los animales en una variedad de condiciones médicas [7] tienen la ventaja de utilizar pequeñas cantidades de sangre, bajo costo por prueba y resultados rápidos [8].

La pérdida de la funcionalidad de las células β es irreversible en los perros con Diabetes Mellitus Tipo 1, siendo necesario un tratamiento con insulina de por vida para mantener el control de la glucemia [9]. La diabetes mellitus es una de las endocrinopatías más frecuentes en perros y gatos, puede llegar a ser mortal si no se proporciona a tiempo un tratamiento adecuado [10]. Por lo anterior el objetivo de estudio es evaluar la prevalencia de diabetes mellitus en perros y gatos en la ciudad de Irapuato, Guanajuato con la finalidad de diagnosticarlo de manera subclínica y prevenirla desde sus primeras etapas.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se llevó a cabo en la Clínica de Pequeñas Especies ubicada en las instalaciones de la Universidad de Guanajuato, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato Salamanca. En colaboración con el Centro de Atención Canina de Irapuato, se obtuvieron muestras sanguíneas de perros y gatos en condición de calle, por otro lado, se obtuvieron muestras de diferentes clínicas veterinarias de la región.

A. *Animales*

Se muestrearon en total 91 perros y 9 gatos a los cuales se les realizó una punción venosa, para evaluar el nivel de glucosa que presentaban en sangre, el rango de glucosa se tomó de 80 a 120 mg/dl según lo menciona [2], y muestras arriba de los rangos normales se consideraron como positivas. Con una previa recopilación de información: edad, raza, sexo y condición corporal.

B. *Recolección de muestras*

Se tomó una muestra de sangre por venopunción de la vena yugular de cada paciente, con un respectivo periodo de 8 horas de ayuno, colocando una pequeña muestra de la sangre obtenida en la tira reactiva para su posterior lectura mediante glucómetro Accu-Chek

Performa®, todos los procedimientos se realizaron de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

C. Análisis estadístico

Se realizó un registro en el programa Microsoft Excel 2016, posteriormente se realizaron matrices. Para comparar la prevalencia entre género se utilizó la prueba exacta de Fisher.

Para la asociación entre prevalencia de diabetes mellitus y edad, condición corporal (cc), se utilizó la prueba de chi-cuadrado.

Todas las pruebas se realizaron con el software SPSS22.

III. RESULTADOS

De las 100 muestras obtenidas en el periodo junio-julio de ambas especies se observó una prevalencia del 13% (13/100), presentando el 10% (10/100) para los perros y 3% (3/100) para los gatos.

La variable género se observó que el 30.8% (4/13) para los machos, mientras que para las hembras el 69.2% (9/13). La prueba exacta de Fisher mostró un valor de ($P=0.761$).

La talla fue evaluada por talla chica, mediana y grande con los resultados con 53.8% (7/13), 38.5% (5/13) y 7.7% (1/13) respectivamente, de acuerdo con el valor obtenido para el análisis estadístico se obtuvo el siguiente resultado ($P=0.292$).

La cc fue observada con una escala del 1 al 5, considerando que el 1 y 2 era para animales con cc, el 3 cc idónea y con límites superiores al último mencionado, considerados obesos. 46.2% (6/13), 38.5% (5/13) y 15.4% (2/13) consecutivamente, en el análisis estadístico se observó un valor de ($P=0.430$).

IV. DISCUSIÓN

En la actualidad, la práctica dirigida a la clínica de pequeñas especies el diagnóstico preclínico de la diabetes mellitus en perros y gatos es subvalorado [1, 2, 10, 11] mencionan que esta patología es de importancia clínica y preclínica para preservar la salud en las mascotas.

[11] citado por [8] menciona que las hembras caninas reproductivas tienen más probabilidades de presentar diabetes en la edad adulta. En el caso de esta investigación se evaluó el género comportándose en dependiente con la prueba exacta de Fisher ($P=0.761$). [12] mencionan que la edad es un factor predisponente y oscila entre los 4 y 14 años, con un pico de prevalencia entre los 7 y 9 años; la diabetes juvenil en perros menores de 1 año de edad es poco común, en la presente investigación no se tomó como referencia la edad, ya que las muestras fueron recolectadas por un albergue de control poblacional y esto no permite tener una correcta valoración por lo que se resalta la importancia de realizar un buen examen físico del paciente si se sospecha de enfermedad endocrina, elaborar una

lista de problemas y buscar causas para cada uno de los signos para poder llegar a un diagnóstico con ayuda de las pruebas de laboratorio.

En la clínica general de pequeñas especies se presentan a consulta 10 a 1 de perros en comparación con gatos, sin embargo, la enfermedad endocrina se considera en ambas especies, en esta investigación se hizo el análisis en ambas especies y en el análisis estadístico no se observó una diferencia estadística significativa con un valor de $P \leq 0.05$, dejando ver que la especie se comporta como independiente a la diabetes mellitus. Según [13], la incidencia de diabetes mellitus en gatos es del 0.5%.

[6] al hacer un análisis por especie y raza observaron que en perros existen razas con mayor predisposición considerando a las de talla grande, en la presente investigación la talla fue evaluada por pequeño, mediano y grande observando que se comporta de manera independiente ($P=0.292$), en lo particular no se evaluó la raza ya que la mayoría eran mestizos, aunado a lo anterior se evaluó la condición corporal con el objetivo de estimar la obesidad, ya que para [14] el sobrepeso es factor de riesgo para la diabetes mellitus, esto difiere a esta investigación, esto puede ser a causa del poco tiempo de muestreo, número y condiciones de los animales muestreados.

V. CONCLUSIONES

Los perros y los gatos del municipio de Irapuato, Guanajuato, tienen una prevalencia del 13% de diabetes mellitus sin importar la especie, género, edad, talla y condición corporal. Es importante realizar un examen clínico orientado a problemas e incluir el diagnóstico preclínico en este examen.

Se sugiere continuar con esta investigación, considerando el tiempo de muestreo para tener una mejor evaluación.

VI. AGRADECIMIENTOS

Se agradece a la Universidad de Guanajuato y a su Clínica de Pequeñas Especies que facilitó las instalaciones y el equipo para la elaboración de las pruebas, por otra parte al Centro de Atención Canina de Irapuato por las facilidades prestadas para la realización del muestreo y al comité organizador de los Veranos de la Región Centro por permitir ser parte de esta edición.

REFERENCIAS

- [1] Summers, A. (2013). *Common diseases of companion animals*. Elsevier Health Sciences.
- [2] Qadri, K., Ganguly, S., Praveen, P. K., & Wakchaure, R. (2015). Diabetes mellitus in dogs and its associated complications: A review. *Int. J. Rec. Biotech*, 3(4), 18-22.
- [3] Pibot, P., Biourge, V., & Elliott, D. (2006). *Enciclopedia de la nutrición clínica canina* (No. 619: 636.045). Royal Canin,.
- [4] Brito-Casillas, Y., Melián, C., & Wägner, A. M. (2016). Study of the pathogenesis and treatment of diabetes mellitus through animal models. *Endocrinología y Nutrición (English Edition)*, 63(7), 345-353.

- [5] Davison, L. J., Herrtage, M. E., & Catchpole, B. (2005). Study of 253 dogs in the United Kingdom with diabetes mellitus. *Veterinary Record*, 156(15), 467-471.
- [6] Catchpole, B., Ristic, J. M., Fleeman, L. M., & Davison, L. J. (2005). Canine diabetes mellitus: can old dogs teach us new tricks?. *Diabetologia*, 48(10), 1948-1956.
- [7] Stein, J. E., & Greco, D. S. (2002). Portable blood glucose meters as a means of monitoring blood glucose concentrations in dogs and cats with diabetes mellitus. *Clinical techniques in small animal practice*, 17(2), 70-72..
- [8] Santiago, I. 2017. Diabetes mellitus en perros y gatos: abordaje diagnóstico, tratamiento y nuevas alternativas de manejo clínico. México: UNAM.
- [9] Álvarez-Linares, B., Ávila-Ramos, F., & López-Briones, S. (2017). Diagnóstico y tratamiento de la diabetes mellitus en perros. *Abanico veterinario*, 7(1), 53-67.
- [10] Bennett, N. (2002). Monitoring techniques for diabetes mellitus in the dog and the cat. *Clinical techniques in small animal practice*, 17(2), 65-69.
- [11] Ettinger S., Feldman E. Tratado de medicina interna veterinaria. Enfermedades del perro y el gato. 6º edición. España: Elsevier, 2007.
- [12] Nelson, R. W., & Couto, C. G. (2010). Medicina interna de pequeños animales. Elsevier.
- [13] Hoenig, M. (2002). Comparative aspects of diabetes mellitus in dogs and cats. *Molecular and cellular endocrinology*, 197(1-2), 221-229.
- [14] Chandler, M., Cunningham, S., Lund, E. M., Khanna, C., Naramore, R., Patel, A., & Day, M. J. (2017). Obesity and associated comorbidities in people and companion animals: a one health perspective. *Journal of comparative pathology*, 156(4), 296-309.

Protocolo para tratamiento de lesiones cutáneas en *Lithobates catesbeianus* con infusiones de jengibre y equiseto

Carla Elizabeth Jasso Aguilar

Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Facultad de Ciencias
Av. Chapultepec #1570 Priv. del Pedregal
C.P. 78295, San Luis Potosí, S. L. P.
jassocea@gmail.com

Asesor: Efraín Islas Ojeda

Universidad Autónoma de Aguascalientes
Centro de Ciencias Agropecuarias
Carretera a la Posta Km 3,
C.P. 20255, Jesús María, Ags.
eislas69@hotmail.com

Resumen — La producción intensiva de rana toro (*Lithobates catesbeianus*) es una de las prácticas acuícolas del país. Un factor de bajo desempeño productivo son las enfermedades emergentes como la “pata roja”. Granja “El Chaveño” tiene un sistema de recirculación de agua y sistemas acuapónicos como alternativa sustentable, por lo que el uso de antibióticos no es una opción; para evitar la propagación de patógenos se deben emplear alternativas naturales. El proyecto desarrollado consistió en montar un experimento donde se probará la eficacia de varios tratamientos naturales en ranas lastimadas, se utilizó el software ImageJ para procesar las fotografías y medir el área dañada en los individuos. Los datos mostraron que las lesiones respondieron mejor con el tratamiento de jengibre.

Palabras clave — Rana toro, jengibre, equiseto, área dañada, acuaponia

Abstract — The intensive production of bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) is one of the aquaculture practices of the country. One factor of low productive performance are emerging diseases such as the “red leg”. Granja “El Chaveño” have a water recirculation system and aquaponic systems as a sustainable alternative, so the use of antibiotics is not an option; to avoid the spread of pathogens they are due to other natural alternatives. The project developed consists of mounting an experiment where the effectiveness of several natural treatments in injured frogs will be tested, ImageJ software was used to process the photographs and measure the damaged area in the individuals. The data treated that the lesions responded better with ginger treatment.

Keywords — Bullfrog, ginger, equisetum, damaged area, aquaponics.

I. INTRODUCCIÓN

La producción de rana toro es una actividad realizada en varios estados del país, es una práctica que requiere de poca agua y con la suficiente infraestructura puede ser un negocio muy provechoso. En los tiempos modernos, toda la industria ha tenido que implementar nuevas tecnologías que sean favorables para el ambiente. Si bien la ranicultura no tiene requerimientos muy específicos pues la especie se da por sí sola, se puede complementar con prácticas sustentables como la captación de agua de lluvia o acuaponias haciendo un reciclamiento casi total de agua. El sistema debe ser cerrado pues la especie es considerada como invasora y es muy peligrosa a nivel ecológico pues desplaza a otros anfibios y arrasa con sus poblaciones, debido a que es muy voraz. (Casas-Andreu et al., 2001) Del mismo modo, este sistema es propenso a enfermedades pues carece de las condiciones naturales de selección natural; algunas de las enfermedades más comunes y distribuidas mundialmente entre los anfibios es la quitridiomycosis causada por el hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* y la “pata roja” asociada con *Aeromonas*

hydrophila. (Mendoza-Almeralla et al., 2015). Aunado a las enfermedades emergentes es importante destacar la presencia de canibalismo entre anfibios, por lo que es común la presencia de heridas en cabeza en los individuos más débiles o pequeños, por eso es importante mantener separadas a las ranas por tamaños para evitar los intentos de canibalismo, pues las heridas pueden ser la entrada de patógenos; además de buenas prácticas de higiene e inocuidad.

La estancia de investigación se llevó a cabo en el municipio de Jesús María, Aguascalientes, en el Centro de Reproducción, Investigación e Innovación Científica Granja “El Chaveño”. Debido a que el sistema de recirculación de agua incorpora sistemas acuapónicos no debe haber el ingreso de antibióticos al agua; una medida implementada para el tratamiento de heridas en rana toro son tratamientos naturales, como jengibre disuelto en agua o el uso de probióticos que acidifican el agua y ayuda a detener el crecimiento de *Aeromonas*. El objetivo del experimento fue probar distintos tratamientos sobre ranas lastimadas y medir la eficacia disminuyendo el área de herida.

II. METODOLOGÍA

El único criterio para la elección de los individuos fue la presencia de heridas cutáneas, las cuales podían estar presentes en nariz, cabeza, cadera o extremidades; el tipo de lesión podía ser expuesta o cicatrizante; aquellos elegibles fueron separados de los corrales de engorda y puestos temporalmente en otro corral. Después se acondicionó un corral diferente para el experimento y se seleccionó la disposición de los tratamientos en tinas de 300 L con números al azar (Tabla 1). En cada tina se colocaron 10 individuos con tamaños similares, para evitar el canibalismo y las potenciales heridas nuevas. Las tinas se llenaron a cubrir el cuerpo de las ranas (Tabla 1) y como medida de contención se colocó una malla donde podía entrar alimento sin dificultad y hacer los recambios de agua. El experimento constó de 4 tratamientos con 3 repeticiones: jengibre, cola de caballo, probióticos y control. El jengibre (*Zingiber officinale*) se utilizó como polvo y fue disuelto directamente sobre el agua, en una concentración 150g/100L. *Equisetum arvense* también conocido como “cola de caballo”, se aplicó como una infusión en una concentración de 200g/100L. Los probióticos fueron preparados en el centro “Granja El Chaveño” y aplicados directamente en las tinas en una concentración de 6L/100L. Los individuos permanecieron en las tinas durante 16 días de experimento, los recambios de agua se realizaron cada 4 días. Aquellos individuos que escaparon de la tina fueron identificados con fotografía, no hubo escapes más allá del corral de experimento. Se obtuvo la biomasa los mismos días que se realizaron las fotografías.

Las fotografías fueron tomadas con una cámara semiprofesional y se construyó una plataforma para la toma de éstas, con el fin de unificar la distancia a la que sería la captura. Las fotografías se tomaron al día 1, 7 y 16; solo aquellos individuos con 3 imágenes fueron incluidos en el análisis. Cada individuo fue fotografiado asegurándose que la herida fuera visible. Las imágenes fueron procesadas en el programa ImagenJ.

Tabla 1. Especificaciones del experimento.

Tina	TxRx	VT(L)	VTr(L)	VA(L)	n
1	TeR2	7	1.4	5.6	10
2	TpR1	7	0.42	6.58	10
3	TeR3	7	1.4	5.6	10
4	TjR1	10	1.5*	10	10
5	TcR3	7	0	7	10
6	TpR3	7	0.42	6.58	10
7	TcR1	7	0	7	10
8	TeR1	7	1.4	5.6	10
9	TpR2	7	0.42	6.58	10
10	TjR3	7	1.05*	7	10
11	TcR2	7	0	7	10
12	TjR2	10	1.5*	10	10

TxRx: T (c, control; j, jengibre; e, equiseto y p, probiótico),
*peso de jengibre en polvo. VT: vol total, VTr: vol tratamiento,
VA: vol agua.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los análisis fueron realizados con el software STATISTICA ver. 7. De los 120 individuos solo sobrevivieron 57 y únicamente 50, fueron incluidos en el análisis estadístico; para un total de 150 mediciones. Los datos presentan normalidad y homocedasticidad y fueron sometidos a un análisis de varianza; para ver si había diferencia entre el efecto de los tratamientos, se usó como variable dependiente la diferencia entre el área medida el día 1 y 16, no hubo diferencias significativas. Después usando ANOVA de dos factores, se usó el tiempo y el tratamiento para ver el efecto en el área de herida. Se encontró un efecto significativo en el tratamiento y una diferencia significativa en jengibre en comparación con el grupo control y equiseto ($F(2, 141) = 7.4107, p = 0.00087$) (Figura 1). La biomasa también fue analizada con ANOVA de dos factores y se encontró que la variable tratamiento mostraba un efecto. Un análisis de Tukey encontró diferencias entre los datos de tinas con probióticos del día 16 y los días 7 y 16 del tratamiento con jengibre. La mortalidad fue evaluada con una prueba de bondad de ajuste de χ^2 , donde la hipótesis fue que el grupo control tendría el doble de individuos muertos que los tratamientos ($H_0: 2:1:1:1$), pero los datos no siguieron esa distribución. También se realizó un ANOVA para ver si la mortalidad podía ser explicada por los tratamientos, pero tampoco hubo diferencias significativas. Durante el experimento la mayor tasa de mortalidad la presentaron las tinas que tenía probióticos (96%), la posible causa fue el bajo pH, por lo que habría que diseñar un mejor experimento. Los resultados más evidentes fueron una mayor disminución en el área herida de las ranas con tratamiento de jengibre frente a los demás tratamientos (Figura 2) y la alta mortalidad de los individuos con tratamiento de probióticos. Se estableció una nueva hipótesis para ver si la mortalidad seguía una nueva distribución ($H_0: 1:1:1:2$) y efectivamente el tratamiento con probióticos tuvo el doble de mortalidad que los otros tratamientos ($\chi^2(3, \alpha: 0.95) = -1.35, p < 0.05$).

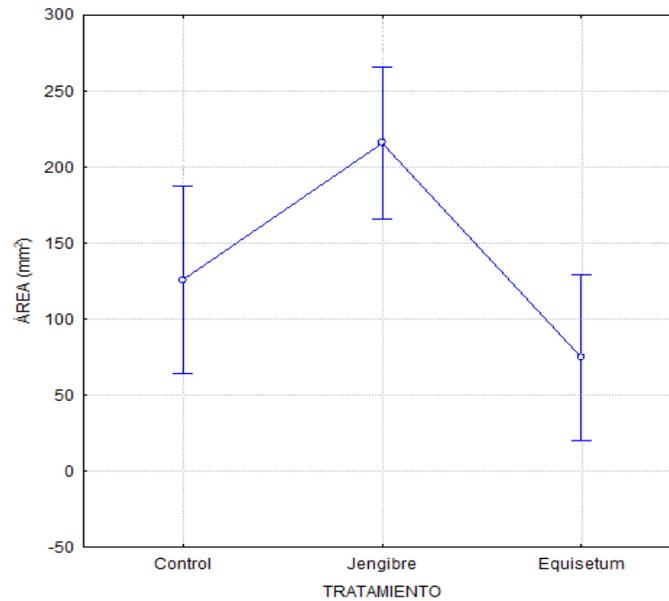


Figura 1. Acción de los tratamientos sobre el área de herida.

IV. CONCLUSIONES

El presente trabajo muestra los efectos de los tratamientos en un tiempo no lo suficientemente adecuado para observar verdaderas diferencias, también hace falta establecer las cantidades adecuadas para el uso de probióticos y tener un control preciso del pH al que se exponen los individuos, pues entra en contacto directo con su piel desprovista de alguna protección; los anfibios utilizan la piel (además de los pulmones) para el intercambio gaseoso y cualquier desbalance en las condiciones del agua como salinidad, pH, etc., pueden ser fatales para los animales.

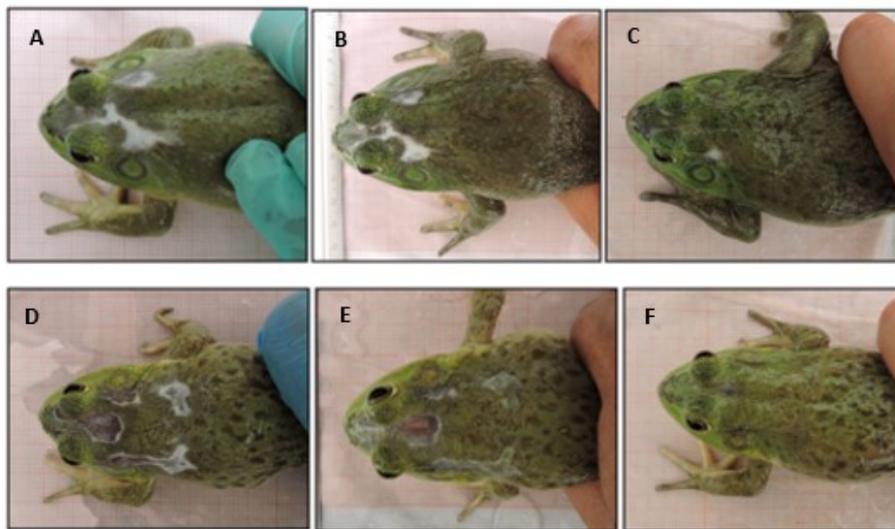


Figura 2. Efecto de los tratamientos jengibre (A, B, C) y equiseto (D, E, F).

Con este estudio se prueba que los remedios naturales pueden ser una alternativa a el tratamiento de heridas en rana toro; se sabe que mientras el animal tenga un buen estado de salud, puede mejorar por sí solo; estos tratamientos pueden mejorar la cicatrización y disminuir el tiempo de recuperación. El efecto medicinal más conocido del equiseto es antidiurético, pero también posee tiene acción antiséptica, además se sabe que acelera la regeneración de tejido conectivo dañado (Villar del Fresno, 2006); pero quizá estos beneficios no pudieron ser observados en el experimento pues hace falta saber la cantidad perfecta de infusión que tenga una mejor acción sobre las heridas y que no sea nociva para el animal. En la Figura 2, se puede ver que tanto jengibre como equiseto ayudan en la cicatrización y la mejoría en menor tiempo se demostró para jengibre. Todos estos tratamientos pueden ser utilizados por sistemas acuapónicos pues no confiere un problema para las especies vegetales.

V. RECONOCIMIENTOS

Agradezco el apoyo al Verano de la Ciencia de la UASLP por el apoyo económico y a el Verano de Ciencia de la Región Centro por la oportunidad de tener esta experiencia y en especial a mi asesor y a Granja “El Chaveño” por las facilidades y la calidez con la que se me recibió durante mi estancia de investigación.

REFERENCIAS

- CASAS ANDREU, G., AGUILAR-MIGUEL, X. & CRUZ AVIÑA, J. R. (2001). La introducción y el cultivo de la rana toro (*Rana catesbeiana*). ¿Un atentado a la biodiversidad de México? *Revista Ciencia Ergo Sum*, Vol. 8, Núm. 1 Marzo- Junio. p- 62-67.
- ISLAS OJEDA, E., LÓPEZ GUTIÉRREZ, M. A., GARCÍA MUNGUÍA, A. M., VASQUEZ MARTÍNEZ, O., GARCÍA MUNGUÍA, C.A. & CASILLAS PEÑUELAS, R. (2018). Caracterización y evaluación de los sistemas de producción y comercialización de rana toro en el Altiplano central de México. *19º Seminario de Investigación UAA*, 29-31 Mayo.
- MENDOZA-ALMERALLA, C., BURROWES, P. & PARRA-OLEA, G. (2015). *Revista Mexicana de Biodiversidad*. Vol. 86, Num. 1, Marzo, p. 238-248.
- TOSO, F., ALVAREZ, H. L., MARRÓN, Y. M. & TOSO, R. E. (2017). Efecto gastroprotector de *Equisetum giganteum* (cola de caballo) y *Cortaderia selloana* (cartadera) en ratones. *Ciencia Veterinaria*, [S.I.], Vol. 18, Num.,.1. p. 29-38.
- VILLAR DEL FRESNO, A. M. & IGLESIAS PEINADO I. (2006). Equiseto. *Revista Farmacia Profesional*, Vol 20. Num. 2, p. 74-7

Redes de interacción planta-abeja en áreas verdes urbanas de Santiago de Querétaro

Luis Enrique Olguín Chávez
 Universidad Autónoma de Querétaro
 Facultad de Ciencias Naturales
 Av. De las Ciencias S/N, Juriquilla,
 CP. 76230, Querétaro, México
luisenriqueoch@gmail.com

Asesora: Fabiola Magallán Hernández
 Universidad Autónoma de Querétaro
 Facultad de Ciencias Naturales
 Av. De las Ciencias S/N, Juriquilla,
 CP. 76230, Querétaro, México
fabiola.magallan@uaq.mx

Resumen — En este trabajo se presenta una red de interacción abeja-planta creada a partir de registros en tres sitios con áreas verdes urbanas en la ciudad de Querétaro. Se detectaron un total de 404 interacciones entre 38 especies de plantas y 23 morfoespecies de abejas. El mayor número de interacciones fue entre *Apis mellifera*, una abeja exótica y dos plantas exóticas: *Aptenia cordifolia* y *Lavandula* sp. y una planta nativa: *Eysenhardtia polystachya*. La red tuvo una conectividad y un número promedio de enlaces por especie bajo, probablemente debido a las condiciones poco favorables del hábitat. A pesar, de que se registró un mayor número de especies vegetales nativas, que exóticas, ambas parecen representar recursos importantes para las abejas.

Palabras clave — ecología urbana, plantas nativas, polinizadores urbanos.

Abstract — In this work we present a bee-plant interaction network created from records of three urban green areas in the city of Querétaro. We detected 404 interactions between 38 plant species and 23 bee morphospecies. The majority of interactions were between *Apis mellifera*, a exotic bee and two exotic plants: *Aptenia cordifolia* and *Lavandula* sp. and only one native plant: *Eysenhardtia polystachya*. The network had both a low conectance and average number of links per species, probably due to unfavorable habitat conditions. Despite the fact that there were a greater number of native, than exotic plant species, both seem to represent important resources for bees.

Keywords — urban ecology, native plants, urban pollinators.

I. INTRODUCCIÓN

La urbanización es un proceso en aumento a nivel global. Aunque las áreas urbanas sólo ocupan una parte pequeña del área terrestre (alrededor del 4%), tienen consecuencias ecológicas a diferentes escalas e impactos ambientales importantes. Los impactos en la biodiversidad generalmente son negativos, resultando en su reducción debido a pérdida de hábitat, fragmentación, proliferación de especies exóticas y cambios en los regímenes de disturbio y condiciones ambientales. Aunque, en contraste con hábitats rurales, las ciudades bajo ciertas condiciones y para algunas taxa, pueden representar un refugio para la biodiversidad debido a la calidad tan reducida de los hábitats rurales por la intensificación de actividades como la agricultura (Goddard et al., 2009).

La polinización biótica, al ser un mutualismo ampliamente distribuido en casi todos los ecosistemas terrestres puede proveer información del estado de los mismos (Ollerton et al., 2011). Particularmente, en algunas áreas verdes urbanas manejadas se ha observado gran abundancia de algunas especies de insectos polinizadores e incluso se ha propuesto que pueden funcionar como refugio para estas especies (Baldock et al., 2019; Hall et al., 2017). Las abejas están entre los polinizadores más importantes, debido a que son un grupo de

florívoros obligados que dependen durante todo su ciclo de vida de los recursos florales, además tienen una distribución cosmopolita (Winfree et al., 2009)

A nivel de comunidad, las interacciones planta-polinizador pueden ser modeladas como una red compleja de tipo bipartita, es decir, con dos grupos de nodos unidos por aristas representando sus interacciones (Campbell et al., 2011). Las redes ecológicas en general, pueden ayudar a entender las respuestas de las comunidades a gradientes ambientales naturales y antrópicos (Tylianakis, y Morris, 2017). Específicamente para las redes bipartitas, se pueden obtener propiedades generales como asimetría, igualdad, conectividad y anidamiento que describen respectivamente: la relación entre número de especies animales y vegetales, la repartición de las interacciones entre los componentes de un grupo de nodos, la proporción de interacciones observadas sobre todas las posibles y la propiedad de que las interacciones de especies con pocos enlaces diferentes sean parte de un subconjunto de las interacciones de especies más conectadas (Gibson et al., 2011). Entre los factores que se han asociado a promover mayor diversidad de insectos polinizadores en sitios urbanos, está el uso de plantas nativas aunque los resultados son discordantes. Esto adquiere mayor relevancia, porque las comunidades vegetales en las ciudades son en gran parte, producto del criterio y selección humana llegando a ser dominantes especies exóticas (Fukase, y Simons, 2016; Goddard et al., 2009). En este trabajo, se estudia una red de interacción entre abejas y plantas de tres áreas verdes urbanas de la ciudad de Santiago de Querétaro.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Las redes de interacción se estudiaron en tres sitios de la ciudad de Santiago de Querétaro: el Centro Universitario (CU) de la Universidad Autónoma de Querétaro, el Campus Juriquilla de la misma y el Parque Alcanfores. Los sitios fueron elegidos con base en observaciones previas (Oliva Segura com. pers.). En cada área verde se establecieron cinco transectos de 50 metros. Cada transecto fue recorrido por 15 minutos en cada visita, registrando todas las interacciones entre abejas y plantas. CU y el Campus Juriquilla recibieron 3.75 h de esfuerzo de muestreo cada uno y el Parque Alcanfores solo 2.5 h, teniendo un total de de 10 horas de esfuerzo de muestreo. El criterio para considerar la interacción, es que la abeja visitara una flor (o inflorescencia, en el caso de las asteráceas) y tocara el androceo o gineceo. Las abejas se recolectaron siempre que fuera posible, con una red entomológica o directamente con un frasco con alcohol al 70° o con acetona, con excepción de los individuos de *Apis mellifera* que solo fueron contados. Las abejas se montaron y fueron identificadas al menos hasta familia y posteriormente, separadas por morfoespecies. Con los datos obtenidos se construyó una matriz cuantitativa y una red de interacción en conjunto para los tres sitios con R con los paquetes bipartite y vegan.

III. RESULTADOS

En total se registraron 404 interacciones entre 23 morfoespecies de abejas y 38 especies de plantas en los tres sitios (ver figura 1). Las métricas principales se presentan en el cuadro 1. La red obtenida muestra que las interacciones están concentradas entre tres especies de plantas: *Aptenia cordifolia*, *Eysenhardtia polystachya* y *Lavandula* sp., siendo nativa

solamente la segunda y una especie de abeja exótica: *Apis mellifera*. Esto se refleja en el número de interacciones promedio por especie bajo, apenas es de 1.16 y en la conectividad de 0.08 es decir, del total de interacciones posibles (todas las abejas visitaran todas las plantas), sólo se registró el 8%. La especialización de la red (H_2) que puede tomar valores entre 0 y 1, siendo 1 el valor más alto de especialización, está ligeramente más cercana al 1, lo cual indica que hay una tendencia a la especialización de la red. Es destacable también la alta frecuencia de interacciones que fueron registradas una vez: de siete abejas sólo se tuvo un registro de interacción y recíprocamente en 10 plantas solamente se registró una visita a sus flores. Esta abundancia baja de la mayoría de las abejas probablemente está relacionada a las condiciones de la matriz circundante de cada sitio, donde dominan las superficies impermeables propias debido a se ha encontrado que la abundancia de abejas tiene un declive a mayor superficie no impermeable y a menor densidad de flores, este último factor tiene influencia especialmente en abejas grandes. La superficie impermeable tiene efectos negativos sobre la capacidad de anidación de la mayoría de las especies, además de restringir el espacio con recursos florales y aumenta el efecto de isla de calor que tiene influencia negativa sobre la fisiología de los insectos (Folschweiller *et al.*, 2016; Hamblin, Youngsteadt, y Frank, 2018). Del total de 38 especies de plantas al menos 24 son nativas de México, sin embargo, pocas sostuvieron interacciones con múltiples especies de abejas: *Eysenhardtia polysachya*, *Heterotheca inuloides* y *Lantana camara*. Lo cual implica que, en los sitios de estudio, pese a la presencia de plantas nativas, las plantas exóticas son una fuente de alimento importante para las abejas. Todo esto tiene implicaciones en el manejo de las áreas verdes en la ciudad, donde se debería promover una mayor densidad de flores tanto de especies nativas como exóticas, que sean atractivas para las abejas, esto sólo tomando en cuenta la perspectiva de la abeja y no la reproducción y adecuación de las plantas. Por lo que al favorecer a las plantas nativas se aprovecharía el servicio ambiental de la polinización en la ciudad.

Cuadro 1. Métricas generales de la red de interacción.

Métrica	General	
	Abejas	Plantas
Número de especies	23	38
Enlaces promedio por especie		1.16
Conectividad		0.08
Especialización (H_2)		0.68
Superposición de nicho	0.06	0.29

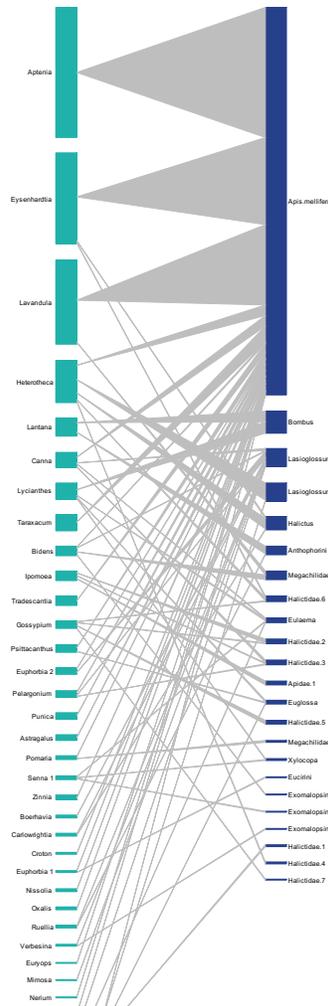


Figura 1. La red de interacción planta-abeja se compone de 38 especies de plantas (izquierda) y 23 morfoespecies de abejas (derecha). Sus interacciones se representan por las aristas que unen a ambos grupos y el grosor de la línea indica la frecuencia de la interacción.

IV. CONCLUSIONES

En este trabajo se construyó una red de interacción entre abejas y plantas en tres áreas verdes urbanas de Santiago de Querétaro. Se registraron 404 interacciones individuales entre 23 morfoespecies de abejas y 38 especies de plantas. Se encontró una mayor densidad de interacciones entre *Apis mellifera* (una abeja exótica) y tres plantas, dos de ellas exóticas. La mayoría de las especies tienen pocas interacciones lo cual puede estar relacionada a baja diversidad de ambos grupos debido a las condiciones poco favorables del hábitat que representan las áreas verdes urbanas manejadas de manera tradicional.

V. AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad Autónoma de Querétaro por el apoyo para llevar a cabo este verano de la ciencia. A la M. en C. Oliva Segura por su apoyo durante el planteamiento y la realización del trabajo y, por inspirarme a conocer más de la polinización. A Erick Veléz y Victor Steinman por la identificación de algunas plantas y a Alejandro Ruiz por su ayuda en el montaje de algunas abejas.

REFERENCIAS

- Baldock, K. C. R., Goddard, M. A., Hicks, D. M., Kunin, W. E., Mitschunas, N., Morse, H., ... Memmott, J. (2019). A systems approach reveals urban pollinator hotspots and conservation opportunities. *Nature Ecology & Evolution*, 3(3).
- Campbell, C., Yang, S., Albert, R., y Shea, K. (2011). A network model for plant-pollinator community assembly. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(1), 197–202.
- Folschweiller, M., Flacher, F., Carmignac, D., Motard, E., Perret, S., y Dajoz, I. (2016). The proportion of impervious surfaces at the landscape scale structures wild bee assemblages in a densely populated region, 6599–6615.
- Fukase, J., y Simons. (2016). Increased Pollinator Activity in Urban Gardens With More Native Flora, 14(1), 297–310.
- Gibson, R. H., Knott, B., Eberlein, T., y Memmott, J. (2011). Sampling method influences the structure of plant-pollinator networks. *Oikos*, 120(6), 822–831.
- Goddard, M. A., Dougill, A. J., y Benton, T. G. (2009). Scaling up from gardens: biodiversity conservation in urban environments, (September).
- Hall, D. M., Camilo, G. R., Tonietto, R. K., Ollerton, J., Ahrné, K., Arduser, M., ... Threlfall, C. G. (2017). The city as a refuge for insect pollinators. *Conservation Biology*, 31(1), 24–29.
- Hamblin, A. L., Youngsteadt, E., y Frank, S. D. (2018). Wild bee abundance declines with urban warming, regardless of floral density.
- Ollerton, J., Winfree, R., y Tarrant, S. (2011). How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos*, 120(3), 321–326.
- Tylianakis, J. M., y Morris, R. J. (2017). Ecological Networks Across Environmental Gradients. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 48(1),
- Winfree, R., Aguilar, R., Vázquez, D. P., LeBuhn, G., y Aizen, M. A. (2009). A meta-analysis of bees' responses to anthropogenic disturbance. *Ecology*, 90(8), 2068–2076.



**21° Verano de la Ciencia de la
Región Centro**



CIENCIAS AGROPECUARIAS

Vol. 5, No. 2



ISBN 978-607-9453-38-1

Comité Organizador

Coordinación general

Dr. Manuel Reta Hernández
Dra. Laura Hernández Martínez
Dr. Luis Alejandro Aguilera Galaviz
Universidad Autónoma de Zacatecas

Institución participante	Coordinadores
Centro de Investigación en Matemáticas, Unidad Guanajuato	Dr. Arturo Hernández Aguirre
Centro de Investigaciones en Óptica A.C.	Lic. Luz Adriana Gutiérrez Guerra Sarahí Hernández Lugo
Centro de Investigación en Química Aplicada	Dr. Antonio Cárdenas Flores Dra. Leticia Larios López
Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN, Unidad Irapuato	Dr. Reynaldo Ariel Álvarez Morales Ing. Jesús Vega Medina Ing. Jesús Vega Medina
Centro Regional de Educación Normal Profra. Amina Madera Lauterio, Cedral S.L.P.	Dr. Juan Manuel Rodríguez Tello
Escuela Nacional de Estudios Superiores UNAM, Unidad León	Dra. Harumi Shimada Beltrán
Escuela Normal de Estudios Superiores del Magisterio Potosino	Mtro. Luís Daniel García García
Instituto de Neurobiología - UNAM	Dra. Nuri Aranda López
Instituto Estatal de Investigación y Posgrado en Educación	Dr. Rafael Benjamín Culebro Tello
Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica	Mtra. Ivonne Lizette Cuevas Vélez
Instituto Tecnológico de Aguascalientes	Lic. Yusahara Vázquez Ochoa
Instituto Tecnológico de Celaya	M.G.A. Esperanza Peña Morales
Instituto Tecnológico de Querétaro	Dr. José Arturo Toscano Giles
Instituto Tecnológico de San Luis Potosí	Dr. Pedro de Jesús García Zugasti, Dr. Ariel Benjamín de la Rosa Zapata
Instituto Tecnológico Superior de Abasolo	Dr. César Álvarez Mejía Dr. Eusebio Orozco Medel, M.C. Akira Torreblanca Ponce M.C. José Manuel Aguilera López
Instituto Tecnológico Superior de Monclova	Mtra. Verónica Martínez Vela Ing. Guillermo Riojas Rodríguez
Instituto Tecnológico Superior de Purísima del Rincón	Mtro. Luis Fernando Villanueva Jiménez Lic. Valente Serrano Gervacio, Mtro. Jerónimo Landeros Flores, Ing. Victor Manuel Villa Coronado, Dr. Armando Espinoza Banda
Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro	Dr. Marcelo de Jesús Pérez Ramos, Lic. Laura Olivia Ortega Calderón Mtra. Yazmin Ramírez Rodríguez
Universidad Autónoma de Aguascalientes	Lic. Alejandro Herrera Hernández M. A. María Concepción Esparza Castro Lic. Dora Elia Cárdenas Elizondo
Universidad Autónoma de Coahuila	Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña M. en GIC. Karina Villarauz Camargo
Universidad Autónoma de Querétaro	ME Ma. Guadalupe Alejo González Ing. Laura Elena Ochoa Leija
Universidad Autónoma de San Luis Potosí	Dr. Manuel Reta Hernández Dra. Laura Hernández Martínez Dr. Alejandro Aguilera Galaviz
Universidad Autónoma de Zacatecas	MDG. Emma Reséndiz Ramírez M. en C. Jenaro Daniel Jaime González
Universidad de Guanajuato	Mtra. Alicia Villagómez Carvajal Mtra. Yuritzi Sofía López Hernández
Universidad del Centro de México	Dr. Andrés Vázquez Faustino
Universidad Pedagógica Nacional - Unidad 241	Dra. Alondra Anahí Ortiz Verdín
Universidad Politécnica de Querétaro	Dr. Martín Hernández Sustaita
Universidad Politécnica de San Luis Potosí	Mtra. Dafne Flores Rodríguez
Universidad Politécnica del Bicentenario	Dr. Javier Cruz Salgado

CONTENIDO

1	Acumulación de lípidos en una colección de cepas de <i>Yarrowia lipolytica</i> <i>Sofía Michelle Sepúlveda Soria, Adan Topiltzin Morales Vargas (Asesor)</i>	1
2	Análisis de características fisicoquímicas de fibras provenientes de residuos agrícolas <i>León Bata Brandon Iván, Hernández Méndez Carlos Hernán (Asesor)</i>	6
3	Analizar el efecto de dos biofertilizantes potenciales derivados de microorganismos sobre la germinación y el crecimiento de plantas de interés comercial <i>Johanna Valeria Moreno Puente, Alejandra Hernández Barrera (Asesora)</i>	12
4	Antagonismo de <i>Bacillus subtilis</i> frente a microorganismos fitopatógenos <i>Paloma Torres Lomas, María Rico Martínez (Asesora)</i>	19
5	Aprovechamiento de residuos alimenticios vegetales para la creación de fertilizantes orgánicos <i>Michelle Aylín Guerrero Ángeles, Fernando Omar Mendieta González, Irma Cecilia Ortiz Chávez (Asesora)</i>	25
6	Caracterización de comunidades microbianas del fruto de manzano y su empleo como agentes de control biológico <i>Evelyn Crystel Bárcenas Orozco, Juan Ramiro Pacheco Aguilar (Asesor)</i>	31
7	Caracterización de la pulpa de coco maduro para su utilización en algún producto alimenticio <i>Michel Alejandra Alba Montoya, Araceli Loredó Treviño</i>	36
8	Caracterización funcional de fibras duras vegetales de agave <i>Irma Graciela Flores Cortés, Lorena Vargas Rodríguez (Asesora)</i>	43
9	Caracterización microscópica y molecular de hongos asociados a líquenes <i>Angely Sabrina Candelario López, Varinia López Ramírez (Asesora)</i>	48
10	Cultivo de tejidos vegetales in vitro de cactus y suculentas injertadas (A) <i>Victoria Pérez González, Pablo Delgado Sánchez (Asesor)</i>	53
11	Cultivo de tejidos vegetales in vitro de cactus y suculentas injertadas (B) <i>Xareni Nitzaye Ávila Valadez, Pablo Delgado Sánchez (Asesor)</i>	59
12	Determinación de la capacidad antioxidante y la concentración fenólica contenida en metabolitos secundarios de <i>Chrysactinia mexicana</i> <i>Yesenia Damaris Franco Aguirre, Emma Fabiola Magallan Hernández (Asesora)</i>	65
13	Determinaciones bioquímicos-clínicos en animales en cautiverio <i>Lorena García Díaz, Francisco Alejo Irtuvide (asesor)</i>	72
14	Distribución e identificación de líquenes en la unidad deportiva El Copal, en Irapuato, Gto. <i>Laihsa Valeria Rodríguez González, Varinia López Ramírez (asesora)</i>	77
15	Efecto de la suplementación de metionina durante el último tercio de la gestación sobre el desarrollo postnatal e inicio de la pubertad en hembras caprinas <i>Juan Carlos Baltazar Camacho, César Augusto Rosales Nieto (Asesor)</i>	83

16	Efecto de la suplementación de una cepa probiótica sobre los parámetros productivos en pollos de engorda <i>Ezer Alonso Yniesta Aguilar, Elena Franco Robles (Asesora)</i>	90
17	Evaluación de la composición química de los cecotrofos y heces duras de conejos alimentados con sorgo y diferentes niveles de fibra detergente neutro <i>Arturo Arnulfo Islas Cadillo, José Guadalupe Gómez Soto (Asesor)</i>	96
18	Evaluación de las condiciones de nixtamalización sobre las propiedades reológicas y físico químicas de las harinas instantáneas de maíz enriquecidas con diferentes fuentes de proteínas vegetales <i>Josué Esaú Cruz Espinoza, Francisco Javier Espitia Orozco (Asesor)</i>	102
19	Evaluación de las propiedades físicas y químicas de semilla de calabaza <i>Ania Guadalupe Isidro Luis, Laura Araceli López Martínez (Asesora)</i>	108
20	Evaluación in vivo de hongos fitopatógenos en hortalizas para productores de INFOOD <i>Daniela León Ramírez, Christian Salvador Mendoza Hernández (Asesor)</i>	114
21	Extracción y caracterización de macromoléculas de origen animal para la fortificación de alimentos <i>Mauricio Serrano Ramírez, Carlos Hernán Herrera Cortez (Asesor)</i>	119
22	Factores implicados en el movimiento viral del virus del mosaico de la caña de azúcar (SCMV) en plantas de maíz <i>Raúl Antonio García Martínez, Laura Silva Rosales (Asesor)</i>	125
23	Identificación de factores que modulan transcripcionalmente la expresión de tres poli amino oxidasas de nopal <i>José Francisco Rubio Aguilera, María de la Luz Guerrero González (Asesora)</i>	131
24	Identificación molecular de hongos fitopatógenos de hortalizas para productores de INFOOD <i>Karina del Rocío Buzo Reyes, María Gabriela Huerta Zacarías, Christian Salvador Mendoza Hernández (Asesor)</i>	138
25	Los sarcófagidos (Diptera Sarcophagidae) del Cañón de Fernández, Lerdo, Durango <i>Ángel Mauricio Cano Sandoval, Fabián García Espinoza (Asesor)</i>	144
26	Los Sarcófagidos (Diptera Sarcophagidae) del Puerto de Ventanillas, San Pedro de las Colonias, Coahuila. <i>José Alex Jiménez Cruz, Fabián García Espinoza (Asesor)</i>	150
27	Manipulación del metabolismo de poliaminas en hongos entomopatógenos para incrementar la eficiencia del control biológico de insectos plaga que atacan cultivos de importancia económica <i>Diana Marcela Velazquez Gil, Laura Valdés Santiago (Asesora)</i>	156
28	Monitoreo de Delia spp. (Diptera Anthomyiidae) en cultivos hortícolas de Coahuila y Durango <i>Karla Leticia Martínez Ramos, Fabián García Espinoza (Asesor)</i>	162
29	Potencial de uso de cultivos de la microalga Chlorella vulgaris AAI-1 como biofertilizante en garbanzo (Cicer arietinum L.) var "jumbo" in vitro <i>Ruth Mendoza Escamilla, Laura Valdés Santiago (Asesora)</i>	167

30	Prevalencia de diabetes mellitus en perros y gatos del municipio de Irapuato Guanajuato <i>Saraí Sánchez Camacho, Mauricio Arredondo Castro (Asesor)</i>	172
31	Protocolo para tratamiento de lesiones cutáneas en <i>Lithobates catesbeianus</i> con infusiones de jengibre y equiseto <i>Carla Elizabeth Jasso Aguilar, Efraín Islas Ojeda (Asesor)</i>	177
32	Redes de interacción planta-abeja en áreas verdes urbanas de Santiago de Querétaro <i>Luis Enrique Olguín Chávez, Fabiola Magallán Hernández (Asesora)</i>	182

Acumulación de lípidos en una colección de cepas de *Yarrowia lipolytica*

Sofía Michelle Sepúlveda Soria

Universidad de Guanajuato
38060 Mutualismo Esq., Río Lerma S/N,
Celaya, Guanajuato
sofia_smss_b@hotmail.com

Asesor: Adan Topiltzin Morales Vargas

Universidad de Guanajuato
38060 Mutualismo Esq., Río Lerma S/N,
Celaya, Guanajuato
adan.tops@gmail.com

Resumen — En la actualidad, se ha estudiado a *Yarrowia lipolytica* por ser una levadura no convencional, ya que es capaz de secretar eficientemente diversas proteínas heterólogas (lipasas, proteasas, esterasa y RNasa). Dicha capacidad la vuelve un blanco científico por sus distintas aplicaciones tecnológicas en áreas de producción de alimentos, farmacéuticos, detergentes y biocombustibles.

Es por eso, que en el presente trabajo se pretende identificar aquellas cepas de *Y. lipolytica* que conforman la colección, a la que presente una mayor producción de lipasa extracelular, mediante el manejo de distintas fuentes de carbono y nitrógeno. Para aislar aquellas que sean más eficientes y poder darles un uso en alguna de sus muchas aplicaciones.

Palabras clave — *Yarrowia lipolytica*, lipasa extracelular, producción.

Abstract — At present, *Yarrowia lipolytica* has been studied as an unconventional yeast, since it is capable of efficiently secreting various heterologous proteins (lipases, proteases, enterase, RNase). This capacity makes it a scientific target for its different technological applications in areas of food production, pharmaceuticals, detergents and biofuels.

That is why, in the present work, we intend to identify those strains of *Y. lipolytica* that make up the collection, to which there is a greater production of extracellular lipase, through the management of different sources of carbon and nitrogen. To isolate those that are more efficient and be able to use them in one of their many applications.

Keywords — *Yarrowia lipolytica*, extracellular lipase, production.

I. INTRODUCCIÓN

Las levaduras ofrecen una serie de ventajas como sistemas host y, entre ellas, *Yarrowia lipolytica* aparece como una de las más atractivas. Esta levadura dimórfica no convencional exhibe una notable regularidad de rendimiento en la secreción eficiente de diversas proteínas heterólogas [1].

Yarrowia lipolytica secreta de manera natural varias enzimas como proteasas, lipasas, esterasas y RNasa, por lo que, desde este hallazgo se ha utilizado como modelo de estudio para la producción en masa, debido al interés industrial [2].

Su gama de sustratos naturales incluye alcanos, ácidos grasos, ácidos orgánicos y proteínas, y pocos azúcares. Por lo que en este trabajo se estudió la capacidad de 31 cepas distintas de *Y. lipolytica* de asimilar ácidos grasos como tributirina, aceite residual, aceite de oliva, combinaciones como tributirina-glicerol, y glucosa.

II. MARCO TEÓRICO

A. Medio YPD (*Yeast extract-peptone-dextrose*)

Este medio es usado para la propagación y el mantenimiento de levaduras para su uso en biología molecular.

Las levaduras crecen bien en un medio mínimo que contiene sólo dextros y sales. La adición de hidrolizados de proteína y extracto de células de levadura permite un crecimiento más rápido, de modo que durante el crecimiento exponencial o en fase logarítmica, las células se dividen cada 90 minutos. La peptona actúa como fuente de carbono, nitrógeno, vitaminas y minerales. El extracto de levadura proporciona vitaminas del complejo B, que estimulan el crecimiento bacteriano. La dextrosa es la fuente de carbohidratos. El agar actúa como agente solidificante [3].

B. Medio YNB (*Yeast Nitrogen Base without Amino Acids- Sigma Aldrich*)

Se utiliza para clasificar las levaduras según los requisitos de aminoácidos y carbohidratos. La base de nitrógeno de levadura BDTM Difco™ sin aminoácidos es un medio de cultivo deshidratado utilizado en muchas aplicaciones de genética molecular. Preparado según las fórmulas de Wickerham [4].

C. Rodamina B

Según [5], la rodamina B (RhB), es un colorante catiónico de la clase de los xantenos, altamente soluble en agua y ha sido ampliamente usado como colorante textil y en productos alimenticios. También es un conocido trazador fluorescente y marcador biológico.

D. Rojo de Fenol

Rojo de fenol o fenol sulfonftaleína es un indicador ácido-base en análisis químico, cuenta con un intervalo de transición visual desde un pH 6.8 (amarillo) a 8.2 (rojo), pasando por el naranja, rosado y rojo [6].

III. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Condiciones de cultivo

Se cuenta con 31 cepas de *Yarrowia lipolytica* que fueron aisladas a partir de productos cárnicos y lácteos. La copia de las cepas, fueron sembradas en cajas Petri con medio YPD (*Yeast extract-peptone-dextrose*, Agar Difco) con antibiótico (Dicloxacilina) e incubadas a 28 °C. Para la obtención de biomasa, se hicieron crecer las cepas en 20 mL de medio YPD (*Yeast extract-peptone-dextrose*) en incubadora por 72 horas. Posteriormente, se observaron las muestras al microscopio, una vez que se detectó la presencia y crecimiento de las cepas, así como descartar contaminación, se realizaron dos lavados por centrifugación a 5000 rpm durante 5 minutos, resuspendiendo en 10 mL de agua estéril. A partir de esas muestras, se realizaron diluciones 10⁻¹ y 10⁻² por cepa, para poder medir su

absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 600 nm y determinar la densidad óptica de cada muestra.

B. Producción de lipasas

Para los medios se utilizó medio YNB (Yeast Nitrogen Base without Amino Acids – Sigma Aldrich) de acuerdo a la metodología de [7] con rojo de fenol y uno con rodamina como indicadores colorimétricos de pH, siendo la composición de cada uno la que se muestra en la Tabla 1. Para la tributirina, aceite residual y aceite de oliva, se prepararon emulsiones para cada uno.

Los medios YNBD, YNBO, YNBR, YNB TG y YNBW fueron inoculados por triplicado con 15 μ L de la suspensión de 0.1

Tabla 1. Medios YNB

YNBD (Glucosa 2 g/L)	YNBO (Aceite de oliva 5 mL)	YNBR (Tributirina 30 mL/L)	YNBTG (Tributirina- Glicerol 10 mL/L c/u)	YNBW (Aceite residual 75 mL/L)
-YNB	-YNB	-YNB	-YNB	-YNB
-Agar	-Agar	-Agar	-Agar	-Agar
-Peptona	-Peptona	-Peptona	-Extracto de levadura	-Extracto de levadura
-Extracto de levadura	-Extracto de levadura	-Extracto de levadura	-Buffer de citratos (pH: 7.2)	-Buffer de citratos (pH: 7.2)
-Buffer de citratos (pH: 7.2)	-Buffer de citratos (pH: 7.2)	-NaCl	-Tributirina	-Aceite residual
-Glucosa	-Aceite de oliva	-Tributirina	-Glicerol	-Rojo de fenol
-Rojo de Fenol	-Rojo de fenol	-Rodamina B	-Rojo de Fenol	-Agua
-Agua	-Agua	-Agua	-Agua	

IV. RESULTADOS

En la Figura 1, puede observarse fotografías donde se muestran los distintos medios utilizados, las cajas Petri con medios YNB TG y YNB R, es posible apreciar la presencia de la lipasa extracelular, debido a que se formó un halo alrededor de las colonias. Sin embargo, es importante mencionar que la producción de lipasa en YNB TG no fue tan considerable en comparación con YNB R.

En los medios de YNB O Y YNB W la presencia de la lipasa puede identificarse debido al viraje de color en el medio de un amarillo a un rosado, lo que significa un cambio en el pH. Esto como consecuencia de la hidrólisis de los triglicéridos por efecto de la lipasa.

En el medio YNB D, después de 100 horas de la inoculación, pudo comenzarse a ver un pequeño viraje de coloración.

V. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Para los medios sólidos con distintas fuentes de carbono y nitrógeno, la producción de lipasas no se dio de manera uniforme a pesar de comparar una misma cepa. Sin embargo, es notable que la presencia de tributirina aumenta ésta producción.

Comparando con la literatura, encontramos que [7], reporta que la producción de lipasa extracelular en una cepa de *Y. lipolytica*, se ve reprimida por glucosa y glicerol, concordando con nuestros resultados, pues en los medios que contenían glucosa o glicerol, la detección de la lipasa no fue tan notable como en los otros medios.

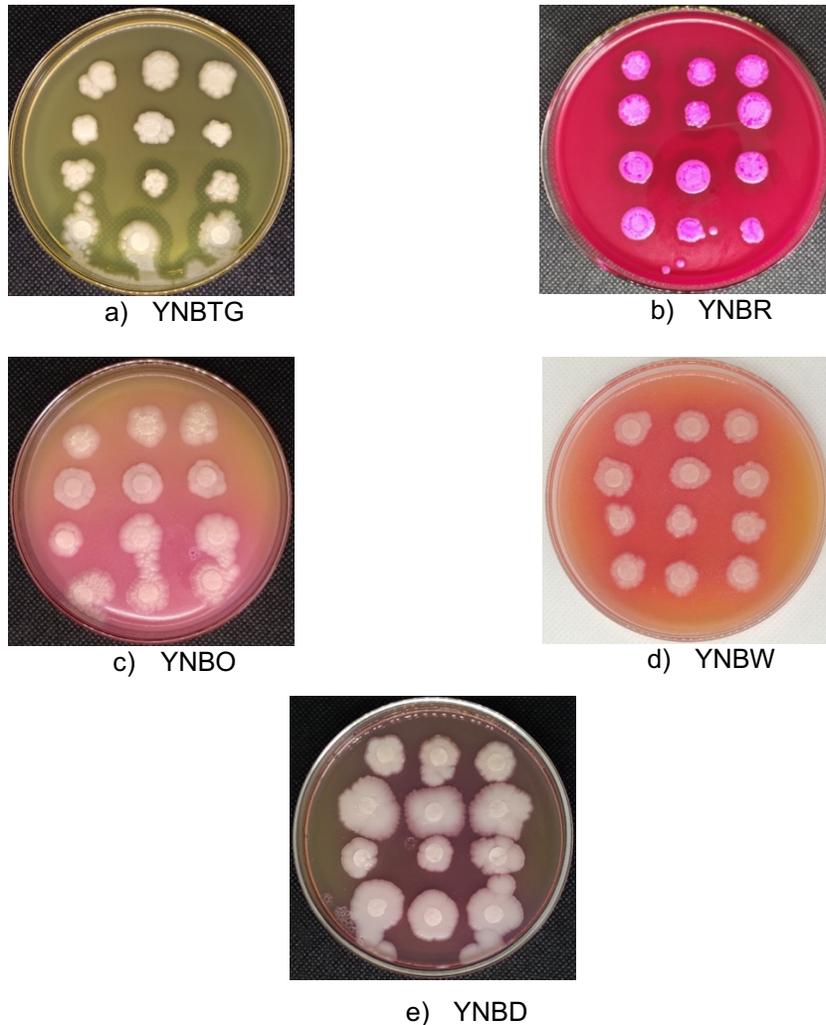


Figura 1. Medios YNB con producción de lipasa extracelular.

VI. CONCLUSIONES

En este proyecto se llevó a cabo la identificación de algunas cepas de *Y. lipolytica* capaces de producir lipasas extracelulares, con el fin de detectar las fuentes de carbono y nitrógeno más propicias para la misma.

Definimos que la tributirina es la fuente de carbono ideal en esta colección de cepas para la producción de lipasa extracelular.

VII. RECONOCIMIENTOS

Expreso mi agradecimiento a la Universidad de Guanajuato y a CONACyT por brindarme la posibilidad de expandir mis conocimientos por este medio y por el apoyo otorgado en este verano de la ciencia. También agradezco al Doctor Adán por todo el conocimiento compartido.

REFERENCIAS

- [1] C. Madzak, C. Gailardin, J. Beckerich, “Expresión y secreción de proteínas heterólogas en la levadura no convencional *Yarrowia lipolytica*: una revisión”, *Revista de Biotecnología*, Vol. 109, Número 1-2, pp. 63-81. Abril 2004.
- [2] J. Nicaud, C. Madzak, P. van den Broek, et al., “Expresión y secreción de proteínas en la levadura *Yarrowia lipolytica*”, *FEMS Yeast Research*, Vol. 2, Número 3, Agosto 2002, pp. 371-379.
- [3] *BD Medios de cultivo deshidratados Difco™: agar YPD*, Fisher scientific, 2019.
- [4] *BD Medios de cultivo deshidratados Difco™: Base nitrogenada de levadura sin aminoácidos*. Fisher scientific, 2019.
- [5] L. B. Jiménez, “Estudio de la melanina como fotocatalizador para la degradación de colorantes: Rodamina B”, trabajo de fin de grado, Instituto potosino de Investigación Científica y tecnología, A. C., México, 2013.
- [6] *Hoja de seguridad. Rojo de fenol MSDS*, Escuela de Química, Universidad Nacional, Versión 1.2, Abril 2016.
- [7] P. Fickers, et al., “Sobreprroducción de lipasa por mutantes de *Yarrowia lipolytica*”, *Microbiología Aplicada y Biotecnología*, Vol. 63, Número 2, pp. 136-142, Diciembre 2003.

Análisis de características fisicoquímicas de fibras provenientes de residuos agrícolas

León Bata Brandon Ivan

Universidad de Guanajuato
Departamento de ingeniería Agroindustrial
Privada de Arteaga S/N,
Salvatierra GTO, México CP:38900
bi.leonbata@ugto.mx

Asesor: Hernández Méndez Carlos Hernán

Universidad de Guanajuato
Departamento de ingeniería Agroindustrial
Privada de Arteaga S/N,
Salvatierra GTO, México CP:38900
ch.mendez@ugto.mx

Resumen — Los residuos provenientes de los diferentes procesos de transformación dentro de la industria alimentaria y no alimentaria, son en ocasiones causantes de problemas ambientales, por ello se busca aprovechar la mayor cantidad de residuos para diferentes fines. El principal objetivo por el cual se realizó el presente trabajo es para determinar las características fisicoquímicas de la Fibra de Agave tequilana weber variedad azul, ya que esta fibra posee diversas cualidades que se las proporcionan los diferentes componentes que están presentes, como lo son la lignina la cual es el componente mayoritario de la fibra y en el cual se centra esta investigación. Pectina, celulosa, hemicelulosa y cenizas también son parte de las características que se cuantificaran basándonos en diferentes metodologías.

Palabras clave — Residuo, Variedad, Componentes, Hemicelulosa, Celulosa.

Abstract — Waste from the different transformation processes within the food and non-food industry, are sometimes causes of environmental problems, so the largest amount of waste is sought for different fines. The main objective for which this work was carried out is to determine the physicochemical characteristics of the Aber Tequilana weber fiber blue variety, since this fiber has several characteristics that are the last different components that are present, such as lignin which is the major component of the fiber and on which this research focuses. Pectin, cellulose, hemicellulose and ashes are also part of the characteristics that are quantified based on different methodologies.

Keywords — Residue, Variety, Components, Hemicellulose, Cellulose.

I. INTRODUCCIÓN

Es conocida la producción y obtención de celulosa, a partir de fuentes maderables, y existe una tendencia actual a la búsqueda de nuevas fuentes de obtención de celulosa. El agave es una especie no maderable que puede ser utilizada para extracción de celulosa. Existen diversas investigaciones sobre elaboración de fibras a base de residuos de agaves [1] en las cuales obtuvieron pulpa de bagazo de A. tequilana mediante técnicas mecánicas, químicas y biológicas. Recientemente se reporta [2] la elaboración papel a partir de fibras crudas de seis especies de Agave; tres de hoja angosta (A. lechuguilla, A. angustifolia y A. tequilana) y tres de hoja ancha (A. americana, A. salmiana y A. mapisaga), utilizando diferentes métodos para la extracción de fibras. El autor señala que A. salmiana y A. mapisaga fueron las especies que presentaron mejores características.

De los diferentes métodos para la determinación de lignina en plantas, el uso de ácido sulfúrico al 72% para la hidrólisis de todos los carbohidratos conocido como lignina Klason ha sido ampliamente utilizado. El método es laborioso, tardado y puede arrojar resultados erróneos debido a hidrólisis incompleta del contenido celulósico [3]

El objetivo general de este estudio es cuantificar los componentes principales presentes en la fibra de agave tequilana para en base a esto buscar una aplicación en la cual se puedan utilizar las fibras provenientes de residuos agrícolas.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

La fibra de agave (Tequilana weber) fue lavada para remover tierra y suciedad y molida en un molino de cuchillas. La fibra triturada se separó por tamaño de partícula. Se colectaron las partículas que pasaron en la malla # 40 (0.42 mm). Las partículas que pasaron la malla # 40 se separaron y esa fue la que se utilizó para las pruebas. La fibra pulverizada se almacena en bolsas de plástico y se utilizó como se fue necesitando en las diferentes pruebas que se fueron realizando.



Fig 1. fibra natural sin modificación. **Fig 2.** Fibra natural reducida de tamaño. **Fig 3.** fibra natural molida

A. Extracción de pectinas

Se realizó una disolución con agua destilada (200ml) y ácido cítrico 20g, se agregaron 10 gramos de fibra molida una vez que esté lista la disolución con la muestra se montó el equipo soxhlet y posteriormente se mantuvo en ebullición durante 20 minutos, transcurrido el tiempo se filtran la muestra y a esta muestra se le agregan 300 ml de etanol y se refrigera durante 12 h, se vuelve a filtrar la muestra después del refrigerado con papel filtro previamente pesado a 40°C en estufa, transcurrido el tiempo una vez transcurrido el tiempo de secado del papel filtro con la muestra se pesa de nuevo y se determina la cantidad de lignina por diferencia de peso.

B. Análisis Próximo

El tratamiento de la muestra, los contenidos de extraíbles a la acetona y extraíbles al agua caliente en muestras fibra se determinaron usando procedimientos estándares descritos en TAPPI T264 cm97[6], TAPPI T204 cm-97[6] y TAPPI T207 cm-99[5] respectivamente

C. Análisis Químico

La fibra seca y molida se trató de acuerdo con el procedimiento estándar descrito en TAPPI T264 cm-97 para determinar los contenidos de lignina insoluble en solventes orgánicos y TAPPI T204 cm-97 para determinar los contenidos de lignina insoluble en agua caliente.

D. *Pretratamiento de la muestra*

Para fines de obtener la relación del contenido de lignina la fibra de agave seca, molida (malla #40) fue sometida a dos diferentes pretratamientos: Agua caliente, por 4 horas, dejar la fibra en ebullición energética conectando al equipo soxhlet, filtrar y lavar con agua destilada, y dejar secar a temperatura ambiente de acuerdo a la norma estándar TAPPI T204 cm-97. Solvente orgánico agregar (200ml) etanol: benceno 1:2 dejar en ebullición energética durante 4h filtrar y lavar la muestra y agregar nuevamente 200 ml de etanol y dejar en ebullición durante 4h, lavar con agua desionizada para eliminar por completo el etanol de la muestra y dejar secar a temperatura ambiente acuerdo a la norma estándar TAPPI T264-cm97. La paja tratada se lava hasta pH neutro y se deja secar.

E. *Determinación de contenido de lignina*

La paja molida (malla # 40+) libre de extraíbles se sometió a hidrólisis ácida con solución de H₂SO₄ (72% w/w). Después de dispersar el material en el ácido a 20 ± 1°C, se mantuvo en baño a esta temperatura por 2 horas con agitación frecuente. Se continuó la hidrólisis del material diluyendo el H₂SO₄ (3% w/w) por adición de agua desionizada y ebullición a reflujo por 4 horas. Transcurrido el periodo indicado la muestra se dejó enfriar hasta que el material insoluble decanto posterior mente se filtró a vacío usando papel filtro # 3 el cual fue secado previamente a 105°C. El precipitado se lavó con agua caliente hasta quedar libre de ácido el papel filtro y su contenido se secaron en estufa durante 4 h a 105°C, se retiró el papel filtro del horno y de se dejó en un desecador por tres horas. Tras alcanzar el peso constante se pesó el papel filtro y se determinó el contenido de lignina según la ecuación 1 de la metodología ASTM D1106.

NOTA: Todas las pruebas se hicieron por triplicado.

III. RESULTADOS

A. *Extracción de pectinas*

Tabla 1 Peso papel filtro con y sin muestra de pectina

Peso inicial del papel filtro	Peso final del papel filtro
1.- 1.2165g	1.- 1.8204g
2.- 1.9999g	2.- 1.8345g
3.- 1.1911g	3.- 1.5489g
4.- 1.1973g	4.- 1.8904g
5.- 1.1930g	5.- 1.4971g
6.- 1.2089g	6.- 1.6375g

NOTA: La diferencia de peso de el papel filtro, es la cantidad en gramos de pectina obtenida por cada muestra.

Media = 1.51105g pectina

$$\% \text{ pectina} = (A / B) * 100 \quad (1)$$

donde:

A= pectina total obtenida

B= peso total de la muestra

$$\% \text{ pectina} = (1.51105g / 60g) * 100 = 2.51\% \text{ pectina}$$

B. Extraíbles con agua caliente

Tabla 2. Pesos resultantes de extraíbles con agua caliente

Peso muestra inicial	Peso final de la muestra	Diferencia de peso (extraíbles con agua 95°C)
1.5000g	1.3754g	0.1255g
1.5007g	1.3638g	0.1369g
1.5007g	1.3619g	0.1380g

C. Extraíbles con solvente

Tabla 3. Pesos resultantes de extraíbles con solvente

Peso muestra inicial	Peso final de la muestra	Diferencia de peso (extraíbles con benceno:etanol 2:1)
1.3754g	1.3204g	0.0541g
1.3638g	1.3323g	0.0315g
1.3619g	1.3530g	0.0089g (posible error de T en la extracción)

D. Extracción de lignina

$$\% \text{ lignina} = (A - B / C) * 100 \quad (2)$$

donde:

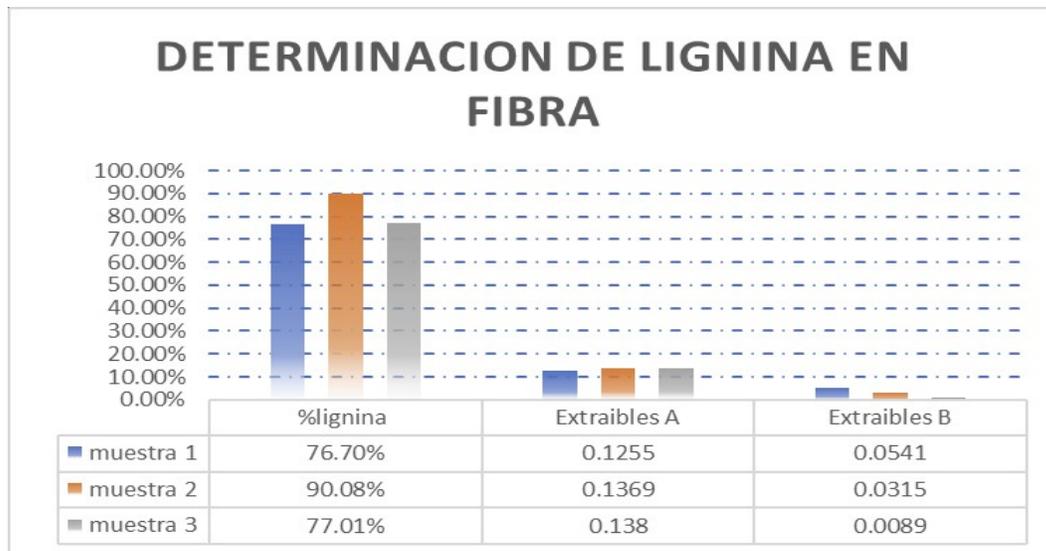
A= peso del residuo secado al horno y el papel filtro

B= peso del papel filtro secado al horno

C= peso de la muestra libre de extractos secada al horno

Tabla 4. Pesos resultantes en la cuantificación de lignina por cada muestra

Residuo secado al horno	Papel filtro secado al horno	Muestra libre de extraíbles	% lignina
2.1626g	1.1499g	1.3204g	76.6964% lignina
2.3548g	1.1546g	1.3323g	90.0848% lignina
2.2169g	1.1749g	1.3530g	77.0140% lignina

**Figura 1.** Determinación de Lignina en fibra

IV. DISCUSIÓN (O ANÁLISIS DE RESULTADOS)

Los resultados que se obtuvieron son constantes en las tres muestras que se hicieron para cada experimento, esto nos indica la fiabilidad de la técnica utilizada para cada prueba. En base a los resultados obtenidos se puede concluir que las fibras provenientes de residuos agrícolas se pueden utilizar para diversas aplicaciones en la industria y así dar un valor agregado a los diferentes productos que se pueden obtener a partir de estos residuos, ya que por su alto contenido de lignina puede ser adicionada la fibra en productos tanto para la industria alimentaria como para la no alimentaria.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Debido a las características propias de la fibra es necesario cambiar los métodos de extracción o usar los ácidos a una menor concentración, ya que los diferentes ácidos con los cuales se logra la extracción son demasiado fuertes para el tipo de fibra con el cual se está trabajando, esto interfiere con los resultados finales ya que la fibra se consume casi en su totalidad al estar en contacto con estos.

Al momento de realizar la prueba para determinación de celulosa y hemicelulosa no se logró ya que el ácido sulfúrico usado en la prueba consumió por completo la fibra y esto causó que no se pudiera seguir con la prueba.

Por eso se recomienda bajar las concentraciones de ácido hasta un 50% para que este tenga la suficiente fuerza para poder trabajar pero sin destruir la fibra.

REFERENCIAS

- [1] Parra, L.A., del Villar, P. y Prieto, A., Extracción de fibras de agave para elaborar papel y artesanías. Acta Universitaria, [En línea]. 20(3), pp. 77-83, 2010. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=41618860011>
- [2] Ruiz-Corral, J.A., Requerimientos agroecológicos y potencial productivo del agave Agave tequilana Weber en México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. [En línea]. Centro de Investigación Regional del Pacífico Centro. 2007, pp. 11-36. Disponible en: http://www.inifapcirne.gob.mx/Revistas/Archivos/agave_final_baja%20resolucion.pdf
- [4] TAPPI, T. (2004). 204 cm-97, Solvent extractives of wood and pulp. Technical Association of the Pulp and Paper Industry, 2005.
- [5] TAPPI, T. (1999). 207 cm-99. Water solubility of wood and pulp. Technical Association of the Pulp and Paper Industry, 2002.
- [6] TAPPI (Technical Association of the Pulp and Paper Industry). 2000a. TAPPI test methods, T 264 cm-97. Preparation of Eood for Chemical Analysis. Atlanta: TAPPI Press.

Analizar el efecto de dos biofertilizantes potenciales derivados de microorganismos sobre la germinación y el crecimiento de plantas de interés comercial

Johanna Valeria Moreno Puente
Universidad Autónoma de Coahuila
Carretera Torreón-Matamoros Km 7.5
Johanna.moreno@uadec.edu.mx

Asesora: Alejandra Hernández Barrera
Instituto Tecnológico Superior de Irapuato
Silao-Irapuato km 12.5 El Copal
alejandra.hernandez@itesi.edu.mx

Resumen —La biofertilización se basa en el aumento de microorganismos del suelo para activar o agilizar los procesos microbianos, aumentando la cantidad de nutrientes asimilables por las plantas. El siguiente trabajo está enfocado a la sustentabilidad ambiental ya que busca el aprovechamiento eficiente y racional de recursos naturales de la región. Se utilizó a *Chlorella Vulgaris* y *Bacillus Subtilis* como organismos promotores de la germinación y el crecimiento de plantas de Jitomate, las cuales mostraron tener gran potencial biotecnológico debido a los resultados positivos obtenidos. En ambos tratamientos las plantas presentaron mayor calidad en raíz, tallo y hojas que el tratamiento control negativo convirtiéndose en una gran alternativa para su uso agrícola.

Palabras clave—Biofertilizante, Germinación, Microalga, Bacterias promotoras del crecimiento vegetal

Abstract —Biofertilization is based on the increase of soil microorganisms to activate or streamline microbial processes, increasing the amount of nutrients that can be assimilated by plants. The following work focuses on environmental sustainability as it seeks the efficient and rational use of the region's natural resources. *Chlorella vulgaris* and *Bacillus subtilis* were used as promoters of the germination and growth of tomato plants, which showed great biotechnological potential due to the positive results obtained. In both treatments the plants presented higher quality in root, stem and leaves than the negative control treatment becoming a great alternative for their agricultural use.

Keywords—biofertilizer, germination, Microalgae, plant growth promoting bacteria.

I. INTRODUCCIÓN

Definimos a los fertilizantes como sustancias orgánicas e inorgánicas que son utilizadas para aportar o incrementar la concentración de nutrientes al suelo, de modo que las plantas puedan asimilarlos y favorezca el crecimiento de las mismas, sin embargo, se ha demostrado que el uso excesivo de fertilizantes químicos conlleva un riesgo elevado a la salud humana y el medio ambiente. Ante esta problemática la búsqueda de microorganismos que mejoren la fertilidad del suelo y la nutrición de las plantas continúa atrayendo la atención debido al incremento de los costos de los fertilizantes y sus impactos negativos en el ambiente (Adesemoye et al., 2009).

Las bacterias promotoras de crecimiento en plantas (BPCP) son un grupo de especies que pueden incrementar el crecimiento y la productividad vegetal, liberan compuestos al suelo y aumenta la disponibilidad de nutrientes para las plantas o pueden influenciar directamente sobre el metabolismo de la planta, su desarrollo radicular y la actividad

enzimática. Además, pueden tener efecto a través de la reducción de poblaciones de microorganismos patógenos o activación de mecanismos de defensa en las plantas (De-Bashan et al., 2007; Desai et al., 2012).

II. MATERIALES Y MÉTODOS

- Semillas de Jitomate Marmade V.R. (*Lycopersicon esculentum*) marca Vita
- Cepa bacteriana *Bacillus Vulgaris*
- Extracto *Chlorella Vulgaris* AAI-1
- Bandejas para germinación
- Pinzas de disección sin dientes
- Algodón
- Aluminio
- Servitoalla
- Agua purificada

Las semillas se sometieron a 8 tratamientos: 1) Control negativo, Agua estéril; 2) Control positivo, Fertilizante; 3) *Chlorella Vulgaris* AAI-1; 4) Medio BBM; 5) *Bacillus Subtilis*; 6) Caldo Nutritivo; 7) *Bacillus Subtilis* y *Chlorella Vulgaris*; 8) Medio BBM y Caldo Nutritivo.

Se realizó un conteo previo de semillas de Jitomate y se separaron en grupos de 35 semillas seleccionadas al azar para cada tratamiento.

Para el extracto del fertilizante se disolvieron 96mg en 40ml de agua estéril.

A. Tratamiento 1: Control negativo/Agua estéril

1. Las semillas se sumergieron durante 5 min en agua estéril.
2. Con ayuda de las pinzas se sacaron del agua y se dejaron secar completamente.
3. Se realizó el acomodo en las bandejas las cuales fueron preparadas con una capa de algodón y Servitoalla húmedas.
4. Se etiquetó la bandeja y se tapó con aluminio.

Se llevó a cabo el procedimiento anterior para el tratamiento 2, 3, 4, y 6 sustituyendo el agua estéril por el medio o extracto que corresponda.

B. Tratamiento 5: *Bacillus Subtilis*

1. Se realizó el acomodo de las semillas en la bandeja preparada del mismo modo que en el tratamiento 1.
2. Sobre cada semilla se depositaron 100µl del inóculo obtenido a partir de placas de Petri con Agar nutritivo.
3. Se etiquetó y tapó la bandeja con aluminio.

C. Tratamiento 7: *Bacillus Subtilis* y *Chlorella Vulgaris*

1. Las semillas fueron colocadas 5 min en el extracto de *Chlorella Vulgaris*.
2. Se retiraron y se dejaron secar.

3. Una vez que las semillas se encontraban secas se depositaron 100µl del inóculo sobre cada semilla.
4. Se realizó el etiquetado y se tapó la bandeja con aluminio.

El tratamiento 8 siguió el mismo procedimiento anterior, pero se reemplazó a *Bacillus Subtilis* por el Caldo Nutritivo y a *Chlorella Vulgaris* por medio BBM.

III. RESULTADOS

A. Germinación de semillas

Tabla 1. Porcentaje de germinación de semillas de Jitomate 8 días después de la siembra (dds).

DÍA	CONTROL NEGATIVO	FERTILIZANTE	CHLORELLA VULGARIS	MEDIO BBM	BACILLUS SUBTILIS	CALDO NUTRITIVO	CHLORELLA Y BACILLUS	MEDIO BBM Y CALDO NUTRITIVO
1	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
2	0%	9.09%	0%	0%	5.71%	0%	0%	0%
3	0%	25.00%	14.29%	11.43%	25.71%	5.71%	17.14%	8.57%
4	8.57%	34.09%	25.71%	20.00%	34.29%	14.29%	25.71%	11.43%
5	22.86%	56.82%	45.71%	31.43%	54.29%	22.86%	45.71%	28.57%
6	45.71%	75.00%	65.71%	45.71%	71.43%	40.00%	68.57%	45.71%
7	51.43%	77.27%	68.57%	54.29%	77.14%	54.29%	71.43%	65.71%
8	65.71%	79.55%	71.43%	65.71%	80.00%	65.71%	74.29%	71.43%

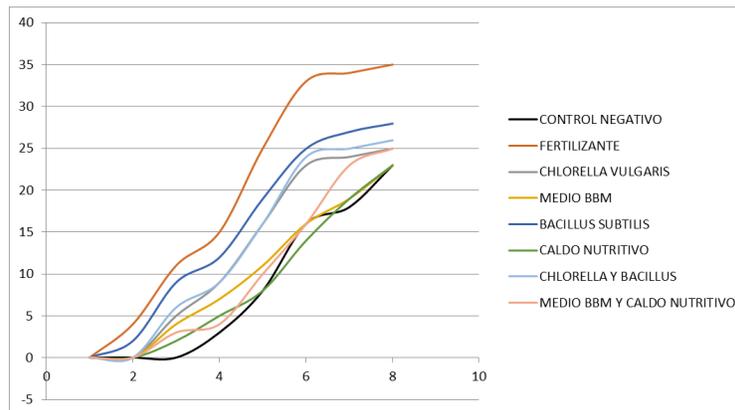


Fig 1. Gráfica resultante de porcentajes de germinación de semillas de Jitomate 8 días dds.



Fig 2. Germinación de semillas de Jitomate de 8 días dds.

B. Crecimiento de Tallo

En la Tabla 2 y Figura 3 se observa que el crecimiento del tallo es mayor utilizando Fertilizante químico, así como en los tratamientos con ambos microorganismos utilizados por separado. En cambio, la combinación de ambos microorganismos no es favorable para el crecimiento del tallo. El uso de los medios de cultivo por separado no promueve el crecimiento del tallo, ya que la longitud del tallo es similar al control negativo. Cuando se utilizan ambos medios de cultivo se observa un incremento en el crecimiento del tallo, pero menor al observado con los microorganismos.

Tabla 2. Altura promedio de tallo de plantas de Jitomate de 8 días dds.

TRATAMIENTO	PROMEDIO ALTURA (mm)
CONTROL NEGATIVO	17.3397
FERTILIZANTE	26.8092
CHLORELLA VULGARIS	24.1249
MEDIO BBM	16.7153
BACILLUS SUBTILLIS	25.3394
CALDO NUTRITIVO	16.6965
CHLORELLA VULGARIS Y BACILLUS SUBTILLIS	17.6525
MEDIO BBM Y CALDO NUTRITIVO	20.7958

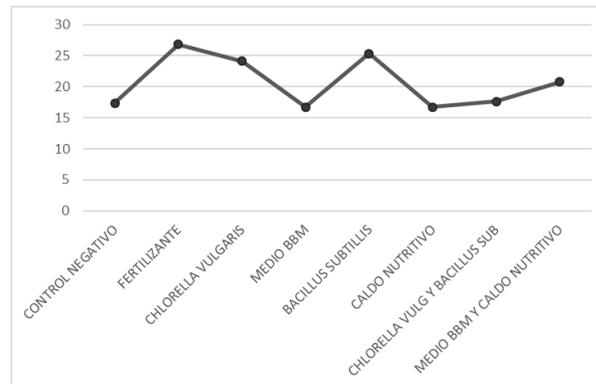


Fig 3. Gráfica resultante del crecimiento promedio de tallos de 8 días d

C. Crecimiento de raíz

Se observó un mayor crecimiento de la raíz utilizando Chlorella vulgaris, así como en combinación con Bacillus subtilis, sin embargo las plantas crecidas sólo con la bacteria tienen un incremento en el tamaño de la raíz aunque en menor medida (Tabla 3 y Figura 4).

Tabla 3. Longitud promedio de raíz de plantas de Jitomate de 8 días dds.

TRATAMIENTO	PROMEDIO LONGITUD (mm)
CONTROL NEGATIVO	51.9418
FERTILIZANTE	54.3602
CHLORELLA VULGARIS	61.0569
MEDIO BBM	56.1244
BACILLUS SUBTILLIS	57.1471
CALDO NUTRITIVO	48.6932
CHLORELLA VULGARIS Y BACILLUS SUBTILLIS	61.0569
MEDIO BBM Y CALDO NUTRITIVO	45.6454

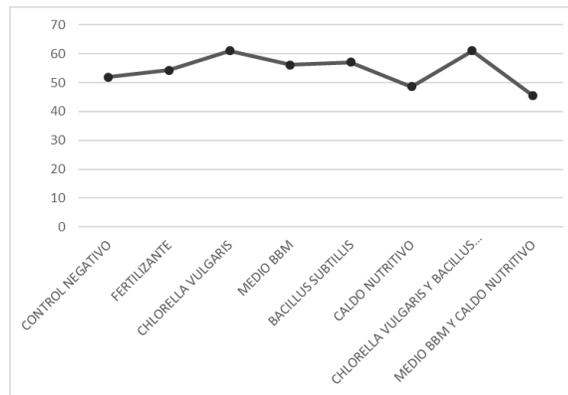


Fig 4. Gráfica resultante del crecimiento promedio de raíz de plantas de Jitomate de 8 días dds.

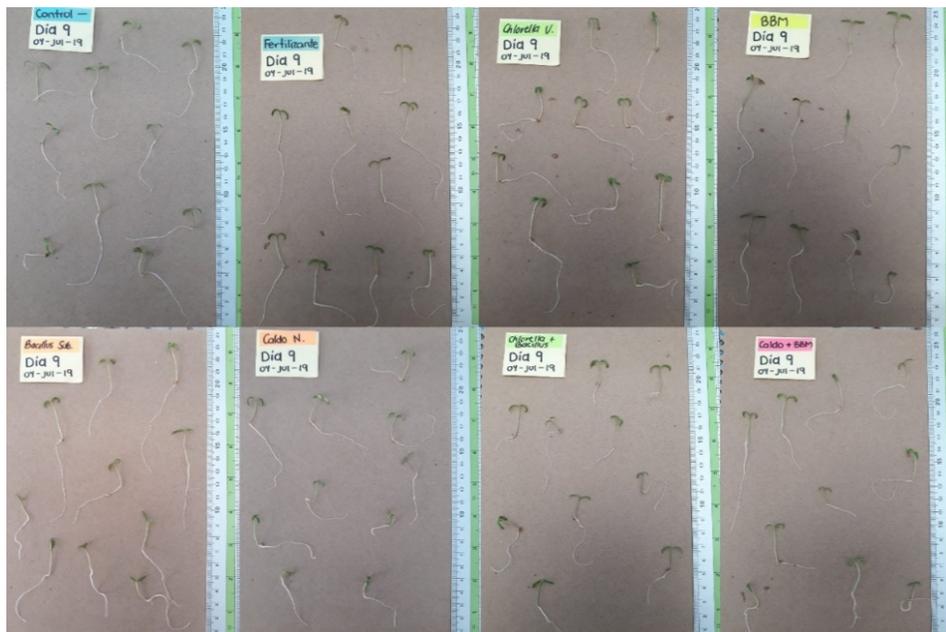


Fig 5. Tallo y raíz de plantas de Jitomate de 8 días dds.

D. Crecimiento de hojas

Los datos de la Tabla 4 y Figura 6 sugieren que el tamaño de las hojas incrementa utilizando fertilizante y ambos microorganismos, en cambio, disminuye al utilizar los microorganismos por separado, así como al utilizar los medios de cultivo juntos o separados.

Tabla 4. Longitud promedio de hojas de plantas de Jitomate de 8 días dds.

TRATAMIENTO	PROMEDIO LONGITUD(mm)
CONTROL NEGATIVO	20.6917
FERTILIZANTE	21.5602
CHLORELLA VULGARIS	20.0809
MEDIO BBM	19.3735
BACILLUS SUBTILLIS	17.921
CALDO NUTRITIVO	16.6139
CHLORELLA VULGARIS Y BACILLUS SUBTILLIS	21.6128
MEDIO BBM Y CALDO NUTRITIVO	18.9895

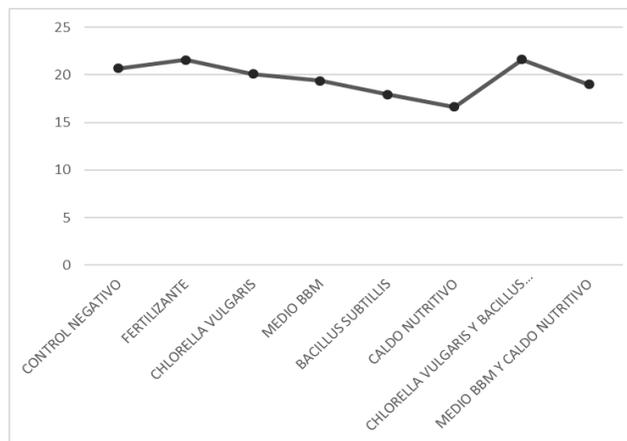


Fig 6. Gráfica resultante de longitud promedio de hojas de plantas de Jitomate de 8 días dds.

IV. CONCLUSIONES

- Los datos preliminares sugieren que la germinación de las semillas incrementó con el tratamiento de *Bacillus Subtilis*.
- El crecimiento del tallo incrementó con el tratamiento *Chlorella Vulgaris*.
- Se promovió el crecimiento de la raíz utilizando *Chlorella Vulgaris* o la combinación de esta microalga con *Bacillus Subtilis*.
- El crecimiento de la hoja incrementó en el tratamiento donde se combinó a *Chlorella Vulgaris* con *Bacillus Subtilis*.

- Los resultados ofrecen la posibilidad de utilizar *Bacillus Subtilis* y *Chlorella Vulgaris* como biofertilizantes promotores de germinación y crecimiento en plantas de Jitomate.

V. RECONOCIMIENTOS

Expreso profundo agradecimiento a mi asesora la Dra. Alejandra Hernández Barrera por la orientación y ayuda que me brindo para realizar este proyecto, a la Dra. Agustina Ramírez Moreno por impulsarme a participar y por supuesto Comité Organizador del 21° Verano de la Ciencia de la Región Centro. A la Universidad Autónoma de Coahuila y al Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, así como a su personal.

REFERENCIAS

- [1] Adesemoye AO, Torbert HA, Kloepper JW "Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Allow Reduced Application Rates of Chemical Fertilizers". Ecological Microbiology 2009.
- [2] De-Bashan Luz E, Gina Holguin, Bernard R Glick, Yoav Bashan: Bacterias promotoras de crecimiento en plantas para propósitos agrícolas y ambientales, Microbiología agrícola: hongos, bacterias, micro y macrofauna, control biológico, plantamicroorganismo. Ed. Trillas. Mexico City, 2007.
- [3] Desai Suseelendra, Minakshi Grover, E Leo Daniel Amalraj, G Praveen Kumar, S K Mir Hassan Ahmed: Exploiting Plant Growth Promoting Rhizomicroorganisms for Enhanced Crop Productivity. Microorganisms in sustainable agriculture and biotechnology. 2012.

Antagonismo de *Bacillus subtilis* frente a microorganismos fitopatógenos

Paloma Torres Lomas

Universidad Autónoma de Zacatecas
Unidad Académica de Ciencias Biológicas
Av. Preparatoria s/n, Col. Agronómica, C.P.
98066. Zacatecas, Zac., Mexico
palomat09@gmail.com

Asesora: Maria Rico Martinez

Instituto Tecnológico Superior de Abasolo
Blvd. Cuitzeo de los Naranjos #401, Col. Cuitzeo
de los Naranjos, C.P 36976, Guanajuato, México.
maria.rico@tecabasolo.edu.mx

Resumen — El control biológico es una estrategia útil para combatir diversos fitopatógenos. El objetivo de esta investigación consistió en evaluar el antagonismo de *Bacillus subtilis* contra dos fitopatógenos: *Pythium* sp y *Fusarium oxysporum*. Las especies mencionadas se aislaron de un cultivo en el Estado de Guanajuato, posteriormente se identificaron con pruebas bioquímicas y claves taxonómicas, finalmente se determinó su actividad antagónica utilizando el crecimiento en placas duales. Los datos se analizaron mediante ANOVA y las medias se compararon con la prueba de Tukey ($p < 0.01$). *Pythium* sp. mostró una reducción del 32% en el diámetro colonial mientras que en *Fusarium oxysporum* fue del 56%. Los resultados obtenidos indican que se cuenta con una cepa promisoría para el desarrollo de nuevos productos contra estos fitopatógenos.

Palabras clave — Aislamiento, *Pythium* sp, *Fusarium oxysporum*.

Abstract — Biological control is a useful strategy to combat various phytopathogens. The objective of this research was to evaluate the antagonism of *Bacillus subtilis* against two phytopathogenic: *Pythium* sp and *Fusarium oxysporum*. The mentioned species were isolated from Guanajuato State crop, later they were identified with biochemical tests and taxonomic keys and finally it was determined their antagonistic activity using the growth in dual plates. Data were analyzed using ANOVA and the means were compared with the Tukey test ($p < 0.01$). *Pythium* sp. showed a 32% reduction in colonial diameter while in *Fusarium oxysporum* it was 56%. The results obtained indicate that there is a promising strain for the development of new products against these phytopathogens.

Keywords — Isolation, *Pythium* sp, *Fusarium oxysporum*.

I. INTRODUCCIÓN

El control biológico de enfermedades utilizando microorganismos ha sido un área de investigación muy activa en los últimos años. El control biológico, en un sentido amplio se puede definir como la reducción del agente patógeno causante de la enfermedad por la acción de organismos (o de sus metabolitos) [1], estos últimos son denominados agentes de control biológico, entre los microorganismos más importantes capaces de antagonizar con los patógenos, se encuentran las bacterias de los géneros *Pseudomonas* y *Bacillus* y hongos de los géneros *Gliocladium* y *Trichoderma* [2].

Se han descrito varios mecanismos de acción de los antagonistas para controlar el desarrollo de patógenos. Algunos de estos son antibiosis, competencia por espacio o por nutrientes, producción de enzimas líticas, parasitismo e inducción de resistencia [2]. Cabe destacar que en general más de un mecanismo puede estar implicado en el efecto de biocontrol [3].

Las bacterias del género *Bacillus* presentan un gran potencial como antagonistas, principalmente por la gran cantidad de enzimas líticas, antibióticos y otras sustancias con

actividad biocida, que son capaces de producir efectos de control sobre varias especies de organismos fitopatógenos [4]. Por ejemplo, se ha reportado que las cepas de *B. subtilis* subsp *subtilis* pueden sintetizar la surfactina lipopéptida con efecto anti-*Listeria* o surfactina más una nueva bacteriocina con propiedades antibacterianas [5].

El género *Pythium* consta de aproximadamente 120 especies que ocupan diversos hábitats que van desde ecosistemas terrestres hasta estuarios de agua salada. Muchas especies son patógenos de plantas, mientras que otras son estrictamente saprófitas del suelo o parásitos de insectos, mamíferos, algas o peces [6]. Las enfermedades causadas por *Pythium* se presentan en muchas especies de plantas, las especies de este género son los patógenos más importantes en la infección de semillas o plántulas antes de la emergencia del suelo, lo que resulta en la amortiguación de preemergencia, infecta la raíz y el hipocotilo de plántulas después de la emergencia, también infecta raíces de plantas maduras, típicamente causando lesiones necróticas en las puntas de la raíz [7]. Los cultivos de alfalfa, zanahoria, remolacha, chile y tomate son afectados por algún patógeno de *Pythium* [6].

Fusarium oxysporum es un hongo que se presenta principalmente como saprófito en el suelo, o también como patógeno especializado, denominado *forma especial (f.sp)*, según la planta hospedante u hospedantes relacionados que afecte. Las hifas del hongo penetran directamente en la epidermis de las raíces, pasan directamente a la corteza y entran a los vasos del xilema lo que determina la aparición de síntomas de marchitez de hoja, un amarillamiento parcial de la hoja y eventualmente necrosis y muerte total de la planta [8].

II. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Aislamiento y caracterización de *Pythium sp.*, *Bacillus subtilis*, *Fusarium oxysporum*

El aislamiento de *Pythium sp.* se llevó a cabo por medio de la suspensión aséptica de 1 g de muestra de suelo contaminado, en 9 mL de agua destilada estéril, con agitación vigorosa en vortex por 60 s (Solución madre). A partir de la solución madre, se tomó 0.1 mL que se inoculó y esparció con espátula de Drigalsky en placas Petri con medios Agar Papa Dextrosa (PDA) y fueron incubadas a 28° durante 24 horas. Transcurrido el tiempo de incubación las placas fueron observadas al contador de colonias con lupa de aumento y se seleccionaron colonias según su forma, tamaño, bordes, elevación, color y textura. Las colonias correspondientes a hongos filamentosos fueron llevadas a placas con medio PDA [4]. Se realizó una observación microscópica de esporas a 40x utilizando la técnica de impresión con cinta adhesiva transparente.

Para los cultivos de *Bacillus subtilis* se activaron cepas conservadas a -4°C provenientes de investigaciones previas con maíz [9]. Se inoculó la cepa en medio AN y se incubó a 35°C durante 24 horas.

En el caso de *Fusarium oxysporum* se activaron cepas conservadas a -4°C donadas por el Dr. Félix Gutiérrez Corona, del laboratorio de genética y bioquímica de hongos y bacterias de la Universidad de Guanajuato. Se inoculó la cepa en medio PDA y se incubó a 28°C durante 96 horas.

B. Pruebas de antagonismo

Se desarrollaron pruebas de antagonismo usando la metodología de cultivo dual. Se empleó medio agar PDA para evaluar *B. subtilis* frente a *F. oxysporum* y a *Pythium* sp. Se utilizaron dos metodologías en la primera se hicieron dos líneas paralelas con el inóculo bacteriano (fig. 1A), cada una a 1 cm de distancia del borde de la placa Petri, seguidamente, se colocó un explante del hongo fitopatógeno en el centro de la placa [4]. En la segunda las bacterias se rayan en toda la placa y los hongos se colocan en un disco de 1 cm de diámetro en el centro de ella (fig. 1B) [10] y ambas se incubaron a 28°C.

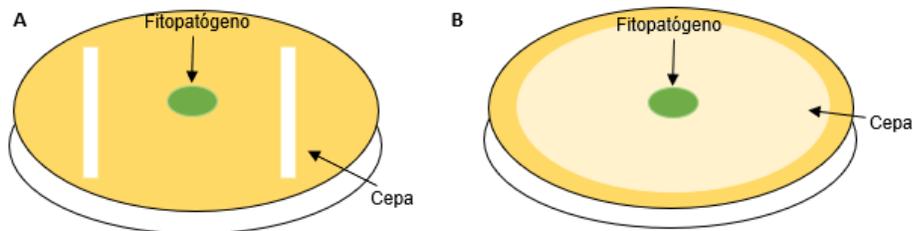


Fig 1. Cultivo dual. **A)** Cultivo con fitopatógeno en el centro doble estría. **B)** Cultivo con fitopatógeno en el centro y cepa esparcida en toda la caja.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. Identificación de aislamientos

Se determinó que los aislamientos corresponden a *Pythium* sp. tanto por la morfología de las colonias como por los resultados de las pruebas de identificación del género, la identificación la llevó a cabo el Ing. Luis Alfredo Sánchez Fuentes.

B. Análisis estadístico de pruebas de antagonismo

Los tratamientos se muestran a continuación:

C-F: control de *Fusarium oxysporum*. (fig. 2 D).

CP: control *Phytium* sp. (fig. 2 A).

F-B-1: muestra de *Fusarium oxysporum* en centro de la caja y *Bacillus subtilis* esparcida en toda la caja. (fig. 2 E).

F-B-2: muestra de *Fusarium oxysporum* en centro de la caja y doble estría de *Bacillus subtilis*. (fig. 2 F).

P-B-1: muestra de *Phytium* sp. en el centro de la caja y *Bacillus subtilis* esparcida en toda la caja. (fig. 2 B).

P-B-2: muestra de *Phytium* sp. en el centro de la caja y doble estría de *Bacillus subtilis*. (fig. 2 C).

Se realizó un análisis de varianza de una sola vía, con una diferencia significativa honesta de Tukey $p < 0.01$, por lo que se acepta la hipótesis de investigación que indica que al menos un tratamiento es diferente. Tabla 1.

Los promedios y las desviaciones estándar se muestran en la Tabla 2

En la Tabla 3, los tratamientos que comparten la (s) misma (s) letras, indican que no hay diferencias significativas, aquellos tratamientos que no comparten la misma (s) letra (s) indican que existen diferencias significativas

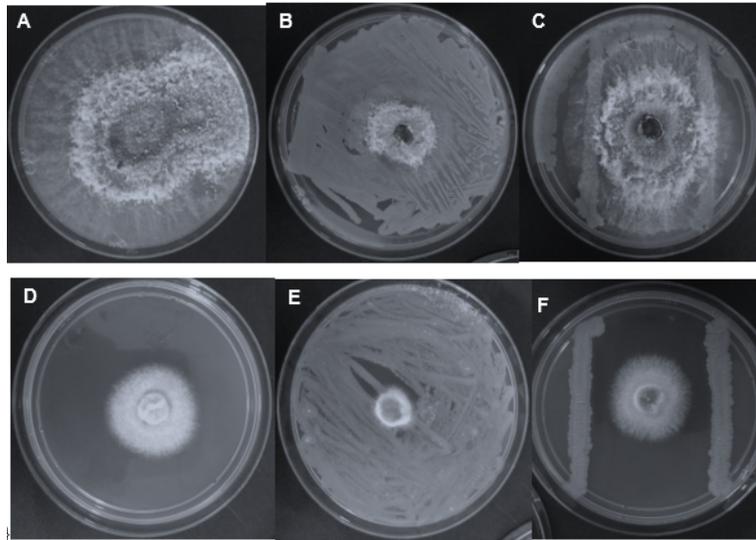


Fig 2. Pruebas de antagonismo. **A)** Control *Pythium* sp. (72 hrs.) **B)** *Phytium* sp. en el centro de la caja y *Bacillus subtilis* esparcida en toda la caja. (72 hrs.) **C)** *Phytium* sp. en el centro de la caja y doble estría de *Bacillus subtilis*. (72 hrs.) **D)** Control de *Fusarium oxysporum*. (72 hrs.) **E)** *Fusarium oxysporum* en centro de la caja y *Bacillus subtilis* esparcida en toda la caja. (72 hrs.) **F)** *Fusarium oxysporum* en centro de la caja y doble estría de *Bacillus subtilis*. (72 hrs.)

Tabla 1. ANOVA de una sola vía.

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Tratamiento	5	143.946	28.789	51.48	0.000
Error	23	12.863	0.559		
Total	28	156.808			

Tabla 2. Media y Desviación estándar de los tratamientos.

Nivel	N	Media	Desv. Est.
CF	2	5.6500	0.7778
CP	2	8.5000	0.0000
F-B-1	6	2.4500	0.2168
F-B-2	6	3.8833	0.4262
P-B-1	7	5.7714	1.3610
P-B-2	6	8.5000	0.0000

Tabla 3. ANOVA de una sola vía con análisis post-hoc: Tukey, $P < 0.01$

Tratamiento	N	Media	Agrupación		
P-B-2	6	8.5000	A		
CP	2	8.5000	A		
P-B-1	7	5.7714		B	
CF	2	5.6500		B	C
F-B-2	6	3.8833			C
F-B-1	6	2.4500			D

Se observa que hubo una disminución del 32 % en el diámetro de *Phytium* sp. cuando se coloca en una caja Petri inoculada con *Bacillus subtilis* en toda la superficie, es decir, el diámetro disminuye de 8.5 cm en el control hasta 5.77 cm en contacto con *B. subtilis*.

Mientras que *Fusarium oxysporum* muestra una disminución de diámetro del 56 % cuando es colocado en una caja Petri inoculada con *Bacillus subtilis* en toda la superficie, es decir, el diámetro disminuye de 5.65 cm en el control hasta 2.45 en contacto con *B. subtilis*.

No hubo diferencia significativa entre el diámetro de *Phytium* sp. como control con *Phytium* sp. en contacto con *Bacillus subtilis* en doble estría. Tampoco se obtuvo diferencia significativa con el diámetro de *F. oxysporum* como control con el *F. oxysporum* en contacto con *B. subtilis* en doble estría.

Por los resultados obtenidos, la cepa de *Bacillus subtilis* evaluada resultan promisorias para el control de *Pythium* sp. y *Fusarium oxysporum*, Sarti y Miyazaki [11] reportan la presencia en *B. subtilis* de metabolitos con actividad antifúngica activos hasta las 120 h con un pico de actividad a las 96 h. Se ha reportado la producción de sustancias promotoras del crecimiento por parte de *B. subtilis* para *F. oxysporum*. [12] cuando se aplica al suelo o a en las semillas.

IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La cepa de *Bacillus subtilis* provoca la mayor disminución del micelio de *Fusarium oxysporum* para un 56% de inhibición.

Bacillus subtilis inhibe el crecimiento micelial de *Pythium* sp. en un 32 %.

Se recomienda continuar el estudio de esta cepa con el objetivo de identificar los metabolitos involucrados en la actividad antifúngica.

V. RECONOCIMIENTOS

Agradezco a la Universidad Autónoma de Zacatecas junto al Comité Organizador del Verano de la Ciencia Región Centro por el apoyo económico y el espacio de intercambio entre Instituciones, y al Instituto Tecnológico Superior de Abasolo por las facilidades para la realización de la estancia de verano.

REFERENCIAS

- [1] V. del Rocío, "Potencial de la cepa CPA-8 de *Bacillus subtilis* como agente de biocontrol de enfermedades de postcosecha de fruta", Doctoral dissertation, Universitat de Lleida, Lérida, España 2012.
- [2] V.O. Fernández-Larrea, "Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. Avances en el fomento de productos fitosanitarios no sintéticos" *Manejo Integrado de Plagas*, vol. 62, pp. 96-100. 2001.
- [3] W.J. Janisiewicz and L. Korsten, "Biological control of postharvest diseases of fruits." *Annual Review of Phytopathology* vol. 40, pp. 411-441. 2002.
- [4] J. M. Méndez-Úbeda, M. F. Hernández, and L. A. Páramo-Aguilera, "Aislamiento e identificación de *Bacillus Subtilis* y evaluación del antagonismo in vitro frente hongos fitopatógenos." *Nexo Revista Científica*, vol. 30, no. 2, pp. 96-110. 2017.
- [5] M. J. Torres, G. Petroselli, M. Daz, R. Erra-Balsells and M. C. Audisio, "*Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* CBMDC3f with antimicrobial activity against Gram-positive foodborne pathogenic bacteria: UV-MALDI-TOF MS analysis of its bioactive compounds." *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 31, no. 6, pp. 929-940. 2015.
- [6] F. N. Martin and J. E. Loper, "Soilborne plant diseases caused by *Pythium* spp.: ecology, epidemiology, and prospects for biological control". *Critical reviews in plant sciences*, vol.18, no. 2, pp. 111-181. 1999.
- [7] F. F. Hendrix and W. A. Campbell, "Pythiums as plant pathogens." *Annu. Rev. Phytopathol.* Vol. 11, pp. 77-98. 1973.
- [8] E. Garcés de Granada, M. Orozco de Amézquita, G. R. Bautista and H. Valencia, "Fusarium oxysporum: El hongo que nos falta conocer." *Acta Biol. Colomb.* pp. 7-21. 2001.
- [9] J.J. Aguirre, "Identificación de Microorganismos Endófitos y Patógenos en Granos de Maíz (*Zea mays L.*)" Tesis de Licenciatura, Instituto Tecnológico Superior de Abasolo, Abasolo, Guanajuato, 2017.
- [10] K. Astorga-Quirós, K. Meneses-Montero, C. Zúñiga-Vega, J.A. Brenes-Madriz, and W. Rivera-Méndez, "Evaluación del antagonismo de *Trichoderma* sp. y *Bacillus subtilis* contra tres patógenos del ajo." *Revista Tecnología en Marcha*, vol. 27, no. 2, p. 82. 2014
- [11] G. C. Sarti, and S. S. Miyazaki, "Actividad antifúngica de extractos crudos de *Bacillus subtilis* contra fitopatógenos de soja (*Glycine max*) y efecto de su coinoculación con *Bradyrhizobium japonicum*." *Agrociencia*, vol. 47 no. 4, pp. 373-383. 2013
- [12] P. Villa, I. Alfonso, M.J. Rivero, and G. González, "Evaluación de cepas de *Bacillus subtilis* bioantagonistas de hongos fitopatógenos del género *Fusarium*." *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, vol. 41, no. 1, pp. 52-56. 2007

Aprovechamiento de residuos alimenticios vegetales para la creación de fertilizantes orgánicos

Michelle Aylín Guerrero Ángeles
Fernando Omar Mendieta González
Universidad Autónoma de Querétaro
Centro Universitario, Cerro de las Campanas s/n
C.P. 76010. Santiago de Querétaro, Qro.
michellegroang@gmail.com
omar-mendieta@hotmail.com

Asesora: Irma Cecilia Ortiz Chávez
Instituto Tecnológico Superior de Irapuato
Carretera Irapuato - Silao km 12.5 Colonia El
Copal. Irapuato, Gto.
ceortiz@itesi.edu.mx

Resumen — En el presente estudio se propone la metodología para la elaboración de un fertilizante orgánico que atienda las principales necesidades nutrimentales del cultivo de fresa y suelo, ofreciendo acción contra plagas. Para ello, se hizo el análisis bibliográfico de las empresas manufactureras de la región de Irapuato, Guanajuato, encargadas del procesamiento de frutas y hortalizas destinadas para el consumo humano con la finalidad de identificar los principales subproductos generados durante el proceso. Además, se hizo una investigación de costos en comparación a otros fertilizantes orgánicos empleados para el cultivo de fresa y se determinó la cantidad de nutrientes obtenidos a partir de los subproductos generados, encontrándose que todos los subproductos propuestos son funcionales para la elaboración del fertilizante.

Palabras clave — Fertilizante orgánico, subproductos, fresa, plagas, nutrición.

Abstract — This study proposes the methodology for the elaboration of an organic fertilizer that meets the main nutritional needs of strawberry and soil crops, offering action against pests. To this end, a bibliographic analysis of manufacturing companies in the region of Irapuato, Guanajuato, was carried out, in charge of the processing of fruits and vegetables destined for human consumption with the purpose of identifying the main byproducts generated during the process. In addition, a cost investigation was made in comparison to other organic fertilizers used for strawberry cultivation and the amount of nutrients obtained from the byproducts generated was determined, finding that all the proposed byproducts are functional for the fertilizer elaboration.

Keywords — Organic fertilizer, by-products, strawberry, pests, nutrition.

I. INTRODUCCIÓN

La región del bajío es una de las principales productoras de frutas y hortalizas en el país. En 2017, el estado Guanajuato ocupó el tercer lugar en la producción de fresa, contribuyendo con 8.8% de la producción nacional, el municipio de Irapuato, una de las principales regiones productoras del estado con una producción de 33,108.72 ton, superior a otros vegetales, que significó más de 340 millones de pesos. (SIAP, 2019).

En el municipio una de las principales limitantes para obtener mayores rendimientos de fresa es la presencia de plagas. El cultivo de fresa es atacado por varios artrópodos como la araña roja, chinche lygus y trips, que si no son controladas oportunamente reducen el rendimiento y calidad de la fruta, lo que ocasiona anualmente pérdidas a los productores del Bajío. Esta situación ha generado la necesidad de un agente químico, con la limitante de que esta táctica de manejo debe hacerse de forma consciente con los productos

recomendados y registrados para fresa que pretende comercializarse en el mercado nacional y de exportación (Bujanos y Jarillo, 2005).

Sin embargo, pese a dichas legislaciones y control, se ha reportado la generación de resistencia a estos métodos de contención complicando el control efectivo de las plagas y aumentando los costos en la producción (Díaz et al., 2017). Es por ello, que en el presente estudio se pretende identificar los principales residuos generados durante la cadena de procesamiento y a partir de ellos proponer un fertilizante orgánico que atienda las principales necesidades nutrimentales del cultivo de fresa en Irapuato y ofrezca un control contra plagas.

II. MARCO TEÓRICO

En México, entre las industrias más representativas de la región productora del bajo, se encuentran las destinadas a la conservación de frutas y hortalizas. Específicamente, en el estado de Guanajuato están registradas más de 40 empresas nacionales e internacionales que trabajan con materiales vegetales, entre las que destacan: B&G Foods Inc., Conagra Food, Cristalita, Congeladora El Niño, Empacadora del Bosque, Fresas Irapuato, General Mills, Gigante Verde, Mex Fruit, Mar Bran (León et al., 2014; DENUE, 2019).

Estas industrias generan diferentes tipos de subproductos agroalimentarios como pulpas, bagazos, fibras, aceites, cáscaras, semillas, hojas, y entre un 1-45% de producto durante el proceso de selección previo a que la fruta u hortaliza entre a la etapa de procesamiento. Dichos residuos, son destinados principalmente al sector ganadero, que puede ser suministrado fresco (mezcla con forraje) o bien ensilado (fermentado) (Porat et al., 2018).

Los productores, principalmente aquellos que se dedican al cultivo a campo abierto, han enfrentado problemáticas como plagas o degradación de los suelos de cultivo, lo que ha conducido a pérdidas de rendimiento de producción y calidad en los mismos. En el municipio de Irapuato se ha identificado suelo arcilloso (65.4%) (INEGI, 2009). De acuerdo a la FAO, se recomienda para el mejoramiento de suelos arcillosos añadir materia orgánica y compostas.

El fundamento que se sigue en la elaboración de fertilizantes orgánicos, es el del compostaje. La FAO define como compostaje a la mezcla de materia orgánica en descomposición que se emplea para mejorar la estructura del suelo y proporcionar nutrientes. En la Tabla 1, se muestran los nutrientes básicos absorbidos del suelo y necesarios para el desarrollo de la planta de fresa.

Tabla 1. Requerimiento nutricional de la fresa cultivada en suelo (Ciampitti y García, 2007)

Volumen producido en Irapuato (ton)	Rendimiento en Irapuato (ton/ha)	N (kg/ha)	Fósforo P ₂ O ₅ (kg/ha)	Potasio K ₂ O (kg/ha)	Ca (kg/ha)	Mg (kg/ha)	S (kg/ha)
33,108.7	71.89	129-160; 2.70- 10.20 kg/ton	57-87; 2.5-4.18 kg/ton	179-252; 4.16- 12.17 kg/ton	143- 179	57-72	28-44

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Se empleó durante la estancia equipo de cómputo facilitado por el ITESI con el cual se hicieron investigaciones bibliográficas sobre datos proporcionados por el gobierno mexicano a través de la SAGARPA, para recopilar información sobre los fertilizantes orgánicos disponibles en el mercado se navegó en sus páginas oficiales y en páginas de ventas de estos productos. Partiendo de la información obtenida se obtuvieron los datos científicos sobre los residuos y sus propiedades con los buscadores de Google Académico y ScienceDirect. La metodología propuesta para la creación industrial del producto fue una adaptación del trabajo realizado por de la Cruz y sus colaboradores en 2006.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 2 se muestran los informes confirmados del gobierno en cuanto a la producción agrícola en el municipio de Irapuato durante el año 2017. En este informe se destaca que el mayor volumen de producción y áreas destinadas para cultivo en la región está destinada a cereales como lo es el maíz y sorgo. Sin embargo, el precio final por tonelada de producto es superior para frutas y hortalizas. Lo anterior se debe a que el rendimiento del cultivo para éstos se ve incrementado debido a que se trata de productos con un mayor contenido de humedad, dando un mayor volumen de producto en comparación a los cereales.

En Irapuato, el vegetal que mayores ganancias genera por tonelada es el cultivo de espárrago y aunque su rendimiento es del 10.20%, es un producto bien evaluado en el municipio de Irapuato cuyo precio de venta es por arriba del promedio de otros vegetales. Mientras que para el caso de las frutas es la fresa, la cual además de generar ganancias tiene uno de los rendimientos más altos (71.98%) siendo el cultivo más rentable de la región.

Una de la característica de las industrias manufactureras encargadas del procesamiento de frutas y hortalizas es la generación de residuos. Por ello, en la tabla 3 se enlistan los principales subproductos con potencial a ser usados para la elaboración de un fertilizante orgánico. Nótese que durante la producción se genera mayor cantidad de residuos del brócoli. Lo anterior más del 70% del vegetal son las hojas, tallo y raíz. Cabe resaltar que de manera global de un 100% de producción el 48% (34,089.32 ton) se pierde durante la producción de frutas y hortalizas.

Tabla 2. Producción agrícola de Irapuato en 2017 (SIAP, 2019)

Producto	Volumen de la producción (ton)	Hectáreas destinadas	Valor de la producción (\$)	Precio (\$/ton)	Rendimiento (ton/ha)
Sorgo	99,052.20	15,602.0	350,763,687.14	3,484.26	5.79
Maíz	94,559.94	16,091.0	329,362,578.50	3,468.25	5.87
Fresa	33,108.72	460.0	340,862,644.55	10,295.25	71.98
Brócoli	16,071.90	987.0	79,859,017.12	4,919.32	17.20
Espárrago	8,170.20	801.0	281,451,624.91	34,448.56	10.20
Jitomate	1,875.50	26.5	14,042,462.50	7,533.82	101.89

Se considera que todos los residuos enlistados en la tabla 3 son viables para la elaboración del fertilizante y cumplir con los requerimientos mínimos nutrimentales de fresa (tabla 1), pues en un estudio realizado por Matiz et al. (2005) se comparó el efecto de la aplicación de diferentes fertilizantes orgánicos contra fertilizantes químicos, encontrándose que los abonos orgánicos, en especial los residuos vegetales secos y molidos (cáscaras: papa, yuca, plátano, zanahoria, tomate, arveja, habichuela, naranja, maracuyá, aguacate, cebolla), en comparación con los abonos químicos (urea, fosfato monopotásico y sulfato de potasio), tienen mayores efectos en el desarrollo y crecimiento de la planta aromática toronjil (*Melissa officinalis*).

Chojnacka et al. (2019) en un estudio comparativo de la concentración de nutrientes obtenidos en subproductos de la industria de alimentos, indicaron que el porcentaje mínimo de recuperación de nutrientes es de 0.3-0.01-0.05% de N-P-K y un máximo de 4-1-7% y cuyo costo estimado de elaboración es de 35-125 euro/Mg (0.80-2.73 pesos/kg). Lo anterior representa un reto para la elaboración del fertilizante. Sin embargo, el resto de los fertilizantes orgánicos mostrados en la tabla 4 son de forma específica para fresa, encontrándose que el mínimo costo por nutriente es de 0.50 centavos y máximo \$261.84.

Tabla 3. Cantidad de nutrientes extraídos expresado en kg de nutriente por tonelada de órgano cosechable. (Ciampitti y García, 2007; Kitinoja y Kader, 2015)

Cultivo	Producción total (ton) y % rCDP**	N kg/ton	K y K ₂ O kg/ ton	P y P ₂ O ₅ kg/ton	Ca kg/ ton	Mg kg/ ton	S kg/ ton
Apio	4,145.1 42-58%	0.3	0.4 0.5	0.1 0.2	0.1	0.1	*
Brócoli	16,071.9 70%	2.1	1.6 2.0	0.6 1.36	*	*	*
Espárrago	8,170.2 11-26%	9.6	8.5 10.2	1.6 3.6	*	*	*
Fresa	33,108.7 10-22%	2.9	3.2 3.8	0.5 1.1	*	*	*
Lechuga	4,296.5 48-61%	1.5	3.5 4.2	0.3 0.7	0.5	*	*
Jitomate	1,875.5 10-21%	1.9	3.1 3.7	0.2 0.5	0.1	0.1	0.1

Factores de conversión: P₂O₅ a P, **0.44**; K₂O a K, **0.83**.

*No especificado; **rCDP: Residuos durante la cadena de producción

Tabla 4. Comparación de la composición y costo por nutriente de fertilizantes orgánicos comerciales usados para fresas.

Producto	Modo de aplicación	Costo/kg	Proporción de nutrientes	Costo por Kg de nutriente		
				N	P	K
Compo	Polvo	\$390.64	NPK 9%-5%-13%	\$35.16	\$19.53	\$50.78
Organodel	Polvo	\$6.17	NPK 3.9%-3.7%-2.9%	\$0.24	\$0.23	\$0.18
Nova Tec	Granulado	\$32.40	12%-8%-16%	\$3.89	\$2.59	\$5.18
Flortis eco	Pellets	\$185.60	NPK 5%-8%-15%	\$9.28	\$14.85	\$27.84
Agzocol	Polvo	\$872.80	NPK 6%-12%-30%	\$52.37	\$104.74	\$261.84

Para la elaboración del fertilizante orgánico se propuso una adaptación a la metodología de la Cruz et al. (2006), en la cual se indica una metodología básica para la elaboración del fertilizante orgánico. En la adaptación (Figura 1) se especifica la necesidad de agregar los pasos de análisis nutricional de los residuos y el análisis del suelo de cultivo, para de esa forma establecer el balance de materia respecto a los nutrientes necesarios para la planta y los nutrientes disponibles de la recolección.



Fig. 1. Diagrama de proceso diseñado para la producción de fertilizante a partir de residuos de alimentos (Adaptado de de la Cruz et al., 2006)

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Con esta investigación se abre la puerta para la experimentación para la elaboración de un fertilizante orgánico pues es posible utilizar los desechos agroindustriales mencionados, principalmente de fresa, brócoli y espárrago para generar un abono con la metodología propuesta que pueda usarse en el suelo de los plantíos de fresa, que sea competente con otros fertilizantes orgánicos como Organodel® en cuanto a precio y en calidad comparado con los de mayor precio.

VII. AGRADECIMIENTOS

Expreso mi agradecimiento a la Universidad Autónoma de Querétaro, al Instituto Tecnológico Superior de Irapuato y al CONACYT por las facilidades y el apoyo otorgado. De igual manera a la maestra Irma Cecilia Ortiz Chávez por sus enseñanzas y apoyo.

REFERENCIAS

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2019). Consultado 19-06-2019 en <http://www.siap.sagarpa.gob.mx/>

- Bujanos, R., Jarillo, A. (2005). Cuadro básico de recomendación de insecticidas para el manejo de artrópodos plaga del cultivo de la fresa en la región del Bajío, México. *Memorias de Investigación*. 1: 19-24.
- Díaz, L., Dávalos, P., Jofre, A., Martínez, T. (2017). Fresa, deficiencias y síntomas nutricionales-Una guía para fertilizar. Primera edición. SAGARPA, Celaya, Gto., Folleto técnico 36: 1-6.
- León, L., Guzmán-Ortiz, D. García, J., Chávez, C. & Peña-Cabriales, J. (2014). Consideraciones para mejorar la competitividad de la región “El Bajío” en la producción nacional de fresa. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, vol. 5, núm. 4, 673-686.
- Directorio Estadístico Nacional de Unidades Económicas (DENUE). (2019). Consultado 18-06-2019 en <https://www.inegi.org.mx/app/mapa/denue/>
- Porat, R., Litcher, A., Terry, A., Harker, R., Buzby, J. (2018). Postharvest losses of fruit and vegetables during retail and in consumers' homes: Quantifications, causes, and means of prevention. *Postharvest Biology and Technology*, 139: 135-149.
- INEGI. (2009). Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos; Irapuato, Guanajuato. Consultado: 02-07-19. Disponible en: http://www3.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/11/11017.pdf.
- FAO. (2000). Mejorando la nutrición a través de huertos y granjas familiares, Manual de capacitación para trabajadores de campo de América Latina y el Caribe. Roma. Consultado: 02-07-19. Disponible en: <http://www.fao.org/3/v5290s/v5290s00.htm#TopOfPage>.
- Ciampitti, I., & Garcia, F. (2007). Requerimientos nutricionales. Absorción y extracción de macronutrientes y nutrientes secundario. *Archivo Agronómico* N° 11. En: *Informaciones Agronómicas* N° 33.
- De la Cruz, N., Aganon, C., Patricio, M., Romero, E., Lindain, A. y Galindez, J. (2006). Production of organic fertilizer from solid waste and its utilization in intensive organic based vegetable production and for sustaining soil health and productivity. *Center for Agricultural Resources and Environment Studies*. 1-12.
- Kitinoja, L., & Kader, A. (2015). Measuring postharvest losses of fresh fruits and vegetables in developing countries. *PEF White Paper* 15-02. The Postharvest Education Foundation, 5-12.
- Matiz, D. J. P., Villamil, E. O., & Torres, L. F. C. (2005). Comparación de la eficiencia de los abonos orgánicos con respecto a los abonos químicos en fertilización en el cultivo de toronjil (*Melissa officinalis*). *Tecnogestión: Una Mirada Al Ambiente*, 2(1).
- Chojnacka, K., Gorazda, K., Witek-Krowiak, A., & Moustakas, K. (2019). Recovery of fertilizer nutrients from materials - Contradictions, mistakes and future trends. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 110, 485–498.

Caracterización de comunidades microbianas del fruto de manzano y su empleo como agentes de control biológico

Evelyn Crystel Bárcenas Orozco
 Universidad de Guanajuato
 División de Ciencias Naturales y Exactas
 Noria Alta S/N, Noria Alta
 C. P. 36050 Guanajuato, Gto.
evelyn.cbo@gmail.com

Asesor: Juan Ramiro Pacheco Aguilar
 Universidad Autónoma de Querétaro
 Facultad de Química
 Cerro de las Campanas S/N, Centro Universitario
 C.P. 76010 Santiago de Querétaro, Qro.
juanramiro29@yahoo.com.mx

Resumen — En el presente trabajo se caracterizaron cepas de bacterias y de levaduras, presentes en el fruto maduro del manzano, por su posible actividad como agentes de control biológico (ACB) contra el hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea*. Se realizaron ensayos experimentales in vitro con las cepas aisladas contra tres cepas diferentes de *B. cinerea* para evaluar el potencial antagonístico, cuantificándolo como el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR). Los experimentos arrojaron resultados de hasta 75.14% en la inhibición del crecimiento, siendo las cepas bacterianas identificadas como FR1B3, FR4B4, FR4B5 y FR5B7 las más eficaces para reprimir el crecimiento in vitro de *B. cinerea*, situándolas como promisorios agentes de control biológico.

Palabras clave — Antagonismo, biocontrol, *Botrytis cinerea*, manzana.

Abstract — In the present work, were characterized strains of bacteria and yeasts, presents on the ripe apple fruit, for its possible activity as biological control agents (ACB) against the phytopatogenic fungus *Botrytis cinerea*. Experimental tests were performed in vitro with the isolated strains against three different strains of *B. cinerea* to evaluate, the antagonistic potential, quantifying it as the percentage of radial growth inhibition (PICR). The experiments yielded results of up to 75.14% in growth inhibition, with the bacterial strains identified as FR1B3, FR4B4, FR4B5 and FR5B7 being the most effective in suppressing in vitro growth of *B. cinerea*, placing them as promising biological control agents.

Keywords — Antagonism, biocontrol, *Botrytis cinerea*, apple fruit.

I. INTRODUCCIÓN

La agricultura ha sido una de las actividades más importantes para la humanidad desde el principio de la civilización. Actualmente en México representa el 3,3% del PIB [1], desempeñando un papel valioso en la economía del país. Una de las principales afectaciones en los cultivos se debe al impacto de plagas y enfermedades causadas por diferentes agentes biológicos. Para combatir estos daños se ha aplicado el uso indiscriminado de plaguicidas químicos que por una parte han controlado el problema inicial, sin embargo, muchos de ellos han resultado perjudiciales para la salud y el medio ambiente. [2]

Una de las alternativas prometedoras para la problemática causada por los pesticidas químicos, es el uso de microorganismos como agentes de control biológico. Este se basa principalmente en mecanismos del antagonismo microbiano en el que una especie de organismo tiene un efecto negativo, ya sea la inhibición, disminución o eliminación, sobre otra especie [3]. En la naturaleza, suele existir un equilibrio apoyado por la constante interacción entre organismos, conocido como control natural, de esa misma manera ocurre

en las superficies de las plantas donde bajo condiciones naturales podemos encontrar patógenos potenciales y sus antagonistas. [4] Bajo estos conocimientos, múltiples investigadores se han enfocado en identificar estos posibles agentes antagonistas, conocer sus mecanismos de acción y poder aplicarlos en el control de fitopatógenos de importancia económica.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Las cepas utilizadas fueron aisladas de la superficie de frutos de manzano, provenientes de un cultivo en la región de Amealco de Bonfil, en el estado de Querétaro, México.

Se analizaron un total de 13 cepas, de las cuales 8 de ellas eran levaduras, y 5 bacterianas. A cada cepa aislada se le dio un código alfanumérico para su identificación.

Tabla 1. Códigos de las cepas analizadas

Levaduras	Bacterias
FLL7	FR1B3
FLL17	FR4B12
FLL16	FR4B4
FLL62018	FR5B7
FLL22018	FR4B5
NB9	
NB124	
NB18	

Se realizaron ensayos para medir el antagonismo contra el hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea* cepas 152, 155 y 137, obtenidas de la misma región de las cepas antagonistas.

A. Ensayos de antagonismo *in vitro*

En cajas Petri con medio NYDA (Agar Nutritivo-Dextrosa para Levaduras) se realizaron ensayos por triplicado. Cada placa se dividió en 4 partes iguales. A 1 cm de la orilla se marcaron 4 líneas rectas de 1 cm de longitud, perpendiculares al diámetro.

En cada placa se inocularon 3 cepas a analizar y un control. Las cepas se sembraron con un asa bacteriológica en las líneas de 1 cm de longitud. Al centro de cada placa se colocaron discos de agar de 0.5 cm de diámetro que contenían el hongo *B. cinerea*. Como control se sembró el hongo de manera individual. Se dejaron en incubación a temperatura ambiente, hasta que el control de *B. cinerea* alcanzaba su crecimiento máximo (crecimiento completo en la superficie del agar).

B. Cuantificación del efecto antagonista

Se midió el radio de crecimiento del hongo con un vernier digital en dirección a la cepa antagonista, obteniendo un promedio para las 3 repeticiones de cada ensayo. El PICR se obtuvo mediante la fórmula de Samaniego et al. (1989). [6]

$$\text{PICR} = (R1 - R2) / R1 \times 100 \quad (1)$$

donde:

R1= radio de crecimiento del control del patógeno

R2= es el radio del crecimiento del patógeno en interacción con el antagonista.

III. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

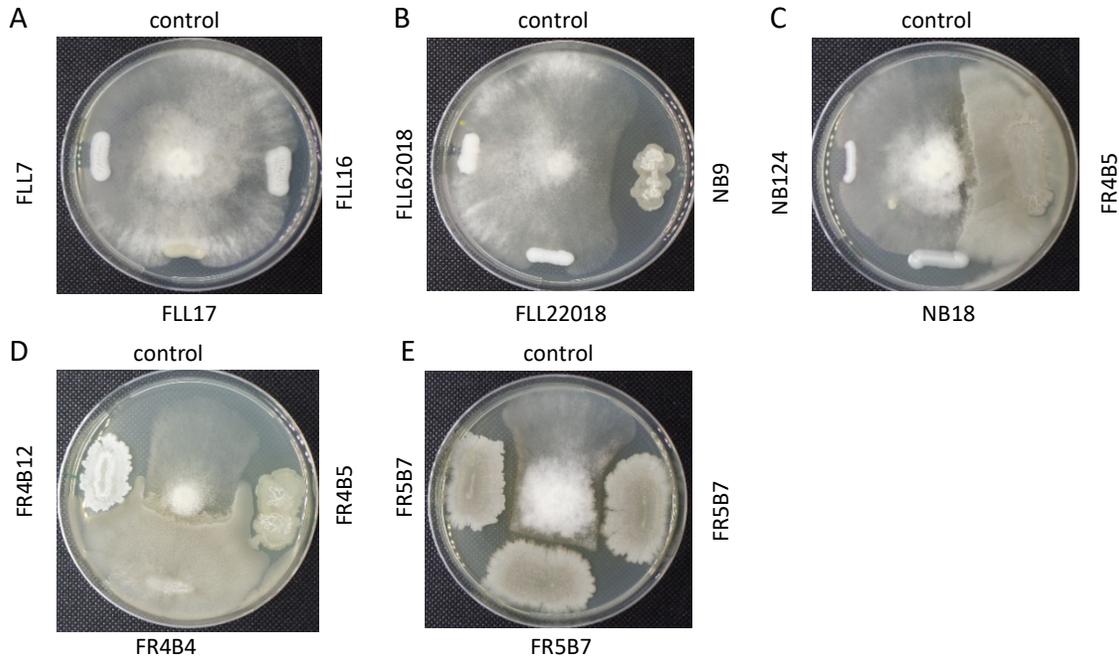


Fig 1. Ensayos de antagonismo in vitro contra *B. cinerea* 137. En las figuras D y E, el crecimiento del hongo se ve altamente reducido por sus antagonistas.

Tabla 2. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de *B. cinerea* 152

Cepa	Promedio del crecimiento radial (mm)	Promedio del crecimiento radial del control (mm)	Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (%)
FLL7	37.65	39.95	5.75
FLL16	36.50	39.95	8.64
FLL17	39.73	39.95	0.56
FLL22018	37.21	39.95	10.61
FLL62018	16.96	39.95	60.95
NB124	35.59	39.95	16.35
NB18	37.45	39.95	6.25
NB9	40.24	39.95	0.63
FR1B3	17.34	39.95	56.60
FR4B12	20.61	39.95	48.42
FR4B4	19.60	39.95	50.95
FR4B5	19.15	39.95	52.06
FR5B7	17.19	39.95	56.97

Tabla 3. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de *B. cinerea* 155

Cepa	Promedio del crecimiento radial (mm)	Promedio del crecimiento radial del control (mm)	Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (%)
FLL7	29.16	41.12	29.09
FLL16	35.95	41.12	12.56
FLL17	34.41	41.12	16.31
FLL22018	33.96	41.12	19.69
FLL62018	20.01	41.12	52.30
NB124	38.19	41.12	-0.09
NB18	-	-	-
NB9	18.42	41.12	35.51
FR1B3	16.78	41.12	59.20
FR4B12	19.10	41.12	53.54
FR4B4	18.75	41.12	54.40
FR4B5	19.41	41.12	52.80
FR5B7	18.79	41.12	54.30

Tabla 4. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de *B. cinerea* 137

Cepa	Promedio del crecimiento radial (mm)	Promedio del crecimiento radial del control (mm)	Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (%)
FLL7	38.23	40.87	6.46
FLL16	36.38	40.87	10.98
FLL17	34.65	40.87	15.21
FLL22018	37.22	38.80	4.07
FLL62018	29.53	38.80	23.88
NB9	17.02	38.80	56.14
NB124	29.23	40.92	28.55
NB18	27.90	40.92	31.80
FR1B3	11.02	40.92	73.08
FR4B12	15.63	35.90	56.47
FR4B4	11.43	35.90	68.16
FR4B5	15.13	35.90	57.86
FR5B7	15.16	40.66	75.14

Las cepas FLL62018, FR5B7, FR1B3, FR4B5 Y FR4B4 (de mayor a menor) alcanzaron PICR mayores o iguales al 50% contra *B. cinerea* 152 (Tabla 2). En el caso del antagonismo contra *B. cinerea* 155, las cepas que presentaron un PICR considerable (mayor a 50%) fueron FR1B3, FR4B4, FR5B7, FR4B12, FR4B5 Y FLL62018 (Tabla 3.). Para la inhibición del crecimiento de *B. cinerea* 137, destacaron (en orden descendente) las cepas FR1B3, FR4B4, FR5B7, FR4B5, FR4B12 Y NB9 (Tabla 4).

Se aprecian resultados variables de PICR dependiendo la cepa de *B. cinerea* contra la que fueron enfrentadas. Las cepas bacterianas FR1B3, FR4B4, FR4B5 y FR5B7 lograron PICR mayores a 50% en todos los ensayos realizados. En el caso de FR4B12, NB9 Y FLL62018 se obtuvieron porcentajes de inhibición sobresalientes contra cepas específicas de *B. cinerea*.

A excepción de algunas cepas, la mayoría de las cepas utilizadas en los ensayos mostraron, en mayor o menor medida, efectos antagonicos en el crecimiento in vitro del hongo fitopatógeno *B. cinerea*.

IV. CONCLUSIONES

Los ensayos in vitro para antagonismo son una herramienta esencial y un primer paso en la búsqueda y desarrollo de agentes de control biológico.

Este ensayo de enfrentamiento entre el agente patógeno y sus antagonistas permitió evaluar la capacidad inhibitoria de cepas bacterianas y de levaduras contra el hongo *Botrytis cinerea*, causante de enfermedades en cultivos de importancia económica, encontrando cepas con altos PICR, siendo prometedoras para futuros estudios que permitan su uso como ACB.

V. RECONOCIMIENTOS

Agradezco a la Universidad de Guanajuato y a la Universidad Autónoma de Querétaro por su apoyo para llevar a cabo los veranos de investigación.

Ofrezco un especial agradecimiento al Dr. Juan Ramiro Pacheco Aguilar y a la M. en C Rocío Crystabel López González por la orientación, enseñanzas y confianza que me otorgaron en este proyecto, y a mi compañero Juan Pablo por su apoyo en el laboratorio.

REFERENCIAS

- [1] «Porcentaje PIB». Banco Mundial. 2018. Consultado el 8 de julio de 2019.
- [2] Harsimran K.G. y Harsh G. (2014). Pesticides: environmental impacts and management strategies. En: Pesticides-toxic aspects (M.L. Larramendy y S. Soloneski, Eds.). Intech, Rijeka, Croacia, pp. 187-230.
- [3] Atlas, R.M. y Bartha, R., Ecología microbiana y Microbiología ambiental Pearson Educación, S. A. Madrid, 4ta edición, 2002
- [4] Fernandez Orietta y Vega Larrea. 2001. Microorganismos antagonistas para el control Fitosanitario, Avances en el Fomento de Productos Fitosanitarios No-Sintéticos, Manejo Integrado de Plagas, Costa Rica, No. 62 p. 96-100.
- [5] SAMANIEGO, G., S. ULLOA, S. HERRERA. Hongos del suelo antagonistas de *Phymatotrichum omnivorum*. Revista Mexicana de Fitopatología, 8: 86-95, 1989.

Caracterización de la pulpa de coco maduro para su utilización en algún producto alimenticio

Michel Alejandra Alba Montoya

Facultad de Ciencias Biológicas Unidad Torreón
Carretera Torreón-Matamoros Km. 7.5, Ciudad
Universitaria. Ejido El Águila, C.P.
27276, Torreón, Coahuila.
michelalba97@hotmail.com

Asesora: Araceli Loredo Treviño

Departamento de Investigación de Alimentos
Facultad de Ciencias Químicas Saltillo
Blvd. Venustiano Carranza S/N
Colonia República Oriente C.P.25260
aracelloredo@uadec.edu.mx

Resumen — En el presente estudio el objetivo fue caracterizar y evaluar las propiedades fisicoquímicas y funcionales de la pulpa de coco maduro que se obtiene después de obtener lechada de coco. La composición proximal fueron: 68.78% de humedad, 6.34% de grasa, 0.35% de proteína, 0.49 de ceniza y 4.30% de hidratos de carbono, para la pulpa de coco maduro. Una vez obtenida esta composición, se buscó la creación de un nuevo producto o la utilización de la pulpa de coco maduro como estabilizante en la elaboración de helados.

Palabras clave — Coco, Propiedades, Análisis

Abstract — In the present study the objective was characterize and evaluate the physicochemical and functional properties of mature coconut pulp obtained after obtaining coconut milk. The proximal composition were 68.78% moisture, 6.34% fat, 0.35% protein, 0.49% carbohydrates, for the mature coconut pulp. Once the composition was obtained, the creation of a new product or the use of the mature coconut pulp as a stabilizer in the elaboration of ice cream, was sought out.

Keywords — coconut, proprieties, analysis

I. INTRODUCCIÓN

La palma de coco se cultiva en más de 90 países tropicales y representa una fuente de ingresos importante. Indonesia, Filipinas y la India son los principales productores producen el 75% del coco mundial. El árbol de coco entero se puede utilizar, pero la productos principales se obtienen de la fruta: copra y el aceite, el ácido láurico, leche de coco, fibra, harina, agua de coco (de fruto inmaduro), que se utilizan en varias aplicaciones, por ejemplo, alimentos, jabones, detergentes y cosméticos.(Aparecida et al. 2011).

Un ejemplo claro de esto, es Brasil, ya que es el cuarto mayor productor de coco, su cultivo en Brasil no está destinado a la producción de combustible, pero la pulpa se utiliza principalmente como materia prima para la producción de coco rallado, leche de coco y otros derivados. La creciente demanda de esta bebida alcanza alrededor de 350 millones de litros por año en forma fresca e industrializado.

La pulpa de coco contiene, entre otros, agua, hidratos de carbono, proteínas, grasas, sales y también vitaminas A, B1, B2, B5 y C. El coco tiene las siguientes propiedades medicinales, entre otros: anti-inflamatorio, calmante, hidratante, nutritiva y antioxidante. La palma de coco se cultiva para producir varios productos, incluyendo el agua de coco verde (Ge et al., 2005; Matsui et al., 2008; Yong et al., 2009).

Debido a la necesidad de los consumidores de buscar alimentos de alta calidad nutricional, se han creado nuevos alimentos que se extraen de frutas o verduras con la finalidad de hacer más práctico su uso y contribuyan a la salud del consumidor.

II. MARCO TEÓRICO

La utilización del coco en general es muy usual en la industria, sin embargo, las propiedades del coco según su madurez son distintas. A pesar de eso, su contenido de ácido laurico ha hecho posible su utilización en la industria cosmética y fabricación de jabones, además de eso, tiene beneficios a la salud y propiedades antivirales, antibacteriales y antiprotozoales hace que sea atractivo para su uso en alimentos.

Los derivados del coco más utilizados son el aceite de coco, la copra, el coco deshidratado, y la fibra en ese orden de importancia. Su uso data desde alrededor del año 1949 cuando fue introducido a las costas occidentales de África a Puerto Rico, posteriormente, en 1952 se planteó la necesidad de introducir semilla de coco en la India para multiplicar la producción y la economía. (Cueto, et al. s.f.).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA. Se utilizó pulpa de coco madura la cual fue recuperada del proceso de extracción de leche de coco. Esta pulpa estaba congelada a -30°C y se descongeló a 4°C y posteriormente se procesó.

CHARACTERIZACIÓN BROMATOLÓGICA. Se llevó a cabo la caracterización bromatológica del coco usando las técnicas de la AOAC (Villalobos, Granados, Villegas.2014). Estas se describen a continuación.

CONTENIDO DE HUMEDAD

Se cortó la muestra y se puso a pesar y a secar en una charola metiéndola a una estufa a $55-60^{\circ}\text{C}$ por 24 h. Después se sacaron, se dejó enfriar y se pesó. Se registraron los pesos y se prosiguió a hacer los cálculos con la Ec 1.

$$\frac{\% \text{MSP} = (\text{Peso de la muestra seca})(100)}{\text{Peso de la muestra húmeda (gr)}} \quad (1)$$

$$100 - \% \text{MSP} = \% \text{Humedad}$$

CONTENIDO DE CENIZAS

Se pusieron a peso constante 3 crisoles de porcelana que se metieron a la estufa por 24 h. a 100°C , se sacaron, pesaron en una balanza analítica y se metió al desecador. Se dejaron enfriar y se agregaron de 2-3 gr. de coco previamente secado, se prosiguió a precalcinárselas en una parrilla a temperatura alta, seguido de esto se metieron a la mufla por 3 horas a 600°C para ser calcinadas, al sacarse se pesaron los crisoles y se hicieron los cálculos para determinar las cenizas obtenidas, usando la Ec. 2:

$$\% \text{ de ceniza} = \frac{\text{Peso del crisol con ceniza} - \text{peso del crisol solo}}{\text{g de muestra}} (100) \quad (2)$$

CONTENIDO DE GRASA

Se comenzó poniendo a peso constante los matraces bola de fondo plano, en los que se iba a recolectar el aceite final del proceso. Después se prosiguió a montar todo el equipo necesario para realizar el método Soxhlet, También se pesaron y vaciaron 2 gr, de coco (previamente secado a 55°C) en papeles filtro (cartucho) y se introdujeron en su respectivo tubo de Buth. Al matraz bola se le agrego un disolvente (hexano), se conectaron las mangueras para la recirculación del agua a la bomba y se mantuvo el agua fría. El proceso se mantuvo durante aproximadamente 3-4 horas.

Los matraces con la grasa recuperada se metieron a la estufa a aproximadamente 100°C por 24 h. para posteriormente ser pesados y hacer los cálculos correspondientes con la Ec 3:

$$\text{Extracto Etéreo (\%)} = \frac{\text{Matraz con grasa} - \text{Matraz sin grasa}}{\text{Peso de la muestra}} (100) \quad (3)$$

CONTENIDO DE FIBRA

Se comenzó pesando 2 gr. de muestra desengrasada (obtenida del método Soxhlet para determinar el contenido de grasa) y se vació un vaso Berzelius, al que se le agregaron 100 ml de ácido sulfúrico al 0.225 N, y se conectaron los vasos (3) al equipo de reflujo. Transcurrido el tiempo, se filtró por medio de una tela de lino enjuagando con 100 ml de agua destilada hasta su neutralidad, posteriormente se vació la fibra obtenida a los vasos y se agregaron 100 ml de Hidróxido de sodio 0.313 M. y se conectaron los vasos de nuevo al equipo de reflujo por 30 min. Posteriormente se filtró de la misma manera y la fibra final se vació a crisoles de porcelana previamente puestos a peso constante y se dejaron en la estufa por 24 hrs. A 100°C.

Después se pasaron los crisoles a la mufa a 600°C por 3 horas para finalmente pesar y calcular el % de fibra utilizando la Ec 4.

$$\% \text{ Fibra} = \frac{(\text{Crisol con fibra seca}) - (\text{Crisol con fibra en cenizas}) \times 100}{\text{gr de la muestra}} \quad (4)$$

CONTENIDO DE PROTEINA

Se pesaron 30 mg de la muestra previamente desengrasada, más 0.3 gr de catalizador (n - C -NH₂ + mH₂SO₄ CO₂ + (NH₄)₂ SO₄ + SO₂), en tubos para hacer la digestión. Después se agregaron 2.5 ml de ácido sulfúrico concentrado a los tubos y se conectaron al equipo de digestión Labconco. La digestión se llevó a cabo por aproximadamente 2 h. hasta que la muestra cambió a color verde esmeralda. Para la segunda fase que es la destilación se vació la muestra con el residuo blanquecino al tubo de destilación, se agregaron despacio 5 ml de agua, y 10 ml de hidróxido de sodio al 60%. Al matraz donde se iba a recoger la muestra, se agregaron 5 ml de ácido bórico al 5%, y 2 gotas de indicador mixto (rojo de metilo al 2% y azul de metileno al 0.2%). Se destiló la muestra en el equipo Kjeldahl hasta obtener de 75 a 100 ml de muestra, misma que se tituló después con HCl al 0.01 N. Los cálculos se realizaron con la Ec 5.

$$\% N = \frac{((V2 - V1)(Eq N)(Normalidad al HCl)(100))}{\text{Peso de la muestra (mg)}} \quad (5)$$

V2= Volumen de HCl gastado para titular la muestra (ml)

V1= Volumen gastado para titular el blanco (ml)

Eq N= 14.007

38

CONTENIDO DE SODIO

La cenizas obtenidas del proceso para determinar el contenido de cenizas se enjuagaron con poca agua destilada y se vaciaron a un matraz con 1 ml de cromato de potasio al 5% para después titularse con Nitrato de plata al 0.1 N, hasta ver el vire a color rojo ladrillo. Después se calcularon el contenido de cenizas con la Ec 6.

$$\text{Sodio (\%)} = \frac{0.0585 (\text{Gasto})(\text{Normalidad})(100)}{\text{Masa de la muestra inicial}} \quad (6)$$

CONTENIDO DE CARBOHIDRATOS INSOLUBLES

Para la determinación de azúcares totales, se realizó la hidrólisis de 20 mg de muestra tanto seca como desgrasada con 5 ml de H₂SO₄ 0.25 M y se realizó la técnica de azúcares totales con Antrona (Rodríguez. 1987) haciendo diluciones y realizando su respectiva curva según las concentraciones.

CONTENIDO DE AZUCARES SOLUBLES EN AGUA

Se utilizaron 0.5 gr. de muestra tanto seca como desengrasada y se añadieron 15 ml de etanol al 80% para homogenizarse en una ultraturrax a 8000 rpm por 30 seg, después se sónico por 15 min y se centrifugó a 4000 rpm por 15 min. El sobrenadante se separó y la fracción sólida se lavó con 10 ml de etanol al 80%, se volvió a sónico y a centrifugar a las mismas condiciones mencionadas anteriormente, se extrajo el sobrenadante del cual se tomaron 0.5 ml para evaporarlos en la estufa para determinar azúcares totales con la técnica de Antrona (Rodríguez. 1987). El sobrenadante recuperado se utilizó para medir azúcares reductores por el método de DNS (Bello Gill, et al. 2006).

PROPIEDADES FUNCIONALES**CAPACIDAD DE HINCHAMIENTO**

La capacidad de hinchamiento se determinó siguiendo el método usado por Requena *et al.* (2016). Se hidrató 0.2 g de muestra seca por 24 h con 5 ml de agua. Para obtener la diferencia entre el volumen inicial ocupado y el final.

CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE AGUA

La capacidad de retención de agua se midió por el método centrífugo. Se colocó 1 g de muestra seca en un tubo. Se adicionaron 10 ml de agua destilada para que se hidratara durante 24 horas. La suspensión se centrifugó a 2000 rpm por 15 min. Se determinó el peso húmedo, se secó en estufa a 40°C y determinó el peso seco de la fibra. (Arroyo Salas, Yoni. Carrasco, Mercedes. Bueno, Antonio. Cardeña, Rubén. Luízar, 2009)

CAPACIDAD DE ADSORCIÓN DE ACEITE

Se colocó 1 g de muestra en un tubo con 10 ml de aceite vegetal y se agitó durante 30 min. Después de centrifugar durante 10 min a 3000 rpm. se retiró el sobrenadante y se pesó el sedimento. (Arroyo Salas, Yoni. Carrasco, Mercedes. Bueno, Antonio. Cardeña, Rubén. Luízar, 2009).

CAPACIDAD DE FORMACION DE ESPUMA

La prueba se llevó a cabo pesando la pulpa de coco maduro y mezclándola con levadura en polvo en relación 10:2, posteriormente se le añadió agua en relación 2:4 y se metió a un baño de agua a 40°C, se monitoreo el volumen aumentado con respecto al tiempo (Aparecida et al. 2011).

IV. RESULTADOS

Los resultados obtenidos de los análisis bromatológicos y pruebas realizadas a la pulpa del coco maduro se expresan en las siguientes tablas y gráficas. La tabla 1 presenta los porcentajes de composición en la muestra seca y muestra húmeda, así como sus desviaciones estándar.

Tabla 1. Componentes y desviaciones estándar en muestra seca y húmeda

Componente	% muestra seca	% muestra húmeda	Desv. Est
Humedad	0	68.78	±5.34
Lípidos	20.3	6.34	±0.25
Proteínas	1.11	0.53	±0.23
Cenizas	1.57	0.49	±0.15
Fibras	48.37	15.10	±1.73
Azúcares	13.77	4.30	±3.30

Respecto al análisis de propiedades funcionales, se obtuvieron las diferentes capacidades del coco, por ejemplo, se obtuvo una capacidad de hinchamiento de 5 ml de H₂O/2 gr de muestra, en la retención de agua se obtuvo el valor de 1.13gr de agua/ gr de muestra y en la adsorción de aceite se obtuvo un valor de 4. 51 gr de aceite/ gr de muestra, lo que nos indica que el contenido de fibra insoluble es mayor al de la fibra soluble. Por otro lado, la capacidad de formar espuma, resulto en un 57.14% menor con respecto al blanco, la figura 1 muestra la diferencia de tiempo y el volumen que aumento cada una respectivamente.

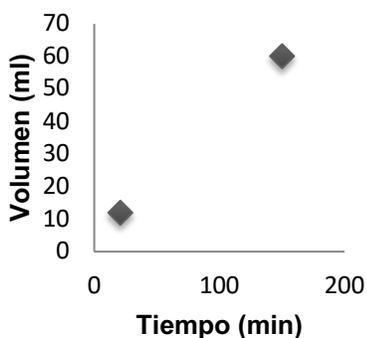


Figura 1. Capacidad de formación de espuma

V. ANÁLISIS DE RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en los análisis bromatológicos fueron diferentes a comparación con estudios realizados anteriormente, esto debido al tratamiento que la pulpa de coco recibe y también dependiendo si el coco está maduro o tierno, en este caso, la pulpa de coco maduro fue donada como residuo de un trabajo preliminar y se le dio un tratamiento con agua, lo que explica su contenido de humedad, sin embargo no se compara con el contenido de humedad de la pulpa de un coco verde fresco la cual es mayor, ni tampoco con la pulpa de coco liofilizada la cual es mucho menor debido a su deshidratación. Sin embargo, los análisis realizados fueron la base para determinar si la pulpa de coco maduro puede ser precursor para la elaboración de algún producto alimenticio, o para ser adicionado como complemento. Por lo tanto, según los resultados obtenidos, se llega a la conclusión de que esta pulpa puede ser utilizada para elaborar algún helado, debido a que posee la habilidad de formar espuma debido a su contenido de proteínas, además de eso, su contenido de lípidos hace que se fácil su manejo e integración y su contenido de fibra puede hacer que el producto sea un alimento de valor nutricional.

REFERENCIAS

- Aparecida Aantana Ines, Ribeiro Paula Eliana, Miwa Iguti Antonia. (2011). Evaluation if Green coconut (Cocos nucifera L.) pulp for use as milk, fat and emulsifer replacer in ice cream. Maua Institute of Technology. Brazil
- Bello Gil Daniel, Carrera Boccourt, Emilia; Diaz Maqueira Yuset. (2006) Determinacion de azucares reductores en jugos mezclador de caña de azúcar utilizando el método de acido 3,5 dinitrosalicílico. Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar Ciudad de La Habana, Cuba.
- Chauhan P. O., Archana B.S., Singh Asha, Raju S.P., Bawa S. A. (2012). Utilization of Tender Coconut Pulp for Jam Making and Its qualit evaluation during storage. Food Bioprocess Technol.
- Cueto R. Jorge, Maruchi Alonso, Raixa Llauger, V. González y W. Romero. Historia del cocotero (Cocos nucifera L.) en Cuba: su origen en la región de Baracoa. Instituto de Investigaciones en Fruticultura Tropical. Empresa de Coco Baracoa.
- H. Prieto W., Iguti M. A., Nitz M. (2011). Drying evaluation of Green coconut pulp for obtaining a snack-like product. 11th International Congress on Engineering and FoodMaua Institute of Technology. Brazil.
- Ministerio de Agricultura y ganadería. Boletín de mercado de coco.(2001) Programa nacional de frutas de el salvador. República de el Salvador en la América Central
- Nascimento Alves Niédila, Messaoud Ghazi Ben, Desobry Stéphane, Correia Costa José María, Rodrigues Sueli. (2016). Effect of drying technique and feed flow rateo n bacterial survival and physicochemical properties of a non-dairy fermented probiotic juice powder.Elsevier Ltd.
- Pereira da Silva Wilton, Pereira da Silva Cleide M, De Farias Aires Juarez E., Da Silva Junior Aluizio F. (2014). Osmotic dehydration and convective drying of coconut slices: Experimental determination and description using one-dimensional diffusion model. Journal of the Saudi Society of Agrucultural Sciences.Center os Sciences and Technology, Federal University of Campina Grande, Brazil.
- Rodriguez Arzave Juan Antonio (1987). Manual de Practicas de Bioquímica. 4ª edición. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey N.L.

- Silva Teixeira Natali, Torrazan Renata, Castro Freitas-Sá Daniela, Nacedo Pontes Sérgio, De Oliveira Ribeiro Leilson, Correa Cabral Lourdes, Da Matta Virgínia. (2019). Development of a fruit smoothie whit solid albumen of Green coconut. Food Technology.
- Villalobos; Granados; Villegas (2014). Tratamiento y análisis de muestras para ensayos químicos. Sección Química. Centro de Investigación en Nutrición Animal. Universidad de Costa Rica.

Caracterización funcional de fibras duras vegetales de agave

Irma Graciela Flores Cortés

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Calz Antonio Narro 1923, Buenavista, 25315
Saltillo, Coah.
irmafcts@gmail.com

Asesora: Lorena Vargas Rodríguez

Universidad de Guanajuato
El Mayorazgo, Ignacio Zaragoza No 749, Centro,
38900 Salvatierra, Gto
vargaslorena2016@outlook.com

Resumen — La industria mezcalera genera grandes cantidades de fibras el cual representa un problema de contaminación debido al mal manejo que se le da. El presente trabajo se realizo con el fin de caracterizar la fibra de Agave tequilana para una utilización posterior y un mejor aprovechamiento de las fibras. Donde se analizó la muestra en tres repeticiones, para ellos se realizo un análisis bromatológico en la muestra de fibras, las variables analizadas fueron: pectina, fibra cruda, extraíbles totales, lignina y cenizas presentes posteriormente se analizaron los datos sacando medias aritméticas comparando los resultados reportados por otras investigaciones.

Palabras clave— Agave Tequilana, Fibra de agave, caracterización de fibra.

(Ayudan a a identificar los temas o aspectos principales del trabajo y son importantes para su indexación en bases bibliográficas. Deben ser de tres a cinco palabras clave, y pueden incluirse frases cortas que describan tópicos significativos del documento.)

Abstract — The mezcalera industry generates large amounts of fibers which represents a contamination problem due to the bad handling that occurs. The present work was carried out in order to characterize the Agave tequilana fiber for later use and better use of the fibers. Where the sample was analyzed in three repetitions, for them a bromatological analysis was performed on the fiber sample, the variables analyzed were: pectin, crude fiber, total extractables, lignin and ashes present subsequently the data were analyzed taking arithmetic means comparing the results reported by other investigations.

Keywords— Agave tequilana, Agave fiber, fiber characterization.

I. INTRODUCCIÓN

México destaca en la producción de fibras naturales de origen vegetal en todo el mundo debido a que posee una amplia diversidad de especies productoras de este material, siendo mayormente de la familia Agavaceae a la cual pertenece el Agave. [1]

El agave es una de las plantas mexicanas que es reconocida a nivel mundial la cual incluye varias especies, de las cuales se reportan 197 especies incluidas dentro de los dos subgéneros reconocidos (*Litsea* y *Agaveae*). De las cuales en Mexico se pueden localizar 136 especies. [2]

El agave tequilana se logra cultivar solo en regiones muy restringidas establecidas como territorios protegidos por la denominación de origen del tequila. Estos territorios incluyen los estados de Jalisco, Nayarit, Guanajuato, Michoacan y Tamaulipas. [3]

Pertenece a la familia de las agaváceas el cual es considerado una planta con mayor diversidad de utilidades, las cuales son más de cien. Entre los usos más comunes se encuentra la elaboración de mezcal, tequila, pulque, aunque también se pueden lograr

concentrados de aguamiel, mieles, jarabes, fibras para artesanías, forrajes, extractos medicinales, etc. [4]

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo se realizó en la universidad de Guanajuato campus Celaya-Salvatierra

A. Molienda de fibras de agave

La molienda se llevó a cabo por medio de un molino manual marca estrella. Un proceso previo a la molienda fue la reducción de tamaño de partículas de las fibras posteriormente se sometió a molienda por medio de un molino manual.

B. Contenido de pectinas

Para la determinación de pectinas se utilizaron 10 gramos de muestra previamente molida la cual se mezcló con 600 ml de agua destilada y 60 gramos de ácido cítrico para ser colocado en un matraz Erlenmeyer de 200ml. Se colocó junto con un refrigerante durante 20 minutos después de su ebullición. Posteriormente la muestra fue lavada con 300ml de etanol mientras se filtraba al vacío, se dejó refrigerar la muestra por 12 horas para ser filtrada nuevamente. Por último la muestra se pone a secar en una estufa a 40°C durante 4 horas para pesar el papel filtro y obtener una diferencia de pesos y encontrar el contenido de pectinas.

C. Fibra Cruda

Se coloca 2 gramos de fibra de agave en un matraz Erlenmeyer, 2 gramos de ácido tricloroacético, 5 ml de ácido nítrico y 70ml de ácido acético al 70%. Este sistema se mantiene a reflujo con agitación constante durante 30 minutos; para enseguida filtrar al vacío, lavando el residuo con agua destilada caliente hasta eliminar por completo el olor a ácido acético, el filtro se seca en estufa a 95°C durante 12 horas y se pesa. El porcentaje de fibra cruda se calcula mediante la fórmula:

$$\% \text{ Fibra Cruda} = \frac{(\text{Peso papel filtro con residuo (g)} - \text{Peso papel filtro vacío (g)})}{\text{Peso de la muestra desengrasada (g)}} \times 100 \quad (1)$$

D. Extraíbles totales

La determinación del porcentaje de extraíbles en solvente orgánico se llevó a cabo según la metodología establecida de la TAPPI T264. Mientras el porcentaje de extraíbles en agua caliente se realizó de acuerdo a la TAPPI 207. La suma de ambos porcentajes se reporta como extraíbles totales de la muestra.

E. Porcentaje de Lignina

En un vaso de precipitado de 50 ml se pesó 1.5 gramos de muestra seca y libre de extraíbles en benceno, etanol y agua. Luego se agregaron 10.8 ml de H₂SO₄ al 72%, a 13 °C de temperatura y se agitó vigorosamente durante 1 minuto. Enseguida, se dejó reposar

durante 2 horas, con agitación frecuente a una temperatura de 19°C. La mezcla resultante se trasvasó a un matraz Erlenmeyer de 1 L, y se diluyó la concentración del ácido a 3 % adicionando 560 ml de agua destilada. La mezcla se llevó a ebullición durante 4 h con un condensador de reflujo. Trascurrido el período indicado, la mezcla en el Erlenmeyer se dejó enfriar hasta que el material insoluble decantó. Posteriormente, la muestra se filtra al vacío utilizando papel filtro No 3, el cual debe estar secado previamente a 105°C. El precipitado se lava con 500 ml de agua caliente hasta quedar libre de ácido. El papel filtro y su contenido se secan en un horno durante 4 h a 105°C. Después, se retira el papel filtro del horno y se deja enfriar dentro de un desecador por tres horas. Tras alcanzar peso constante, se pesa el papel filtro y se determina el contenido de lignina, según la Ecuación 1, de la metodología ASTM D1106.

$$\% \text{ Lignina} = \frac{(\text{Peso papel filtro} + \text{residuo secado (g)} - \text{Peso papel filtro secado (g)})}{\text{Peso de la muestra libre de extractos secada (g)}} \times 100 \quad (2)$$

F. Determinación del contenido de celulosa

El contenido porcentual se determina mediante el método de Kürshner-Höffer, al material libre de sustancias extraíbles se le añaden 5 ml de mezcla reactiva de HNO₃ y 20 ml de etanol, se colocan en reflujo en baño de agua durante una hora, se decanta y se añade nueva cantidad de mezcla reactiva, repitiendo esta operación tres veces. Posteriormente se añaden 25 ml de KOH al 1% durante 30 minutos, se filtra y el sólido se seca hasta masa constante, según técnica descrita por Melcer, I. y Kolektiv (2006).

G. Estimación del contenido de hemicelulosas totales

Las hemicelulosas totales se estiman por diferencia entre 100% y la suma del porcentaje de celulosa y el porcentaje de lignina en madera libre de extraíbles (Bland, D.E., 1985)

H. Determinación de Cenizas

De acuerdo a la metodología por la AOAC se pesaron 2 gramos de muestra, se precalcinan a fuego directo, posteriormente se colocan en mufla a una temperatura de 550-600°C durante 3-4 horas, dejar que baje la temperatura a 100°C para transferir a un desecador y esperar a que se enfrié completamente para pesar.

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{(\text{Peso del crisol con cenizas (g)} - \text{Peso del crisol vacío (g)})}{\text{Peso de la muestra (g)}} \times 100 \quad (3)$$

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la caracterización de fibra de agave tequilana se presentan en la tabla 1, donde se muestra el porcentaje de pectinas fue de 2.5%, fibra cruda 51.9998%, extraíbles totales 43.19%, lignina 37.1175%, celulosa -%, hemicelulosa -% y cenizas 1.2248%.

Tabla 1. Resultados de la caracterización de fibras de agave tequilana

Determinación	Resultado promedio (%)
Pectinas	2.5
Fibra cruda	51.9998
Extraíbles totales	43.19
Lignina	44.6910
Cenizas	1.2248

Dentro de los resultados publicados en la literatura el porcentaje de pectinas encontradas en fibras de agave se encuentra entre el 1-2%, respecto a fibra cruda se publican resultados de 44.52-56.09% según la variedad, para lignina se manejan resultados sobre 61.82% [5], para cenizas se presentan valores de aproximadamente 6.5% lo cual puede indicar que estos residuos tienen cantidad muy baja de minerales. [6]

Para la determinación de celulosa y hemicelulosa ya no se pudieron registrar valores debido a que la técnica fue muy agresiva a la materia prima debido a que consumió en su totalidad la muestra colocada a analizar debido a que esa técnica se especificaba para maderas de pinos y no para fibras.

Sin embargo existen numerosos factores que afectan los valores de la composición y características del agave, incluida la temperatura, la humedad, los ciclos naturales y la precipitación anual promedio, el producto obtenido en cada región es completamente diferente del que se encuentra en cualquier otra región.

IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Se recomienda el uso de técnicas más adecuadas para fibras debido a que el utilizar una técnica para el tratamiento de maderas dificultó el conocimiento porcentual de celulosa y hemicelulosa. Los valores obtenidos se consideran dentro de los rangos publicados en literaturas debido a que muchas de las muestras cuentan con tratamientos previos los cuales indican sus variaciones así como sus variedades, forma y manejo de la materia prima de cada región es un factor importante a considerar.

V. AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Consorcio Nacional de Ciencia y Tecnología y a la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por permitirme participar en esta edición de Verano de la Ciencia así como a la Universidad de Guanajuato por darme la oportunidad de realizar mi estancia de

investigación. También agradezco a la Dra. Lorena Vargas por brindarme su atención y apoyo durante el proyecto así como al alumno Brandon Bata por su apoyo en la realización de este proyecto.

REFERENCIAS

- [1] *Martínez Burciaga, O. U., Castillo Quiroz, D., & Mares Arreola, O. (2011). Caracterización y selección de sitios para plantaciones de lechuguilla (Agave lechuguilla Torr.) en el estado de Coahuila.*
- [2] Rodríguez, M. B. B., Shastri, R., Guzmán, R. Z., & Alcaraz, J. L. G. (2015). Compuesto de polietileno de baja densidad y fibra de agave tequilana. *Cultura científica y tecnológica*, (45).
- [3] NORMA Oficial Mexicana NOM-002-SAGARPA-2016, Relativa a las características de sanidad, calidad agroalimentaria, autenticidad, etiquetado y evaluación de la conformidad de los fructanos de agave.
- [4] Hans, L. (1994). El papel precortesiano. citado por Novelo Victoria compiladora, en *Artesanos, Artesanías y Arte Popular de México*, Consejo Nacional para la Cultura y las Artes, México.
- [5] Naranjo, C. D. D., Alamilla-Beltrán, L., Gutiérrez-Lopez, G. F., Terres-Rojas, E., Solorza-Feria, J., Romero-Vargas, S., ... & Mora-Escobedo, R. (2016). Aislamiento y caracterización de celulosas obtenidas de fibras de Agave salmiana aplicando dos métodos de extracción ácido-alcali. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 7(1), 31-43.
- [6] Heredia Solís, A., Esparza Ibarra, E. L., Romero Bautista, L., Cabral Arellano, F., & Bañuelos Valenzuela, R. (2014). Bagazos de Agave salmiana y Agave weberi utilizados como sustrato para producir *Pleurotus ostreatus*.

Caracterización microscópica y molecular de hongos asociados a líquenes

Angely Sabrina Candelario López

Universidad Autónoma de Coahuila
Facultad de Ciencias Químicas
Ing. J. Cárdenas Valdez S/N, República,
25280 Saltillo, Coah.
angelycandelario@uadec.edu.mx

Asesora: Dra. Varinia López Ramírez

Instituto Tecnológico Superior de Irapuato
Coordinación de Ingeniería Bioquímica
Silao-Irapuato km 12.5 El Copal,
36821 Irapuato, Gto
valopez@itesi.edu.mx

Resumen La extracción de ADN es un proceso por el cual el material genético del microorganismo estudiado se obtiene. Los pasos necesarios para una correcta extracción y purificación del ADN, son la lisis de las células, la degradación de la fracción proteica asociada al ADN y la purificación propia de la molécula. [1].

El objetivo del presente trabajo fue la caracterización microscópica y molecular de hongos asociados a líquenes del cepario del Instituto Tecnológico Superior de Irapuato. De los 16 aislados fúngicos evaluados se analizó su morfología macro y microscópica y se realizó la extracción de ADN. La caracterización molecular procedió a partir del análisis por PCR de la región ITS. La calidad de las muestras de ADN, así como los productos de amplificación se analizaron por electroforesis en gel de agarosa.

Palabras clave Micobionte, Líquenes, Micelio, ADN, Electroforesis, PCR

Abstract DNA extraction is the process of the separation of nucleic acid from the studied microorganism. The main steps for a successful extraction and purification of DNA involves, cell lysis, degradation of the protein fraction associated with the DNA and their purification [1].

The main goal of this project was the isolation of the fungi associated to lichens from the catalogue of Instituto Tecnológico Superior de Irapuato. We analyzed 16 different fungal strains we examined their macro and microscopic characteristics, and the DNA was extracted and purified. Molecular characterization was performed by PCR of their ITS region.

Keywords *Mycobiont, lichens, mycelium, DNA, electrophoresis, PCR*

I. INTRODUCCIÓN

Los líquenes son seres enigmáticos complejos cuyos cuerpos vegetativos (talos) son el resultado de asociaciones simbióticas cíclicas entre, al menos, un hongo heterótrofo (micobionte) y un socio fotosintético (fotobionte) y una levadura. [2] Los micobiontes de líquenes proporcionan protección al fotobionte al acumular contaminantes, sobreviviendo de esta manera a condiciones de vida hostiles.

En trabajos previos se ha reportado que los líquenes pueden presentar bacterias asociadas su superficie, en este proyecto se analizó la morfología de aislados fúngicos asociados a líquenes y se caracterizó molecularmente su identidad a partir de la extracción de ADN y amplificación por PCR de la región ITS. La extracción de ADN consta de dos etapas una de lisis donde se lleva a cabo una ruptura de las estructuras que confinan el citoplasma y se libera al medio su contenido y otra de purificación, que implica la eliminación de la mayoría de elementos que pueden interferir en la PCR. [2]

II. METODOLOGÍA

A. *Reactivación de cepas de hongos*

La reactivación del cepario de hongos se realizó inoculando por asada cepas en agar papa dextrosa e incubándolas a temperatura ambiente por 72 hrs. El micelio desarrollado en cajas Petri se analizó al microscopio a través de la impresión del micelio y posterior tinción con azul de lactofenol. Parte del micelio se depositó en tubos Eppendorf y se conservó a -20°C hasta su procesamiento. [3]

B. *Extracción de ADN total de hongos Filamentosos*

La extracción del ADN se realizó siguiendo la metodología propuesta por Park NH et al. (2014) [8] con las siguientes modificaciones. La lisis celular se llevó a cabo con la adición de 300 µL de solución reguladora de cloruro de potasio (100 mM de Tris HCl pH 8, 10 mM de EDTA pH 8 y 1 M KCl). Una vez realizada la lisis celular se le adicionaron 180 µL de cloroformo, mezclándose vigorosamente, posteriormente se centrifugó por 2 min. a 13000 rpm para separar las fases.[4]

La fase acuosa se recuperó en un tubo Eppendorf nuevo y estéril, y se le adicionó 1 µL de RNAsa (10 µL/ml), la mezcla se incubó a temperatura ambiente por 10min, posteriormente el ADN se precipitó adicionando dos volúmenes de etanol absoluto y se centrifugó por 2 min. a 12000 rpm. Finalmente, la pastilla obtenida se lavó tres veces consecutivas con etanol al 70% (v/v), centrifugándose cada vez 2 min. a 12000 rpm. El producto obtenido se dejó secar y re suspendió en solución TE 1X (10 mM de Tris HCl pH 8, 1 mM de EDTA pH 8). Las muestras de ADN se analizaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 0.8%.

C. *Amplificación de la región ITS por PCR*

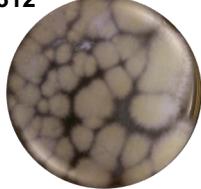
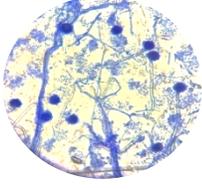
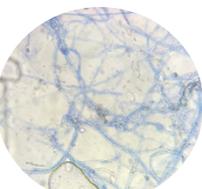
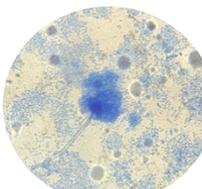
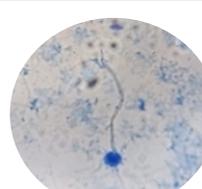
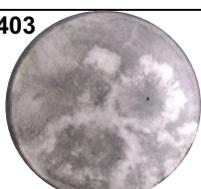
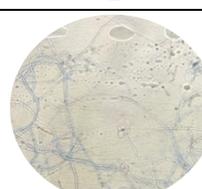
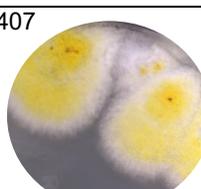
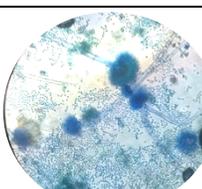
La reacción en cadena de la polimerasa, o PCR, es una técnica que sirve para sintetizar un alto número de copias de una determinada región de ADN *in vitro*. En el laboratorio, se emplea una ADN polimerasa termoestable, la Taq polimerasa, y requiere de iniciadores de ADN diseñados específicamente para la región de ADN de interés, la reacción se somete a un ciclo de cambios de tiempo y temperatura que permiten la producción de muchas copias de la región blanco. [5]

En nuestro caso, se realizó una mezcla de 50 µL volumen final, de la cual estaba conformada por 25 µL de mezcla de reacción (MasterMix 2X, Thermo Scientific®) y 22 µL de agua, 1 µL de Oligo directo (ITS 5, 5'ggaagtaaaagtgcgaacaagg3'), 1 µL de Oligo reverso (ITS4, 5'tcctccgctattgatgc3') y por último 1 µL de ADN del aislado fúngico. Las condiciones del programa de amplificación se llevaron a cabo por tres temperaturas: Primera temperatura de desnaturalización (94-96°C), Segunda temperatura de alineamiento de Oligos 45°C a 50 seg. Y finalizando con la Tercera temperatura de Extensión y polimerización a 72°C organismo termófilo a 72°C 1min 10 seg., Tuvo una duración de 35 ciclos, la extensión final a 72° a 35 min. Los productos de PCR se visualizaron en un transiluminador de las imágenes se obtuvieron con el programa Infinity Cap®

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los aislados fúngicos asociados a líquenes se caracterizaron macro y microscópicamente. En la caracterización macroscópica, se observó la morfología colonial el color y forma del micelio. En la caracterización microscópica. Se identificaron los cuerpos fructíferos tiñendo con azul de lactofenol el micelio y observando al microscopio, así mismo, se apoyó en el uso de guías dicotómicas y de la aplicación *Micellium Touch* para una identificación más precisa del aislado en cuestión. *Los resultados de las observaciones macro y microscópicas de los hongos se muestran en la Tabla 1*

Tabla 1: Caracterización Macroscópica y microscópica de los aislados fúngicos asociados a

IMAGEN MACROSCÓPICA	DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA	IMAGEN MICROSCÓPICA	DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA
292 	Colonias de crecimiento abundante, textura algodonosa, vellosa-seca y hialina. Micelio cenocítico, puede llegar a presentar rizoides		GÉNERO: Absidia FAMILIA: Mucoraceae ESPECIE: Absidia corymbifera CLASE: Zygomycota Los esporangiosporas ramificadas; esporangios abundantes, pequeños y pálidos con la base en forma de embudo y esporangio largo.
312 	Colonias de crecimiento rápido, micelio abundante, algodonoso blancas, pero cambia a gris, marrón o negro con la madurez.		GÉNERO: Mucor FAMILIA: Mucoraceae ORDEN: Mucorales CLASE: Zogomycetes MICELIO: Septado ESPORANGIO: Globoso [7]
313 	Colonias claras con micelio aéreo denso, bien desarrollado. Color inicial blanco grisáceo [7]		GÉNERO: Curvularia FAMILIA: Dematiaceae ORDEN: Moniliales CLASE: Deuteromycete SUBDIVISIÓN: Deuteromycotina Hifas septadas, conidióforos engrosados en puntos de unión de conidias.
331 	Colonias en tonalidades blancas y verdosas. La superficie de la colonia es aterciopelada a pulverulenta por la densa producción de conidias a menudo forman pliegues radiales. Puede presentar gotas de exudado en superficie de las colonias		GÉNERO: Penicillium FAMILIA: Moniliaceae ORDEN: Moniliales CLASE: Deuteromycete Ramificación en forma de cepillo, conidióforos alargados. Largas cadenas de pequeños conidias esféricas se originan en filidies con forma de botella en la parte superior [8]
398 	Colonias tienen tonalidad amarillo ocre y una superficie pulverulenta por la profusa producción de conidias con pliegues.		GÉNERO: Scopulariopsis FAMILIA: Moniliaceae ORDEN: Moniliales CLASE: Deuteromycete Conidióforos simples o ramificados. Los anélicos son similares a racimos de uvas o cilíndricos y ligeramente hinchados. Las conidias son unicelulares.
403 	Colonias de crecimiento rápido, inicialmente son de color blanco y se van cambiando de gris a negro como en su reverso, tienen textura lanosa. [6]		GÉNERO: Scytalidium ESPECIE: dimidiatum FAMILIA: Moniliaceae ORDEN: Moniliales CLASE: Deuteromycete Posee hifas septadas hialinas o gris pálidas, no posee conidióforos, artroconidias hialinas.
407 	Colonias de color amarillento de crecimiento rápido, lanosa, algodonosa a granular o purulenta.		GÉNERO: Apergillus ESPECIE: flavus FAMILIA: Moniliaceae ORDEN: Moniliales CLASE: Deuteromycete Conidióforos hialinos, de paredes gruesas generalmente rugosas. Vesículas globosas en la superficie

líquenes.

En la extracción de ADN de los aislados fúngicos

La calidad de las muestras de ADN de los aislados fúngicos obtenidas se determinó en geles de agarosa al 0.8% agarosa, con el apoyo de un fotodocumentador usando luz UV. En la Figura 1, se presenta el resultado de la extracción de ADN.

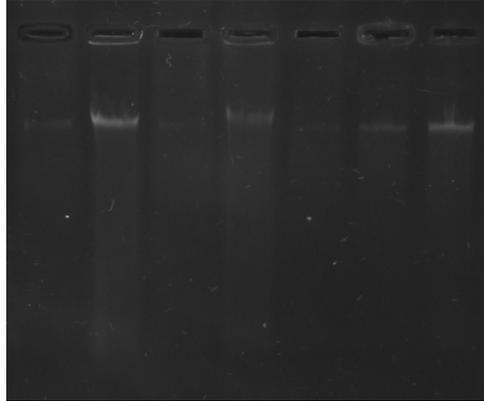


Figura 1. Electroforesis en gel de agarosa de muestras de ADN de aislados fúngicos.

Las muestras de ADN se emplearon para la amplificación por PCR de la región ITS, sin embargo no se obtuvo ningún producto de amplificación en las condiciones experimentales probadas.

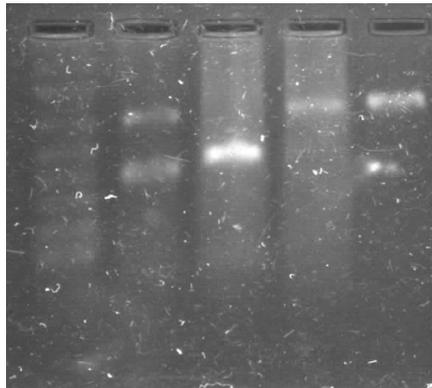


Figura 2. Se muestra la purificación de un PCR

IV. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En nuestra estancia de investigación pudimos parcialmente cumplimentar el objetivo del proyecto debido a que las cepas proporcionadas por la Institución fueron reactivadas y descritas macro y microscópicamente, de igual forma fue posible obtener su ADN. No fue posible obtener productos de amplificación utilizando los oligos ITS 5 e ITS4, con las condiciones experimentales empleadas. Se deja como perspectiva buscar las condiciones adecuadas para la amplificación de la región ITS del ADN ribosomal del hongo para poder posteriormente secuenciar y hacer comparaciones en bases de datos, de tal manera que pueda hacerse la identificación molecular de los aislados.

V. CONCLUSIONES

Se procesaron un total de 14 muestras del cepario, las cuales fueron identificadas por sus características morfológicas macro y microscópicas, lográndose identificar solo 7 de las mismas y determinando que pertenecían a los géneros *Absidia* sp, *Mucor* sp , *Curvularia* sp, *Penicillium* sp, *Scopulariopsis* sp, *Scytalidium* sp, y *Dimidiatum* sp.

Desde el punto de vista morfológico, se concluyó que las estructuras reproductivas (macroconidios, microconidios, clamidosporas) observadas se encuentran en el rango para las especies de hongos mencionadas anteriormente. Algunas de las muestras no se extrajeron su ADN debido a que se tomaron alternativas de tratamiento para cada hongo por su tipo de morfología.

VI. REFERENCIAS

- [1] J. K. A. T. A. D. P. J. Ramírez, “Elaboración de un atlas para la descripción macroscópica y microscópica de hongos fitopatógenos de interés en especies de flores de corte cultivadas en la sabana de Bogotá,” pp. 153–164, 2008.
- [2] C. Tamay de Dios, L.; Ibarra, C.; Velasquillo, “Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real. Investigación en Discapacidad,” vol. 2, no. May, pp. 70–78, 2013.
- [3] D. I. A. Alarcon, “Evaluación de técnicas de conservación para hongos filamentosos y levaduriformes en el cepario de la Pontificia Universidad Javeriana,” vol. 33, pp. 16–18, 2006.
- [4] B. Pérez, “Biología de los líquenes,” *Líquenes la Reserv. Nat. Integr. Muniellos, Astur.*, pp. 65–82, 2003.
- [5] O. B. A. Hegazy AI, “Detection of Salmonella in Food Samples by Culture and Polymerase Chain Reaction Methods,” *J. Bacteriol. Parasitol.*, vol. 05, no. 03, pp. 5–7, 2014.
- [6] B. A. Mar, “Aislamiento de microorganismos asociados a la simbiosis líquénica en especies del estado de guanajuato,” no. 1, pp. 345–349, 2018.
- [7] M. B. González, “Identificación molecular,” vol. 2, p. 20, 2001.
- [8] Park NH Zhang L, Farrell JJ, Zhou H, Elashoff D, Akin D, et al. Transcriptomic biomarkers 2014; 138 (3): 949-57.e1-7

Cultivo de tejidos vegetales in vitro de cactus y suculentas injertadas (A)

Victoria Pérez González

Universidad Autónoma de Zacatecas
Unidad Académica de Ciencias Biológicas
Av. Preparatoria, Col Hidraulica, 98068
Zacatecas, Zac.
vickyperzalez@gmail.com

Asesor: Pablo Delgado Sánchez

Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Facultad de Agronomía y Veterinaria
Km. 145 Carretera San Luis-Matehuala Soledad
de Graciano Sánchez, S.L.P
pablo.delgado@uaslp.mx

Resumen — El cultivo de tejidos comprende una serie de técnicas mediante las cuales las plantas pueden ser regeneradas a partir de poco material vegetativo. La micropropagación consiste en producir plantas a partir de porciones muy pequeñas de ellas, como son los tejidos o células cultivadas asépticamente en recipientes de vidrio. El cultivo in vitro del género *Haworthia* que es una suculenta africana se conoce desde 1968, en este experimento se cultivaron en medios de suspensiones celulares las especies *H. truncata* y *H. camptoniana* y se monitoreó su división celular y el aumento de la masa vegetal a partir de callo fiable obtenido previamente en el laboratorio.

Palabras clave — cultivo *in vitro*, *Haworthia*, suspensión celular.

Abstract — Tissue culture comprises a series of techniques by which the swamps can be regenerated from little vegetative material. Micropropagation consists of producing plants from very small portions of them, such as tissues or cells grown aseptically in glass containers. The in vitro culture of the genus *Haworthia* which is an African succulent has been known since 1968, in this experiment the species *H. truncata* and *H. camptoniana* were grown in cell suspensions and their cell division and the increase in plant mass were monitored. from reliable callus previously obtained in the laboratory.

Keywords — In vitro culture, *Haworthia*, cell suspension.

I. INTRODUCCIÓN

El cultivo de tejidos comprende una serie de técnicas basadas en el principio de totipotencialidad, mediante las cuales las plantas pueden ser regeneradas en el laboratorio a partir de poco material vegetativo (tallo, hoja, meristemos, semillas, embriones, raíz, entre otras) [1]. La micropropagación consiste en producir plantas a partir de porciones muy pequeñas de ellas, como son los tejidos o células cultivadas asépticamente en recipientes de vidrio; donde se puede controlar estrictamente las condiciones ambientales, sanitarias y de nutrición [1].

En 1968 Majumdar y Sabharwal comenzaron el cultivo in vitro con distintas especies de *Haworthia*, obteniendo resultados distintos con cada una de estas especies. Estos estudios indican que algunas especies de *Haworthia* son fáciles de cultivar in vitro, mientras que otros son difíciles de cultivar bajo las mismas condiciones [2]. Se sabe que las especies de *Haworthia* difieren en sus requerimientos hormonales, aunque no se han realizado estudios para optimizar las condiciones de regeneración para especies específicas [3]. Los métodos convencionales para la propagación de suculentas pueden llegar a ser tardados y poco eficientes, es por eso que se recurre a la propagación *in vitro*. En este trabajo se pretende trabajar con las especies *Haworthia truncata* y *Haworthia camptoniana*, del género *Haworthia*, así como el cultivo de callos fiables cultivados previamente en suspensiones

celulares. El objetivo es lograr un aumento en la masa celular, además de la multiplicación de las células vegetales.

El género *Haworthia* pertenece a la familia Xanthorrhoeaceae [4] y son conocidas como suculentas del sur de África y tiene alrededor de 68 especies con 41 subespecies [5].

Haworthia truncata presenta una distribución bastante amplia desde el sudoeste de calitzdorp hasta De Rust al este de Oudtshoom, en el pequeño karoo. Exhibe una disposición distal muy regular de los extremos de las hojas truncadas a nivel del suelo. El extremo de la hoja es estrechamente oblongo, de color verde grisáceo con pequeños tubérculos. En cultivación las plantas generalmente reciben demasiada agua y tienden a "saltar" sobre el nivel del suelo [6].

Haworthia comptoniana es una especie retirada del pequeño karoo que se encuentra entre las montañas de Swartberg en el norte y el langeberg en el sur. Su roseta es grande de 15-20 hojas, con puntas de hojas lisas y puntiagudas, de color purpurino a verde, moteado en rosa, estriado-reticulado y con frecuencia se oculta debajo de las piedras. Fue descubierto en la región oriental de la distribución en 1940 [6].

II. MARCO TEÓRICO

El protocolo de cultivo in vitro que se presenta a continuación, para las especies *Haworthia tuncata* y *Haworthia camptoniana* empleado para este experimento fue tomado de Hernández y colaboradores (2018) [7] y fue elaborado en el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la UASLP. Este protocolo se creó con el fin de otorgar las condiciones de cultivo adecuadas para suculentas de la especie *Haworthia*.

A. Selección y desinfección del material vegetativo.

Las hojas que fueron seleccionadas como explantes, se separaron cuidadosamente de la roseta. Se lavaron bajo un flujo de agua corriente constantemente durante 2 minutos, para así eliminar partículas de la superficie. En condiciones asépticas (campana de flujo laminar), los explantes fueron sumergidos en etanol al 96% durante 1 min. A continuación las hojas fueron sumergidas en una solución de hipoclorito de sodio 2% y Tween-20 (v / v) bajo agitación constante durante 15 min, seguido de esto se enjuagó tres veces con agua destilada estéril. Por último, las hojas fueron sumergidas en etanol al 70% durante 3 min y finalmente enjuagadas con agua destilada estéril.

B. El medio de cultivo para la inducción a callo.

El medio utilizado fue el medio basal MS propuesto por Murashige y Skoog (Murashige y Skoog, 1962) a 0,5X y 1X suplementado con 30 g L⁻¹ de sacarosa, 2.2 g L⁻¹ de phytigel como agente gelificante y regulador de crecimiento. Para la inducción a callo se aplicó, 6-7 Bencilaminopurina (BA) y una combinación de ácido naftaleno acético (NAA) con 8 Tidiazurón (TDZ) los cuales se añadieron a diferentes concentraciones. El pH del medio de cultivo se ajustó a 6,0 y se dosificaron en matraces con 20 ml. Después los matraces fueron esterilizados en una autoclave durante 15 min a una presión de 1.5 Lb y a 120 °C. Los explantes estériles fueron cortados en dos segmentos; apical y la base. Para el BA, medio de NAA y TDZ, fueron colocadas cinco repicas para cada tratamiento.

Uno de los métodos de proliferación del callo producido por el cultivo *In vitro* es la suspensión celular. Las suspensiones celulares consisten en células libres y agregados celulares distribuidos en un medio en movimiento. Estas suspensiones pueden ser permanentes mediante el suministro continuo de nutrientes [8]. Esta estrategia requiere un proceso inicial que incluye la formación de callo friable y posteriormente el establecimiento de suspensiones celulares [9]. Este tipo de cultivo presenta la ventaja de permitir el control relativamente sencillo de variables como temperatura, pH y oxígeno disuelto [10].

III. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Obtención de callo friable.

Los callos utilizados para este experimento se obtuvieron en condiciones *in vitro* en el laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la UASLP, donde se desarrolló un protocolo para la desinfección y siembra de los explantes para su producción.

B. Cultivo de callos en suspensión celular.

Se utilizó 1gr de callo de cada especie; *Haworthia truncata* y *Haworthia camptoniana* y se introdujo en cuatro matraces de 250 ml que contenían 100 ml de suspensión celular hecha a base de medio Murashige y Skoog (MS) al 50% y 3 gr de Sacarosa.

El proceso de trasplante de medio sólido a suspensión celular de los callos de *Haworthias* se llevó a cabo dentro de una campana de flujo laminar para evitar la contaminación, los matraces fueron sellados y se llevaron al cuarto de crecimiento donde permanecieron sobre una placa de agitación constante a 160 rpm en condiciones de 25 °C y periodos de luz constante.

Los callos se cambiaron de medio un vez por semana para evitar el agotamiento de nutrientes, el procedimiento se llevó a cabo bajo la campana de flujo laminar, donde se dejó reposar el medio para que las células en suspensión reposen en el fondo y así poder aspirar el medio con ayuda de una pipeta, una vez que se vació todo el medio se agregó medio nuevo y una vez finalizado el procedimiento los matraces vuelven a la placa de agitación dentro del cuarto de crecimiento.

Después de un mes de cultivo en suspensión celular se pesó la cantidad de callo producido, drenando la suspensión y pesando el callo en una balanza analítica.

C. Conteo de células.

El crecimiento celular se evaluó mediante el conteo celular con ayuda de la cámara de Neubauer y un microscopio óptico. Los conteos se llevaron a cabo 2 veces por suspensión cada 3 días en un periodo de 30 días. El número de células por volumen se calculó con la siguiente fórmula (Ec. 1) [11].

$$\text{Concentración} \left(\frac{\text{cell}}{\text{mL}} \right) = \frac{\text{número de células} \cdot 10000}{\text{número de cuadros}} \quad (1)$$

IV. RESULTADOS

Se realizaron conteos celulares cada 3 días con la cámara de Neubauer, donde se pudo observar un incremento en la cantidad de células vegetales así como etapas de la división celular de las mismas, tal como se puede ver en las figuras 1 y 2.



Figura 1. Células de *H. camptoniana*



Figura 2. Células de *H. truncata*

En base a los datos obtenidos se muestra en la figura 3 el crecimiento celular de una especie respecto a la otra, donde se puede verificar que *H. camptoniana* presento un mayor crecimiento celular en comparación a *H. truncata*.

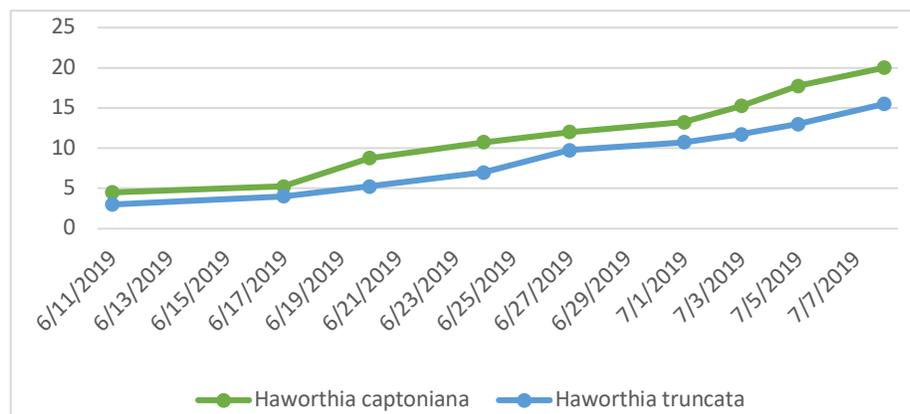


Figura 3. Curva de crecimiento de *H. camptoniana* y *H. truncata*

Un mes después de mantener los callos en la suspensión celular, se drenó la masa vegetal para realizar un cálculo de peso fresco, donde los resultados arrojaron que *Haworthia camptoniana* presentó un mayor aumento en su cantidad de masa respecto a *Haworthia truncata*, además de presentar crecimiento de brotes y raíz. En las figuras 4 y 5 se puede observar la masa vegetal producida por el callo. La tabla 2 que se muestra a continuación muestra los resultados del pesado de la masa vegetal producida por los callos de *H. camptoniana* y *H. truncata*.

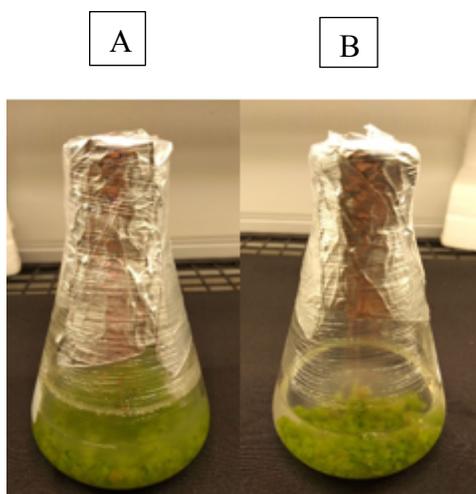


Figura 4. Callo producido por *H. camptoniana* (A. matraz 1, B. matraz 2)

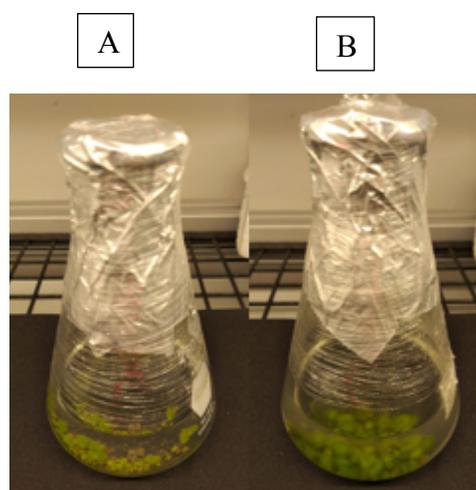


Figura 5. Callo producido por *H. truncata* (A. matraz 1, B. matraz 2)

Tabla 2. Producción de callo de *H. camptoniana* y *H. truncata*

Especie		Cantidad de callo al inicio del experimento	Cantidad de callo producida después de 1 mes
Haworthia camptoniana	Matraz 1	1.0 gr	9.73 gr
	Matraz 2	1.0 gr	4.78 gr
Haworthia truncata	Matraz 1	1.0 gr	3.76 gr
	Matraz 2	1.0 gr	4.06 gr

V. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Se logró el aumento de la masa celular de ambas especies de *Haworthia*. En ambas especies se consiguió la observación de división celular, además de que una de ellas; *Haworthia camptoniana* presentó desarrollo de brotes y raíces. *Haworthia camptoniana* presentó mejores resultados que *Haworthia truncata*, al lograr un mayor aumento de su masa celular respecto a la inicial, además de lograr el desarrollo de brotes y raíces. Mientras que *H. truncata* solamente presentó un ligero aumento de su masa vegetal. La curva de crecimiento también favorece más a *H. camptoniana* mostrando que presentó un mayor incremento en su división celular.

VI. CONCLUSIONES

Ambas especies de *Haworthia* se mostraron aptas para el cultivo en suspensión celular, cierto que *Haworthia truncata* presentó mejores resultados que *Haworthia camptoniana*, se deben buscar mejores tratamientos para que *H. truncata* pueda desarrollar un mejor crecimiento que el ya presentado.

VII. AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad Autónoma de Zacatecas junto con el comité organizador del Verano de la Ciencia Región Centro por el apoyo económico y el espacio de intercambio entre instituciones. Al Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Agronomía Y Veterinaria de la UASLP, por el apoyo de instalaciones, equipo y reactivos durante mi estancia. Al Doctor Pablo Delgado Sánchez responsable del proyecto de investigación por la oportunidad de formar parte de su equipo de trabajo y por los conocimientos adquiridos durante la esta estancia de verano.

REFERENCIAS

- [1] González C y J Vilca. 1998. "Micropropagación vegetativa "in vitro" de aliso (*Ainus acuminata*)". Red Andina de Semillas Forestales - RASEFOR, COSUDE – INTERCOOPERACION. 39 p.
- [2] Hayashi, M. (1987). "Callus characteristics and classification of *Haworthia* and allied genera". *South African Journal of Botany*, 53(6), 411-423.
- [3] Rogers, S. M. D. (1993). "Culture phenotype affects on regeneration capacity in the monocot *Haworthia comptoniana*". *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 29(1), 9-12.
- [4] The Plant List (2013). Version 1.1. Published on the Internet; <http://www.theplantlist.org/> (Última consulta 19 de junio 2019).
- [5] Jessy, N.S., R. Begum, M. Khatun, and S.S. Alam. 2005. "Differential fluorescent chromosome banding of four species in *Haworthia* Duval (Aloaceae)". *Cytologia* 70: 21 435-440.
- [6] Court, Doren. "Succulent Flora of Southern Africa". (2000). A.A. Balkema. pp. 301.
- [7] Hernández-Vázquez, E. K., H. H., Kim., G. Y., Lee., Y. H., Kim., M. L., Guerrero-González., J. H. Lee., J. H., Jung & P. Delgado-Sánchez. (2018). "An organogenic in vitro system for the conservation and mass production of *haworthia truncate*". Universidad Autónoma de San Luis Potosí.
- [8] Szabados L, Mroginski LA, Roca WM. 1991. Suspensiones celulares: descripción, manipulación y aplicaciones. In: "Cultivo de Tejidos en la Agricultura: Fundamentos y Aplicaciones (Roca WM, Mroginski LA., eds.)". Centro Internacional de Agricultura Tropical, CIAT, Cali, Colombia.
- [9] Sánchez-Calvo, L., & Alvarenga-Venutolo, S. (2015). "Callogénesis y establecimiento del cultivo de células en suspensión de *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC (uña de gato)". *Revista Tecnología en Marcha*, 28(1), pág-105.
- [10] ARIAS, M., AGUIRRE, A., ANGARITA, M., MONTOYA, C., & RESTREPO, J. (2009). "Aspectos ingenieriles del cultivo in vitro de células vegetales para la producción de metabolitos secundarios". *Dyna*, 76(157),109-121.
- [11] P. Freire (2013) "Establecimiento de suspensiones celulares de *Chenopodium ambrosioides* para una futura obtención de metabolitos secundarios, empleando la citoquinina thidiazuron (TDZ)". Tesis Ing. en Biotecnología. Universidad de las Fuerzas Armadas. ESPE. Sangolquí, Ecuador.

Cultivo de tejidos vegetales *in vitro* de cactus y suculentas injertadas (B)

Xareni Nitzaye Ávila Valadez

Universidad Autónoma de Zacatecas
Unidad Académica de Ciencias Biológicas
Av. Preparatoria S/N, Colonia Hidráulica,
Zacatecas, Zacatecas.
navilav06@gmail.com

Asesor: Pablo Delgado Sánchez

Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Facultad de Agronomía y Veterinaria
Km. 14.5 Carretera San Luis Potosí, Matehuala,
Ejido Palma de la Cruz,
Soledad de Graciano Sánchez, San Luis Potosí
pablo.delgado@uaslp.mx

Resumen — El género *Haworthia* perteneciente a la familia xanthorrhoeaceae, proviene de Sudáfrica, fue descrito por Henri A. Duval en honor a Haworth en 1809, estas suculentas se caracterizan por su pequeño tamaño y por sus hojas anchas que se encuentran dispuestas formando rosetas. Gracias al principio de totipotencialidad vegetal es posible la propagación masiva de este género a partir de cultivo *in vitro*. En este experimento se trabajó con la especie *H. retusa* y *H. maughanii*, el método empleado fue a partir de suspensiones celulares en un cultivo líquido nutritivo a base de Sacarosa como fuente de carbono y MS como medio basal que le proporciona el medio todos los macro y micro elementos necesarios para la planta.

Palabras clave — Género *Haworthia*, Cultivo *in vitro*, Suspensión celular.

Abstract — The *Haworthia* genus of xanthorrhoeaceae family, from South Africa, was described by Henri A. Duval, in honor of Haworth in 1809, these succulents are characterized for their small size and broad leaves, these are arranged to form ridges. Thanks to principle of plant totipotentiality it is possible to mass propagation on this genus. This experiment, was worked with *H. retusa* and *H. maughanii* species, the method employed was Cells suspensions in a nutritious liquid culture based on sucrose as carbon source and MS as basal medium that provides all macro and micro elements needed for the plant.

Keywords — *Haworthia* genus, Culture *in vitro*, Cell suspension.

I. INTRODUCCIÓN

Haworthia género descrito por el médico francés y experto en suculentas, Henri Auguste Duval, en 1809 en honor a un comerciante inglés, Adrian Haworth, quien dedicó la mayor parte de su vida a describir nuevas especies de la familias Aizoaceae y Asphodelaceae, las cuales llegaron desde Sudáfrica hasta Europa [1]. Anteriormente el género *Haworthia* era incluido en la familia Asphodelaceae, pero según la nueva taxonomía de este género, ahora se clasifica en la familia xanthorrhoeaceae [1] (que incluye más de 160 especies), Las haworthias son pequeñas suculentas, tienen un tallo muy corto y sus hojas son carnosas y están dispuestas formando rosetas, las flores suelen ser pequeñas, tubulares y normalmente de colores blanquecinos. Según la especie, pueden presentar variaciones significativas tanto en su morfología como en las coloraciones que poseen, verdes, rojas o marrones.

La investigación del cultivo de tejidos de *Haworthia* fue iniciada en 1968 por Majumdar y Sabharwal. Desde su trabajo, muchos investigadores han informado sobre el cultivo de tejidos de varias especies y variedades de este género. Estos estudios indican que algunas especies de *Haworthia* son fáciles de cultivar *in vitro*, mientras que otras son

difíciles de cultivar en las mismas condiciones. Este fenómeno es bastante común en el cultivo de tejidos [2].

II. MARCO TEÓRICO

El cultivo de tejidos es un conjunto de técnicas en el que un explante se cultiva asépticamente en un medio artificial y se incuba bajo condiciones ambientales controladas. El desarrollo de estas técnicas nos permite realizar la propagación masiva y obtener material vegetal para llevar a cabo análisis fisiológicos e histológicos que nos proporcionen información y así comprender las características que presentan los cultivos *in vitro* y el desarrollo de los regenerantes [3].

La propagación masiva vegetal se basa en el principio de totipotencia celular, en el que a través una célula de la planta es posible obtener nuevos organismos completos. Dentro de la propagación de tejidos vegetales se pueden presentar dos tipos de respuesta: embriogénesis directa o indirecta. Donde la directa hace referencia a que las células comienzan su diferenciación desde una fase temprana del desarrollo, mientras que la indirecta está marcada por la desdiferenciación celular, la cual está acompañada de un proceso de crecimiento tumoral que da lugar a una masa de células indiferenciadas (callo), la cual es capaz de generar órganos.

Existen varias técnicas para llevar a cabo el cultivo de tejidos las cuales residen principalmente en el tipo de medio de cultivo que se emplea, pudiendo ser semisólido a base de gelificantes o agares o bien a partir de medios líquidos gracias a las suspensiones celulares. Durante el experimento empleamos las suspensiones celulares, que consisten en células libres y agregados celulares distribuidos en un medio en movimiento. Estas suspensiones pueden ser permanentes mediante el suministro continuo de nutrientes [4].

El experimento realizado durante el verano de la ciencia se llevó a cabo a partir de trabajos previamente realizados dentro del laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de La Universidad Autónoma de San Luis Potosí, donde así mismo ya se había realizado un protocolo para el trabajo del género *Haworthia* a partir de micropropagación *in vitro*.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, en Soledad de Graciano Sánchez, San Luis Potosí durante el 21 verano de la Ciencia región centro.

A. MEDIOS DE CULTIVO

Se utilizaron suspensiones celulares como medio de propagación por ser un sistema práctico para el cultivo a gran escala y porque proporciona múltiples ventajas para su control, además de poder ser utilizado como medio permanente.

Para la preparación de las suspensiones se utilizó como medio basal Murashige & Skoog (MS) con una concentración de 2.215gr./1 l., el cual proporciona todos los macro y

microelementos esenciales para el crecimiento de la planta, sacarosa como fuente de carbono con una concentración de 30gr. / 1 l. y agua destilada; para proporcionarle el medio óptimo a la planta el PH fue ajustado a 5.8. Los medios se prepararon individualmente en matraces Erlenmeyer con capacidad de 250 ml, conteniendo solamente 100 ml de medio cada uno, los cuales fueron esterilizados por 15 minutos a 120 °C y 15 lb·pulg-2 de presión.

B. MATERIAL VEGETAL

Los callos que fueron utilizados fueron previamente desarrollados a partir de plantas madre de *H. truncata* y *H. maughanii*, mismas que fueron obtenidas del invernadero “La Biznaga Vagabunda” localizado en Ezequiel Montes, Querétaro, México; e inducidas siguiendo el protocolo de *un sistema organogénico in vitro para la conservación y producción en masa de Haworthia truncata* propuesto por Hernandez-Vazquez (et al.) en el año 2018 (publicación pendiente), dentro del mismo laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Agronomía y veterinaria de la UASLP.

C. ESTABLECIMIENTO DEL CULTIVO

Para la elaboración de la suspensión celular se utilizó 1 gr de callo para cada matraz; se usaron 4 matraces para cada especie, dividiéndolos como *H. truncata* 1, *H. truncata* 2, *H. maughanii* 1, y *H. maughanii* 2. Bajo condiciones asépticas en una campana de flujo laminar, se introdujo cada gramo de especie dentro de las suspensiones y se sellaron utilizando tapas hechas de papel aluminio estéril y plástico sellador (parafilm).

Las suspensiones se colocaron a incubación sobre un agitador giratorio a 160 rpm dentro de un cuarto para crecimiento con una temperatura constante de 25 ± 2 °C, con un fotoperiodo de 24 h de luz, en donde permanecieron durante cinco semanas.

IV. RESULTADOS

Cada tercer día las suspensiones se llevaban a una campana de flujo laminar y bajo condiciones asépticas se extraían dos muestras de cada matraz utilizando una micropipeta, esto con la finalidad de realizar un conteo celular con la ayuda de una cámara de Neubauer y bajo un microscopio óptico.

Pasados 13 días del establecimiento del callo dentro de la suspensión ambas muestras de *H. retusa* comenzaron a presentar notorio necrosamiento en el callo, y una disminución en el crecimiento celular. Pasados 15 días de la fecha inicial, tras no haberse mejorado la apariencia del callo y por la lenta proliferación celular, se establecieron dos suspensiones más (usando el mismo protocolo y condiciones) para dicha especie para un mejor monitoreo de la misma, las cuales fueron rotuladas como *H. retusa* A y B.

El monitoreo para el conteo celular continuó siendo cada tercer día para las seis suspensiones celulares.



Figura 1. Extracción celular para conteo

17 días después del establecimiento de las suspensiones iniciales se decidió preparar medios nuevos para proporcionarle mayores nutrientes a las células. El cambio de medio se llevó a cabo en una campana de flujo laminar bajo condiciones asépticas, extrayendo con una micropipeta el medio anterior y añadiendo el nuevo.

H. retusa comenzó a recuperar la coloración inicial y la proliferación celular empezó a aumentar a partir del cambio de medio. Desafortunadamente a partir de la misma fecha *H. maughanii* se mostró menos adaptada al medio nuevo, 7 días después las suspensiones de dicha especie presentaban una notable lisis celular en la muestra número 1. Comenzando la quinta semana y última del experimento se prepararon medios nuevos para la muestra de *H. maughanii* 1, la cual fue drenada del medio en el que se encontraba bajo condiciones asépticas utilizando papel filtro, de dicho callo se tomó 0.5 gramos y se cambió a un medio nuevo en el cual se le añadió 0.12 μ l de BASTA (herbicida de contacto no selectivo) con el fin de detener la lisis celular. El resto de la muestra se pasó a un medio nuevo.

Culminadas las 5 semanas, se realizó la extracción de muestras para el conteo celular habitual y todas las suspensiones fueron drenadas utilizando el mismo método del papel filtro que se mencionó antes, dentro de la campana de flujo laminar para pesar los callos.

V. DISCUSIÓN

A partir de la base de datos creada para el conteo celular de cada tercer día, se graficó la proliferación celular de la siguiente manera:

- La Figura 2. Toma en cuenta el crecimiento celular de ambas especies contemplando el promedio de células entre muestra 1 y 2 de cada especie a partir de las suspensiones iniciales hasta el término del conteo 5 semanas después.
- La Figura 3. Muestra el crecimiento para las segundas dos muestras de *H. retusa* desde su primer conteo hasta el término del experimento.
- La Tabla 1. Muestra el aumento del peso celular del callo para cada muestra del día de establecimiento de la suspensión hasta el día de culminación del experimento.

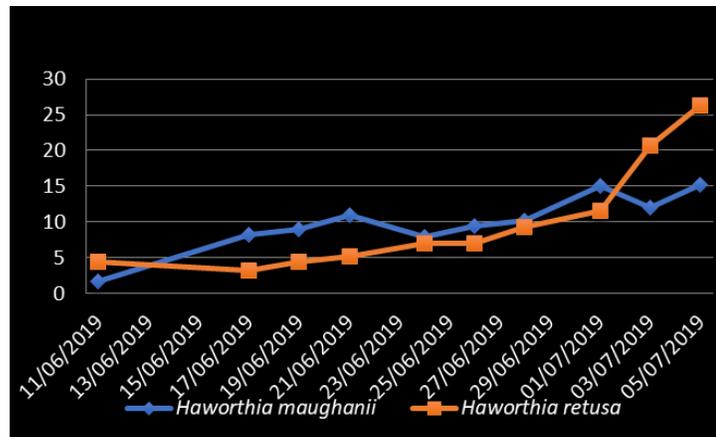


Figura 2. Crecimiento celular para *Haworthia maughanii* y *Haworthia retusa*

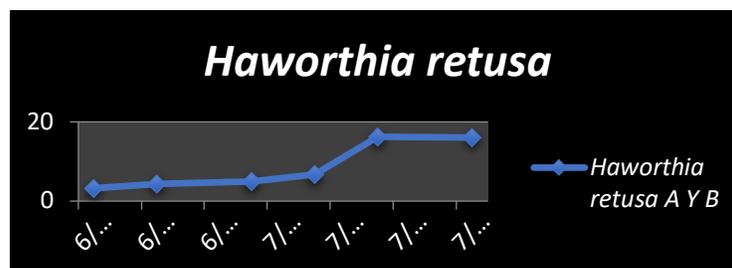


Figura 3. Crecimiento celular para *Haworthia retusa*

Tabla 1. Aumento de peso celular en cada muestra

Especie		Cantidad de callo al inicio del experimento	Cantidad de callo producida despues de Cinco semanas
<i>Haworthia retusa</i>	Muestra1	1.0 gr	7.9 gr
	Muestra 2	1.0 gr	8.9 gr
<i>Haworthia retusa</i>	Muestra A	1.0 gr	6.6 gr
	MuestraB	1.0 gr	7.4 gr.
<i>Haworthia maughanii</i>	Muestra1	1.0 gr	1.6 gr
	Muestra 2	1.0 gr	4.9
<i>Haworthia maughanii</i>	Muestra+ BASTA	0.5 gr de la muestra 1 <i>H. m</i>	0.5 gr
	Muestra 1 SIN BASTA	Resto de muestra 1 <i>H.m</i>	1.1gr

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La propagación masiva a partir de suspensiones celulares para las especies *retusa* y *maughanii* del género *Haworthia* no es la más óptima, debido a que ambas son muy sensibles a los cambios, es decir, antes de comenzar e experimento ambos callos se encontraban en un cultivo nutritivo semisólido a base de phytigel, enriquecido por sacarosa y MS, los ejemplares utilizados fueron seleccionados minuciosamente para asegurarse que fueran los más viables, a pesar de ello una vez introducidos en la suspensión celular con el paso de los días fueron mostrando dificultad para adaptarse, al principio la más afectada fue *H. retusa*, misma que con el incremento de nutrientes al

cambio de medio, mejoró considerablemente, mientras que *H.maughanii* decayó poco a poco.

No se obtuvieron los resultados esperados al término del experimento, sin embargo, casi al finalizar éste cuando se le añadió el herbicida BASTA, comenzó a recuperarse. Una vez terminado el experimento se continuó monitoreando a *H. maughanii*, y la suspensión que contenía herbicida estaba mostrando mucha mejoría, mientras que la que no lo contenía, continuaba presentando lisis celular.

VII. RECONOCIMIENTOS

Agradezco a todos los integrantes del laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de La UASLP ya que durante todo el verano me hicieron sentir como en casa e incluida dentro del laboratorio, y quiero agradecer en especial al doctor anfitrión Pablo Delgado Sánchez por todo el apoyo y orientación que recibí durante toda mi estancia, así como también a todo el comité organizador del Verano de la ciencia por permitirme formar parte de esta gran experiencia.

REFERENCIAS

- [1] N. Nuzhyna & M. Gaydarzhy, "Comparative characteristics of anatomical and morphological adaptations of plants of two subgenera *Haworthia* Duval to arid environmental conditions". *Acta Agrobot* 68(1):23–31. 2015.
- [2] M. Hayashi, "Callus characteristics and classification of *Haworthia* and allied genera". *South African Journal of Botany*, 53(6): 411-423. 1987.
- [3] J. Gaytán Oyarzún, *Catedra Nacional de Biología (2008) "Juan Luis Cifuentes Lemus" Biología de la Conservación II.* Ed. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Pachuca Hidalgo, 2009.
- [4] W. Roca & L. Mroginski. *Cultivo de tejidos en la agricultura: fundamentos y aplicaciones.* Ed. Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia, 1991.

Determinación de la capacidad antioxidante y la concentración fenólica contenida en metabolitos secundarios de *Chrysactinia mexicana*

Yesenia Damaris Franco Aguirre

Universidad Autónoma de Coahuila,
Facultad de Ciencias Químicas
Ing. Cárdenas Valdez S/N, República,
25280 Saltillo, Coah.
yesenia.franco@uadec.edu.mx

Asesora:

Emma Fabiola Magallan Hernández

Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales
Av. de las Ciencias s/n, 76230 Juriquilla, Qro.
fabiola.magallan@uaq.mx

Resumen — *Chrysactinia mexicana* es una especie nativa de México, que pertenece a la familia asteraceae, cuya distribución se asocia principalmente a la Sierra Madre Oriental la cual se caracteriza por tener compuestos fenólicos y terpenicos que han sido de nuestro interés para llevar a cabo esta investigación. En el presente trabajo, se identificó la concentración fenólica y la capacidad antioxidante contenidas en metabolitos secundarios de *Chrysactinia mexicana* de distintas muestras obtenidas de forma amigable con el medio ambiente donde se obtuvo un promedio de concentración fenólica de 0.019 M y una capacidad antioxidante con valores en su porcentaje de inhibición que rondaban entre 84.924 y 80.430 en un factor de dilución 1:20.

Palabras clave — *Chrysactinia mexicana*, Folin-ciocalteu, polifenoles, DPPH

Abstract — *Chrysactinia mexicana* is a species native to Mexico, which belongs to the Asteraceae family, whose distribution is mainly associated with the Sierra Madre Oriental which is characterized by having phenolic and terpenic compounds that have been of our interest to carry out this research. In the present work, was identified the phenolic concentration and the antioxidant capacity contained in secondary metabolites of Mexican *Chrysactinia* of different samples obtained in a friendly way with the environment where an average phenolic concentration of 0.019 M and an antioxidant capacity with values in Their percentage of inhibition was between 84,924 and 80,430 in a 1:20 dilution factor.

Keywords — *Chrysactinia mexicana*, Folin-ciocalteu, polyphenols, DPPH.

I. INTRODUCCIÓN

El presente trabajo forma parte de una investigación llevada a cabo en la Facultad de Ciencias Naturales en la Universidad Autónoma de Querétaro en la que se busca evaluar la capacidad que tiene el aceite esencial y diversos extractos de *Chrysactinia mexicana* para el control de plagas, específicamente de *Sitophilus oryzae* mejor conocidos como gorgojos del maíz.

Chrysactinia mexicana es una especie nativa de México, que pertenece a la familia asteraceae, cuya distribución se asocia principalmente a la Sierra Madre Oriental (Villaseñor et al., 2009). *Chrysactinia mexicana* contiene polifenoles, monoterpenos, diterpenos fenólicos y flavonoides caracterizados principalmente por su capacidad para disminuir la producción de los radicales libres (Martínez-Flórez et al., 2002).

Los compuestos fenólicos constituyen una de las principales clases de metabolitos secundarios de los vegetales, los cuales desempeñan diversas funciones fisiológicas. La actividad biológica de los polifenoles está relacionada con su carácter antioxidante, la cual

se debe a su habilidad para inhibir la actividad de la enzima lipooxigenasa y actuar como atrapadores de radicales libres (García Martínez et.al, 2009).

Los objetivos de este trabajo fueron extraer los metabolitos secundarios de *Chrysactinia mexicana* utilizando métodos amigables con el medio ambiente y determinar la capacidad antioxidante de los aceites esenciales y la concentración de fenoles totales contenidos en las infusiones y los extractos de *Chrysactinia mexicana*.

II. MARCO TEÓRICO

Chrysactinia mexicana es una especie nativa de México, que pertenece a la familia Asteraceae, cuya distribución se asocia principalmente a la Sierra Madre Oriental. Son arbustos de 20 a 40 cm alto, con hojas alternas, simples, lineares, cilíndricas, de 5 a 20 mm de largo y 1 a 2 mm de ancho, con glándulas oleíferas notorias. Las flores se presentan en cabezuelas, las liguladas usualmente son 13 de color amarillo (Villaseñor y Redonda-Martínez, 2009). *Chrysactinia mexicana* ha sido estudiada desde un enfoque fitoquímico identificando diferentes metabolitos secundarios con actividad biológica (Cárdenas-Ortega et al. 2005), encontraron que su aceite esencial contiene eucalyptol (41.3%), piperitona (37.7%) y linalyl acetato (9.1%). Guerra-Boone et al. (2013) mostraron que los principales componentes de su aceite esencial fueron monoterpenos (52.5%), siendo los más abundantes el Sylvestreno (41.1%) y el limoneno (26.1%). Diferentes estudios de la actividad biológica de su aceite esencial, mostraron efectos antimicrobianos, antifúngicos, espasmolíticos, antinociceptivos y antioxidantes (Zavala-Mendoza et al., 2016). La actividad antioxidante de *Chrysactinia mexicana* fue analizada por Salazar-Aranda y colaboradores en 2009, en extractos de las hojas, flores y raíz, mediante la técnica de DPPH, determinando una CE50 menor a 10 µg/mL (Salazar-Aranda R., et al., 2009)

A. Fundamentos del método de Folin-Ciocalteu

El ensayo Folin-Ciocalteu se basa en que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu, a pH básico, dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm. (García Martínez et al., 2009).

B. Fundamentos del método de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)

En su forma de radical libre, el DPPH absorbe a 515 nm y cuando sufre reducción por un antioxidante, esta absorción desaparece (Guija-Poma et al., 2015). La actividad antioxidante se expresa como porcentaje de inhibición lo cual corresponde a la cantidad de radical DPPH neutralizado por el extracto a una determinada concentración, de acuerdo a la siguiente ecuación (Muñoz Juárez M. A. et al., 2008).

$$\%inhibición = \frac{A-A1}{A} * 100 \quad (1)$$

dónde: A= Absorbancia del blanco A1= Absorbancia de la muestra

III. METODOLOGÍA

A. *Obtención de la planta*

De forma previa se colectó *Chrysactinia mexicana* en una población silvestre en el municipio de Cadereyta Querétaro en un campo ubicado en las coordenadas N 21°07'37.7'' W 0099°38'10.3'' a una altitud de 2240 msnm la cual se colectó el día 18 de febrero del 2019.

B. *Extracción por hidrodestilación*

Se llevó a cabo la extracción de tres diferentes muestras siendo estos los aceites esenciales, los hidrolato y una infusión de la planta en un equipo de hidrodestilación del tipo Clevenger con 50 g del material vegetal, se introdujeron en un matraz bola de un litro, el cual contenía 500 ml de agua destilada. El tiempo de extracción fue de 4 horas. Posteriormente se separó el aceite esencial del hidrolato, se filtró el residuo de la planta contenida en el matraz bola, se recolectó la infusión en un envase de vidrio ámbar y se refrigeró a 6°C. Este proceso se realizó por triplicado.

C. *Extracción etanólica*

En un frasco ámbar de un litro se disolvieron 400 ml de etanol de grado analítico (90%) con 200 ml de agua destilada y posteriormente se le adicionaron 60 g de hojas secas de *Chrysactinia mexicana*. A continuación, se dejó reposar en la obscuridad durante 15 días a temperatura ambiente con agitación constante. Después se filtró y se recolectaron 500 ml de disolución y posteriormente se sometió a calentamiento el cual se llevó a cabo con agua, simulando un baño maría y con el auxilio de un termómetro para medir la temperatura y evitar que llegue al punto de ebullición del etanol (78,37 °C). Este proceso tuvo una duración de 3 horas. El extracto final se conservó en un frasco ámbar y se refrigeró a una temperatura de 6°C.

D. *Determinación de la concentración fenólica*

Para determinar el contenido de fenoles totales se realizó una curva de calibración con concentraciones de 0, 50, 100, 150, 200, 250 y 300 µL /ml preparadas a partir de una disolución stock de ácido gálico en donde se disolvieron 0.017 gr de ácido gálico en 10 ml de agua destilada. Posteriormente, se hicieron disoluciones del extracto y las infusiones a 5 diferentes concentraciones siendo estas presentadas en la **Tabla 1**. En una microplaca de 96 pozos se colocaron 20 µL de la concentración a ensayar, cada una de estas por triplicado, para después adicionarle 150 µL de agua destilada y 50 µL del reactivo *Folin-Ciocalteu* (1 N). La mezcla se homogeneizó y se pre-incubó por ocho minutos. A continuación, se adicionaron 50 µL de una disolución de carbonato de sodio al 10%, para luego homogeneizar la mezcla e incubarla durante dos horas a temperatura ambiente, protegida de la luz. Finalmente, se procedió a medir la absorbancia de la muestra a 765 nm en un espectrofotómetro UVVisible (Shimadzu, UV-1700 PharmaSpec, Japón).

Tabla 1. Concentraciones utilizadas del extracto y las infusiones en la prueba de Folin-Ciocalteu.

Concentración	Extracto	Agua destilada
1	100 μ L	900 μ L
2	75 μ L	925 μ L
3	50 μ L	950 μ L
4	25 μ L	975 μ L
5	10 μ L	990 μ L

E) Determinación de la capacidad antioxidante

Para la determinación de la actividad antioxidante se tomaron 20 μ L de las 3 muestras del aceite esencial de *Chrysactinia mexicana* a 3 concentraciones diferentes (1:100, 1:50, 1:20) por triplicado y se colocaron en una microplaca de 96 pozos, se le adicionó a cada uno 200 μ L de la disolución de DPPH. Se dejó reposar durante 30 minutos a temperatura ambiente protegidas de la luz y posteriormente se midió la absorbancia a 520 nm en un espectrofotómetro UVVisible (Shimadzu, UV-1700 PharmaSpec, Japón)

IV. RESULTADOS

A. Extracción por hidrodestilación

Se extrajeron tres diferentes muestras de extracción en triplicado como se muestra en la **Tabla 2**. La hidrodestilación demostró ser una excelente forma de extracción ya que se obtienen tres diferentes tipos de formas farmacéuticas con compuestos activos y además el tiempo de la extracción es relativamente corto (4 horas). El promedio del porcentaje de rendimiento del aceite en 50 g de planta seca de *Chrysactinia mexicana* fue de 2.006% mientras que del hidrolato fue de 17.68%.

Tabla 2. Pesos en g de los tres diferentes extractos obtenidos en tres diferentes repeticiones.

Repeticiones (50 g materia vegetal / 500 ml de agua)	Aceite esencial	Hidrolato	Infusión
1	0.8342 g	8.3 g	489.85 g
2	0.9536 g	10.06 g	515.03 g
3	1.2301 g	8.16 g	493.92 g

B. Extracción etanólica

El extracto final que se obtuvo fue de 250 ml por lo tanto la extracción por arreste etanolica no resulta tan eficiente ya que esta lleva un largo proceso en el que requiere de mucho tiempo (15 días). Sin embargo, su porcentaje de rendimiento en 60 g de planta seca de *Chrysactinia mexicana* es de 37.87% lo cual representa un valor muy alto a comparación de los rendimientos obtenidos por hidrodestilación.

C. Determinación de la concentración fenólica

El porcentaje de variación de la recta patrón de ácido gálico fue de 97.7% indicando confiabilidad. La concentración fenólica fue más alta en los extractos que se obtuvieron mediante la hidrodestilación y menor en los extractos obtenidos por arrastre etanólica. Es necesario además notar que el factor de dilución en las infusiones fue de 1:100 mientras que en el extracto etanólico hubo diluciones 1:20 y 1:40 y aun así la concentración fenólica siempre fue mayor en las infusiones obtenidas por hidrodestilación. En promedio en una masa de 0.0032 g de hojas secas de *Chrysactinia mexicana* se obtiene una concentración fenólica de 0.019 Molar.

Tabla 3. Resultados de la absorción y análisis de la concentración fenólica obtenida en la prueba de Folin-Ciocalteu del extracto de *Chrysactinia mexicana*. **X λ** = Promedio de la abs **[XR]** **μ M**= Promedio de la concentración real en μ M **[XR] M**= Promedio de la concentración real en molaridad.

	F. d	X λ	[XR] μ M	[XR] M	g de planta contenidos
Infusión 1	1:100	0.295	23170	0.0232	0.0039
Infusión 2	1:100	0.130	6736.67	0.0067	0.0011
Infusión 3	1:100	0.336	27203.2	0.0272	0.0046
Extracto	1:20	0.219	3114	0.0031	0.0005
Extracto	1:40	0.134	2841.33	0.0028	0.0005
Extracto	1:100	0.092	1746.67	0.0017	0.0003

D. Determinación de la capacidad antioxidante

El porcentaje de inhibición en el aceite esencial de *Chrysactinia mexicana* varía dependiendo de su concentración siendo mayor en las diluciones 1:20 teniendo valores entre 84.924-80.430 y menores en diluciones 1:100 con valores entre 38.425-28.878 y por lo tanto podemos deducir que mientras mayor concentración del extracto haya en la dilución, mayor capacidad antioxidante tendrá.

Tabla 4. Porcentaje de inhibición de la capacidad antioxidante encontrada en las tres diferentes extracciones de aceite esencial de *Chrysactinia mexicana*. **F.d**= Factor de dilución **X λ** = Promedio de la absorbancia, **%I**= Porcentaje de inhibición, **σ** = Desviación estándar.

	F. d	X λ	%I	σ
Muestra 1	1:20	0.126	84.924	2.149076
Muestra 1	1:50	0.303	63.842	6.24984
Muestra 1	1:100	0.516	38.425	4.646282
Muestra 2	1:20	0.164	80.430	1.909308
Muestra 2	1:50	0.416	50.398	3.430312
Muestra 2	1:100	0.558	33.413	3.83536
Muestra 3	1:20	0.146	82.617	1.55742
Muestra 3	1:50	0.259	69.053	11.32101
Muestra 3	1:100	0.596	28.878	0.206689

V. DISCUSIÓN

Chrysactinia mexicana es una planta con grandes beneficios que además es fácil de cultivar. La extracción de sus compuestos activos es más favorable mediante hidrodestilación ya que se obtienen tres diferentes extractos en menor tiempo y con mejores porcentajes de rendimiento de la obtención en masa del extracto y en su concentración fenólica. En cuanto a la capacidad antioxidante del aceite esencial se descubrió que a mayor concentración mayor capacidad antioxidante sin embargo la capacidad antioxidante no se le puede atribuir por completo a la presencia de ácidos fenólicos, flavonoides y otro tipo de polifenoles, ya que el DPPH no reacciona con los flavonoides carentes de grupos hidroxilo en el anillo, ni con ácidos aromáticos que contengan un solo grupo hidroxilo. Creemos que es necesario realizar diferentes tipos de pruebas posteriores para una mejor investigación.

VI. CONCLUSIÓN

- 1- Se extrajeron los metabolitos secundarios de *Chrysactinia mexicana* utilizando métodos amigables con el medio ambiente siendo estos la extracción etanólica y la hidrodestilación donde se obtuvieron tres diferentes tipos de muestras (aceite esencial, hidrolato e infusiones).
- 2- Se determinó la concentración de fenoles totales contenidos en las infusiones y los extractos de *Chrysactinia mexicana* encontrando mayor concentración fenólica en las muestras obtenidas por hidrodestilación en donde el promedio fue una concentración fenólica de 0.019 Molar en una masa de 0.0032 g de hojas secas de *Chrysactinia mexicana*.
- 3- Se determinó la capacidad antioxidante de los aceites esenciales de *Chrysactinia mexicana* encontrando que mientras mayor concentración del extracto haya en la dilución, mayor capacidad antioxidante tendrá.

VII. RECONOCIMIENTOS

Agradecemos al 21° verano de la ciencia región centro y colaboradores por organizar y proporcionar las herramientas necesarias para que se haya logrado el intercambio entre universidades. Se agradece a la Universidad autónoma de Querétaro y a la Facultad de Ciencias Naturales especialmente a la Dra. Fabiola Magallan por otorgarme la oportunidad de colaborar en un trabajo de investigación. También agradecemos al Tecnológico de Monterrey por darnos la oportunidad de trabajar dentro de las instalaciones para el uso del equipo necesario durante esta investigación especialmente a la Dra. Ana Cardador.

REFERENCIAS

- Cárdenas-Ortega, N., M. Zavala-Sánchez, R. Aguirre-Rivera, C. Pérez-González, S. Pérez-Gutiérrez. 2005. Chemical composition and antifungal activity of essential oil of *Chrysactinia mexicana* Gray. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 4347-4349.
- Carcía Martínez, Fernández Segovia I., Fuentes López A. "Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu". Universidad politécnica de Valencia. Departamento de tecnología de alimentos. 2009

- Guerra-Boone, L., R. Álvarez-Romána, R. Salazar-Arandaa, A. Torres-Cirioa, V. Rivas-Galindoa, N. Waksman, G. González y L. Pérez-López. 2013. Chemical Compositions and Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Essential Oils from *Magnolia grandiflora*, *Chrysactinia mexicana*, and *Schinus molle* Found in Northeast Mexico. *Natural Product Communications* 8 (1): 135-138.
- Guija-Poma E., Inocente-Camones M.A., Ponce-Pardo J. Zarsosa-Norabuena E. "Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante" Vol. 15 (1): 57-60 *Horiz Med* 2015
- Muñoz Juárez M. A., Gutiérrez D. M. "Determinación de actividad antioxidante de diversas partes del árbol" *Nicotiana Glauca*, Memorias del Verano de la Ciencias de la región Centro Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro. Junio-agosto 2008.
- R. Palomino., G. García P., A. Rojano., L. Durango "Determination of phenolic content and evaluation of antioxidant activity of propolis from antioquia". *Vitae*, Revista de la facultad de química farmacéutica ISSN 0121-4004, ISSNe 2145-2660. Volumen 16 número 3, año 2009. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. págs. 388-395
- Salazar-Aranda R., Pérez-López L.A., López-Arroyo J., Alanís-Garza B., Waksman N. Antimicrobial and antioxidant activities of plants from Northeast Mexico. *Evidence-based complementary and alternative medicine*. 2011: 1-6 (2009).
- Villaseñor, J. 2016. Checklist of the native vascular plants of México. Universidad Nacional Autónoma de México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*; vol. 87, núm. 3, pp. 559-902. Distrito Federal, México.
- Zavala-Mendoza, D., L. Grasa, M. Zavala-Sánchez, S. Pérez-Gutiérrez, M. Murillo, M., 2016. Antispasmodic effects and action mechanism of essential oil of *Chrysactinia mexicana* A. gray on rabbit ileum. *Molecules* 21: 783.

Determinaciones bioquímicos-clínicos en animales en cautiverio

Lorena García Díaz

Instituto Tecnológico Superior de Irapuato
Carr. Irapuato-Silao Km. 12.5
C.P. 36821, Irapuato, Gto.
lorena_grey@outlook.com

Asesor: Francisco Alejo Irtuvide

Instituto Tecnológico Superior de Irapuato
Carr. Irapuato-Silao Km. 12.5
C.P. 36821, Irapuato, Gto.
fralejo@itesi.edu.mx

Resumen — En este proyecto se trabajó con muestras biológicas sanguíneas de animales elegidos aleatoriamente para así realizar mediciones bioquímico-clínicas que se obtuvieron mediante la técnica de espectrofotometría UV-Vis, para la cual se utilizaron kits bioquímicos de la marca Spinreact los cuales miden las concentraciones de las muestras en función de la longitud de onda con relación a la radiación que emite el espectrofotómetro con la concentración química a la que se sometió la muestra. Las cantidades de reactivo y muestras se redujeron proporcionalmente para optimizar el tiempo y el uso de los kits Spinreact y así poder obtener mediciones bioquímicas- clínicas confiables en animales en cautiverio, los cuales se clasificaron en animales sanos y animales con deficiencia y/o enfermedades.

Palabras clave — Espectrofotometría, Concentración, Mediciones.

Abstract — This project was focused on blood biological samples of animals randomly chosen to perform biochemical-clinical measurements that were obtained using the UV-Vis spectrophotometry technique. Spinreact brand biochemical kits were used to measure the concentrations of the samples depending on the wavelength in relation to the radiation emitted by the spectrophotometer with the chemical concentration to which the sample was subjected. The quantities of reagent and samples were reduced proportionally to optimize the time and use of Spinreact kits and thus be able to obtain reliable biochemical-clinical measurements in captive animals, which were classified in healthy or deficiency and / or disease animals.

Keywords — Spectrophotometry, Concentration, Measurements.

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad existen lugares donde se mantienen en cautiverio a los animales los cuales se han encargado de su bienestar, por ello es importante el estudio de todos los parámetros clínicos que conlleva el cuidado de los especímenes. Las pruebas de laboratorio permiten usualmente confirmar o descartar el diagnóstico presuntivo [1].

El Laboratorio Clínico es un lugar en el cual se tiene como objetivo brindar un apoyo primordial al área médica, ya que cuenta con una gran diversidad de procedimientos de los cuales se obtiene una documentación del estado de salud. Por lo cual lo hace una herramienta indispensable para la toma de decisiones respecto a procedimientos médicos [2].

En la actualidad hay numerosos parámetros bioquímicos que pueden ser determinados los cuales reflejan el cuadro clínico de uno o varios sistemas orgánicos, existirán variaciones según el momento evolutivo de la enfermedad y muchas veces coexistirán simultáneamente dos o más afecciones. Algunas pruebas de laboratorio útiles para patologías humanas no resultarían confiables al aplicarlas en animales [3].

II. MARCO TEÓRICO

El Laboratorio Clínico es un lugar en el cual se tiene como objetivo brindar un apoyo primordial al área médica, ya que cuenta con una gran diversidad de procedimientos de los cuales se obtiene una documentación del estado de salud, por lo cual lo hace una herramienta indispensable para la toma de decisiones respecto a procedimientos médicos [2].

En los Laboratorios Clínicos se pueden abarcar distintas áreas de estudios, sin embargo, las más básicas y clásicas son: Hematología, Química Sanguínea, Microbiología, Inmunología y Parasitología.

A. Química Sanguínea

El perfil químico tiene como objetivo analizar cierto tipo de sustancias que están presentes en la sangre, así como dar información sobre el estado de los diferentes órganos [4]. Ayuda a evaluar el estado clínico del organismo sobre el funcionamiento de los riñones, hígado, glándulas adrenales, páncreas y algunas presencias de tipos de tumores.

El perfil hepático entra como un estudio de la química sanguínea el cual tiene como objetivo la medición de las enzimas, así como también incluye a la albúmina que es la principal proteína sanguínea que es sintetizada por el hígado; además de la actividad enzimática y proteica del hígado se miden estrechamente elementos que esta de alguna forma relacionados con la actividad hepática para así poder detectar un daño o el causante del mismo [5].

El suero es el indicado para este tipo de determinaciones, se obtiene a partir de una muestra sanguínea sin anticoagulante.

La calidad y utilidad de los análisis de Laboratorio dependen de la manera en la que se manejen las muestras, para esto es necesario seguir las indicaciones, ya que un mal manejo o descuido puede hacer que la muestra se deteriore o simplemente se pierda [2]. El principal objetivo del transporte de muestras (Material Biológico) es mantenerlo con un deterioro mínimo o nulo [6].

III. METODOLOGÍA

El estudio se divide en 2 fases: Pre-analítica y Analítica, para poder abarcar todas las dimensiones que conlleva el análisis en animales mantenidos en cautiverio.

- a) En la fase pre-analítica se eligen los animales aleatoriamente de los cuales se obtienen muestras sanguíneas las cuales se les da una identificación que consiste en la clasificación de análisis químico- clínico al que se le va a someter y un transporte adecuado de la muestra, se recomienda empacar las muestras que son refrigeradas, las muestras que no son refrigeradas es conveniente que lleguen al laboratorio en menos de 4 horas y se transportan en un lugar fresco y protegido de los rayos directos de la luz.
- b) La fase analítica utiliza 2 tipos de muestra: el plasma se obtiene por centrifugación la cual se realiza únicamente si la muestra esta conservada con anticoagulante, se somete a

3000 rpm de 10 a 15 minutos. El suero se obtiene siempre y cuando la muestra no contenga anticoagulante, ya que se deja coagular hasta obtener una retracción del coagulo lo cual toma de 30 minutos a 1 hora. Los análisis bioquímicos- clínicos se realizan en base a la absorbancia utilizando un espectrofotómetro para la preparación de las muestras se basa en los lineamientos y metodología perteneciente a los kits de reactivos Spinreact.

Lineamientos y metodología reducida proporcionalmente de los kits Spinreact mostrado en la Tabla 1.

Tabla 1. Los lineamientos presentados en los Kits Spinreact fueron ajustados a 1/3 del volumen indicado en las instrucciones para optimizar uso de reactivos.

Analito	Unidad	Temperatura	Longitud	Volumen Muestra	Volumen Patrón	Volumen Reactivo
Acido úrico	mg/dl	37°C/ 15-25°C	520 nm	8.33 uL	8.33 uL	0.333 ml
LDH	U/l	37°C /30°C /25° C	340 nm	33.33 uL	—	1 ml
Creatinina	mg/dl	37°C/ 15-25°C	492 nm	33.33 uL	33.33 uL	0.333 ml
Colesterol	mg/dl	37°C/ 15-25°C	505 nm	3.33 uL	3.33 uL	0.333 ml
Triglicéridos	mg/dl	37°C/ 15-25°C	505 nm	3.33 uL	3.33 uL	0.333 ml
Glucosa	mg/dl	37°C/ 15-25°C	505 nm	3.33 uL	3.33 uL	0.333 ml
Albumina	mg/dl	15-25°C	630 nm	1.6 uL	1.6 uL	0.333 ml
Magnesio	mg/dl	37°C/ 15-25°C	546 nm	3.33 uL	3.33 uL	0.333 ml
Fosforo	mg/dl	37°C /30°C /25° C	340 nm	3.33 uL	3.33 uL	0.333 ml
Bilirrubina Total	mg/dl	15-25°C	555 nm	33.33 uL	16.66 uL	0.5 ml
Bilirrubina Directa	mg/dl	15-25°C	555 nm	33.33 uL	16.66 uL	0.5 ml
Hierro	ug/dL	37°C/ 15-25°C	562 nm	66.66 uL	66.66 uL	0.333 ml
Urea	mg/dl	37°C/ 15-25°C	340 nm	3.33 uL	3.33 uL	0.333 ml
Calcio	mg/dl	37°C/ 15-25°C	570nm	6.66 uL	6.66 uL	0.666 ml

IV. RESULTADOS

Se realiza una relación entre los resultados obtenidos de los análisis bioquímicos- clínicos y valores de referencia, los cuales nos muestra que se presentaron anomalías en varios de los analitos (Tabla 2). Se realizaron 11 determinaciones de las cuales se utilizaron 30 muestras de animales diferentes.

Tabla 2. Determinaciones obtenidas de los 11 analitos y 30 muestras analizadas. Donde A.U. (Ácido úrico), Crt (Creatinina), Col (Colesterol), Tri (Triglicéridos), Gl (Glucosa), Alb (Albumina), Mg (Magnesio), P (Fosforo), BD (Bilirrubina Directa), BT (Bilirrubina Total), Ca (Calcio), y las celdillas de color más oscuro representan los animales que se ubican dentro de los valores de referencia indicando que son animales sanos.

Muestra	A. U. mg/dl	Crt mg/dl	Col mg/dl	Tri mg/dl	Gl mg/dl	Alb mg/dl	Mg mg/dl	P mg/dl	BD mg/dl	BT mg/dl	Ca mg/dl
V.R	0.5-2	0.6-1.4	135-260	19-133	69-120	2.3-3.8	1.4-2.8	4.8-9.0	0.09-0.4	0.2-0.4	7.5-11
1	3.2	0.26	148.78	233.9	90.18	2.88	2.98	3.56	0.34	2.98	13.45
2	1.2	0.37	155.1	253.45	197.77	3.05	1.96	4.72	0.56	1.96	11.9
3	1.44	-0.1395	157.14	246.08	107.77	4.1	0.56	2.18	0.87	0.56	15.01
4	4.55	1.11	159.18	278.34	72.22	2.11	0.68	4.024	0.45	0.68	12.87
5	1.2	-0.22	163.26	293.08	96.66	3.37	1.9	4.36	0.78	1.9	12.98
6	4.04	-0.18	144.89	201.84	48.88	0.101	2.14	4.9	0.658	2.14	13.67
7	3.96	0.14	162.89	290.09	78.77	2.56	2.09	3.98	0.89	2.09	13.11
8	4.33	-9.33	167.13	133.85	87.62	4.56	2.39	4.53	0.924	1.604	6.19
9	7.4	-13.4	176.67	157.97	81.43	4.64	2.3	4.39	0.07	0.4584	1.83
10	11.32	-9.33	187.63	170.42	106.18	4.67	2.24	4.59	3.164	0.1337	2.02
11	15.02	-20	189.39	200.77	100.39	5.03	3.85	4.22	1.064	0.1146	3.87
12	7.56	-11.33	175.97	168.87	106.78	4.66	4.46	4.63	0.77	1.719	3.23
13	10.48	-16	183.39	150.97	97.8	4.62	2.003	4.23	0.588	0.9168	2.96
14	11.22	-8.54	142.76	183.89	112.14	4.8	2.56	4.02	0.004	0.129	3.5
15	3.52	-5.49	104.96	135.38	280.8	4.3	1.88	3.82	0.602	0.2292	8.25
16	26.75	2.99	139.52	172.3	76.78	3.38	1.68	4.7	0.658	0.191	8.35
17	116.22	1.4	153.92	176.61	243.75	4.24	1.82	4.41	0.588	0.191	5.5
18	84.3	10.49	179.52	200	207.58	4.32	2.05	0.58	0.21	0.4011	6.34
19	63.41	-13.39	82.24	121.23	212.05	3.73	2.5	7.94	0.546	1.8336	10.15
20	59.86	15.09	187.2	144	160.71	4.19	2.21	6.47	0.294	1.146	10.79
21	6.09	1.28	228.91	160	153.78	3.06	2.31	4.41	0.098	0.8213	13.43
22	1.05	2.44	176.5	122.85	56.17	2.98	2.27	7.34	0.056	0.2101	12.51
23	7.62	2.66	295.18	137.85	147.8	3.71	2.19	7.27	0.098	0.2101	14.01
24	10.5	2.44	236.14	142.14	244.22	2.56	2.2	12.94	0.056	0.4475	15
25	2.64	2.46	237.34	238.57	53.38	3.16	2.75	8.65	0.098	0.0191	15.26
26	4.56	2.22	195.78	142.14	157.37	2.18	2.44	2.45	0.126	0.4393	14.37
27	2.76	2.44	104.81	131.42	115.93	2.95	2.68	9.12	0.056	0.1528	13.13
28	4.95	2.66	268.07	147.14	169.32	3.73	2.57	12.14	0.14	0.1719	18.13
29	6.36	2.67	167.46	165	150.19	2.95	2.62	12.57	0.042	0.1337	15.13
30	5.01	2	239.15	151.42	147.8	2.85	2.64	12.99	0.182	0.2101	19.7

V. CONCLUSIONES

En este proyecto se implementaron determinaciones bioquímicas- clínicas en animales en cautiverio, al momento de realizar las determinaciones se redujo proporcionalmente la cantidad de reactivo y muestra para así hacer el análisis más eficiente y obtener una menor cantidad de residuo, se obtuvieron valores como Triglicéridos, Creatinina, Calcio, Acido úrico, Bilirrubinas D&T y Fosforo que fueron las determinaciones con más animalias de acuerdo a los valores de referencia que se tiene; así como Colesterol, Glucosa, Albumina y Magnesio que fueron las determinaciones que entran en el rango de referencia e indica que esos animales se les considera como sanos.

Con la finalidad de evaluar la causa de las variaciones y revisando la literatura, se encuentra que dichas diferencias pudieron originarse fisiológicamente de los organismos o bien por la reducción de los kits Spinreact por lo que se sugiere seguir con la optimización del procedimiento para normalizar los resultados.

VI. RECONOCIMIENTOS

Expreso mi agradecimiento al Instituto Tecnológico de Irapuato por permitir la estancia y el poder realizar el proyecto en sus instalaciones y al Dr. Francisco Alejo Irtuvide y la Dra. María Azucena Márquez Lucio por las facilidades y el apoyo otorgado para la realización de la estancia de verano.

REFERENCIAS

- [1] C. Sodikoff, Pruebas Diagnosticas y de Laboratorio en Pequeños Animales, Estados Unidos: Mosbyc Inc., 2001.
- [2] C. A. G. Lamping, Manual de Diagnostico con énfasis en el Laboratorio Clínico Veterinario, Managua, Nicaragua: Carrera de Medicina Veterinaria- Facultad de Ciencia Animal- Universidad Nacional Agraria, 2014.
- [3] A. Marquez Ceballos, Generalidades sobre Hematología, Colombia: Universidad de Caldas, 2004.
- [4] J. Rodríguez Ruiz, «Aproximación al Análisis de Bioquímica Sanguínea y Uroanálisis en Animales Silvestres,» 2013.
- [5] L. A. Delgado Moreira, *Determinación del perfil hepático de perros geriátricos mediante pruebas específicas de Laboratorio*, Guayaquil, Ecuador : Universidad de Guayaquil, 2012.
- [6] J. Velasco Velasco, M. d. C. Araque, E. Araujo, A. Longa, B. Nieves, A. C. Ramirez y E. Kiralba Sanchez , *Maneal práctico de bacteriología clínica*, Venezuela: Editorial Venezuela C.A., 2008.

Distribución e identificación de líquenes en la unidad deportiva El Copal, en Irapuato, Gto.

Laihsa Valeria Rodríguez González

Universidad Autónoma de Coahuila.
Ing.J. Cárdenas Valdez S/N, República,
25280 Saltillo, Coah

laihsa.rodriquez@uadec.edu.mx

Asesora: Varinia López Ramírez

Tecnológico Nacional de México
Instituto Tecnológico Superior de Irapuato
Silao-Irapuato km 12.5 El Copal,
36821 Irapuato, Gto.

valopez@itesi.edu.mx

Resumen — Los líquenes son formas de vida simbiótica estables formadas por organismos de 2 o 3 diferentes grupos biológicos. Están constituidos por un hongo (micobionte), 1 o 2 autótrofos algas o cianobacterias (fotobionte) y una levadura. Por su morfología los líquenes se pueden clasificar en crustosos, foliosos y fruticosos. La importancia del estudio y distribución de los líquenes radica en que estos ecosistemas en miniatura tienen un importante papel como bioindicadores de lectura inmediata de la contaminación ambiental. En este trabajo, nos propusimos determinar la diversidad de líquenes en la unidad deportiva "El Copal" ubicada al norte del municipio de Irapuato, con el fin de determinar la diversidad de líquenes en dicha área. A partir del muestreo de especies de líquenes, se llevó a cabo un análisis morfológico y respuesta química con KOH (10% w/v), NaClO comercial y sus combinaciones, HNO₃ (50% v/v) y lugol. En este muestreo encontramos únicamente especies de líquenes foliosos, dentro de los que destacan los géneros *Phaeophyscia*, *Parmelia*, *Hypogymnia* y *Lepraria*. adicionalmente se llevó a cabo la reactivación e identificación de hongos asociados a líquenes, de los cuales se obtuvieron 14 géneros entre los que destacan *Botrytis*, *Aspergillus* y *Fusarium*. El conocimiento de los hongos que se asocian a líquenes ayudará a comprender si existe o no una selectividad de este grupo de organismos por parte de los líquenes.

Palabras clave — Especies liquénicas, simbiosis, biomonitores, hongos asociados a líquenes, micobionte.

Abstract — Lichens are stable symbiotic life forms formed by organisms of 2 or 3 different biological groups. They consist of a fungus (mycobiont), 1 or 2 autotrophic algae or cyanobacteria (photobiont) and a yeast. Due to its morphology, lichens can be classified as crustose, foliose and fruticose. The importance of the study and distribution of lichens is that these miniature ecosystems have an important role as bioindicators of immediate reading of environmental pollution. In this work, we set out to determine the diversity of lichens in the sports unit "El Copal" located at north of Irapuato city, to determine the diversity of lichens in that area. We sampled lichen species and evaluated their morphological features and their chemical reactivity through dot test with KOH (10% w/v), commercial NaClO and its combinations, HNO₃ (50% v/v) and lugol, in this sampling we found only foliate lichen species, the genera found were *Phaeophyscia*, *Parmelia*, *Hypogymnia* and *Lepraria*. In addition, the reactivation and identification of fungi associated to lichens was carried out, we identified 14 genera among which *Botrytis*, *Aspergillus* and *Fusarium* were distinctive. The knowledge of fungi that could be associated to lichens, will let us understand if there is a selectivity to this group by lichens species.

Keywords — Lichen species, Symbiosis, fungi associated with lichens, biomonitors, mycobiont.

I. INTRODUCCIÓN

Los líquenes son organismos formados por la asociación simbiótica de un hongo con un organismo fotosintético, ya sea un alga, una cianobacteria o ambas, en esta asociación el hongo recibe el nombre de *micobionte* y el componente fotosintético de *fotobionte* [1], de esta interacción se origina un talo estable con estructura y fisiología específica diferente a los hongos o algas por separado [2]. El hongo es el encargado del

soporte del líquen formando un cuerpo vegetativo constituido por su mayoría en hifas y esto protege al fotobionte. El alga a su vez realiza fotosíntesis y suministra al micobionte azúcares simples y vitaminas [3].

Los líquenes se han considerado como ecosistemas en miniatura con un productor primario (el fotobionte), un consumidor primario (micobionte) y, en algunos casos, con descomponedores, como cuando un líquen es parasitado por otro hongo [4].

Los líquenes son capaces de desarrollarse sobre todo tipo de sustratos inertes u orgánicos como minerales, hojas, caparazones de animales entre otros, especialmente son abundantes en los medios más extremos como son los desiertos fríos y cálidos o las altas montañas, donde las plantas vasculares tienen dificultades para desarrollarse [5]. Por ello, son excelentes bioindicadores de las condiciones ambientales de su hábitat y constituyen una de las principales fuentes de innovaciones simbioespecíficas [4].

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección de la muestra: Las muestras de líquenes fueron colectadas en la unidad deportiva “El Copal” en la ciudad de Irapuato, Guanajuato. Las muestras se removieron de su sustrato, seleccionando el líquen, con el mayor tamaño, ubicado en la parte media del árbol, tomando aproximadamente la cuarta parte del total del líquen. Las muestras colectadas se depositaron en sobres de papel manila, etiquetándose con las iniciales de la persona quien los colectó y enumerándolos por orden de muestreo, para cada muestra se registraron las coordenadas correspondientes al sitio de colecta.

Identificación química de especies: Después de su colecta, las muestras fueron llevadas al laboratorio para su observación y descripción de sus características morfológicas observadas al estereoscopio (20X), así como la evaluación de su respuesta frente a diferentes sustancias químicas. Para la realización de las pruebas químicas se tomó un trozo de la muestra y se colocó en una placa de porcelana horadada y se evaluó su reacción con hipoclorito de sodio comercial (NaClO; C), hidróxido de potasio al 10% w/v (KOH; K) y sus combinaciones (CK, KC), lugol y ácido nítrico al 50% v/v.

Reactivación de hongos: Se llevó a cabo la reactivación de asilados fúngicos asociados a líquenes, pertenecientes al cepario del Laboratorio de Diversidad e Interacción Microbiana del Instituto Tecnológico Superior de Irapuato. Las cepas se reactivaron en agar de papa y dextrosa (PDA), distribuyendo una asada por toda la caja Petri con posterior, incubación a temperatura ambiente por 72 horas.

III. RESULTADOS

Se recolectaron un total de 13 muestras de líquenes foliosos en la Unidad Deportiva “El Copal” en Irapuato, Guanajuato (Figuras 1 y 2).



Figura 1. Especies de líquenes colectados en la Unidad deportiva “El Copal” en Irapuato, Guanajuato. A. Muestra de *Parmelia saxatilis*; B. Muestra de *Flavoparmelia* sp.



Figura 2. Mapa de distribución de los sitios de colecta de líquenes en la Unidad deportiva “El Copal” en Irapuato, Guanajuato.

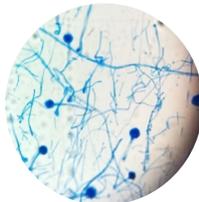
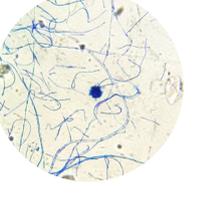
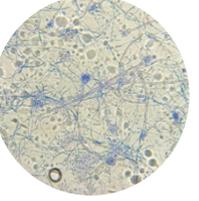
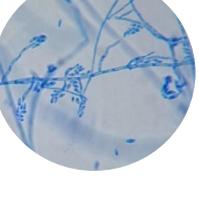
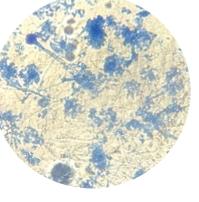
Para la identificación de las especies colectadas, se analizaron las características morfológicas de las muestras, así como la presencia y ubicación de las estructuras reproductivas a lo largo de los talos liquénicos, además de evaluar su reactividad químicas. Los géneros identificados se muestran en la Tabla 1, así como el número de muestras obtenidas de cada género y el resultado de las pruebas químicas, otorgando un panorama de la diversidad liquénica presente en la unidad deportiva “El Copal” en Irapuato, Guanajuato, ya que se encontraron especies de diversas morfologías, y esto nos ayuda a medir la contaminación ambiental, ya que los líquenes actúan como bioindicadores de lectura inmediata de la contaminación, de los cambios climáticos y de la estabilización del suelo [6].

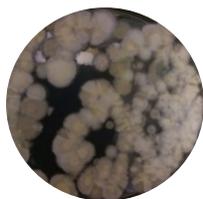
Tabla 1. Género de muestras liquénicas y resultado de pruebas químicas (C: Cloro, K: Potasio, C/K: mezcla de cloro y potasio, K/C: mezcla de potasio y cloro, L: Lugol, N: Acido nítrico)

Especie	Número de muestras obtenidas	Pruebas químicas					
		C	K	C/K	K/C	L	N
<i>Phaeophyscia orbicularis</i>	3	-	-	-	+	-	-
<i>Parmelia saxatilis</i>	1	-	+	+	-	-	+
<i>Flavoparmelia sp.</i>	1	-	-	-	+	-	-
<i>Punctelia redelena</i>	1	+	+	-	+	+	+
<i>Pleurosticta acetabulum</i>	2	-	+	+	+	-	+
<i>Hypogymnia tubulosa</i>	3	-	-	-	-	-	-
<i>Lepraria sp.</i>	1	+	+	+	+	-	-

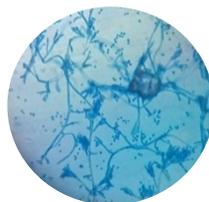
Adicionalmente, se realizó la caracterización macro y microscópica de aislados fúngicos (Tabla 2). Las cepas proporcionadas por el Laboratorio de Diversidad e Interacción Microbiana fueron previamente obtenidas en el proyecto de aislamiento de microorganismos asociados a la simbiosis líquénica en especies del estado de Guanajuato [7].

Tabla 2. Descripción morfológica de hongos asociados a líquenes

IMAGEN MACROSCÓPICA	DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA	IMAGEN MICROSCÓPICA	DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA
	Colonias de crecimiento moderado, blancas o grises, textura lanosa, color superficial blanco [8].		GÉNERO: <i>Botrytis</i> FAMILIA: <i>Moniliaceae</i> ORDEN: <i>Moniliales</i> CLASE: <i>Deuteromycetes</i> Los conidióforos se pueden encontrar agrupados o solos y los conidios son lisos y casi hialinos no septados de forma ovalada o globosa.
	Colonia con pliegues, de micelio blanco que cambia a amarillo. La producción de conidios da, por la presencia en la superficie del micelio de puntos negros similares a la pimienta. El reverso de la colonia queda de color gamuza o crema.		GÉNERO: <i>Aspergillus</i> ESPECIE: <i>niger</i> FAMILIA: <i>Moniliaceae</i> ORDEN: <i>Moniliales</i> CLASE: <i>Deuteromycete</i> Hifas tabicadas, Conidióforos largos y lisos, vesícula esférica, da origen a fiálides que producen conidios negros, que oscurecen la superficie de vesícula.
	Colonias de crecimiento rápido, algunas parecen estar sumergidas por debajo de la superficie del medio [8].		GÉNERO: <i>Ulocladium</i> FAMILIA: <i>moniliaceae</i> ORDEN: <i>Moniliales</i> CLASE: <i>Deuteromycete</i> Hifas septadas, los conidios se producen a un costado de la otra porción del conidióforo.
	Colonias de crecimiento rápido, inicialmente por un micelio plumoso muy desarrollado, al madurar producen un pigmento color lavanda a rojo en el micelio al reverso del agar, suele presentarse en forma de panal algodonosa o lanosa y granulosa.		GÉNERO: <i>Fusarium</i> ESPECIE: <i>oxysporum</i> FAMILIA: <i>Tuberculariaceae</i> ORDEN: <i>Moniliales</i> CLASE: <i>Deuteromycete</i> Micronidias unicelulares en pequeñas cabezuelas en las puntas de las fiálides cortas, formando algunos racimos, macroconidios, grandes e hifas hialinas septadas.
	Colonias de crecimiento moderado, blancas o grises, textura lanosa, color superficial blanco.		GÉNERO: <i>Fusarium</i> ESPECIE: <i>graminearum</i> FAMILIA: <i>Nectriaceae</i> ORDEN: <i>Hipocreales</i> CLASE: <i>Sordariomycetes</i> Micronidias unicelulares en puntas de las fiálides cortas, formando algunos macroconidios grandes e hifas hialinas septadas.



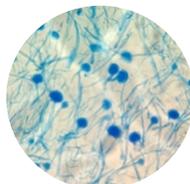
Colonias de color verdoso intenso a negro, lisas, cariáceas y rugosas, o bien variantes aterciopeladas, cubiertas por un micelio bajo y veloso.



GÉNERO: *Cladosporium*
CLASE: *Deuteromycete*
FAMILIA: *Dematiaceae*
ORDEN: *Moniliales*
SUBDIVISIÓN: *Deuteromycotina*
 Hifas septadas, conidióforos libremente ramificados de aspecto de pincel, extremos parten largas cadenas de conidios [8].



Colonias de crecimiento rápido, de textura membranosa, húmedas a algodonosas de color blanco o crema [8].



GÉNERO: *Geotrichum*
FAMILIA: *Endomycetaceae*
ORDEN: *Saccharomycetales*
CLASE: *Ascomycotina*
 No poseen conidióforos, sino que el micelio septado se fracciona en arthroconidias unicelulares, hialinas de diferente longitud y grosor.

IV. CONCLUSIONES

Los líquenes foliosos presentes en la unidad deportiva “El Copal” en Irapuato, Guanajuato se localizaron asociados a los árboles presentes en el área, no encontramos líquenes de otros tipos de morfologías, surgiendo que las características de la zona son restrictivas para el desarrollo de otras especies. Con la ayuda de la guía dicotómica de OPAL Air Centre, imperial Collage London and British Lichen Society se pudieron identificar 7 géneros diferentes entre los que podemos encontrar *Phaeophyscia*, *Parmelia*, *Flavoparmelia*, *Punctelia*, *Pleurosticta*, *Hypogymnia* y *Lepraria*, mostrando que los líquenes foliosos son predominantes en la zona y estos ejemplares presentan diferentes características morfológicas, fisiológicas y destacan por el potencial biológico de sus metabolitos.

A partir del crecimiento, observación e identificación de hongos asociados a líquenes proporcionados por el cepario del Laboratorio de Diversidad e Interacción Microbiana mediante el uso de Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi, se analizaron 26 cepas distribuidos en 14 géneros diferentes entre los que destacan, *Botrytis sp.*, *Aspergillus sp.*, *Fusarium sp.*, entre otros, resaltando la importancia y la necesidad de conocer la diversidad microbiana asociada a las distintas especies liquénicas. Algunos de los géneros identificados en este trabajo se han descrito previamente como epifitos de plantas.

REFERENCIAS

- [1] B. Coutiño and A. L. Montañez, “Los líquenes,” *Lab. Etnobotánica, Depto. Biol. Fac. Ciencias, Univ. Nac. Autónoma México.*, pp. 64–65, 2000.
- [2] D. I. Vaillant-flores, “Los líquenes, una alternativa para el control de fitopatógenos,” *Fitosanidad*, vol. 18, 2014.
- [3] D. L. . I. T. C. A. Hawkswort, “Liquenes como bioindicadores inmediatos de contaminación y cambios medio-ambientales en los tropicos.,” *Rev. Iberoamericana Micol.*, vol. 22, pp. 71–82, 2005.
- [4] M. Herrera-Campos, R. Lücking, R.E. Pérez, R .M. González, N. Sánchez, A. Barceras, A. Carrizosa, A. Zambrano B. D. Ryan and T. Nash., “Biodiversidad de líquenes en México,” *Rev. Mex. Biodivers.*, vol. 85, no. SUPPL., pp. 82–99, 2014.
- [5] Barreno and Pérez, “Biología de los líquenes,” *Líquenes la Reserv. Nat. Integr. Muniellos, Astur.*, pp. 65–82, 2003.
- [7] M. Bajonero Arroyo, “Aislamiento de microorganismos asociados a la simbiosis liquénica en

especies del estado de Guanajuato,” no. 1, pp. 345–349.

- [8] D. I. A. Alarcon, “Evaluación de técnicas de conservación para hongos filamentosos y levaduriformes en el cepario de la Pontificia Universidad Javeriana,” vol. 33, pp. 16–18, 2006.

Efecto de la suplementación de metionina durante el último tercio de la gestación sobre el desarrollo postnatal e inicio de la pubertad en hembras caprinas

Juan Carlos Baltazar Camacho

Instituto Tecnológico Superior de Irapuato
Carretera Irapuato-Silao km 12.5, Col. El Copal,
C.P. 36821 Irapuato, Gto.
juancarlosmv321998@hotmail.com

Asesor: César Augusto Rosales Nieto

Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Carretera San Luis Potosí, Matehuala, Ejido Palma
de la Cruz, Soledad de Graciano Sánchez,
C.P. 78321, San Luis Potosí, S.L.P., México.
cesar.rosales@uaslp.mx

Resumen — El objetivo fue determinar el efecto de la suplementación de metionina durante el último tercio de gestación sobre desarrollo y pubertad de la progenie. Se utilizaron 60 hembras caprinas multiparas distribuidas en cuatro tratamientos (0%, 0.1%, 0.5%, 1.0%). Al parto se registró el peso, IMC, tipo de parto y sexo de toda la progenie; sin embargo, solamente se utilizaron las hembras. A los cuatro meses de edad, se introdujeron machos celadores para la detección de la pubertad. El peso, IMC y muestras sanguíneas fueron obtenidas semanalmente. El peso al nacimiento no difirió entre tratamientos ($P>0.05$). El IMC difirió entre tratamientos ($P=0.05$), pero no el peso postnatal ($P>0.05$).

Abstract — The objective was to determine the effect of methionine supplementation during the last third of pregnancy on postnatal development and puberty of the progeny. We used 60 multiparous female goats distributed in four treatments (0%, 0.1%, 0.5%, 1.0%). At birth, birth weight, body mass index (BMI), birth type and sex of the progeny were recorded; however, only females were used. When females were 4 months old, vasectomized males were introduced to detect the onset of puberty. Live weight, IMC and blood samples were collected weekly. Birth weight did not differ among treatments ($P>0.05$). Through the experiment, BMI differed among treatments ($P=0.05$), but not body weight ($P>0.05$).

I. INTRODUCCIÓN

Diferentes estudios han demostrado que la alimentación materna durante las diferentes etapas de la gestación es importante ya que definirá el crecimiento y desarrollo fetal, así como probables enfermedades metabólicas durante la vida adulta (Barker et al., 1989; Abu-Saad y Fraser, 2010). Una dieta materna deficiente en energía o proteína durante la gestación y que no cumpla con los requerimientos nutricionales puede traer como consecuencia crías con bajo peso al nacimiento (Bertram and Hanson, 2001). Las crías con menor peso al nacimiento son más susceptibles a enfermedades por lo que incrementa la tasa de mortalidad tanto neonatal como postnatal (Barker et al., 1989; Brien et al., 2014). Por otro lado, las crías que son más pesadas al nacimiento son más vigorosas y tienden a crecer más rápido y son más pesadas al destete independientemente del sexo (Banchemo et al., 2010; Rosales Nieto et al., 2016; 2018a). De acuerdo a las investigaciones de Rosales Nieto et al. (2013a; 2013b), un rápido crecimiento postnatal ayudará a alcanzar más rápido la pubertad.

De tal manera, que el inicio de la pubertad está relacionado con diferentes factores tanto externos (fotoperiodo, nutrición, señales socio-sexuales, clima) como internos (raza, peso corporal, condición corporal y edad; Rosales Nieto et al., 2018b). El inicio de la pubertad se puede ver retrasado cuando estos factores se relacionan o cuando

la hembra presenta cierta deficiencia en el crecimiento; sin embargo, Rosales Nieto et al. (2018b) mencionó que la edad pasa a segundo término y que los factores genéticos sobre la acumulación de los diferentes tejidos del animal ayudaran a alcanzar más rápido la pubertad en hembras jóvenes. Adicionalmente, un factor importante a considerar en hembras jóvenes caprinas es la estacionalidad reproductiva; la cual está influenciada por el fotoperiodo y la época de nacimiento. La estacionalidad reproductiva es una adaptación ambiental a las condiciones climáticas en las diferentes épocas del año para que las crías puedan nacer en la época más adecuada (Rosales Nieto et al., 2011; Urrutia et al., 2016; Martín y Rosales Nieto, 2014); sin embargo, es un factor importante en la pubertad ya que influye directamente sobre el inicio (Delgadillo et al., 2007).

La disponibilidad de proteínas es un factor importante para el crecimiento fetal ya que los aminoácidos son los encargados de la secreción de insulina; la cual juega un papel indispensable junto con otros factores de crecimiento (IGF-1, IGF2, oxígeno) en el crecimiento fetal (Heasman et al., 2000; Bertram y Hanson, 2001; Rumball et al. 2009; Jenkinson et al. 2012). Bertram y Hanson (2001) explicaron que una dieta materna deficiente en proteína pudiera no tener impacto en la primera generación; pero si impactará directamente el desarrollo fetal y peso al nacimiento de la segunda y tercera generación. Sin embargo, esta investigación requiere mayor profundidad para determinar si puede ser aplicada en todas las especies y/o si la restricción nutricional materna ocurre en los diferentes estadios de la gestación. La metionina es uno de los aminoácidos esenciales y no puede ser sintetizar en el organismo; por lo que se debe de obtener a través de la dieta. La metionina es importante para el crecimiento; dado que aporta azufre y otros compuestos que el organismo necesita (Merchen y Tigemeyer, 1992; Campbell et al., 1996; Sun et al., 2007). Sin embargo, hasta el momento no se ha definido la importancia de la suplementación de metionina sobre el crecimiento fetal y postnatal. De tal manera que el objetivo del presente trabajo fue determinar la suplementación de metionina en diferentes concentraciones durante el último tercio de gestación sobre el peso al nacimiento, desarrollo postnatal e inicio de la pubertad en hembras caprinas.

II. METODOLOGÍA

A. *Animales y tratamientos*

El estudio se realizó en la Unidad Caprina de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Se utilizaron 60 hembras caprinas multíparas (n=60) nacidas y criadas en estas instalaciones y apareadas con dos machos. A partir del último tercio de gestación (d -50), las hembras fueron asignadas en base al peso corporal a uno de los cuatro tratamientos con o sin suplementación de metionina. Los tratamientos fueron los siguientes:

1. Tratamiento control: 0.0% inclusión de metionina en dieta y se asignaron 15 cabras.
2. Tratamiento 0.1: 0.1% inclusión de metionina en dieta y se asignaron 15 cabras.
3. Tratamiento 0.5: 0.5% inclusión de metionina en dieta y se asignaron 15 cabras.
4. Tratamiento 1.0: 1.0% inclusión de metionina en dieta y se asignaron 15 cabras.

La inclusión de la metionina fue en base al peso corporal individual de la cabra y el porcentaje de inclusión fue 0.0, 0.1, 0.5 y 1.0% de la materia seca de Optimetionina Nuprox₈₄

S. A. de C. V., México. La suplementación de metionina fue en la mañana de manera individual. Para ello, se preparó la dosis de metionina correspondiente al animal y se le proporcionó en la sala de ordeña que tiene espacio para 12 cabras en línea. La suplementación con metionina inició 50 (-50) días antes del parto y finalizó al parto (0).

Al parto se registró el peso al nacimiento, tipo de parto, sexo e índice de masa corporal (IMC) de la progenie. Solamente se les dio seguimiento a las hembras y el peso e IMC se está registrando semanalmente hasta el inicio de la pubertad. Adicionalmente, se continúan tomando muestras sanguíneas dos veces por semana a partir del destete y hasta el inicio de la pubertad que posteriormente serán analizadas para progesterona, insulina, IGF-1, leptina, proteína total, colesterol y urea. Machos con el pene desviado fueron introducidos con las hembras cuando tenían 114 días de edad en promedio. La información servirá para determinar el inicio (edad y peso) de la pubertad y ver el efecto de la suplementación maternal durante el último tercio de gestación.

La información se analizó con el paquete estadístico SAS versión 9.3 (SAS Institute Inc, Cary, NC, EE.UU.). La ganancia de peso diaria e IMC se determinó para cada hembra utilizando una regresión de coeficientes aleatorios incluyendo una línea cúbica por el tiempo, que se considera apropiado cuando la respuesta es lineal (TRANSREG). El peso al nacimiento e IMC de la progenie se analizaron mediante modelos mixtos y técnica de estimación de máxima verosimilitud restringida (PROC MIXED). El efecto fijo fue tratamiento.

III. RESULTADOS

A. *Peso al Nacimiento*

En la tabla 1 se representa el peso corporal al nacimiento y al final del estudio de las crías nacidas de las madres que recibieron distintas concentraciones de metionina a partir del último tercio de gestación. El peso al nacimiento y al final no difirió entre tratamientos ($P > 0.05$).

Tabla 1. Peso al nacimiento y al finalizar el estudio de las crías nacidas de hembras que recibieron suplementación de metionina con diferente concentración a partir del último tercio de gestación y hasta el parto.

Tratamiento	Peso Nacimiento (kg±SEM)	Peso Final (kg±SEM)
Control (0%)	3.0±0.1	12.6±0.8
0.05	3.0±0.1	12.8±0.9
0.5	3.2±0.1	12.7±0.8
0.1	3.1±0.2	11.6±0.6
P > f	NS	NS

B. *Desarrollo Postnatal*

En la Figura 1 se representa el desarrollo postnatal de la progenie de la semana 0 hasta la semana 17; en esta se observa que durante cada semana el incremento del peso corporal de las hembras de los distintos tratamientos de metionina fue variando; sin embargo, el análisis estadístico a través del tiempo del experimento indica que la variación no difirió significativamente.

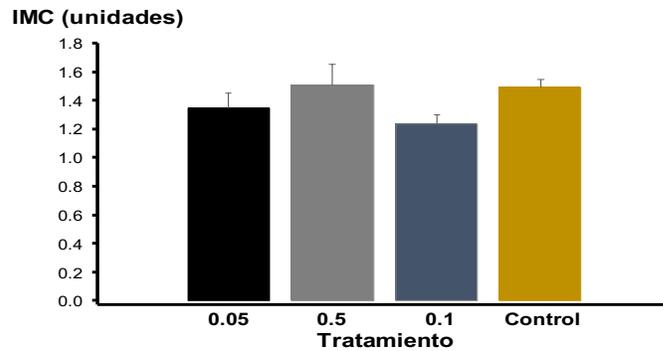


Figura 1. Cambio de peso corporal de la progenie de hembras que recibieron suplementación de metionina con diferente concentración a partir del último tercio de gestación y hasta el parto. Línea negra (0.05%), línea gris (0.5%), línea azul (1.0%) y línea naranja (0.0%; control) representa las hembras que recibieron suplementación de metionina en base a su peso corporal.

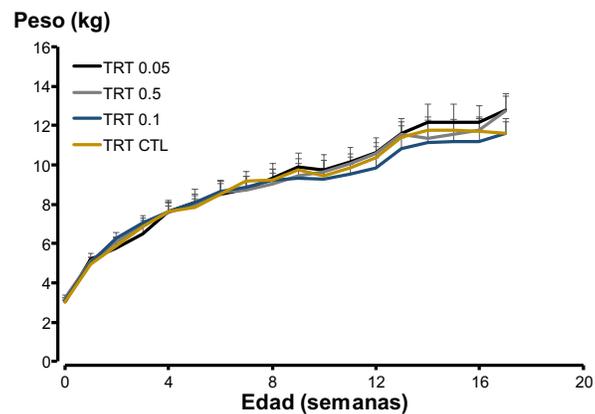


Figura 2. Índice de masa corporal en la última semana de la progenie de hembras que recibieron suplementación de metionina con diferente concentración a partir del último tercio de gestación y hasta el parto. Barra negra (0.05%), barra gris (0.5%), barra azul (1.0%) y barra naranja (0.0%; control) representa el tratamiento de las hembras que recibieron suplementación de metionina en base a su peso corporal.

C. Inicio de la Pubertad

Las muestras sanguíneas obtenidas semanalmente serán analizadas posteriormente para determinar con exactitud el peso y edad del inicio de la pubertad. Sin embargo, el análisis de sangre está en proceso ya que aún se siguen obteniendo muestras sanguíneas. Durante el estudio una hembra no pudo finalizar el procedimiento por lo que fue contabilizada como resultado del tratamiento.



Figura 3. Progenie sin finalizar el procedimiento.



Figura 1. Detección de hembras en etapa de la pubertad mediante la introducción de machos con el pene desviado.

IV. ANALISIS DE RESULTADOS

El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la suplementación de metionina durante el último tercio de gestación sobre el peso al nacimiento, desarrollo postnatal e inicio de la pubertad en hembras caprinas. Nuestros resultados demuestran que la suplementación de metionina durante la gestación no influyó el peso al nacimiento. Monsen et al. (2006) determinó que la concentración materna de metionina pudiera ser un indicativo sobre el tamaño y peso al nacimiento. Estas observaciones fueron apoyadas por Muthayya (2009) quien determinó que bajos niveles maternos de metionina impactaron el desarrollo fetal. De tal manera que era posible hipotizar que la suplementación de metionina incrementaría el peso al nacimiento y que el efecto era adicional a los factores genéticos. El mayor crecimiento fetal ocurre en el último tercio de gestación; sin embargo, la miogénesis y adipogénesis ocurren en el primero y segundo tercio de gestación (Du et al., 2010); de tal manera, que es posible que la ventana de suplementación utilizada en el presente estudio no haya influenciado positivamente el desarrollo de las fibras musculares y/o tejido adiposo y que impactara directamente en el peso al nacimiento.

Por otro lado, nuestros resultados demuestran que la suplementación influyó el IMC, pero no el peso corporal. Diferentes autores han reportado en bovinos que el suministro adicional de metionina durante el desarrollo puede mejorar la ganancia de peso diaria (Merchen y Tigemeyer, 1992; Campbell et al., 1996; Sun et al., 2007). Por otro lado, en ovinos Sánchez Acosta et al. (2012) no observó diferencia en la ganancia de peso después de la suplementación con metionina. Sin embargo, estos estudios utilizaron la suplementación después del nacimiento más no durante la gestación; de tal manera que aún queda por determinar el impacto de la metionina durante diferentes trimestres de la gestación sobre el desarrollo corporal postnatal.

El impacto de la suplementación de metionina durante la gestación sobre el inicio de la pubertad está pendiente de ser reportado. Sin embargo, estudios previos indican que las hembras con mejor desarrollo postnatal inician más rápido la pubertad y son más fértiles en comparación con aquellas hembras que se desarrollan más lento (Rosales Nieto et al., 2013a; 2013b)

V. CONCLUSIÓN

Se concluye que la manipulación de la dieta materna durante el último tercio de gestación incrementa el tamaño corporal de las hembras caprinas. Falta por determinar el impacto que tendrá sobre el inicio de la pubertad.

VI. AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la UASLP por la estancia del verano, así como al Dr. César Augusto Rosales Nieto por brindarme la oportunidad de participar el proyecto.

REFERENCIAS

- Abu-Saad K and Fraser D 2010. Maternal Nutrition and Birth Outcomes. *Epidemiologic Reviews* 32, 5-25.
- Banchero G, Vázquez A, Montossi F, de Barbieri I and Quintans G 2010. Pre-partum shearing of ewes under pastoral conditions improves the early vigour of both single and twin lambs. *Animal Production Science* 50, 309-314.
- Barker DJ, Osmond C, Golding J, Kuh D and Wadsworth ME 1989. Growth in utero, blood pressure in childhood and adult life, and mortality from cardiovascular disease. *British Medical Journal* 298, 564-567.
- Bertram CE and Hanson MA 2001. Animal models and programming of the metabolic syndrome Type 2 diabetes. *British Medical Bulletin* 60, 103-121.
- Brien FD, Cloete SWP, Fogarty NM, Greeff JC, Hebart ML, Hiendleder S, Edwards JEH, Kelly JM, Kind KL, Kleemann DO, Plush KL and Miller DR 2014. A review of the genetic and epigenetic factors affecting lamb survival. *Animal Production Science* 54, 667-693.
- Campbell CG, Titgemeyer EC and St-Jean G 1996. Efficiency of D- vs L-methionine utilization by growing steers². *Journal of animal science* 74, 2482-2487.
- Delgadillo JA, De Santiago-Miramontes MA and Carrillo E 2007. Season of birth modifies puberty in female and male goats raised under subtropical conditions. *animal* 1, 858-864.
- Du M, Tong J, Zhao J, Underwood KR, Zhu M, Ford SP and Nathanielsz PW 2010. Fetal programming of skeletal muscle development in ruminant animals¹. *Journal of animal science* 88, E51-E60.
- Heasman L, Brameld J, Mostyn A, Budge H, Dawson J, Buttery P, Stephenson T and Symonds ME 2000. Maternal nutrient restriction during early to mid gestation alters the relationship between insulin-like growth factor I and bodyweight at term in fetal sheep. *Reproduction, Fertility and Development* 12, 345-350.
- Jenkinson CMC, Earl AK, Kenyon PR and Blair HT 2012. Effects of maternal nutrition during pregnancy on fetal growth and maternal constraint in sheep. *Animal Production Science* 52, 524-532.
- Martin y Rosales Nieto. (2014). El futuro en la industria animal -Dónde se necesita la ciencia para desarrollar métodos 'limpios, verdes y éticos' sobre el manejo de la reproducción. 22-40.
- Merchen NR and Titgemeyer EC 1992. Manipulation of amino acid supply to the growing ruminant¹. *Journal of animal science* 70, 3238-3247.
- Monsen A-LB, Schneede J and Ueland PM 2006. Mid-trimester amniotic fluid methionine concentrations: a predictor of birth weight and length. *Metabolism* 55, 1186-1191.
- Muthayya S 2009. Maternal nutrition & low birth weight - what is really important? *Indian Journal of Medical Research* 660-608.
- Rosales-Nieto CA, Gamez-Vazquez HG, Gudino-Reyes J, Reyes-Ramirez EA, Eaton M, Stanko RL, Meza-Herrera CA and Gonzalez-Bulnes A 2011. Nutritional and metabolic modulation of the

- male effect on the resumption of ovulatory activity in goats. *Animal Production Science* 51, 115-122.
- Rosales Nieto CA, Ferguson MB, Macleay CA, Briegel JR, Martin GB and Thompson AN 2013a. Selection for superior growth advances the onset of puberty and increases reproductive performance in ewe lambs. *animal* 7, 990-997.
- Rosales Nieto CA, Ferguson MB, Macleay CA, Briegel JR, Wood DA, Martin GB and Thompson AN 2013b. Ewe lambs with higher breeding values for growth achieve higher reproductive performance when mated at age 8 months. *Theriogenology* 80, 427-435.
- Rosales Nieto CA, Meza-Herrera CA, Moron Cedillo FdJ, Flores Najera MdJ, Gámez Vázquez HG, Ventura Pérez FdJ and Liu S 2016. Vitamin E supplementation of undernourished ewes pre- and post-lambing reduces weight loss of ewes and increases weight of lambs. *Tropical Animal Health and Production* 48, 613-618.
- Rosales Nieto CA, Ferguson MB, Macleay CA, Briegel JR, Wood DA, Martin GB, Bencini R and Thompson AN 2018a. Milk production and composition, and progeny performance in young ewes with high merit for rapid growth and muscle and fat accumulation. *animal* 12, 2292-2299.
- Rosales Nieto CA, Thompson AN and Martin GB 2018b. A new perspective on managing the onset of puberty and early reproductive performance in ewe lambs: a review. *Animal Production Science* 58, 1967-1975.
- Rumball CWH, Bloomfield FH, Oliver MH and Harding JE 2009. Different Periods of Periconceptional Undernutrition Have Different Effects on Growth, Metabolic and Endocrine Status in Fetal Sheep. *Pediatr Res* 66, 605-613.
- Sánchez Acosta E, Ortega Cerrilla ME, Mendoza Martínez GD, Montañez Valdez OD and Buntinx Dios SE 2012. Rastrojo de maíz tratado con urea y metionina protegida en dietas para ovinos en crecimiento. *Interciencia* 37, 395-399.
- Sun ZH, Tan ZL, Liu SM, Tayo GO, Lin B, Teng B, Tang SX, Wang WJ, Liao YP, Pan YF, Wang JR, Zhao XG and Hu Y 2007. Effects of dietary methionine and lysine sources on nutrient digestion, nitrogen utilization, and duodenal amino acid flow in growing goats¹. *Journal of animal science* 85, 3340-3347.
- Urrutia Morales J, Rosales Nieto CA, Ávila HRV and Manjarres EVA 2016. Resumption of ovarian activity is modified by non-photoperiodic environmental cues in Criollo goats in tropical latitudes. *Small Ruminant Research* 137, 9-16.

Efecto de la suplementación de una cepa probiótica sobre los parámetros productivos en pollos de engorda

Ezer Alonso Yniesta Aguilar

Universidad de Guanajuato
Campus Irapuato-Salamanca
Ex Hacienda El Copal k.m. 9; carretera Irapuato-Silao; A.P. 311; C.P. 36500; Irapuato, Gto.
alfonsoaguilar3@hotmail.com

Asesora: Elena Franco Robles

Universidad de Guanajuato
Campus Irapuato-Salamanca
Ex Hacienda El Copal k.m. 9; carretera Irapuato-Silao; A.P. 311; C.P. 36500; Irapuato, Gto.
e.franco@ugto.mx

Resumen — Los antibióticos promotores de crecimiento en la industria avícola han generado problemas asociados a la resistencia antibiótica, se están buscando nuevas alternativas que puedan sustituir a estos, entre ellos se encuentran los probióticos. Se realizó un estudio experimental con 72 pollos machos en 3 grupos: control, antibiótico y *Bifidobacterium animalis*. Se evaluó consumo de alimento, ganancia de peso y conversión alimenticia. Los resultados arrojaron una mejor ganancia de peso en el grupo con probiótico (3037.04 ± 55.03 gr) y una mejor conversión alimenticia (2.25) parecida a la del grupo tratado con antibiótico (2.22). Se demostró que la cepa probiótica de *Bifidobacterium animalis* a una concentración de 1×10^9 UFC/kg es una buena alternativa para sustituir a los antibióticos promotores de crecimiento en la industria avícola.

Palabras clave — Ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia.

Abstract — Growth promoting antibiotics in the poultry industry have generated problems associated with antibiotic resistance, new alternatives are being sought that can replace these, among them are probiotics. An experimental study was carried out with 72 male broiler chicken in 3 groups: control, antibiotic and *Bifidobacterium animalis*. Food consumption, weight gain and feed conversion were evaluated. The results showed a better weight gain in the probiotic group (3037.04 ± 55.03 gr) and a better nutritional conversion (2.25) similar to that of the antibiotic treated group (2.22). It was shown that the probiotic strain of *Bifidobacterium animalis* at a concentration of 1×10^9 UFC/kg is a good alternative to replace the growth-promoting antibiotics in the poultry industry.

Keywords — Weight gain, food consumption, food conversion.

I. INTRODUCCIÓN

Los sistemas avícolas destinados a la producción de pollo de engorda se caracterizan por manejar altas densidades en búsqueda de un mayor rendimiento productivo de carne por área de confinamiento [1]. En ese intento de ser altamente productivos y de registrar mayores ganancias de peso y conversiones alimenticias, el uso de los antibióticos promotores de crecimiento (APC) se instauró como una práctica cotidiana entre los avicultores; sin embargo, el uso indiscriminado de estos productos, ha venido generando problemas asociados a la resistencia antibiótica de algunas cepas bacterianas, provocando altos costos sanitarios que disminuyen el rendimiento productivo de las empresas, arriesgando la calidad e inocuidad de la carne [2].

Ante este panorama, los alimentos funcionales destinados a suplir requerimientos nutricionales y generar beneficios adicionales en el animal, aparecen como una alternativa de reemplazo a los APC, por ser productos naturales con efectos nutraceuticos [3]. Dentro

de este grupo se encuentran los probióticos, los cuales son microorganismos vivos, que una vez ingeridos en cantidades suficientes permanecen activos en el intestino contribuyendo al equilibrio de la microbiota intestinal del huésped y potenciando el sistema inmunitario [4-5].

El modo de acción de los probióticos no solo incluye cambios en el pH del contenido gastrointestinal, sino que se suman una serie de efectos directos como: acción antagonista a la colonización de bacterias enteropatógenas o exclusión competitiva [6], disminución del pH [7], neutralización de toxinas, actividad bactericida y efecto benéfico sobre el sistema inmune [4]. De igual manera, aumentan la disponibilidad de aminoácidos y mejoran la eficiencia de utilización de energía [8-9] y otros componentes de la dieta como la fibra para ser utilizada como fuente de energía [10]. Por las ventajas que generan los probióticos en los sistemas productivos se evaluó el efecto de la adición de *Bifidobacterium animalis* en la alimentación de pollos de engorda sobre los parámetros de importancia zootécnica, tales como ganancia de peso, consumo de alimento y conversión alimenticia.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio experimental comparativo con 72 pollos machos de la estirpe Ross 308 machos, de un día de nacidos, no vacunados y con un peso promedio de 42 g. La distribución de los pollos en los grupos de tratamiento se realizó completamente al azar considerando un tamaño de muestra de 24 animales por grupo (3 repeticiones de 8). Los animales se dividieron en los siguientes grupos:

- Grupo SPC, animales administrados con dieta comercial iniciadora al día 21 (23% proteína; 5% grasa; 4% fibra), continuando con dieta comercial finalizadora al día 49 (21% proteína; 5% grasa; 4% fibra) y agua *ad libitum*.
- Grupo APC, animales administrados con dieta comercial iniciadora al día 21 (23% proteína; 5% grasa; 4% fibra; monensina sódica 54-90 g/ton), continuando con dieta comercial finalizadora al día 49 (21% proteína; 5% grasa; 4% fibra; monensina sódica 54-90 g/ton) y agua *ad libitum*.
- Grupo PRO, tratamiento con *Bifidobacterium animalis* a una concentración de 1×10^9 UFC/kg como aditivo en la dieta estándar (23% proteína; 5% grasa; 4% fibra) en las dos etapas y agua *ad libitum*.

A. Determinación de la ganancia de peso, ingesta de alimento y conversión alimenticia

Los animales de los 4 grupos fueron pesados al inicio del experimento y luego una vez a la semana para monitorizar la ganancia de peso corporal de los animales con la báscula electrónica para bebés marca VELAB® modelo SM-20, con la siguiente fórmula:

$$\text{Ganancia media de peso} = (\text{peso final} - \text{peso inicial}) / \text{tiempo}$$

La ración alimenticia se ofreció diariamente en la mañana, se retiró y pesó el sobrante de un día anterior con una balanza electrónica marca OHAUS® modelo V11P6T. El consumo de alimento es la diferencia entre el alimento suministrado y no consumido por día, como se muestra en la siguiente fórmula:

Consumo de alimento (g/día) = Alimento ofrecido – Alimento rechazado

La conversión alimenticia está dada por la relación del peso del alimento, sobre la ganancia diaria de peso, también dice que generalmente sus unidades se expresan en kg de alimento por kg de peso vivo. Tomando en cuenta esto, se siguió la siguiente fórmula:

$$\text{Conversión alimenticia} = (\text{consumo de alimento}) / (\text{ganancia media de peso})$$

B. Análisis estadístico

Se realizó pruebas de normalidad a los datos para posteriormente ser evaluados mediante la prueba de ANOVA para verificar si existe significancia entre grupos. Se usó una prueba de post hoc de Tukey para encontrar cuales grupos fueron diferentes. Los datos se presentarán como media \pm desviación estándar, considerando una $p < 0.05$ como significativa.

III. RESULTADOS

Los resultados mostraron una mejoría en las variables productivas del grupo tratado con la cepa probiótica en comparación con los grupos a los que se les adicionó antibiótico promotor de crecimiento y el grupo control. A pesar de no mostrar diferencias estadísticamente significativas, fueron mejores los resultados del grupo tratado con *Bifidobacterium animalis*.

A. Ganancia de peso

La ganancia de peso total fue mayor para el grupo tratado con *Bifidobacterium animalis* 3037.04 \pm 55.03 gr, seguido del grupo con antibiótico promotor de crecimiento 3028.77 \pm 86.25 gr y por debajo de estos el grupo control 2837.55 \pm 118.9 gr. En la figura 1 se muestra la ganancia de peso durante las 7 semanas.

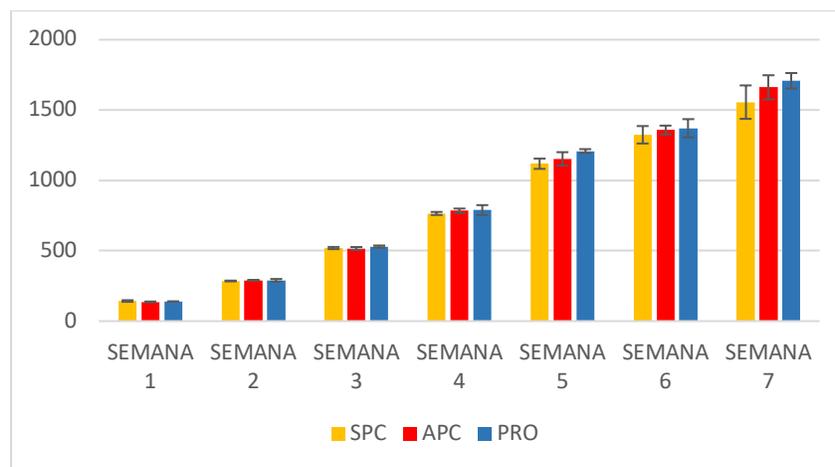


Fig. 1. Ganancia de peso semanal en pollos de engorda con diferentes tratamientos promotores de crecimiento. SPC: Sin promotor de crecimiento; APC: Antibiótico promotor de crecimiento; PRO: Probiótico *Bifidobacterium animalis*.

B. Consumo de alimento

El consumo de alimento acumulado fue menor para el grupo tratado con antibiótico promotor de crecimiento 6740.02 ± 55.031 gr, seguido del grupo tratado con *Bifidobacterium animalis* 6857.11 ± 60.15 gr y el grupo que más alimento consumió fue el grupo control 7064.61 ± 49.06 gr, como se muestra en la figura 2 donde se demuestra que los grupos tratados con promotor de crecimiento consumieron menos alimento durante toda la engorda, siendo hasta la semana 4 donde el grupo control comenzó a consumir menos alimento.

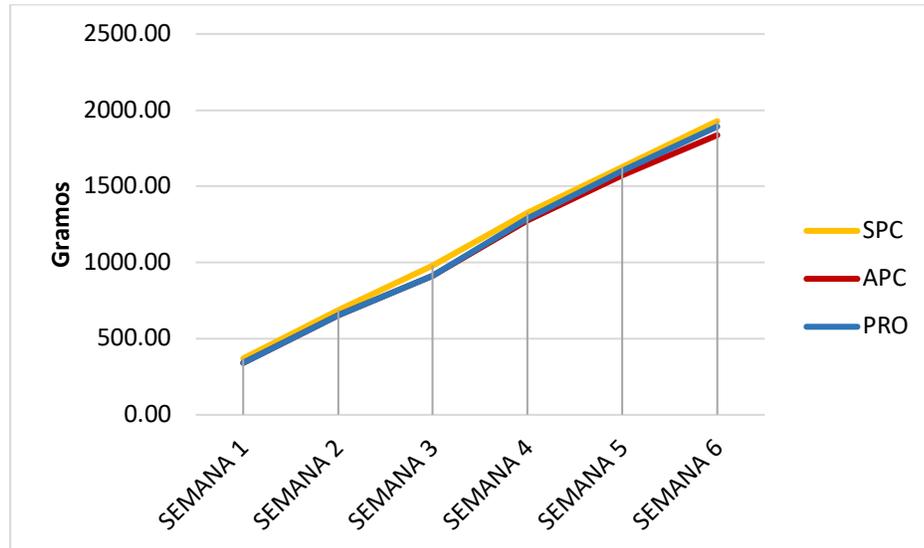


Fig. 2. Consumo de alimento semanal en pollos de engorda con diferentes tratamientos promotores de crecimiento. SPC: Sin promotor de crecimiento; APC: Antibiótico promotor de crecimiento; PRO: Probiótico *Bifidobacterium animalis*.

C. Conversión alimenticia

El grupo con mejor índice de conversión, es decir los kg de alimento que se necesitan para producir un kg de carne, fue el grupo tratado con la cepa probiótica siendo de 2.25, valor muy parecido al resultado obtenido con el antibiótico promotor de crecimiento al obtener 2.22. El grupo control fue el que obtuvo la conversión más alta siendo de 2.48.

IV. DISCUSIÓN

Los resultados demuestran que la cepa probiótica de *Bifidobacterium animalis* es una buena alternativa para sustituir a los antibióticos promotores de crecimiento ya que logran mejorar la conversión alimenticia de los pollos de engorda a las 7 semanas, representando una buena alternativa de acuerdo con las exigencias actuales. Estos resultados coinciden con lo reportado por Osorio et al. [11] donde la conversión alimenticia del grupo tratado con probióticos y con antibióticos promotores de crecimiento fue muy similar (1.75 y 1.78 respectivamente).

Según Gutiérrez-Ramírez et al. [12] entre las estrategias más importantes de los probióticos se encuentran: la adhesión a la pared del tracto digestivo que evita la colonización de patógenos, compite con ellos por los nutrientes y los sitios de adhesión, y la

producción de sustancias antimicrobianas, como el ácido láctico, que afectan las membranas celulares de microorganismos patógenos alterando su permeabilidad, y los niveles de pH y de oxígeno que los hacen desfavorables a los patógenos. Por lo cual se entiende que el efecto positivo de los probióticos en los parámetros productivos recae en su acción sobre los mecanismos inmunológicos.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Se demostró que la cepa probiótica de *Bifidobacterium animalis* a una concentración de 1×10^9 UFC/kg son una buena alternativa para sustituir a los antibióticos promotores de crecimiento en la industria avícola. A pesar de esto, se ha demostrado que el uso de mezclas probióticas como promotores de crecimiento obtienen mejores resultados que los aditivos usando un probiótico, por lo cual se recomiendan estudios similares al realizado usando una combinación de cepas probióticas [13].

VI. RECONOCIMIENTOS (O AGRADECIMIENTOS)

Hago extensivo mi agradecimiento a la Universidad de Guanajuato, a la División de Ciencias de la Vida y muy particularmente al Departamento de Medicina Veterinaria y Zootecnia; así como también al CONACyT, quienes han hecho posible la realización de este Verano de Investigación.

De igual manera considero un reconocimiento para la Dra. Elena Franco Robles y a la Licenciada en M.V.Z. María José Hernández Granados, como Directora y Co-Directora, respectivamente de este proyecto de investigación; quienes con su asesoría, ejemplo y dedicación, han motivado el compromiso fehaciente de un desarrollo profesional.

REFERENCIAS

- [1] L.A. Gutiérrez, O. Bedoya and J.E. Arenas. "Evaluación de parámetros productivos en pollos de engorde suplementados con microorganismos probióticos", Temas agrarios, Vol. 20, pp. 81-85, 2015.
- [2] I. Phillips, M. Casewell, T. Cox, B. Groot, C. Friss, R. Jones, C. Nightingale, R. Preston and J. Waddell. "Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A reply to critics", Journal of Antimicrobial Chemotherapy, Vol. 54, pp. 276-278, 2004.
- [3] B. Mollet and I. Rowland. "Functional foods: at the frontier between food and pharma", Current in Opinion and Biotechnology, Vol. 13, pp. 483-485, 2002.
- [4] D.F. Apata. "Growth performance, nutrient digestibility and immune response of broiler chicks fed diets supplemented with a culture of *Lactobacillus bulgaricus*", J Sci Food Agric, Vol. 88, pp. 1253-1258, 2008.
- [5] M.C. Collado, E. Isolauri, S. Salminen and Y. Sanz. "The impact of probiotic on gut health", Curr Drug Metab, Vol: 10, pp. 68-78, 2009.
- [6] K. Genovese, R. Anderson., R. Harvey and D. Nisbet. "Competitive exclusion treatment reduces the mortality and fecal shedding associated with enterotoxigenic *Escherichia coli* infection in nursery-raised neonatal pigs", Can J Vet Res, Vol: 64, pp. 204-207, 2000.
- [7] P. Blanchard and F. Wright. "Less buffering more enzymes and organic acids", Pig Progr, Vol. 16, pp. 23-25, 2000.
- [8] M. Vassalo, E. Fialo, A. Oliviera, A. Teixeira, A. Bertechini and A. De-Oliveira. "Probiotic of piglets from 10 to 30 kg liveweight", Rev Soc Bras Zoot, Vol. 26, pp. 131-138, 1997.

- [9] Z. Mroz, A. Jongbloed, K. Partanen, K. Vreman, P. Kemme and J. Kogut. "The effects of calcium benzoate in diets with or without organic acids on dietary buffering capacity, apparent digestibility, retention of nutrients, and manure characteristics in swine", J Anim Sci, Vol. 78, pp. 2622-2632, 2000.
- [10] A. Matew, S. Chatin, C. Robbins and D. Golden. "Effect of a direct-fed yeast culture on enteric microbial populations, fermentation acids, performance of weanling pigs", J Anim Sci, Vol. 76, pp. 2138-2145, 1998.
- [11] C. Osorio, E. Icochea, P. Reyna, J. Guzmán, C. Fernando and F. Carcelén. "Comparación del rendimiento productivo de pollos de carne suplementados con un probiótico versus un abtibiótico", Rev Inv Ver Perú, Vol. 2, pp. 219-222, 2010.
- [12] L.A. Gutiérrez-Ramírez, O.I. Montoya and J.M. Vélez. "Probióticos: una alternativa de producción limpia y de remplazo a los antibióticos promotores de crecimiento en la alimentación animal", Producción + limpia, Vol. 8, pp. 135-146, 2013.
- [13] K. Gunther. "Taxonomy, ecology and resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract", International J. Food Microbiology, Vol 88, pp. 123, 2003.

Evaluación de la composición química de los cecotrofos y heces duras de conejos alimentados con sorgo y diferentes niveles de fibra detergente neutro

Islas Cadillo Arturo Arnulfo

Universidad Autónoma de Querétaro
Cerro de Las Campanas, s/n,
Centro Universitario, C.P. 76010,
Santiago de Querétaro, Querétaro.
arturo.islas95@gmail.com

Asesor: Gómez Soto José Guadalupe

Universidad Autónoma de Querétaro
Área Cunicola (ARCUN UAQ)
Av. de las Ciencias, Juriquilla, C.P. 76230
Santiago de Querétaro, Querétaro
jose.gomez@uaq.mx

Resumen — Para evaluar el efecto del contenido de fibra detergente neutro (FDN) y de la cecotrofia sobre la composición química de las heces en conejos, se alimentaron 48 conejos con una dieta control a base de maíz (33% de FDN) y tres dietas experimentales a base de sorgo con distintas concentraciones de FDN (28, 33 y 38%). Se obtuvieron y analizaron las heces duras y blandas, determinando materia seca, cenizas, FDN, extracto etéreo, energía y proteína cruda. El nivel de FDN sólo afectó a los datos de energía, mientras la cecotrofia sólo no impactó la concentración de cenizas. La cecotrofia permite aprovechar digestivamente la FDN, energía y proteína, además de que incrementa el nivel de proteína cruda en heces blandas.

Palabras clave — Cecotrofia, cecotrofos, cunicultura.

Abstract — In order to evaluate the effect of neutral detergent fiber (NDF) content and caecotrophy on the chemical composition of feces in, 48 rabbits were fed a corn-based control diet (33 % of FDN) and three experimental sorghum-based diets with different concentrations of NDF (28, 33 and 38%). Afterwards, hard and soft feces were obtained and analyzed, determining dry matter, ashes, neutral detergent fiber, ethereal extract, energy and crude protein. The level of NDF only affected the energy data, while caecotrophy only did not impact the chemical composition of the ashes. Caecotrophy allows NDF, energy and protein to be used digestively, in addition to increasing the level of crude protein in caecotrophs.

Keywords — Caecotrophy, caecotrophs, cuniculture.

I. INTRODUCCIÓN

La producción de conejos, denominada cunicultura, es aún subestimada mundialmente, a pesar de conllevar menores costos de producción, contar con una mayor prolificidad y ser una carne suave y nutritiva con alto contenido de proteína y bajo contenido de grasas saturadas [1]. Además, para el año 2050 se estima que la población mundial crezca en 2.3 mil millones de personas [2] y la carne de conejo puede considerarse como una opción viable de producción de carne animal para países en vías de desarrollo. Para ello conviene considerar ingredientes nutritivos producidos en México en gran escala, como lo es el grano de sorgo [3][4], que es principalmente utilizado para fines de alimentación ganadera, tiene una composición química comparable al maíz y un perfil nutricional similar al trigo [5].

El sorgo está constituido por alrededor de 56 a 73% de almidón [6], de 11.3 a 13.7% de proteína [7], alrededor del 12.3% de fibra detergente neutro (FDN) y 0.49% de taninos [8]. El grano de sorgo puede ser cultivado en zonas áridas, donde otros cereales como maíz, trigo

y arroz no podrían proliferar [9]; sin embargo, gracias a su baja digestibilidad comparado con éstos y otros granos es considerado un cultivo de bajo valor. Algunas razones incluyen el entrecruzamiento de enlaces covalentes de las kafirinas, sus proteínas más abundantes, a través de enlaces disulfuro que disminuyen la digestión enzimática [10]. Los taninos son también altamente influyentes, ya que éstos se unen a las enzimas digestivas, ácidos nucleicos, aminoácidos y ácidos grasos, disminuyendo la utilización de energía y proteína disponible [11]. Esta menor actividad digestiva característica del grano de sorgo se vuelve interesante de investigar al considerar el proceso de digestión en los conejos. Los conejos excretan dos tipos de heces: heces blandas o cecotrofos, y heces duras, las cuales son separadas en el ciego, donde se retienen sólo las de menor tamaño y las más solubles, mientras que las partículas más grandes continúan su trayecto y forman heces duras que se defecan durante el día. En el ciego se fermentan las partículas retenidas y se digiere la fibra para producir compuestos como ácidos grasos volátiles y vitaminas y dar lugar a las heces blandas [12]. El conejo, al no absorber todos los nutrientes necesarios del alimento en el paso del ciego al ano, reingiere las heces blandas o cecotrofos para ser digeridas una segunda vez en un proceso llamado cecotrofia, con el fin de dar una segunda oportunidad para digerirlas y absorberlas [13].

La fibra, definida por Trowell [14] como la suma de lignina y polisacáridos que no son hidrolizados por actividad enzimática, juega un papel vital en la dieta de los conejos y debe contener alrededor de 33% de FDN, ya que ayuda a mantener un óptimo tránsito del alimento. Algunos parámetros precisos para calcular la cantidad y calidad de fibra en verduras y forrajes son las técnicas de FDN y fibra detergente ácido (FDA) desarrolladas en 1963 por el Dr. Peter J. Van Soest [15], las cuales se mantienen como uno de los análisis más importantes de las dietas en la nutrición animal. Se fundamenta en el conocimiento de las células vegetales, en cuya pared celular hay compuestos digeribles (almidón y azúcar) y otros menos digeribles (hemicelulosa, celulosa y lignina), los cuales se separan con la ayuda de una solución de detergente neutro y detergente ácido y nos indica el contenido unificado de hemicelulosa, celulosa y lignina [12].

Dado que los conejos son de los pocos mamíferos que realizan cecotrofia, es importante conocer cómo es el aprovechamiento de los nutrientes antes y después del proceso de cecotrofia considerando las características digestivas del sorgo, para lo cual se puede analizar la composición química de heces duras y cecotrofos.

II. METODOLOGÍA

Para el desarrollo del presente experimento, el protocolo se sometió a revisión al Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Naturales, el cual fue aprobado (37FCN2018). El trabajo se realizó en tres etapas:

- a) Formulación, elaboración y peletizado de cuatro dietas experimentales destinadas para la etapa de engorda, todas con un nivel de 16% de proteína fueron analizadas químicamente, determinándoseles la materia seca (MS), PC, cenizas y extracto etéreo (EE) de acuerdo con los métodos 925.45, 976.05, 923.03 y 920.35 del AOAC [18], respectivamente; energía bruta mediante calorimetría y FDN y FDA [19]. Dichos análisis

se realizaron en el Laboratorio de Nutrición Animal de la facultad de Ciencias Naturales de la misma Universidad y se presentan en la Tabla 1.

- b) Prueba de comportamiento productivo que se realizó en el módulo de conejos del Área Cunicola de la UAQ (ARCUN-UAQ), en el campus Amazcala, municipio de El Marqués, Querétaro, Qro. Se emplearon en total 48 conejos recién destetados de un mes de edad, de la raza Nueva Zelanda, los cuales fueron distribuidos de forma aleatoria en 6 unidades experimentales (UE; 2 gazapos por UE) por dieta. Se les ofreció alimento a libre acceso y semanalmente se pesaron los conejos durante la etapa de engorda (6 semanas), calculándose de esta manera la ganancia diaria de peso (GDP) por semana.
- c) Al día 71 de engorda, por la mañana se colectaron la heces duras y por la tarde se les colocó un collarín isabelino y se colectaron los cecotrofos al día siguiente. Al momento de la colecta de heces éstas se congelaron hasta ser analizadas químicamente. Antes de proceder al análisis químico, las muestras se liofilizaron y se calculó la humedad perdida por este proceso.

Las variables evaluadas se analizaron empleando el paquete estadístico SAS (2008) mediante un diseño completamente aleatorizado, comparando las medias mediante la prueba de Tukey [20]. Las diferencias estadísticas se consideraron con una significancia de $P < 0.05$.

III. RESULTADOS

En la Tabla 2 se muestran los resultados de la composición química de las heces a la semana seis de engorda.

Tabla 1. Composición de las dietas experimentales

Ingredientes (%)	Dietas experimentales			
	Tx1	Tx2	Tx3	Tx4
Maíz	17.0	---	---	---
Sorgo	---	18.5	19.0	18.4
Harina de alfalfa	19.8	21.0	24.9	6.7
Rastrojo de maíz	20.1	20.6	12.8	32.8
Pasta de soya	13.8	14.7	20.4	2.7
Pasta de canola	20.7	19.6	13.2	32.9
Melaza	7.0	5.0	7.0	5.0
Sal	0.5	0.5	0.5	0.5
Vitaminas ¹	0.2	0.2	0.2	0.2
Minerales ²	0.1	0.1	0.1	0.1
Fosfato bicálcico	---	---	2.0	---
Carbonato de calcio	---	---	---	0.7

¹Cada kg de producto contiene: vitamina A 10.20 unidades internacionales (UI), vitamina D 1.98 UI, vitamina E 0.06 UI, vitamina K 1.20 mg, riboflavina (B2) 7.20 mg, vitamina B12 (cianocobalamina) 0.04 mg, colina 968.58 mg, niacina 36 mg, ácido pantoténico 16.55 mg, tiamina (B1) 0.30 mg, piridoxina (B6) 0.31 mg, biotina 0.08 mg, ácido fólico 0.75 mg.²Cada kg de producto contiene: sulfuro 0.02 %, cobalto 0.72 mg, cobre 14.4 mg, hierro 120 mg, manganeso 36 mg, selenio 0.30 mg, yodo 0.96 mg, zinc 144 mg, cloro 0.03%.

Tabla 2. Composición química de heces duras y cecotrofos a la sexta semana de engorda

Composición química (%)	Dieta				Heces		P			EEM
	1	2	3	4	Blandas	Duras	Dieta	Heces	Dieta*Heces	
Materia seca	44.7	45.3	45.6	45.9	31.3 ^b	59.6 ^a	NS	<.0001	NS	0.0578
Cenizas	13.6	13.9	13.4	13.3	13.5	13.6	NS	NS	NS	0.0221
FDN*	52.5	51.2	51.7	52.4	60.8 ^a	42.8 ^b	NS	<.0001	NS	0.1109
Extracto etéreo	0.5	0.5	0.5	0.5	0.47 ^b	0.6 ^a	NS	0.0299	NS	0.0064
Energía (kcal/Kg MS)	4051.8 ^a	3926.4 ^b	4048.3 ^a	3940.2 ^b	4038.8 ^a	3932.2 ^b	<.0001	<.0001	NS	1.7090
Proteína cruda	22.0	21.9	21.9	20.3	28.5 ^a	14.4 ^b	NS	<.0001	NS	0.0717

^{abc} Las letras diferentes en la misma línea para el mismo parámetro indican diferencias estadísticas.

P: Probabilidad. EEM: Error estándar de la media. *FDN: fibra detergente neutro.

La composición química de las heces duras y cecotrofos respecto a las dietas experimentales sólo afectó el contenido de energía, siendo menor en promedio en los animales que consumieron 28 y 38 % de FDN. La composición química de las heces blandas fue menor en cuanto a materia seca y extracto etéreo, y mayor en FDN, energía y proteína cruda, respecto a las heces duras. La proteína cruda de las heces blandas es mayor incluso que el nivel de proteína dietario.

IV. DISCUSIÓN

De acuerdo con De Blas [12], un incremento en el contenido de fibra puede tener efectos adversos en la digestión, absorción y utilización de los nutrientes, tales como la reducción de la eficiencia en la retención de energía digestible. De la misma forma, Rodríguez-Palenzuela [21] menciona que la inclusión de fibra soluble en el tracto digestivo incrementa la viscosidad de la digesta intestinal y aumenta su fermentabilidad. Este incremento produce un aumento de la viscosidad en la capa de agua adyacente a la mucosa, lo que perjudica la absorción de nutrientes. Los conejos que consumieron la dieta 4 a base de sorgo con un alto porcentaje de FDN presentaron un decremento en la cantidad de energía en comparación con la dieta 1 y 3, aunque de acuerdo con los procesos fisicoquímicos antes mencionados, esperaríamos obtener valores más altos, debido al alto porcentaje de inclusión de fibra en esta dieta.

El contenido de materia seca se encuentra dentro del rango [22] para cecotrofos de 18-37% y para heces duras de 48-66%. De la misma forma, Carabaño [23] menciona un porcentaje de materia seca de 30.29-36.81% en cecotrofos y de 46.40-58.35% en heces duras. Sin embargo, se encuentran ligeramente por encima de los datos publicados por Pérez de Rozas [24] (cecotrofos: 27.1%; heces duras: 53.3%).

El porcentaje de FDN obtenido en los cecotrofos se encuentra por encima de los datos publicados por García [25], donde se menciona un rango de 37.5-44.1%, sugiriendo que las dietas utilizadas en el presente trabajo tuvieron un porcentaje de inclusión mayor al mencionado de FDN. Sin embargo, se obtuvo un valor de 42.8% de FDN en heces duras, cercano a los datos publicados por García [25] en el contenido cecal, mencionando un rango de 36.1-42.7%. Cabe mencionar que esta comparación puede no ser muy precisa, debido a que a nivel cecal se encuentran tanto heces duras como cecotrofos.

Las dietas altas en fibra han demostrado que incrementan la excreción en nitrógeno fecal [26] y por lo tanto se esperaría observar un alto porcentaje de PC en las heces duras y cecotrofos de la dieta 4, alta en FDN, dato que no concuerda con los resultados obtenidos (Tabla 2). Sin embargo, Halls [27] menciona que la digestibilidad de la proteína se ve influenciada por el crecimiento del conejo, el cual disminuye después del destete hasta alcanzar un nivel estable a las nueve semanas de edad, siendo la disminución más baja a las 5 semanas, que pudiera explicarse por el incremento en el consumo de alimento.

V. CONCLUSIONES

El nivel dietario de FDN no afectó la mayoría de las variables evaluadas y la cecotrofia permite el aprovechamiento digestivo de la proteína microbiana de los cecotrofos. Se debe seguir realizando investigación para entender de mejor manera el efecto del nivel de FDN sobre el aprovechamiento digestivo de los nutrientes que pueden ser evaluados indirectamente a través del análisis químico de las heces.

VI. AGRADECIMIENTOS

Al Dr. José Guadalupe Gómez Soto, los estudiantes Rolando Ramos, Mariana Rocha, Christian Narváez y Alberto Godoy su apoyo para llevar a cabo este estudio. A la Universidad Autónoma de Querétaro por permitir el desarrollo del proyecto y darme la oportunidad de formar equipo con estudiantes y docentes comprometidos y entusiastas por la investigación en nutrición animal.

REFERENCIAS

- [1] A. Payá, J. Payá, M. Pontes, "Requerimientos nutritivos del conejo". *Asociación española de cunicultura, III Symposium de cunicultura*, Valencia, España, pp. 65-78, marzo 1978.
- [2] FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. *High-level expert forum: How to feed the world in 2050*. Roma, Italia, 2009.
- [3] E. S. A. Méndez, *Conversión y eficiencia en la ganancia de peso con el uso de seis fuentes diferentes de ácido graso en conejos Nueva Zelanda* [Tesis]. Universidad de la Salle, Bogotá, Colombia, 2006.
- [4] SAGARPA. *Planeación Agrícola Nacional. Sorgo Grano Mexicano*. Disponible en https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/256433/B_sico-Sorgo_Grano.pdf. Fecha de consulta: 1 de agosto de 2019.
- [5] A. Stefoska-Needham, E. Beck, S. K. Johnson and L. C. Tapsell, "Sorghum: An Underutilized Cereal Whole Grain with the Potential to Assist in the Prevention of Chronic Disease", *Food Reviews International*, Vol. 31:4, pp. 401-437, April 2015.
- [6] R. Jambunathan and V. Subramanian, "Grain quality and utilization of sorghum and pearl millet", in *Proceedings of Biotechnology in tropical crop improvement. Proceedings of the International Biotechnology Workshop*, Patancheru, India, pp. 133-139, October 1988.
- [7] U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. 20xx. *USDA Branded Food Products Database*. Nutrient Data Laboratory Home Page, Release 27. 2014.
- [8] E. Ramírez, A.M. Anaya and G. Mariscal, "Predicting the chemical composition of sorghum grain by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS)", *Técnica Pecuaria en México*, Vol. 43, pp. 1-11, June-April 2005.

- [9] J.R.N. Taylor, T.J. Schober and S.R. Bean, "Novel food and non food uses for sorghum and millets", *Journal of Cereal Science*, Vol. 44, pp. 252-271, June 2006.
- [10] K.G. Duodu, J.R.N. Taylor, P.S. Belton, B.R. Hamaker, "Factors affecting sorghum protein digestibility", *Journal of Cereal Science*, Vol. 38, pp. 117-131, January 2003.
- [11] L. G. Butler, D. J. Riedl, D. G. Lebryk, H. J. Blytt, "Interaction of proteins with sorghum tannin: mechanism, specificity and significance", *Journal of the American Oil Chemistry Society*, Vol. 61, n. 5, pp. 916-920, 1984.
- [12] C. De Blas and J. Wiseman, *Nutrition of the Rabbit*, Ed. Commonwealth Agricultural Bureau Internaional, Wallingford, U.K., 2010.
- [13] C.A. Johnson-Delaney, "Anatomy and Physiology of the Rabbit and Rodent Gastrointestinal System", *Association of Avian Veterinarians*, pp. 9-17, January 2006.
- [14] H. Trowell, 1976. "Definition of dietary fiber and hypothesis that it is a protective factor in certain diseases", *Am J Clin Nutr*, Vol. 29, pp. 417-427, April 1976.
- [15] J. Van Soest, J. B. Robertson and B. A. Lewis, "Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition", *Journal of Dairy Science*, Vol. 74, pp 3583-3597, October 1991.
- [16] R. Carabaño, C. De Blas and A. I. García, "Recent advance in nitrogen nutrition in rabbits", *7th World Rabbit Congress*, World Rabbit Science, 8 sup. 1C, pp.
- [17] National Research Council. *Nutrient Requirements of Rabbits,: Second Revised Edition*. The National Academies Press, Washington, DC, 1997. <https://doi.org/10.17226/35>.
- [18] AOAC, Association Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis. 17th ed.* Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA, USA, 2002.
- [19] J. V. Bateman. *Nutrición animal: manual de métodos analíticos*, Herrero Hnos., Sucesores, S.A., México, 1970.
- [20] R. G. D. Steel and J. H. Torrie, *Principles and procedures of statistics. A biometrical approach*, 2nd Edition, McGraw-Hill Book Company, New York, 1980.
- [21] Rodríguez-Palenzuela, J. García and C. de Blas, "Fibra Soluble y su Implicación en nutrición animal: enzimas y probióticos", *XIV Curso de Especialización. Avances en nutrición y alimento animal*, 1998.
- [22] A. E. Halls, "Caecotrophy in rabbits", *Nutrifax.Nutrition News and Information Updates*, Shur-Gain, Nutreco Canada Inc, January 2008.
- [23] R. Carabaño, M. J. Fraga, G. Santomá and J. C. de Blas, "Effect of diet on composition of cecal contents and on excretion and composition of soft and hard feces of rabbits", *J Anim Sci*, Vol. 66, pp. 901-910, April 1988.
- [24] A. M. Pérez de Rosas, *Utilización de cepas de Bacteroides spp. Como probiótico en conejos*, [Tesis], Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, septiembre 2014.
- [25] J. García, J. C. De Blas, R. Carabaño, P. García, "Effect of type of lucerne hay on caecal fermentation and nitrogen contribution through caecotrophy in rabbits", *Reprod Nutr Dev*, Vol. 35, pp. 267-275, Madrid, Spain, February 1995.
- [26] M. R. Falcóm, J. M. Barrón, A. L. Romero and M. F. Domínguez, "Efecto adverso en la calidad proteica de los alimentos de fibra dietaria", *Revista Chil Nutr*, Vol. 38:3, pp. 369-375, septiembre 2011.
- [27] A. E. Halls, "Nutritional Requirements for Rabbits", *Shur-Grainn Nutreco Canada Inc.*, Canada, October 2010.

Evaluación de las condiciones de nixtamalización sobre las propiedades reológicas y físico químicas de las harinas instantáneas de maíz enriquecidas con diferentes fuentes de proteínas vegetales

Josué Esaú Cruz Espinoza

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista 23315,
Saltillo, Coah.
esau_29outlook.com

Asesor: Ma. Francisco Javier Espitia Orozco

Instituto Tecnológico Superior de Abasolo
Cuitzeo de 401 Cuitzeo de los Naranjos ,
36976 Los Naranjos, Abasolo, Gto.
Javier.espitia@tecabasolo.edu.mx

Resumen —Esta investigación tuvo como objetivo evaluar la influencia de distintas condiciones de nixtamalización en harinas enriquecidas con distintas fuentes de proteínas vegetales (chícharo, soya, amaranto), se realizaron dos formulaciones con nueve tratamientos cada una, a temperaturas de 85, 92, y 96°C con tiempos de reposo de 6, 12, y 16 horas a las cuales se les realizaron pruebas de absorción de agua y pruebas de textura como dureza y cohesividad, como muestra control se utilizó harina de maíz la marca MASECA, los tratamientos analizados presentaron una dureza de 4.3163 hasta 8.242 y una absorción de agua por debajo del control, se sigue trabajando con la investigación en el Instituto Tecnológico Superior de Abasolo.

Palabras clave — Nixtamalización, Dureza, Adsorción

Abstract - This research aimed to evaluate the influence of different nixtamalization conditions in flours enriched with different sources of vegetable proteins (pea, soy, amaranth), two formulations were made with nine treatments each, at temperatures of 85, 92, and 96 ° C with resting times of 6, 12, and 16 hours at which water absorption tests and texture tests such as hardness and cohesivity were performed, as control sample was used MASECA brand corn flour, the treatments analyzed They had a hardness of 4.3163 up to 8.242 and a beam absorption below the control, work is continuing with research at the Abasolo Institute of Technology.

Keywords - Nixtamalization, Hardness, Adsorption

I. INTRODUCCIÓN

El maíz es el cereal más importante a nivel mundial ya que este grano puede ser utilizado para consumo humano como para pecuario, es la base de la alimentación mexicana aparte que el maíz es una de las culturas más antiguas de México y este producto lo representa como país. Uno de los principales productos obtenidos del maíz es la tortilla, que es el resultado de pasar el maíz por un proceso de nixtamalización y base energética de la dieta, dicha dieta es de baja calidad y cantidad de proteína, es deficiente en dos aminoácidos lisina y triptófano que son esenciales para el ser humano es por ello que deben ser adquiridas a partir de la dieta diaria (Rodríguez-Martínez et al., 2015).

Es por ello que se buscan alternativas para desarrollar un alimento completo, hacer formulaciones con diferentes granos para obtener una masa con la consistencia adecuada para la elaboración de tortilla es una opción viable para mejorar su valor nutricional.

El grano soya entero es prometedor para ser introducido en la mezcla ya que es un grano de alto valor nutricional, propiedades funcionales deseables y bajo costo (Agrahar-Murugkar et al., 2015); estudios afirman que la el grano de soya mejora no solo la cantidad y calidad de las proteínas, sino también el consumo energético ya que es rico en lípidos (Bressani et al., 1978).

Sudha en el 2011 desarrollo una pasta a base de chícharos y amaranto mejorando el valor nutricional de este alimento, aumentando el porcentaje de proteína y adicionando fibras propias del amaranto. También obtuvo resultados positivos en la textura de la pasta.

Un factor importante para la elaboración de tortillas es la textura de la masa, esta debe de tener la consistencia adecuada para poder ser utilizada para la elaboración de tortillas.

En esta investigación se evaluó la influencia de las diferentes temperaturas y tiempos de reposo en el proceso de nixtamalización en las propiedades principalmente mecánicas y reológicas de una masa a base de maíz, soya, chícharo y amaranto.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Obtención de materia prima

Para la elaboración de los tratamientos a evaluar se utilizó maíz, chícharo seco, amaranto y grano de joya obtenidos en el mercado local de Abasolo Guanajuato, la muestra control de realizo utilizando harina de maíz de la marca MASECA.

B. Nixtamalización

Se utilizaron dos formulaciones con diferentes temperaturas y tiempos de reposo cada formulación.

Se utilizaron ollas de acero inoxidable, una balanza digital, una parrilla de gas, un termómetro, cal común.

Las muestras se nixtamalizaron en porciones de un kg, en la formulación optimas el amaranto fue nixtamalizado aparte con 5 y 2g de cal respectivamente y en la formulación triptófano todo junto utilizando 5g de cal, con sus temperaturas y tiempos de reposo respectivos.

Tabla 1. Distintas formulaciones de granos

Formulación optima	Formulación triptófano
Maíz 0.5%	Maíz 0.5%
Amaranto 0.14%	Amaranto 0.01%
Soya 0.35%	Soya 0.35%
Chícharo 0.01%	Chícharo 0.14%

Tabla 2. Condiciones de los tratamientos

Tratamiento Formulación optima	Temperatura	Tiempo de reposo (Maíz, chícharo, soya)	Tiempo de reposo (Amaranto)
TO1.1	85°C	6 h	2h
TO1.2	85°C	12h	4h
TO1.3	85°C	16h	6h
TO2.1	92°C	6h	2h
TO2.2	92°C	12h	4h
TO2.3	92°C	16h	6h
TO3.1	96°C	6h	2h
TO3.2	96°C	12h	4h
TO3.3	96°C	16h	6h
Tratamiento Formulación triptófano	Temperatura	Tiempo de reposo (Maíz, chícharo, soya)	Tiempo de reposo (Amaranto)
TT1.1	85°C	6 h	2h
TT1.2	85°C	12h	4h
TT1.3	85°C	16h	6h
TT2.1	92°C	6h	2h
TT2.2	92°C	12h	4h
TT2.3	92°C	16h	6h
TT3.1	96°C	6h	2h
TT3.2	96°C	12h	4h
TT3.3	96°C	16h	6h

C. Harina

Una vez nixtamalizados los granos se pasaron a moler en un molino manual para obtener la masa fresca colocándola en charolas de aluminio para posteriormente introducirlas en un horno de secado a 70°C/24h.

Una vez seca la masa se pasa por un molino manual y pasa por un tamiz para eliminar las partículas de mayor tamaño.

D. Pruebas de textura

Estas pruebas se llevaron a cabo guiándonos en Gasea-Mncera y Casas-Alencáster en el 2007, Para realizar estas pruebas se utilizó un texturometro brookfield ubicado en el laboratorio de industrias alimentarias en Abasolo, Guanajuato.

En las pruebas de dureza por penetración se utilizó un molde cilíndrico de pvc, con unas dimensiones de 2.5 cm de altura y 3.7 cm de diámetro, se preparó la masa y se llenó el molde después paso a una prensa por dos minutos, para evitar espacios de aire por últimos se desmoldo y dejo reposar por 15 minutos a temperatura ambiente.

Se utilizó un cono de acrílico de 70°, una velocidad de 2 mm s⁻¹ y una distancia de penetración de 1.5 cm (alrededor del 30% en relación a la altura de la muestra).

Las pruebas de perfil de textura se llevaron a cabo con muestras iguales a las anteriores, utilizando una base cilíndrica de acrílico con un diámetro de 7 cm, las muestras fueron

sometidas a dos ciclos de compresión con una deformación relativa aparente de 10, 25 y 40%, a una velocidad del cabezal de 1 mm s^{-1} con un tiempo de espera entre cada ciclo de 5 s. Las pruebas de perfil de textura están diseñadas para medir propiedades como elasticidad y cohesividad.

En las pruebas de dureza por penetración se utilizó un molde cilíndrico de pvc, con unas dimensiones de 2.5 cm de altura y 3.7 cm de diámetro, se preparó la masa y se llenó el molde después paso a una prensa por dos minutos, para evitar espacios de aire por últimos se desmoldo y deajo reposar por 15 minutos a temperatura ambiente.

Se utilizó un cono de acrílico de 70° , una velocidad de 2 mm s^{-1} y una distancia de penetración de 1.5 cm (alrededor del 30% en relación a la altura de la muestra).

Las pruebas de perfil de textura se llevaron a cabo con muestras iguales a las anteriores, utilizando una base cilíndrica de acrílico con un diámetro de 7 cm, las muestras fueron sometidas a dos ciclos de compresión con una deformación relativa aparente de 10, 25 y 40%, a una velocidad del cabezal de 1 mm s^{-1} con un tiempo de espera entre cada ciclo de 5 s. Las pruebas de perfil de textura están diseñadas para medir propiedades como elasticidad y cohesividad.

E. Capacidad de adsorción de agua subjetiva (CAAS)

Esta prueba se lleva a cabo para medir la cantidad de agua que se necesita obtener una masa con la consistencia adecuada para poder ser procesada. Se pesaron 50g de muestra a la cual se le agrego agua de forma gradual seguida de un amasado, hasta formar una masa con buena consistencia.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. Capacidad de adsorción de agua subjetiva

Tabla 3. Resultados de capacidad de adsorción de agua subjetiva

Formulación optima	Agua utilizada	Formulación triptófano	Agua utilizada
T1.1	45.33 ml	TT1.1	45.66 ml
TO1.2	51 ml	TT1.2	53.33 ml
TO1.3	46.33 ml	TT1.3	45.33 ml
TO2.1	45 ml	TT2.1	45 ml
TO2.2	49 ml	TT2.2	52 ml
TO2.3	41 ml	TT2.3	45.66 ml
TO3.1	42.33 ml	TT3.1	43.33 ml
TO3.2	41.66 ml	TT3.2	52.66 ml
TO3.3	40.33 ml	TT3.3	45.33 ml
Control	73.33		

En la tabla 3 se observa que los tratamientos analizados requieren una cantidad de agua significativamente menor a la muestra control que es de solo de maíz, los tratamientos con la formulación triptófano tuvieron mayor adsorción de agua debido a que esta formulación contiene mayor cantidad de granos ricos en almidón pero aun así fue menor a nuestro control.

Tabla 4. Promedios de resultados de dureza por penetración

Formulación optima	Dureza por penetración (N)	Formulación triptófano	Dureza por penetración (N)
T1.1	4.3163	TT1.1	7.556
TO1.2	4.5423	TT1.2	6.587
TO1.3	6.6666	TT1.3	9.463
TO2.1	4.699	TT2.1	6.585
TO2.2	4.302	TT2.2	5.787
TO2.3	5.1843	TT2.3	7.729
TO3.1	5.565	TT3.1	6.747
TO3.2	5.436	TT3.2	7.195
TO3.3	5.084	TT3.3	8.242
Control	3.7573		

En la tabla 4 se muestran los resultados de dureza por penetración en los que se puede observar que la muestra control fue menos dura que las demás, los tratamientos con la formulación optima fueron menos duras que las de triptófano, las temperaturas en el proceso de nixtamalización no influyeron ya que hay datos muy variados, los mejores tiempos de reposo fueron de 6 y 12 horas.

Faltaron realizar pruebas que por cuestiones de tiempo no se pudieron realizar, pero se sigue investigando en el Instituto Tecnológico Superior de Abasolo.

IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los tratamientos con formulación optima fueron los más cercanos en cuestión de textura a la muestra control pero aun así no son valores significativos, presentaron valores muy altos de dureza. Se recomienda que para trabajar con este tipo de muestras se trabaje de manera individual debido a que puedan existir variaciones en las pruebas y estas influyen en los resultados finales de la investigación.

V. RECONOCIMIENTOS (O AGRADECIMIENTOS)

Agradezco a CONACYT que nos dio la oportunidad de trabajar en otra universidad, ampliando y aplicando nuestros conocimientos y a la Universidad Autónoma Agraria Antonio

Narro que tiene convenio con este tipo de instituciones nos motiva a formar parte de proyectos con fin educativo. También agradezco a mi asesor Javier Espitia que me compartió parte de su trabajo, al laboratorista Adán que me apoyo en laboratorio, a mis compañeros Itzel, Malú, Brenda, Cruz, Iveth, Marco, Abigail por acogerme en su universidad yapoyarme en toda mi estancia.

REFERENCIAS

- Rodríguez-Martínez, N. A., Salazar-García, M. G., Ramírez-Wong, B., Islas-Rubio, A. R., Platt-Lucero, L. C., Morales-Rosas, I., ... & Martínez-Bustos, F. (2015). Effect of malting and nixtamalization processes on the physicochemical properties of instant extruded corn flour and tortilla quality. *Plant foods for human nutrition*, 70(3), 275-280.
- Bressani, R., Elías, L. G., & Braham, J. E. (1978). Improvement of the protein quality of corn with soybean protein. In *Nutritional Improvement of Food and Feed Proteins* (pp. 29- 65). Springer, Boston, MA.
- Agrahar-Murugkar, D., Gulati, P., Kotwaliwale, N., & Gupta, C. (2015). Evaluation of nutritional, textural and particle size characteristics of dough and biscuits made from composite flours containing sprouted and malted ingredients. *Journal of food science and technology*, 52(8), 5129-5137.
- Sudha, M. L., & Leelavathi, K. (2012). Effect of blends of dehydrated green pea flour and amaranth seed flour on the rheological, microstructure and pasta making quality. *Journal of food science and technology*, 49(6), 713-720.
- Gasca-Mancera, J. C., & Casas-Alencáster, N. B. (2007). Adición de harina de maíz nixtamalizado a masa fresca de maíz nixtamalizado. Efecto en las propiedades texturales de masa y tortilla. *Revista mexicana de ingeniería química*, 6(3), 317-328.

Evaluación de las propiedades físicas y químicas de semilla de calabaza

Ania Guadalupe Isidro Luis

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Calzada Antonio Narro 1923
C.P.23315, Buenavista, Saltillo, Coah.
ania.gpe.06110@gmail.com

Asesora: Laura Araceli López Martínez

Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Facultad de Ingeniería
Av. Dr. Salvador Nava s/n
C.P. 78290, San Luis Potosí, S.L.P.
araceli.lopez@uaslp.mx

Resumen — El uso de semilla de calabaza no ha sido explotado, se decidió dar un aprovechamiento realizando panques con harina de semilla de calabaza e implementando una película para aumentar la vida de anaquel. La película que mostró mejores resultados fue en el experimento 7 y 10. Estas formulaciones mostraron que los panques no ganaron ni perdieron humedad, la Aw no fue alta, además los valores de textura fueron intermedios. Esta investigación es preliminar, hacen falta experimentos para mejorar el producto y películas. Se pretendía evaluar las propiedades físicas y químicas de semilla de calabaza, sin embargo, se encontró atractivo darle una aplicación, con un título; “Aplicación de recubrimientos comestibles a panques a base de semilla de calabaza para alargar su vida de anaquel”.

Palabras clave — Películas, recubrimientos comestibles, panques

Abstract — The use of pumpkin seed has not been exploited, it was decided to take advantage by making pancakes with pumpkin seed flour and implementing a film to increase the shelf life. The film that showed the best results was in experiment 7 and 10. These formulations showed that the pancakes did not gain or lose moisture, the Aw was not high, and the texture values were intermediate. This research is preliminary, experiments are needed to improve the product and films. It was intended to evaluate the physical and chemical properties of pumpkin seed, however, it was found attractive.

Keywords — Films, edible coatings, pancakes.

I. INTRODUCCIÓN

Los polímeros sintéticos a base de petróleo se han usado actualmente ampliamente, un ejemplo de esto son los materiales de embalaje que causan grandes problemas ambientales debido a que no son biodegradables en corto tiempo. Hay cierto interés en desarrollar nuevos materiales de embalaje, basados en biopolímeros para sustituir a los polímeros sintéticos a base de petróleo, los biopolímeros son amigables con el medio ambiente, presentan bajo costo y son renovables [1]. Para poder decir que el embalaje es adecuado debe ser apto para conservar la vida de anaquel del producto por largos tiempos. Para que la vida de anaquel en los alimentos sea adecuada, se debe de controlar la pérdida de agua de los alimentos, controlar la respiración, retrasar el envejecimiento, así como mantener los atributos de calidad. Una opción para lograr estos atributos son los bioempaques comestibles.

Una modalidad de un bioempaque comestible se puede definir como una matriz transparente continua, comestible y delgada, que se estructura alrededor de un alimento mediante la inmersión de este en una solución formadora del bioempaque con el fin de preservar su calidad y servir como barrera de protección para prevenir el deterioro del

alimento. Las soluciones formadoras del bioempaques pueden estar conformadas por un carbohidrato de alto peso molecular, un compuesto de naturaleza proteica, lipídica o por una mezcla de éstos, que actúan sobre el alimento como barrera frente al transporte de gases y vapor de agua durante su conservación [2]. Para la formación de estos materiales los carbohidratos actúan como gelificantes, espesantes, estabilizantes y se obtienen a través de vegetales, algas y microorganismos. Para la formación del bioempaques es necesario adicionar plastificantes naturales para poder mejorar las propiedades mecánicas como pueden ser polioles que contribuyen en reducir los enlaces intermoleculares entre las cadenas de las moléculas de los biopolímeros [3]. Estos bioempaques pueden ser aplicados en un gran número de productos perecederos como son frutas, hortalizas, quesos e incluso productos de panificación.

En cuanto al consumo de productos de panificación en la actualidad este se ha visto muy limitado por considerarse como perjudiciales para la salud, por su alto contenido en carbohidratos y grasa resultando en un elevado aporte calórico. Por lo tanto ha sido necesario buscar alternativas en cuanto a sus ingredientes que sean agradables para el consumidor pero también nutritivas. Una opción derivada de esta necesidad a sido el empleo de la semilla de calabaza como materia prima para la obtención de harina y aceite para la elaboración de productos de panificación. La semilla de calabaza tiene propiedades nutrimentales importantes tiene 50% de aceite, 33% de proteína, entre 7.69 -10% de carbohidratos y 4.4% de fibra dietética. Cuenta también con minerales como el cobre, zinc, hierro, manganeso, magnesio, sodio, calcio, potasio y fósforo y algunas vitaminas como la E y la provitamina A. El aceite en su mayoría se compone de ácidos grasos insaturados (AGI) (76 - 80%). De estos un 20.8 - 30.1% son ácidos grasos monoinsaturados y entre el 55.6 y 60.15% son ácidos grasos polinsaturados. A la semilla de calabaza se le atribuyen algunos beneficios como propiedades antidiabéticas, antiinflamatorio y efectos antioxidantes [4,5]

Considerando las nuevas tendencias de los consumidores de tener acceso a preparar alimentos fáciles, seguros, con propiedades biológicas, y nutritivos, sin perder las características sensoriales de frescura de un alimento es que realizar un producto de panificación con la semilla de calabaza, que no están ampliamente industrializadas, así como conservarlos con el uso de bioempaques comestibles para incrementar la vida de anaquel y contribuir a conservar el ambiente es una opción adecuada a este respecto [6].

II. MATERIALES Y MÉTODOS

A. *Elaboración de panques a base de semilla de calabaza*

Se realizó la molienda de la semilla de calabaza sin cáscara con ayuda de un molino manual (Estrella, México) para la elaboración de la harina de semilla de calabaza. Los panques se realizaron mezclando azúcar, royal, splenda, huevos y la harina, como principal ingrediente en las proporciones que se muestran en la tabla 1. Una vez obtenida la mezcla se puso en moldes de panque y se hornearon en un horno de acero inoxidable (INMEZA HUGMi, México) a una temperatura de 150°C por un tiempo de 30 min.

Tabla 1. Formulación de panques de semilla de calabaza

Ingredientes	Cantidad en gr.
Harina de semilla sin cascara	304gr
Royal	8gr
Splenda	28gr
Claras de huevo	120gr
Yema de huevo	40gr

B. Preparación de bioempaques

Se estructuró un bioempaques comestible a base de carbohidratos de alto peso molecular (C1 y C2) como material gelatinizante y polimérico, así como una proteína (P) para favorecer la capacidad impermeable del material estructurado como medio para inhibir o retrasar el crecimiento de hongos y de numerosas bacterias patógenas en la superficie del producto. Para este estudio se realizó un diseño de mezclas de 3 ingredientes para evaluar el efecto de los materiales estructurantes sobre el bioempaques a desarrollar y aplicar en el producto elaborado. Obteniéndose un total de 12 formulaciones a evaluar (Tabla 2). La estructuración del bioempaques se realizó con la disolución en agua de los sólidos correspondientes (C1, C2 y P) con agitación constante hasta formar un sistema homogéneo.

Tabla 2. Formulaciones para la elaboración de películas comestibles

Exp	C1 (%)	P (%)	C2 (%)
1	100	0	0
2	50	50	0
3	50	0	50
4	0	100	0
5	0	50	50
6	0	0	100
7	67	16.5	16.5
8	16.5	67	16.5
9	16.5	16.5	67
10	33	33	33
11	0	0	100
12	100	0	0

C. Aplicación de la película comestible al producto

Para determinar la cantidad de solución para estructurar el bioempaques en el producto, este se modeló como un casquete para determinar el volumen y así determinar los gramos del bioempaques a aplicar. La solución para la estructuración del material de empaque se aplicó manualmente con la ayuda de una brocha y posteriormente se seco en estufa de convección a una temperatura de 60°C por 40 minutos y se evaluó el producto.

D. Prueba de textura

Se realizó una prueba de compresión a cada muestra evaluada con la ayuda de un texturometro (Brookfield analizador de textura CT3, Estado Unidos), utilizando una sonda cilíndrica de acrílico. La compresión se realizó a 10 mm de penetración a una velocidad de 5 mm/s por triplicado

E. Determinación de actividad de agua (Aw)

La Aw de las muestras se midieron con un AquaLab (PRE, España), usando sales estándar de calibración con valores conocidos de 0,500 y 0,984. Las mediciones se realizaron por triplicado

F. Determinación de humedad

Se utilizó el método gravimétrico en el cuál en charolas de aluminio a peso constante cada se colocaron 2 gr de muestra (Wi). Posteriormente se secan en una estufa a 110°C por 2 h. Las muestras se dejaron enfriar en un desecador por 20 min. Finalmente se pesan las muestras secas (Wf). El contenido de humedad se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{W_i - W_f}{W_i} \times 100 \quad (1)$$

El análisis se realizó por triplicado.

III. RESULTADOS

En esta investigación se estudió el efecto del uso de un bioempaque comestible para conservar las características sensoriales de un pan novedoso elaborado a partir de semilla de calabaza. Los resultados se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Tabla de resultados

Exp.	% Humedad	Aw	Textura
1	30.16	1.00	950.50
2	26.36	0.74	1134
3	28.20	0.98	1045
4	26.20	0.97	1021
5	28.05	0.97	902
6	28.60	0.98	1185
7	30.59	1.00	1006
8	26.71	0.98	1250
9	29.91	1.00	974
10	27.42	0.99	1179
11	27.56	0.97	983
12	26.62	0.77	1088
Control	24.80	0.97	962

IV. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En lo referente a la aplicación del bioempaque sobre el producto se pudo observar que existió una diferencia en cuanto a la estructuración de este con base a su composición, siendo evidente que en las formulaciones donde C2 no estuvo presente, el bioempaque no se estructuró de forma correcta a la superficie del producto y fácilmente se podía desprender.

En las formulaciones que solo contenían P la solución quedó muy líquida dificultando su aplicación y no se estructuró el recubrimiento. Las formulaciones con C1 fueron soluciones muy viscosas lo que dificultó también su aplicación en la superficie y que nuevamente no se estructurara correctamente el material. Fueron las formulaciones donde con mayor porcentaje de C2 o en las que los tres componentes estaban en proporciones iguales las que permitieron estructurar correctamente el bioempaqué en el producto. Las formulaciones 3, 6, 8 y 9 presentaron desprendimiento de los bioempaques al momento de su manipulación para la realización de los análisis propuestos verificando nuevamente que estos bioempaques no fueron adecuados para estas muestras, por la facilidad con que se separaron de la superficie del producto. Esto nos indica que las proporciones de materia prima con las que fueron elaboradas estas películas no son las adecuadas para proteger este producto específico. Las formulaciones 7 y 10 fueron las que tuvieron una viscosidad adecuada para aplicarse al producto, además de una vez que se estructuró contribuyó a mejorar la apariencia visual de este dando un aspecto más brillante.

En cuanto a la determinación de la humedad la muestra control presentó una mayor pérdida de esta, incluso visualmente se alcanzaba a ver que el producto estaba más reseco en su superficie. Sin embargo su actividad de agua fue alta. Los bioempaques que ayudaron en que no existiera ni ganancia ni pérdida de humedad con el ambiente (no cambio su peso inicial con respecto a su peso final) fueron la 1, 6, 7,8, 9, 10 y 11. Incluso las muestras 1, 9 y 11 tuvieron una textura suave similar al control. Sin embargo las actividades de agua de las muestras 1 y 9 fueron muy altas, lo que no es un resultado favorable y lo que nos estaría indicando que probablemente la alta humedad esté relacionada con los bajos valores de textura indicando un pan blando no agradable para el consumidor. Las menores actividades de agua se observaron 2 y 12, sin embargo la humedad aumento, lo que nos indica que muy probablemente el bioempaqué si forma una barrera impermeable y que la humedad que este tiene migra hacia el producto dando como resultado una ganancia de humedad, además de que es una película muy difícil de colocar y no brinda características visuales muy atractivas al producto.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En esta investigación se concluye que la mayoría de las formulaciones evaluadas para estructurar el bioempaqué contribuyeron a que no existiera pérdida ni ganancia de humedad en el producto, esto es un resultado favorable ya que contribuye a aumentar la vida de anaquel de estos. La mejor formulación fue la del experimento 7 que contenía y el experimento 10. En estas formulaciones no existió ni ganancia ni pérdida de humedad, la actividad de agua no fue tan alta, además de que los valores de textura fueron intermedios. Estos resultados son preliminares, se tiene que realizar mayor investigación para evaluar la funcionalidad de estos bioempaques, continuando con análisis sensorial para determinar la aceptación por parte de los consumidores, además de realizar estudios de vida de anaquel acelerada. Finalmente otra área de oportunidad es trabajar en la optimización de la formulación del pan para que contribuya a mejorar sus características organolépticas y nutrimentales.

VI. AGRADECIMIENTOS

Agradezco al CONACYT y a la Universidad Autónoma Agraria de Antonio Narro, por darme la oportunidad de hacer una estancia de investigación, en la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, con el objetivo de aportar nuevos conocimientos. También agradezco a mi asesora principal la Dra. Laura Araceli López Martínez, así como a la Dra. Claudia Álvarez Salas, al Dr. Héctor Reynoso Ponce, a la Ing. Magdalena Alvarado Galván y a Brenda por sus valiosas aportaciones a este trabajo, por facilitarme sus laboratorios y de igual manera agradezco por su amabilidad, solidaridad, confianza y paciencia.

REFERENCIAS

- [1] Chaichi, M. (2016) Preparation and characterization of a novel bionanocomposite edible film based on pectin and crystalline nanocellulose. *Revista Carbohydrate Polymers*, vol. 127 (167-175).
- [2] Fernández, D (2015) Películas y recubrimientos comestibles: una alternativa favorable en la conservación poscosecha de frutas y hortalizas. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*. Vol. 24, núm. 3.
- [3] Domínguez, M.F. (2012) Películas comestibles formuladas con polisacáridos: propiedades y aplicaciones. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*. vol. 6, núm. 2.
- [4] Hernández, M. Á. (2006). Determinación del tamaño adecuado de parcela experimental en calabaza pipiana (*Cucurbita argyrosperma* Huber var. *stenosperma*). *Revista Mexicana*, 29(4), 339-348.
- [5] López, H. O. (2009). López Hernández, O. D., Márquez ConExtracción de lípidos de las semillas de *Cucurbita pepo* L.(calabaza). *Revista Cubana de Plantas Medicinales.*, 14(2).
- [6] De Ancos, B. (2015) Uso de películas/recubrimientos comestibles en los productos de IV y V gama. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, vol.16, num.1, pp.8-17,

Evaluación in vivo de hongos fitopatógenos en hortalizas para productores de INFOOD

Daniela León Ramírez

Universidad Politécnica Bicentenario
Carr. Silao-Romita km 2,
Col. San Juan de los Duran C.P 36283.
15030337@upbicentenario.edu.mx

Asesor:

Christian Salvador Mendoza Hernández

Universidad Politécnica Bicentenario
Carr. Silao-Romita km 2,
Col. San Juan de los Duran C.P 36283.
cmendozah@upbicentenario.edu.mx

Resumen — En Guanajuato los productores de pimiento en la empresa INFOOD con problemas de “secadera”, requieren de estrategias para enfrentar esta enfermedad. De raíces de plántulas de estos invernaderos se aislaron tres hongos *Fusarium oxisporum*, *Phytophthora capsici* y *Alternaria solani* identificados por morfología colonial y microscópica. El experimento consistió en plántulas pimiento morrón var. Dársena con 45 días en invernadero a T promedio 25°C en cámara húmeda con diseño al azar. Los tratamientos fueron: testigo, *F. oxisporum* (F), *P. capsici* (P) y *A. solani* (A), sin microorganismos benéficos. 3 cepas *Bacillus subtilis* B1, B2 y B3; dos inóculos de micorrizas M1 y M2, sin y con fitopatógenos (2 ml suspensiones con 1×10^5 conidias/ml de F, P y A) con 3 repeticiones. Se evaluó % de incidencia de enfermedad (I), peso seco de follaje (PS) y área foliar (AF). Los resultados muestran 0% de incidencia de enfermedad en B1 Y B3 con *A. solani*; B2 con *P. capsici* y *F. oxisporum*. Así como en M2 con F y A. Mientras B2 presentó mayor AF (125 cm^2) en plantas con F y el PSF fue afectado significativamente solo en M1 y *F. oxisporum* (0.10g) (Minitab 15 DMS 0.05). Esto sugiere que la protección depende de cepas de microorganismos benéficos y el hongo a controlar.

Palabras clave — Hongos, Secadera, Pimientos

Abstract — In Guanajuato, pepper producers in the INFOOD company with “dryer” problems require strategies to deal with this disease. Three *Fusarium oxisporum*, *Phytophthora capsici* and *Alternaria solani* fungi identified by colonial and microscopic morphology were isolated from seedling roots of these greenhouses. The experiment consisted of seedlings of bell pepper var. Dársena with 45 days in the greenhouse at an average T 25 ° C in a humid chamber with a random design. The treatments were: control, *F. oxisporum* (F), *P. capsici* (P) and *A. solani* (A), without beneficial microorganisms. 3 strains *Bacillus subtilis* B1, B2 and B3; two inocula of mycorrhizae M1 and M2, without and with phytopathogens (2 ml suspensions with 1×10^5 conidia / ml of F, P and A) with 3 repetitions. % Incidence of disease (I), dry foliage weight (PS) and leaf area (AF) were evaluated. The results show 0% incidence of disease in B1 and B3 with *A. solani*; B2 with *P. capsici* and *F. oxisporum*. As in M2 with F and A. While B2 presented greater AF (125 cm^2) in plants with F and PSF was significantly affected only in M1 and *F. oxisporum* (0.10g) (Minitab 15 DMS 0.05). This suggests that protection depends on strains of beneficial microorganisms and the fungus to be controlled.

Keywords — Fungi, Dryer, Peppers.

I. INTRODUCCIÓN

Los agricultores utilizan productos químicos con el consecuente aumento en los costos de producción y pérdidas económicas que conducen al abandono de cultivo. (Lozano-Alejo et al, 2014). Las aplicaciones de funguicidas en la mayoría de los casos no son suficientes para el control de la enfermedad si las condiciones son favorables para el desarrollo de esta, por lo cual se buscan nuevas alternativas de control. (Akgül y Mirik, 2008).

Una problemática fitosanitaria muy aguda desde hace varias décadas que sufre el cultivo de chile pimiento es la marchitez de las plantas. (Hernández, et al, 2010). Las pérdidas ocasionadas varían del 40% al 100%, el daño se manifiesta en bajo rendimiento y disminución de la calidad, y con ello un costo elevado de inversión por el alto número de aplicaciones de productos químicos. (Macías, et al, 2010). Se ha asociado esta problemática a diferentes microorganismos como *Fusarium oxisporum*, *Phytophthora capsici*, *Alternaria solani* y *Rhizoctonia solani*.

Como consecuencia, algunas regiones productoras importantes han disminuido su superficie de siembra o la producción se ha desplazado a nuevas áreas (Guijón y González, 2001).

Se ha señalado al hongo *Phytophthora capsici* como el único agente causal de la secadera o marchitez de las plantas de chile, existen algunos estudios que han indicado que otros hongos fitopatógenos comúnmente aislados de raíces enfermas de plantas de chile, pudieran estar involucrados en la producción del síndrome de la enfermedad. (Velásquez, Medina y Luna 2001).

La especie de Bacillus antagonista son una alternativa para el control de fitopatógenos, causantes de enfermedades en cultivos como el chile (Mejia,2016).

La infección se presenta en las raíces o en la base del tallo; los órganos de la planta al ser afectados muestran una pudrición suave, acuosa e inodora, y tejidos de color pardo oscuro (INIFAP 2010).

II. MARCO TEÓRICO (OPCIONAL)

México cuenta con una producción de 104.4 mil toneladas, con un valor de mil 491 millones de pesos. Sus principales estados productores son Guanajuato, Jalisco, Querétaro, Durango y Coahuila, con esto se posiciona en el segundo lugar de producción de pimiento en el mundo, siendo superado por China. El importador más fuerte es Estados Unidos con un 90% de las exportaciones. (Seminis, 2017).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Los tratamientos se realizaron en los invernaderos de la Ingeniería en Agroecología de la Universidad Politécnica del Bicentenario, ubicada en el municipio de Silao de la Victoria (entre los paralelos 21°10' y 20° 47' de latitud norte; los meridianos 101°19' y 101° 35' de longitud oeste; altitud entre 1700 y 2700m), Guanajuato, México.

Se utilizó un aislamiento de 3 hongos fitopatógenos que se encontraron en los invernaderos de INFOOD los cuales son: *Fusarium oxisporum* (F), *Phytophthora capsici* (P) y *Aletenaria solani* (A), que se identificaron a través de microscopía y morfología colonial

El experimento consistió en plántulas de pimiento variedad, Dársena con 45 días en invernadero.

El trabajo parte de la germinación de las semillas variedad. Dársena con la que se evaluaron los tratamientos. Las plántulas crecieron en vasos con un radio de 3 in, con peat moos y vermiculita, como sustrato.

Los 45 días de riego se realizó con agua destilada, 15 días después de la germinación y hasta su terminación se fertilizaron con una solución nutritiva “Long – Hasthon”: KNO₃ 0.08 gr ; MgSO₄ 0.0022 gr; H₃PO₄ 0.00310 gr; FeSO₄ 1%; (NH₄)₆Mo₇O₂₄ 0.00590 gr; ZnSO₄ 0.00029 gr; CuSO₄ 0.00025 gr; NaCl 0.00590 gr; NaH₂PO₄ 0.18 gr; Ca(NO₃)₂ 0.944 gr.

Al mismo tiempo se aplicaron los tratamientos preventivos de Bacillus subtilis (B1) 1.5gr; Bacillus subtilis (B2) 2ml; Bacillus subtilis (B3) 1 ml; Micorrizas (M1) 0.05gr; Consorcio de Micorrizas (M2) 0.05 gr, cada 15 días.

Se mantuvo en una temperatura aproximada de 25° C, dentro de una cámara húmeda con diseño al azar.

A los 20 días de su crecimiento se infectaron con los patógenos previamente desarrollados en caldo de papa liquido (PDA), 2 ml suspensiones con 1X10⁵ conidias/ml de Fusarium oxisporum (F), Phytophthora capsici (P) y Aletenaria solani (A).

La infección se realizó con una incisión con bisturí en el tallo, hoja y raíz de la plántula de pimiento var, Dársena.

IV. RESULTADOS

Los resultados muestran 0% de incidencia de enfermedad en B1 Y B3 con A.solani; B2 con P.capsici y F. oxisporum. Así como en M2 con F y A. Mientras B2 presentó mayor AF (125cm²) en plantas con F y el PSF fue afectado significativamente solo en M1 y F. oxisporum (0.10g) (Minitab 15 DMS 0.05).

En las siguientes imágenes se pueden observar en la Fig.1 Plántulas variedad Dársena en invernaderos; Fig.2 cámara de humedad; Fig.3 Plántulas con tratamientos, B1(A), B2 (F), B3(P); Fig.4 Plántulas con tratamientos, M1(P), M2 (P); Fig.5 Testigos; Fig.6 Tratamientos B1(A), Tratamiento B2(F), Tratamiento B3(P), Tratamiento M1(P), Tratamiento M2(P), testigos; Fig.7 raíz de plantula; Fig.8 Medicion de tallo de la plantula; Fig.9 Infección de la plántulas .



Fig.1



Fig.2



Fig.3



Fig.4

Fig.5

Fig.6



Fig.7

Fig.8

Fig.9

V. CONCLUSIONES

Esto sugiere que la protección depende de cepas de microorganismos benéficos y el hongo a controlar.

VI. RECONOCIMIENTOS (O AGRADECIMIENTOS)

Expreso mi agradecimiento a la Universidad Politécnica Bicentenario, por brindarme las instalaciones materiales y conocimientos, para la realización de esta investigación.

A mi asesor Christian Salvador Mendoza Hernández, por siempre motivarme y exigirme hasta el límite para lograr cada uno de mis objetivos.

De igual manera a mi mentora Ma. Eugenia Salas Galván por siempre creer en mí, y enseñarme el maravilloso mundo de la investigación, la fitopatología y la botánica.

También al profesor Hugo Alberto Velázquez Ruiz que me ha impulsado en mi desarrollo académico con cada una de sus consejos y asesoramiento.

A José Luis Moreno Ortiz laboratorista de ingeniería en agrotecnología por brindarme su servicio en mi estancia en laboratorio.

Y, por último, pero no menos importante a mis fieles compañeras de investigación Karina del Rocío Buzo Reyes y Gabriela Huera Zacarías.

REFERENCIAS

Seminis. (2019). *El éxito e importancia del pimiento en el campo mexicano - Seminis*. [online] Available at: <https://www.seminis.mx/el-exito-e-importancia-del-pimiento-en-el-campo-mexicano/> [Accessed 30 Aug. 2019].

Anon, (2019). .

Inta.gob.ar. (2019). https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta-guia_identificacion_de_las_enfermedades_de_pimiento_en_invernadero.pdf. [online] Available at: <https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta->

guia_identificacion_de_las_enfermedades_de_pimiento_en_invernadero.pdf [Accessed 31 Aug. 2019].

Redalyc.org. (2019). [online] Available at: <http://www.redalyc.org/pdf/302/30251182006.pdf> [Accessed 31 Aug. 2019].

Uaaan.mx. (2019). [online] Available at:

http://www.uaaan.mx/transparencia/images/documentos/art70/Fracc_XLI/2018/Dr_Gabriel_Gallagos_Morales_38111-425101001-2255.pdf [Accessed 31 Aug. 2019].

Zacatecas.inifap.gob.mx. (2019). [online] Available at:

<http://www.zacatecas.inifap.gob.mx/publicaciones/Folleto%20Tecnico%2090.pdf> [Accessed 31 Aug. 2019].

Extracción y caracterización de macromoléculas de origen animal para la fortificación de alimentos

Mauricio Serrano Ramírez

Universidad Autónoma de Aguascalientes
Av. Universidad #940, C.P. 20010,
Aguascalientes, Ags.
mau.sermirez@gmail.com

Asesor: Carlos Hernán Herrera Cortez

Universidad de Guanajuato
El mayorazgo Calle Zaragoza # 749. C.P. 38900,
Zona centro, Salvatierra, Gto.
caherhe@hotmail.com

Resumen — En este trabajo se presenta el contenido promedio de proteínas miofibrilares y sarcoplasmicas obtenido a partir de dos extracciones sucesivas a carne de res obtenida de retazos de carnicerías de la región, con el fin de cuantificar su concentración proteica mediante la realización del ensayo de proteínas de Bradford obteniendo una concentración promedio de 344.33 µg/ml para miofibrilares y 57.83 µg/ml para sarcoplasmicas; así como el desarrollo de una electroforesis para lograr separar las proteínas por su peso molecular y al compararlas con un estándar de proteínas lograr conocer las proteínas contenidas en los extractos, con el fin de que en trabajos posteriores se utilice esta investigación como base para su posible incorporación a la fortificación de alimentos.

Palabras clave — Miofibrilares, Sarcoplasmicas, carne de res.

Abstract — In this work is presented the average content of myofibrillary and sarcoplasmic proteins, getting from two successive extractions to beef meat obtained from scraps given by regional butcheries, in order to quantify its protein concentration by performing the Bradford Protein Assay, getting an average concentration of 344.33 µg/ml for myofibrillary proteins and 57.83 µg/ml for sarcoplasmic proteins; as well as the development of an electrophoresis to achieve separating proteins by their molecular weight and, comparing them with a protein standard, to achieve recognizing the proteins contained in the extracts, with the final purpose that in later works this research will be used as a basis for a possible incorporation to food fortification.

Keywords — Myofibrillary, Sarcoplasmic, Beef meat

I. INTRODUCCIÓN

El Codex Alimentarius define la carne como “todas las partes de un animal que han sido dictaminadas como inocuas y aptas para el consumo humano o se destinan para este fin”. La carne se compone de agua, proteínas y aminoácidos, minerales, grasas y ácidos grasos, vitaminas y otros componentes bioactivos, así como pequeñas cantidades de carbohidratos. [1]

De esta definición el producto de interés serán las proteínas en particular dos grupos, las miofibrilares y sarcoplasmicas; las proteínas miofibrilares o proteínas contráctiles son las que conforman estructuralmente el tejido muscular y además las que transforman la energía química en mecánica durante la contracción y relajación de los distintos músculos. Son solubles en soluciones salinas concentradas, miosina: estructura helicoidal con 55% de α -hélice, con peso molecular de 4800000 Dalton, rica en lisina y ácido glutámico; Actina: presenta 2 fracciones la G (actina globular) y la F (actina fibrosa), la G tiene un peso molecular de 46000 Dalton y consta de 450 amino ácidos, esférica, la F se produce por una polimerización de la G en presencia de magnesio y se combina con la miosina

para formar la actomiosina. Tropomiosina: peso molecular de 70000, construyen fibrillas polimerizadas en complejos con actina F en los filamentos delgados. [2]

Por otra parte las proteínas sarcoplasmicas son principalmente globulinas y albuminas las cuales son endocelulares e hidrosolubles. Constituyen la masa fluida que baña a las miofibrillas, proporcionándole energía y capacidad de sintetizar proteína y haciendo posible la eliminación de ciertos desechos metabólicos. [3]

Por lo tanto el objetivo de este proyecto al extraer y caracterizar estas proteínas tiene como finalidad ser parte de un proyecto mayor el cual tendrá como objetivo utilizar estos extractos de proteínas sarcoplasmicas y miofibrilares para la fortificación de alimentos.

II. MARCO TEÓRICO

Método de Bradford: Se basa en la unión de un colorante, Comassie Blue G-250 (también Serva Blue) a las proteínas. El colorante, en solución ácida, existe en dos formas una azul y otra naranja. Las proteínas se unen a la forma azul para formar un complejo proteína-colorante con un coeficiente de extinción mayor que el colorante libre. Este método es sensible (1-15 µg), simple, rápido, barato y pocas sustancias interfieren en su determinación. Entre las sustancias que interfieren están los detergentes y las soluciones básicas. [4]

PAGE-SDS: Permite el cálculo de parámetros moleculares (al contrario que el resto de los tipos de electroforesis), pues los complejos SDS-proteína se separan estrictamente según su tamaño molecular. El SDS interacciona con las proteínas formando complejos de características comunes independientemente de las de cada proteína. Las proteínas unen una molécula de SDS por cada dos aminoácidos, lo que implica que las cargas propias de las proteínas quedan enmascaradas o anuladas; asimismo, la molécula de SDS proporciona una carga negativa, por lo que los complejos SDS-proteína están cargados negativamente de forma uniforme (la carga por unidad de masa es prácticamente constante para todos los complejos). Como ya se ha comentado, la movilidad electroforética en una PAGE es función del tamaño y de la carga por unidad de masa; como ésta es constante para todos los complejos SDS-proteína (que, además, tienen la misma forma elipsoide), esta movilidad es solamente función de la masa molecular, es decir, cuanto menor sea la masa molecular de la proteína, mayor será la movilidad de la misma y viceversa. [5]

III. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Extracción de proteínas

10 gr. de carne de res

Tampón: Tris 0.03 M, KCl 0.06 M, agua destilada, a pH 7.3

Para realizar la extracción de proteínas se pesan 10 gr. de carne de res y se toman 300 ml del tampón, se homogeneizaron en una licuadora Oster modelo best 02-E01 durante 30 segundos, una vez homogeneizado se centrifugo a 3914g por 30 minutos en una centrifuga marca HERMLE modelo Z323K, se colecto el sobrenadante el cual es el extracto de

proteínas miofibrilares; se pesó el precipitado para añadirle la solución tampón en una relación 1:10, se homogeneizó el precipitado y el tampón en la misma licuadora durante 45 segundos, una vez homogeneizado se centrifugó a 3914g por 30 minutos, se colectó el sobrenadante el cual es el extracto de proteínas sarcoplasmicas y se descartó el precipitado.

B. *Cuantificación de proteínas método de Bradford*

Bio-Rad Protein Assay

Patrón de albumina bovina

Extractos de proteínas miofibrilares y sarcoplasmicas

Agua destilada

Tampón: Tris 0.03 M, KCl 0.06 M, agua destilada, a pH 7.3

Patrón: Se preparó una solución de 1 mg del patrón de albumina bovina en 1 ml de agua destilada para la curva patrón.

Se preparó una solución 1:4 de Bio-Rad Protein Assay

Se preparó la curva patrón de albumina bovina en un rango de 0 a 50 µg haciendo que se tenga un volumen final de 300 µl. Se realizaron diluciones 1,1:5, 1:20 y 1:50 de los extractos de proteínas miofibrilares y sarcoplasmicas con la solución tampón y se tomaron 300 µl de cada dilución y se colocaron en un tubo de ensaye, finalmente se añaden 5 ml de la solución 1:4 de Bio-Rad Protein Assay a todos los tubos, se agitan y se toman 240 µl de cada tubo y se coloca cada muestra en un pocillo de una microplaca para ser leído a 595 nm en un espectrofotómetro lector de microplacas marca Bio-Rad modelo imark.

C. *Electroforesis en gel de poliacrilamida SDS PAGE*

Tampón de extracción: Tris 0.03 M, KCl 0.06 M, agua destilada, a pH 7.3

Extractos de proteínas miofibrilares y sarcoplasmicas

Gel de electroforesis: se preparó de acuerdo a la metodología proporcionada por SIGMA para el reactivo Acrylamide/Bis-acrylamide, 30% solution con número de catálogo A3574 con una concentración final del 10%

Tampón de desnaturalización: Tris 0.05 M, SDS 3%, 2-mercaptoetanol 1%, Glicerol 7.5%, Azul de bromofenol 2 gotas; a pH 6.8

Tampón de migración: Tris 0.025 M, Glicina 0.192 M, SDS 0.1%, 2-mercaptoetanol 0.1%, a pH 8.3

Tampón de fijación: Ácido acético 5%, Etanol 30 %, Agua destilada 65%

Tampón de coloración: Ácido acético 5%, Etanol 30 %, Agua destilada 65%, Azul de Coomassie 0.12%

Tampón de decoloración: Ácido acético 5%, Etanol 30 %, Agua destilada 65%

Una vez que se conoce la concentración de los extractos de proteínas miofibrilares y sarcoplasmicas, se ajusta su concentración a un máximo de 20 µg/ml diluyendo con el

tampón de extracción, de esta dilución se toman muestras de 100µl de cada extracto y se le añaden 2 gotas del tampón de desnaturalización, se introducen a baño maría por 5 minutos a ebullición.

Una vez que se preparó el gel de electroforesis se introduce en la cubeta de electroforesis marca Bio-Rad modelo mini protean tetra-cell y se ajusta el volumen del tampón de migración necesario para la cantidad de geles utilizados, se retira el peine del gel y se colocan las muestras en los pocillos en el gel más una muestra del estándar de proteínas marca Bio-Rad con número de catálogo 161-0305; se hace pasar una corriente de 100 V por el tiempo necesario hasta que el frente migre hasta el final del gel. Se retira el gel de los cristales y se pasa al tampón de fijación por 30 minutos en agitación, posteriormente se pasa el gel al tampón de coloración por 40 minutos, finalmente se coloca en el tampón de decoloración.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 1. Absorbancia de las distintas concentraciones de la recta patrón

Concentración µg/ml	Lectura
	0
10	0.174
20	0.264
30	0.391
40	0.493
50	0.58

Tabla 2. Promedio de la concentración obtenida de proteínas sarcoplasmicas y miofibrilares

	Concentración promedio
Miofibrilares	344.33
Sarcoplasmicas	57.83

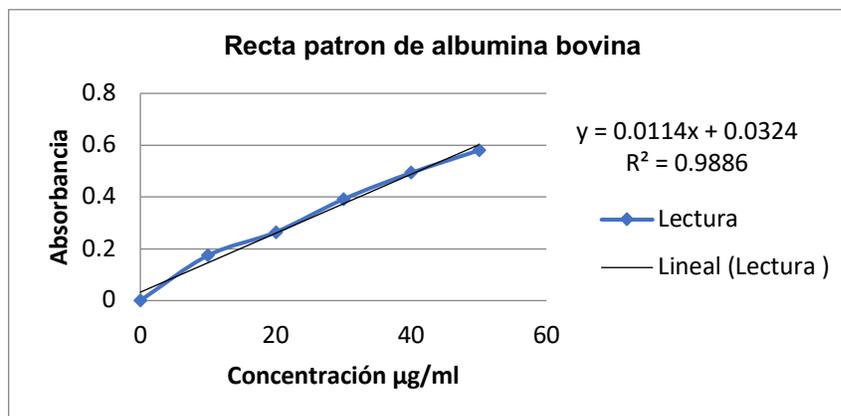


Figura 1. Gráfico de la recta patrón obtenido a partir de la tabla 1

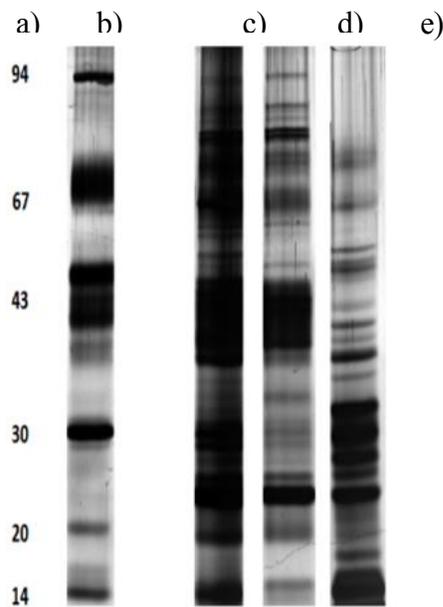


Figura 2. Gel de electroforesis, a) peso en KDa, b) marcador peso molecular, c) Extracto completo, d) Extracto miofibrilares, e) Extracto sarcoplasmáticos

Durante este proyecto se llevó a cabo una recta de calibración a partir de albumina bovina por lo cual para corroborar su validación Riu J. y Boqué R. [6] mencionan que dado un procedimiento de modelo de línea recta está dado por un coeficiente de determinación comprendido por un valor de 1 o muy cercano a este por lo que tal como se muestra en la figura 1 este valor tiene un coeficiente de 0.9886 siendo válido para realizar la determinación de la concentración proteica en $\mu\text{g/ml}$ de los extractos de proteínas miofibrilares y sarcoplasmáticos.

Los valores promedio obtenidos a partir de las distintas diluciones y realizadas por duplicado de los extractos de proteínas miofibrilares y sarcoplasmáticos se muestran en la tabla 2 y al comparar estos valores con los proporcionados por Fadda S. et al [7] presentan un contenido de proteínas sarcoplasmáticos de 1.80 mg/ml, mientras que para los extractos de proteínas miofibrilares es de 0.75 mg/ml, siendo valores nada similares, sin embargo existen diversos factores que afectan al contenido proteico como pueden ser desde el método de extracción hasta el almacenamiento del extracto, incluso la FAO [8] menciona que el contenido de proteínas puede variar por la alimentación del animal, la parte de la cual se obtuvo la carne, de ahí que los valores no sean semejantes, sin embargo para este proyecto se obtuvieron valores mayores de concentración de proteínas miofibrilares tal como lo indica Forrest J.C. et al [9] las proteínas miofibrilares constituyen un 55 a 60 % del contenido total de proteína.

De acuerdo con Badui-Dergal S. [2] y la figura 2 se puede identificar algunas proteínas contenidas en los extractos como lo son la Actina (42KDa), la Troponina (68KDa) y la Troponina I (22KDa), para las proteínas miofibrilares; mientras que en las sarcoplasmáticos se tiene una alta concentración entre 20 y 35 KDa que corresponde a diversas enzimas,

sin embargo debido al tamaño del marcador de peso molecular no fue posible identificar a la mioglobina que es la principal proteína sarcoplasmica

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Se logró obtener satisfactoriamente extractos de proteínas miofibrilares y sarcoplasmicas, así como su cuantificación y caracterización.

Se recomienda utilizar un marcador de peso molecular con mayor rango para identificar mayor cantidad de proteínas en los extractos, así como su posible uso para la fortificación de alimentos

VI. AGRADECIMIENTOS

Expreso mi agradecimiento a todo el personal de la Universidad de Guanajuato así como compañeros de laboratorio que me brindaron su apoyo durante mi estancia para la realización del proyecto.

REFERENCIAS

- [1] FAO (2019), [Online], Disponible en:
http://www.fao.org/ag/aginfo/themes/es/meat/backgr_composition.html
- [2] Badui-Dergal S., *Química de los alimentos*, 5ª edición, Ed. Pearson, México, 2013
- [3] Olson D.G., Parrish J.R. y Stromer M.H., *Myofibril fragmentation and shear resistance of three bovine muscles during postmortem storage*, Journal of food science, 41:1036-1041. 1976
- [4] Fernández-Reyes E. y Galván-Cejudo A., *Métodos para la cuantificación de proteínas*, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Campus Universitario de Rabanales, 14071-Cordova, 2014
- [5] Morales-Sanchez D. y Gallo-Ramirez L., *Plataformas de proteómica*, Curso: "Métodos Físico-Químicos en Biotecnología", 2006
- [6] Riu J. y Boqué R. 2001, Calibración lineal, Universitat Rovira i Virgili., Pl. Imperial Tàrraco, 1, 43005-Tarragona, 2006
- [7] Fadda S., Sanz Y., Vignolo G., Aristoy M.C., Oliver G. y Toldrá F., *Characterization of Muscle Sarcoplasmic and Myofibrillar Protein Hydrolysis Caused by Lactobacillus plantarum Applied and Environmental Microbiology*, Aug 1999, 65 (8) 3540-3546; DOI
- [8] FAO (2019), [Online], Disponible en
<http://www.fao.org/tempref/docrep/fao/005/w0073s/W0073S01.pdf>
- [9] Forrest J.C., Aberle E.D., Hedrich H.D., Hudge M.D. y Merkel R.A., *Fundamentos de ciencia de la carne*, Ed. Acribia, Zaragoza: España, 1979

Factores implicados en el movimiento viral del *virus del mosaico de la caña de azúcar* (SCMV) en plantas de maíz

Raúl Antonio García Martínez

Tecnológico nacional de México en Celaya
Ingeniería Bioquímica
Antonio García Cubas #600 Fovisste
C.P. 38010, Celaya, Gto.
16030433@itcelaya.edu.mx

Asesora: Laura Silva Rosales

Centro de Investigaciones y Estudios Avanzados
del Politécnico (CINVESTAV), Unidad Irapuato,
Departamento de Ingeniería Genética
Km. 9.6 Libramiento Norte Carr. Irapuato-León
36824 Irapuato Gto. México
laura.silvar@cinvestav.mx

Resumen — El virus del mosaico de la caña de azúcar uno de los virus mayoritariamente incidente en maíz, en el presente reporte se muestra la experimentación con líneas de maíz y como el virus infecta la planta. Observando los síntomas las líneas puras como B73, liguleless 1 y 2 además de dos híbridos B73x liguleless 1 y B73xliguleless 2 producto de la inoculación de la cepa de SCMV-VER1 por medio de heridas superficiales hechas en la tercera hoja verdadera de cada planta. Posteriormente realizando un análisis a fondo usando técnicas como RT-PCR para detectar el ARN viral en hojas siguientes (cuarta y quinta hoja verdadera), además del uso de la técnica de western blotting para proteínas principales virales (proteína formadora de la cápside) igual en las hojas siguientes. Esto para comprobar el movimiento del virus a lo largo de 10 días posteriores a la inoculación.

Palabras clave — Maíz, SCMV, proteína de la cápside, western blotting, movimiento viral.

Abstract — The sugarcane mosaic virus is one of the mostly incident viruses in corn, in this report the experimentation with corn lines and how the virus infects the plant is shown. Observing the symptoms of pure lines such as B73, liguleless 1 and 2 in addition to two hybrids B73x liguleless 1 and B73xliguleless 2 resulting from the inoculation of the strain of SCMV-VER1 by means of superficial wounds made on the third true leaf of each plant. Subsequently conducting a thorough analysis using techniques such as RT-PCR to detect viral RNA in subsequent leaves (fourth and fifth true leaf), in addition to the use of the western blotting technique for viral main proteins (capsid-forming protein) equal to the following sheets. This to check the movement of the virus over 10 days after inoculation.

Keywords — Corn, capsid protein, western blotting, viral movement.

I. INTRODUCCIÓN

Los virus vegetales son formas intracelulares obligados. Su genoma está conformado de un ácido nucleico (RNA o DNA) rodeado de diversas copias de una proteína de cobertura llamada cápside [1]. El auge masivo de viriones facilita la transmisión del virus de una planta a otra sin importar cualquiera que sea el modo de propagación: semillas, polen, injertos, heridas mecánicas [2] o vectores [3]. Una vez dentro de la célula vegetal, los virus usan la maquinaria celular para completar su ciclo infectivo (traducción, replicación, encapsidación, movimiento de célula a célula y movimiento de larga distancia) en la planta [2]. El virus del mosaico de la caña de azúcar (SCMV) pertenece al género *Potyvirus*, dentro de la familia *Potyviridae* [4,2]. Se encuentra distribuido a nivel mundial causando pérdidas en el rendimiento de especies de interés económico susceptibles como caña de azúcar, maíz y sorgo [5]. Sus síntomas en plantas de maíz se caracterizan por la presencia de clorosis en forma de mosaicos irregulares en las hojas, plantas con visible enanismo y mazorcas

pequeñas con llenado de grano irregular [3]. SCMV ingresa a las células vegetales a través del mesófilo por medio de una herida o se transmite de una planta a otra por varias especies de áfidos [3, 6]. Tras ingresar a la célula el SCMV pierde la cápside quedando expuesto su genoma. Este tiene aproximadamente 9.6 kb de longitud, en su extremo 5', se haya una proteína unida covalentemente (VPg) y, en su extremo 3' una cola poli (A) [6]. El genoma codifica una poliproteína, que posteriormente se divide en 10 proteínas maduras (P1, HC-Pro, P3, 6K1, CI, 6K2, NIa-VPg, NIa Pro, NIb, CP) por 3 proteasas autocodificadas [7]. Varias proteínas de Potyvirus son multifuncionales, CP está involucrado en la transmisión por pulgones [8], formación de viriones y movimiento de virus [9]. P1 funciona también como un factor accesorio transactivo durante la amplificación del genoma [10]. HC-Pro es necesario para la transmisión de virus por áfidos [11] y diseminación sistémica en plantas [12] VPg es importante para la amplificación del genoma del virus [13] y movimiento del virus. En este movimiento a corta distancia la modificación de plasmodesmos es regulada por proteínas de transporte facilitando la propagación. El SCMV, inicia el movimiento de célula a célula (o de corta distancia) pasando por los diferentes tipos celulares hasta entrar en las células acompañantes y después al floema. Ahí se transportará en savia a lugares distantes del sitio original de inoculación, para iniciar nuevos focos de infección. [4-5] Pasando por todos los tejidos de la planta, supongamos que la infección ocurrió en la lámina de la planta del maíz, el virus migrara a través de la lígula (fig. 1) después llegara a la vaina y finalmente al tallo.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales vegetales e infección por virus

Se usaron las líneas de maíz (*Zea mays*) B73, *liguleless 1 (lg1)*, *liguleless 2 (lg2)*, además de dos líneas resultantes de la cruce de B73 con *liguleless 1* y *2* (B73X*liguleless 1* y B73X*liguleless 2*, respectivamente). Se sembraron cuatro réplicas biológicas de cada línea, las cuales se inocularon con el aislado SCMV-VER1. Conjuntamente se sembraron dos réplicas de cada línea para usarlas como control negativo. Todas las plantas se mantuvieron en invernadero. Luego de 20 días de la siembra se inocularon con una mezcla que contenía 100 mg de lámina macerada con síntomas característicos de mosaico (fig.2), buffer de fosfato ((0,1 M KPO₄, pH 7,5)), y polvo de carborundum como agente abrasivo.

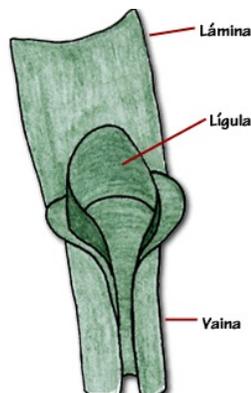


Fig. 1. Las hojas de maíz que se desprenden de los nodos son alternas, lanceoladas y acuminadas, con pequeñas lígulas, naciendo en los nudos de forma alternada.

Se homogeneizó la mezcla para después hacer la aplicación en la tercera hoja distal (fig.3) ayudado de un hisopo



Fig. 2. Planta de maíz Rogers con síntomas típicos de SCMV-VER1.

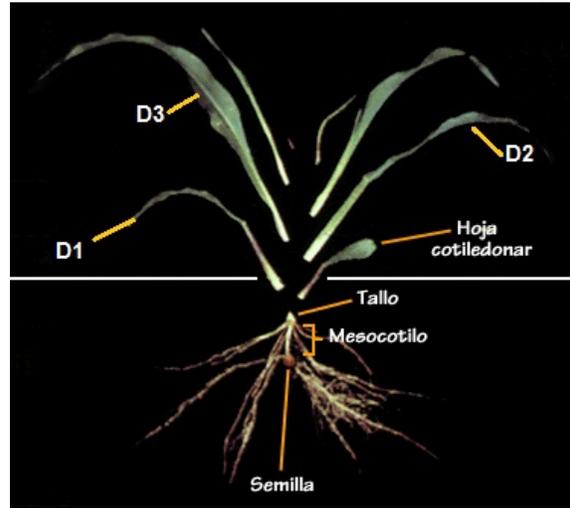


Fig. 3. Distribución de los tipos de hoja en planta de maíz. Distal 1 (D1), Distal 2 (D2) y Distal (3).

Extracción y cuantificación del RNA total

La extracción de RNA total se hizo, usando el reactivo TRIzol™ Reagent y siguiendo las instrucciones del fabricante.

Detección de SCMV por RT-PCR

La reacción de transcripción reversa (RT) del RNA total se hizo utilizando el protocolo de la enzima “RevertAid H Minus Reverse Transcriptase” de ThermoScientific™, siguiendo las instrucciones del fabricante. El cDNA resultante se usó en una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) usando la enzima “Taq DNA Polymerase (recombinant) de ThermoScientific”. Se usaron cebadores para amplificar una banda de aproximadamente 835 pb, correspondiente a un cistron de la proteína de la cápside (CP) del virus

Extracción de proteínas y detección de SCMV por Western blotting

Para la extracción de proteínas se usaron las láminas infectadas de cada una de las líneas. Se maceraron y posteriormente se les agrego buffer de extracción de proteínas (2.5ml glicerol, 500mg SDS, 1.25 ml tris-HCl 0.25mM, 385 mg DTT, 25 mg azul de bromo-fenol, 1 mL de agua estéril), tras ser homogeneizadas se incubaron en hielo por 5 minutos.

Una vez preparadas las muestras, se procedió a la técnica Western blot que consiste en 3 etapas: separación de proteínas (SDS-PAGE), transferencia a membrana y tratamiento con anticuerpos. Además, también se tiño un gel con azul de coomassie, para comprobar la presencia de proteínas.

i) Separación de proteínas: se tomó una alícuota de 20µl del extracto de proteínas. Se cargaron en los pozos de 2 geles de poliacrilamida (10% gel separador y 4% gel

compactador) para separar las proteínas mediante electroforesis, primero a 60v por 30min y luego a 120v.

ii) **Transferencia a membrana:** una vez que las muestras se separaron en el gel de poliacrilamida se montó el sándwich de transferencia en el siguiente orden: papel filtro -gel- membrana (Nitrocelulosa)-papel filtro. Los papeles filtro se humedecieron en solución buffer de transferencia (48mM Tris, 39mM Glicina, 0,04% SDS, y 20% Metanol). Ya ensamblado el montaje se colocó en el TRANS-BLOT.

iii) **Incubación con anticuerpo:** La membrana se sumergió en un buffer de bloqueo (PBS 1x, skim milk 0.04 g, triton 20 µL y BSA 0.1 g) y se mantuvo en agitación lenta durante una hora. Al terminar, se hicieron tres lavados con TBST durante cinco minutos. Se agregó el anticuerpo anti-SCMV-CP conjugado con fosfatasa alcalina y diluido 1:2000 en solución con TBST y BSA, incubándose por una hora. Después se hicieron 4 lavados con TBST y se incubó la membrana en 10 mL de solución BCIP/NBT (BD 10 mL, BCID 16 µL y NBT 22 µL, TRIS 1M, NaCl 4M y MgCl 1M) revisando cada 10 min hasta observar coloración.

Tinción con azul de coomassie.

Terminada la electroforesis uno de los geles de poliacrilamida se lavó durante 2 min en agua Milli-Q. Después se sumergió en solución fijadora (50% metanol, 10% ácido acético y 40% H₂O) durante una hora en agitación. Posteriormente se tiñó el gel con solución de coomassie, agregando la suficiente cantidad para cubrir el gel. Se agitó suavemente durante 20 min. Por último, se destiñó con solución decolorante (45% metanol, 10% ácido acético y 45% H₂O) por 10 minutos.

III. RESULTADOS

Materiales vegetales e infección por virus

Luego de 10 días posteriores a la inoculación (dpi) con el aislado SCMV-VER1, las 5 líneas de plantas de maíz, mostraron síntomas de clorosis y mosaico, (Fig. 4) patrón característico de la infección con SCMV.



Fig. 4. Hoja cuatro (D2) de las 5 líneas de maíz con síntomas característicos de SCMV-VER1 a los 10 días posteriores a la inoculación.

Detección de SCMV por Western blotting

Para examinar la presencia o ausencia de la proteína de la cápside (CP), se hizo un western blot de hoja distal 2 de la réplica 4, debido a que mostraba la sintomatología más intensa. Su resultado exhibió la presencia de la CP en el control positivo (planta Rogers infectada), la línea B73 y en las líneas híbridas B73X*Lgl1* y B73X*Lgl2* (Fig.5-A). También se hizo una tinción con azul de coomassie para visualizar el las proteínas totales y asegurar que mantuvieron su integridad (Fig.5-B).

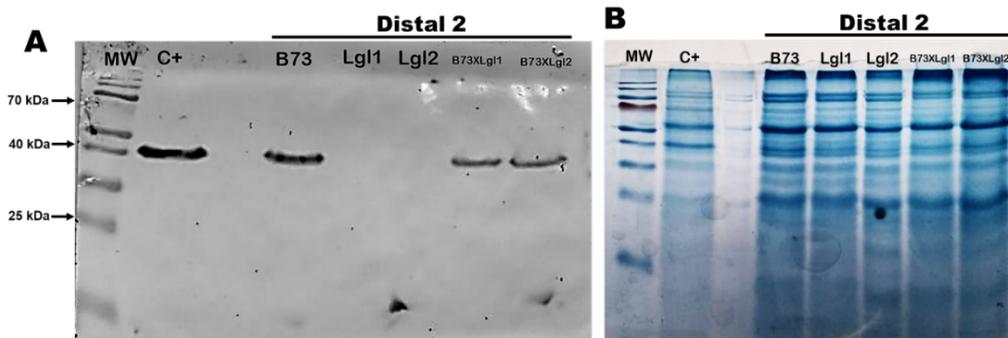


Fig. 5. Análisis de Western blot de CP expresado en hojas de maíz.

- A. Análisis de transferencia Western usando anticuerpo policlonal contra la proteína de la cápside (CP), tamaño aproximado de 40 kDa.
 B. Separación de proteínas por SDS-PAGE (10%), tido con azul de coomassie.
 C+ → Planta Rogers infectada con SCMV

IV. DISCUSIÓN (O ANÁLISIS DE RESULTADOS)

Las líneas *liguleless 1* y *2* expresaron síntomas a los 5 dpi. Contrastando con el resto de las líneas, que presentaron síntomas a los 9 dpi. Podría ser que las estas líneas facilitarían el paso del virus, al no tener lígula es posible que dentro del tejido adquiriera las condiciones ideales para replicarse, sin embargo al realizar el western blotting resulto ausente la señalización para la proteína CP, cosa totalmente diferente con las bandas mostradas en el gel teñido.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Mediante el uso de las técnicas de RT-PCR y Western blotting se concluye que en las líneas, B73, B73x*Lgl 1* y B73x*Lgl 2* la lígula juega un papel importante durante la infección viral, ya que en plantas mutantes sin lígula se observó la aparición de síntomas a los 5 dpi, mientras que en plantas silvestres la aparición de síntomas tomó alrededor de 10 dpi. Esto coloca a la lígula y a los genes implicados en la formación de la misma como candidatos importantes en la infección de maíz con SCMV.

VI. RECONOCIMIENTOS (O AGRADECIMIENTOS)

Expreso mi agradecimiento al CINVESTAV unidad Irapuato, al TecNM en Celaya y al Programa verano de la ciencia región centro, por las facilidades y el apoyo otorgado para la realización de la estancia de verano. También al Dr. Humberto R. Medina y a Santiago Cepeda C., por creer en mí.

REFERENCIAS

- [1] K. Subramanya Sastry, virus and sub-virus agents, En: Plant virus and viroid disease in the tropics Vol. 1, pagina 20, Springer Dordrecht Heidelberg, New York, 2013
- [2] C. Hipper, V. Brault, V. Ziegler-Graff, F. Revers, "Viral and cellular factors involved in phloem transport of plant viruses", *Frontiers in plant science*, Vol 4, Disponible en doi: 10.3389/fpls.2013.00154 [consultado en 2019]
- [3] J. L. Zambrano-Mendoza, L. C. Paz, M. G. Redinbaugh, 2019, "Evaluación de la resistencia genética de híbridos de maíz al virus del mosaico de la caña de azúcar (SCMV)", XXII Reunión Latinoamericana del MAÍZ, Vol. 11 Núm. 1: Número especial de la XXII Reunión Latinoamericana del Maíz, pp 64-71. Disponible en: <https://revistas.usfq.edu.ec/index.php/avances/article/view/1092/1406> [consultado en 2019].
- [4] Chaves-Bedoya, G., Espejel, F., Alcalá-Briseño, R. I., Hernández-Vela, J., Silva-Rosales L., 2011, "Short distance movement of genomic negative strands in a host and nonhost for Sugarcane mosaic virus (SCMV)", *Virology journal*, 8, 15. doi:10.1186/1743-422X-8-15 [consultado en 2019].
- [5] Yang ZN and Mirkov TE. 1997. Sequence and relationships of sugarcane mosaic and Sorghum mosaic virus strains and development of RT-PCR-based RFLPs for strain discrimination. *Phytopathology* 87(9):932-939. Disponible en línea: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18945064>
- [6] Gell G, Sebestyen E, Balazs E. "Recombination analysis of Maize dwarf mosaic virus (MDMV) in the Sugarcane mosaic virus (SCMV) subgroup of potyviruses". *Virus Genes*. 2015; 1: 79–86. doi: 10.1007/s11262-014-1142-0
- [7] Xie X, Chen W, Fu Q, Zhang P, An T, Cui A, An D, 2016, "Molecular Variability and Distribution of Sugarcane Mosaic Virus in Shanxi", China. *PLoS ONE* 11: e0151549. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151549> [consultado en 2019].
- [8] Atreya, C. D., Raccah, B. & Pirone, T. P. (1990). A point mutation in the coat protein abolishes aphid transmission of a potyvirus. *Virology* 178, 161–165.
- [9] Dolja, V. V., Haldeman, R., Robertson, N. L., Dougherty, W. G. & Carrington, J. C. (1994). "Distinct functions of capsid protein in assembly and movement of tobacco etch potyvirus in plants". *EMBO Journal* 13, 1482–1491.
- [10] Verchot, J. & Carrington, J. C. (1995). Evidence that potyvirus P1 protein functions as an accessory factor for genome amplification. *Journal of Virology* 69, 3668–3674.
- [11] Atreya, C. D., Atreya, P. L., Thornbury, D. W. & Pirone, T. P. (1992). Site directed mutations in the potyvirus HC-Pro gene affect helper component activity, virus accumulation, and symptom expression in infected tobacco plants. *Virology* 191, 106–111.
- [12] Klein, P. G., Klein, R. R., Rodríguez-Cerezo, E., Hunt, A. G. & Shaw, J.G. (1994). Mutational analysis of the tobacco vein mottling virus genome. *Virology* 204, 759–769.
- [13] Schaad, M. C., Haldeman-Cahill, R., Cronin, S. & Carrington, J. C., (1996), Analysis of the VPg-proteinase (N1a) encoded by tobacco etch potyvirus : effects of mutations on subcellular transport, proteolytic processing, and genome amplification. *Journal of Virology* 70, 7039–7048.

Identificación de factores que modulan transcripcionalmente la expresión de tres poli amino oxidasas de nopal

José Francisco Rubio Aguilera

Universidad Autónoma de Querétaro Facultad
de Química-Ciudad Universitaria Av. 5 de
Febrero s/n
C.P. 76140, Querétaro, Qro.
y2jrubio@gmail.com

Asesora:

Dra. María de la Luz Guerrero González

Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Facultad de Agronomía y Veterinaria
San Luis Potosí, S.L.P.
luz.guerrero@uaslp.mx

Resumen — En este trabajo se presenta una serie de proteínas poliamino oxidasas de *Opuntia ficus-indica* (nopal) como lo son OsPAO2, OsPAO4 y OsPAO5; que dan resistencia bajo condiciones de estrés. Para observar su resistencia se realizó una PCR semicuantitativa y se realizó la construcción de un árbol filogenético. Se observó un incremento de OsPAO5 en condiciones frías y una cercanía a *Arabidopsis thaliana*. Por lo que se puede considerar al gen de OsPAO5 como un serio candidato para la inserción en hortalizas que no soporten condiciones frías del país.

Palabras clave — Poliamino oxidasas, árbol filogenético, PCR semicuantitativa. *Opuntia ficus-indica*

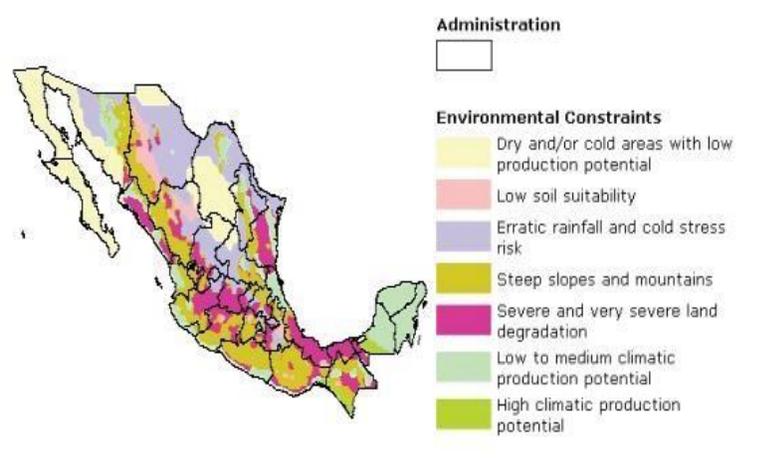
Abstract — In this work, a series of polyamine oxidases proteins from *Opuntia ficus-indica* (nopal) are presented, such as OsPAO2, OsPAO4 and OsPAO5; that give resistance under stress conditions. To observe its resistance, a semi-quantitative PCR was performed and the construction of a phylogenetic tree was performed. An increase of OsPAO5 is observed in cold conditions and a proximity to *Arabidopsis thaliana*. Therefore, the OsPAO5 gene can be considered as a serious candidate for insertion into vegetables that do not support cold conditions in the country.

Keywords — Polyamine oxidase, phylogenetic tree, semiquantitative PCR. *Opuntia ficus-indica*

I. INTRODUCCIÓN

En la Actualidad más del 80% de las pérdidas económicas totales de los desastres relacionados con el clima ocurrieron en el sector agrícola y se espera una reducción en la producción agrícola y una reducción significativa en la producción ganadera también se puede producir si los pastos templados se ven afectados negativamente por el cambio climático. Hoy en día está previsto que el cambio climático en México ocasionará una disminución del 40-70% en las tierras agrícolas para 2030. La falta de tierras de cultivo puede significar una escasez de alimento en tendencia de que cada vez haya menos tierras y la población siga en aumento.

México posee un gran número de terrenos donde solo se aprovecha para un cierto tipo de cultivo de hortalizas o que no tienen uso. Gracias al avance de la tecnología se puede afrontar este contexto y es en el uso de organismos genética modificados (OGM) que pueden crecer y sobrevivir a condiciones muy adversas y dan un mayor aporte nutricional. El objetivo de este trabajo es el análisis de genes prospectos (OsPAO2, OsPAO4 y OsPAO5) de nopal (*Opuntia ficus-indica*) en condiciones de estrés abiótico (calor y frío) mediante una PCR semicuantitativa y el análisis filogenético debido a que se desconoce su secuencia



Source: FAO Note: For more maps on Mexico and agricultural resources, go to <http://www.fao.org/countryprofiles/maps.asp?iso3=MEX&lang=en>

Figura 1. Mapa de condiciones ambientales en el país.

II. MARCO TEÓRICO

A. Poliaminas

Las poliaminas (PAs) son pequeñas moléculas alifáticas con carga positiva que se presentan animales, bacterias y plantas de forma ubicua (todas partes). Las poliaminas más comunes en plantas son la putrescina (Put), espermidina (Spd) y espermina (Spm). Aunque en algunas variedades de plantas se encuentran también la tetramina y termoespermina. [1]. Put se origina de la descarboxilación de arginina o ornitina, Spd se sintetiza a partir de Put en conjunto de la descarboxilación de S-adenosilmetionina y Spm se origina a partir de la síntesis de Spd [2].

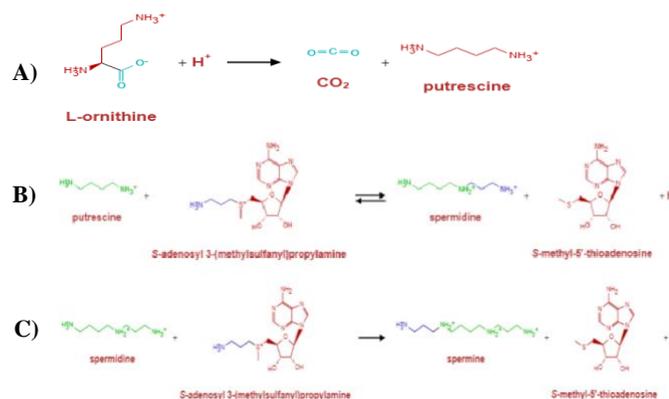


Figura 2. Biosíntesis de las poliaminas en *Arabidopsis Thaliana* A) Biosíntesis de la putrescina B) Biosíntesis de la espermidina C) Biosíntesis de la espermina [2]

B. *Amino Oxidasas.*

Las oxidasas de amina de cobre (CuAOs) y las oxidasas de amina que contienen flavina (PAOs) llevan a cabo la desaminación oxidativa de las poliaminas. Las amino oxidasas contribuyen al equilibrio de las poliamina y en la producción de peróxido de hidrógeno derivado que se ha correlacionado con la maduración de la pared celular y la lignificación durante el desarrollo de la planta. Como molécula de señal, el peróxido de hidrogeno derivado media la muerte celular, la respuesta hipersensible y la expresión de genes de defensa. Además, los aminoaldehídos y el 1,3-diaminopropano que son también productos derivados de la oxidación de las poliaminas participan en la síntesis de metabolitos secundarios y la tolerancia al estrés abiótico [3]. CuAO es una proteína homodimérica en la que cada subunidad contiene un ión Cu^{2+} y un cofactor 2,4,5-trihidroxifenilalanina quinona (TPQ) generado por una modificación postraduccional. CuAO de microbios, animales y plantas oxida a Put y cadaverina (Cad) en los grupos amino primarios. PAO lleva un cofactor Flavín adenín dinucleótido (FAD) unido no covalentemente y oxida a Spm y Spd en los grupos amino secundarios. La PAO bacteriana y vegetal ataca en el carbono del lado endo en el N4 de Spd y Spm también participa en el catabolismo terminal de las poliaminas.

D) *Poli amino oxidasas (PAOs)*

Las PAOs son altamente expresadas en monocotiledóneas. Las PAOs no solo regulan los niveles de poliaminas en la célula, sino que también contribuyen en procesos fisiológicos a través de sus productos de reacción como aminoaldehídos, 1,3-diaminopropano (DAP) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2). El 4-aminobutanal puede metabolizarse a GABA que es un metabolito importante asociado con varios procesos fisiológicos que se produce en gran parte a la respuesta del estrés biótico y abiótico. Mientras que el DAP es precursor de la b-alanina y las PAs poco comunes que se asocian con la tolerancia al estrés. Lo mismo sucede con el peróxido de hidrogeno el cuál se produce en los compartimientos del apoplasto e intracelularmente. [4]

III. METODOLOGÍA

Se realizó una PCR Se realizó un master mix en tubo Eppendorf de 1 mL el cual contenía:

- Buffer $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 15 x 2.5 μL
- MgCl_2 50 Mm 15 x 1.5 μL
- dNTPs 10 mM 15 x 0.5 μL
- Primer FWD 10 pm 15 x 0.5 μL
- Primer REV 10 pm 15 x 0.5 μL
- Taq polimerasa [2u/ μL] 15 x 0.12 μL
- Agua s/n nucleasa 15 x 20 μL

Nota: Para cada tubo eppendorf de 50 μL se agregaron 24 μL del master mix y 1 μL de DNA a una concentración de 100 ng

Se mezcló por pipeteo, luego de esto se colocó el tubo en la microcentrífuga y se le dio un spin. Posteriormente de que se mezcló el contenido del tubo, se colocaron en el termociclador y se programó lo siguiente:

94°C x 2'	}	35 x
94°C x 30"		
53°C x 45"		
72°C x 45"		
72°C x 5'		
4°C x α		

Se procedió a verificar el producto obtenido realizando una electroforesis en gel de agarosa con una concentración de 1.8 %. En el carril 1 se cargó un marcador de peso molecular de 100 bp, posteriormente se carga 5 μ L de la PCR y 1 μ L de buffer de carga en los carriles siguientes. Durante 30 minutos se corrió el gel a 80 V con buffer SB y al finalizar se observó en el UVP.

IV. RESULTADOS

Bajo condiciones de estrés, las PA podrían realizar estas funciones mejor cuando los cambios en su metabolismo son transitorios y dentro de límites más estrechos, evitando así perturbaciones catastróficas en la homeostasis celular general de C y N. En la actualidad hay cuatro tipos de estudios que respaldan la importancia de las PAs en la respuesta al estrés en plantas:

- (i) Un incremento en la biosíntesis de PAs en plantas a través de la expresión transgénica generalmente aumenta su tolerancia a una variedad de tensiones.
- (ii) La acumulación de PAs en plantas bajo condiciones de estrés se acompaña de un aumento en la actividad de las enzimas biosintéticas de PA y la expresión de sus genes.
- (iii) Las plantas que presentan mutaciones en los genes biosintéticos de PAs generalmente tienen menos tolerancia al estrés abiótico.
- (iv) El suministro de PAs hace que las plantas toleren el estrés mientras que la inhibición de su biosíntesis las hace más propensas al daño por estrés. [5,6]

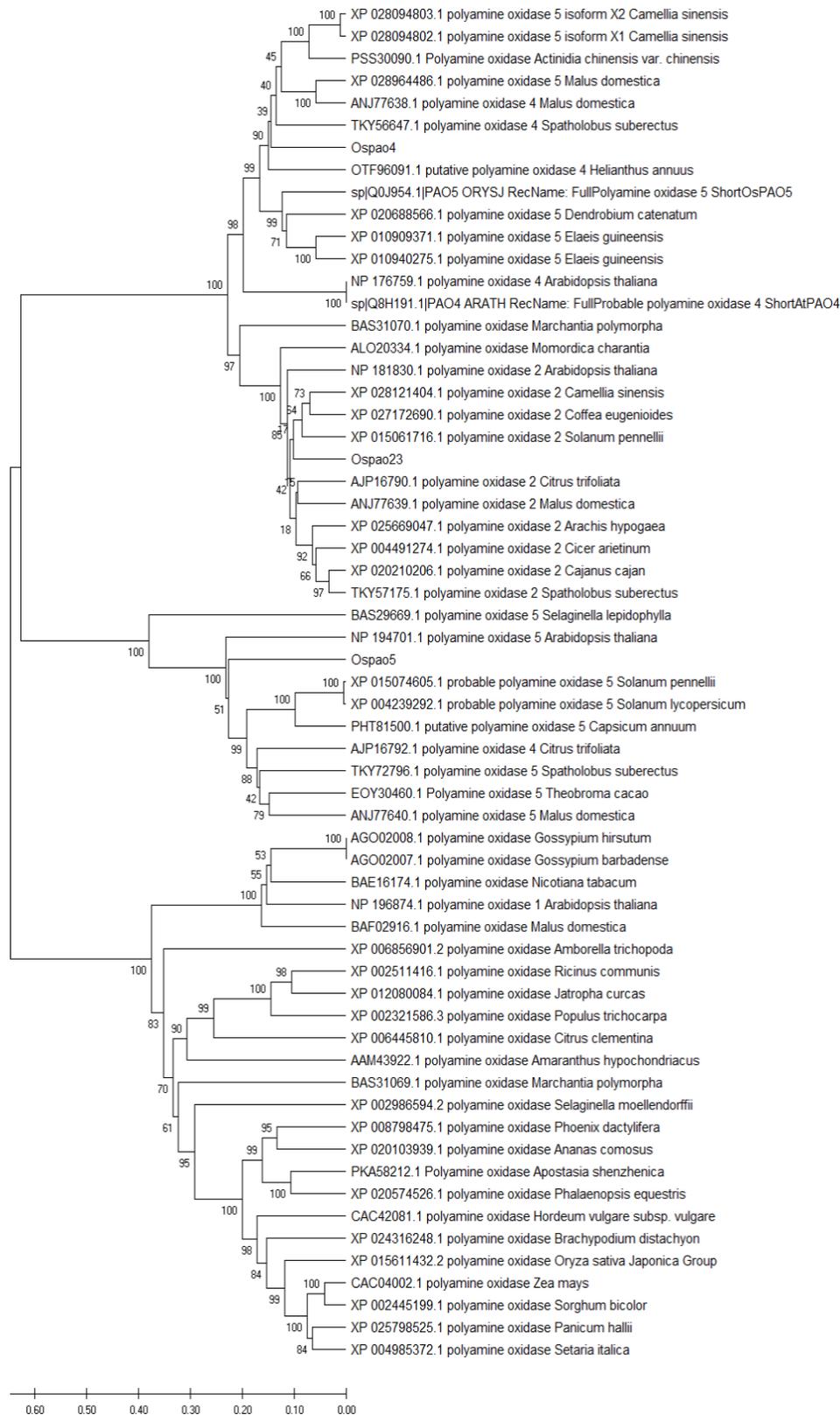


Figura 3. Árbol filogenético de las Poliamino oxidasas en plantas y su relación con la OsPao2, OsPao4 y OsPao5

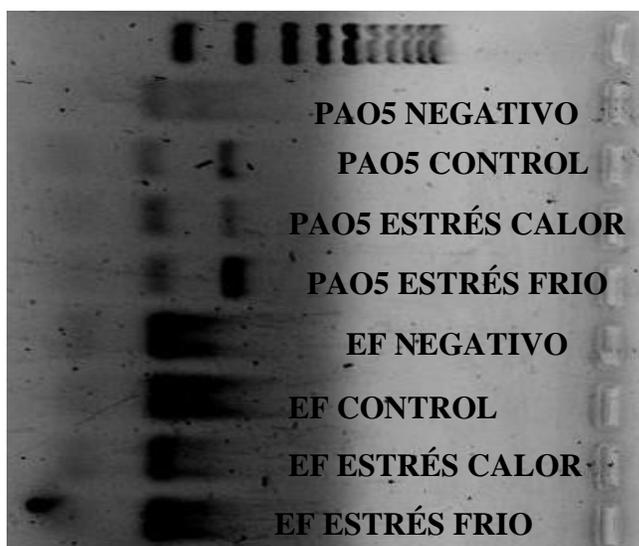


Figura 4. Gel de electroforesis de una PCR de OsPao5 y EF.

V. CONCLUSIONES

En este proyecto se propusieron los genes OsPAO2, OsPAO4 y OsPAO5 de *Opuntia ficus* como candidatos para la tolerancia a estrés abiótico y solamente OsPAO5 mostró resultados positivos a un incremento en condiciones de estrés a bajas temperaturas por lo que se puede tomar como un gen modelo para la inserción en una hortaliza.

Aunque no se conozca su secuencia como tal en el análisis de la filogenia muestra una distancia cercana a *Arabidopsis Thaliana* la cuál es una plana modelo y se puede basar en ella para su posterior estudio de la secuencia.

VI. RECONOCIMIENTOS

Expreso mi agradecimiento a la Universidad de San Luis Potosí en especial a la facultad de Agronomía y Veterinaria por su gran recibimiento. A la doctora María de la Luz Guerrero González por permitirme colaborar en su proyecto y facilitarme los recursos necesarios para cumplir el objetivo de la estancia y para finalizar una mención honorífica a la técnica de laboratorio Marcela por todo el apoyo brindado durante mi estancia.

REFERENCIAS

- [1] Gao, Ji-Ping; et al. (2007). "Understanding Abiotic Stress Tolerance Mechanisms: Recent Studies on Stress Response in Rice". *Journal of Integrative Plant Biology*. 49 (6): 742–750. doi:10.1111/j.1744-7909.2007.00495.
- [2] Cona, A., Rea, G., Angelini, R., Federico, R., & Tavladoraki, P. (2006). Functions of amine oxidases in plant development and defence. *Trends in Plant Science*, 11(2), 80–88. doi:10.1016/j.tplants.2005.12.009
- [3] Sebela, M. et al. (2001) FAD-containing polyamine oxidases: a timely challenge for researchers in biochemistry and physiology of plants. *Plant Sci*. 160, 197–207
- [4] Apel, K. and Hirt, H. (2004) Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal

transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55, 373–399

- [5] Rea, G. et al. (2004) Ectopic expression of maize polyamine oxidase and pea copper amine oxidase in the cell wall of tobacco plants. *Plant Physiol.* 134, 1414–1426
- [6] Yoda, H. et al. (2003) Induction of hypersensitive cell death by hydrogen peroxide produced through polyamine degradation in tobacco plants. *Plant Physiol.* 132, 1973–1981.

Identificación molecular de hongos fitopatógenos de hortalizas para productores de INFOOD

Karina del Rocío Buzo Reyes¹

María Gabriela Huerta Zacarías²

Universidad Politécnica del Bicentenario

Carr. Nacional Romita Km. 2,

San Juan los Durán, 36283 Silao, Gto.

¹16030202@upbicentenario.edu.mx

²16030228@upbicentenario.edu.mx

Asesor: Christian Salvador Mendoza Hernández

Universidad Politécnica del Bicentenario

Carr. Nacional Romita Km. 2,

San Juan los Durán, 36283 Silao, Gto.

cmendozah@upbicentenario.edu.mx

Resumen — En Guanajuato los productores de pimiento en la empresa INFOOD con problemas de “secadera”, requieren de estrategias para enfrentar esta enfermedad. De raíces de plántulas de estos invernaderos se aislaron tres hongos *Fusarium oxisporum*, *Phytophthora capsici* y *Alternaria solani* identificados por morfología colonial y microscópica. Se amplificaron por PCR las secuencias de hongos aislados de muestras vegetales pertenecientes a diferentes sitios de cultivo de la empresa INFOOD. Esta investigación tiene como objetivo caracterizar los agentes fúngicos causales de la secadera de *Capsicum annum*, de acuerdo a sus estructuras microscópicas y corroborar su identidad mediante técnicas de biología molecular. No obstante, es un trabajo en curso, se está haciendo un análisis más amplio de muestras de raíces provenientes de distintos sitios.

Palabras clave — Hongos, fitopatógenos, secadera, *Capsicum annum*, PCR, biología molecular.

Abstract — In Guanajuato, pepper producers in the INFOOD company with “dryer” problems require strategies to deal with this disease. Three *Fusarium oxisporum*, *Phytophthora capsici* and *Alternaria solani* fungi identified by colonial and microscopic morphology were isolated from seedling roots of these greenhouses. The fungal sequences isolated from plant samples belonging to different cultivation sites of the INFOOD company were amplified by PCR. This research aims to characterize the causal fungal agents of the *Capsicum annum* dryer, according to their microscopic structures and corroborate their identity through molecular biology techniques. However, it is a work in progress, a broader analysis of root samples from different sites is being made.

Keywords — Fungi, phytopathogens, dryer, *Capsicum annum*, PCR, molecular biology.

I. INTRODUCCIÓN

La agricultura constituye uno de los pilares fundamentales en la economía mundial y el sustento principal para la vida humana. Por esta razón, la acción de ciertos organismos fitopatógenos sobre las cosechas puede provocar graves problemas, como la baja producción y desarrollo de cultivos o incluso la desaparición de los mismos, lo que supondría graves pérdidas económicas. (Juárez-Becerra et al., 2010). La marchitez del chile también es asociada a un complejo de hongos fitopatógenos, donde se incluye a *Phytophthora capsici*, *Fusarium spp* y *Rhizoctonia solani*. En trabajos de invernadero, se ha detectado que cuando se inoculan plantas de chile con *P. capsici* solo o en combinación con otros dos fitopatógenos, las plantas mueren en 10 días aproximadamente. Cuando se inoculan con *Fusarium spp* y *R. solani*, las plantas presentan un amarillamiento y se requiere más tiempo para que la planta muera (30-60 días) (González, et al; 2002). Otra diferencia en la sintomatología que presentan estos hongos es que cuando la infección es por *R. solani*, la lesión en el cuello no es compacta y la epidermis se desprende, mientras que con *P. capsici*, la podrición es dura y no se descascara (Mendoza y Pinto, 1985).

Esta problemática varía en la incidencia, control y/o tratamiento de las enfermedades, provocando una identificación imprecisa de hongos fitopatógenos y una pobre información sobre el rol ecológico de cada especie y su impacto ambiental (Rebollar-Alviter y Nita 2011). La identificación preliminar de fitopatógenos basada en estudios taxonómicos de los hongos y su patología sobre hospedero (Aoki et al., 2005), requiere tiempo y experiencia considerable, sin embargo, los métodos moleculares como PCR agilizan la identificación analizando regiones específicas dentro de genes. Las secuencias de espaciadores transcritos internos (ITS) y regiones como el factor de elongación 1-alfa (TEF 1- α) son las más utilizadas en la identificación, como código de barras estándar para hongos (Fernández-Orduño et al., 2010), y una vez identificados ejercer medidas para controlar su proliferación.

II. MARCO TEÓRICO

México registra una superficie sembrada mayor a 9,200 hectáreas de pimiento Morrón. El pimiento morrón en México es un cultivo de alta rentabilidad debido a que se exporta en gran medida hacia diversos países del mundo, siendo el principal socio comercial Estados Unidos de América. Jalisco y Guanajuato son los estados con mayor superficie de pimiento morrón bajo invernadero registradas, ambos aportan el 6% del total de la superficie, toda esta superficie en producción bajo invernadero. Cada estado aporta el 3% de la superficie. (Agroproductores, S/F).

PCR

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una técnica sensible y muy útil para obtener y generar muchas copias de secuencias específicas de ADN de una muestra compleja de ADN con una diversidad y abundancia diferencial de secuencias; a este proceso se le conoce como: amplificación del ADN. Para llevar a cabo este proceso, se requiere de la utilización de una enzima llamada Taq Polimerasa que es ampliamente utilizada en estos métodos y sus variantes. (Checa, 2017).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Los bioensayos se realizaron en el laboratorio de Agrotecnología perteneciente a la Universidad Politécnica del Bicentenario. El trabajo parte de una colección de cepas de *Fusarium oxisporum*, *Phytophthora capsici* y *Alternaria solani* identificados previamente por morfología colonial y microscópica.

A. Identificación molecular

Multiplicación del hongo para extracción de ADN. Aislamientos de *Fusarium oxisporum*, *Phytophthora capsici* y *Alternaria solani* se cultivaron durante seis días en medio líquido (PDA), a temperatura ambiente. Se hicieron tres repeticiones por aislamiento éstos se dejaron crecer diez días. El micelio obtenido de cada aislamiento fue filtrado en cámara de flujo laminar y enviado a liofilizar al departamento CIATEJ, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C.

Extracción de ADN. La extracción de ADN de los aislamientos de *Fusarium oxisporum*, *Phytophthora capsici* y *Alternaria solani* se llevó a cabo en el laboratorio de Agrotecnología de la Universidad Politécnica del Bicentenario, empleando la técnica PCR *Polymerase Chain Reaction*.

Con las muestras liofilizadas en tubos se pesaron para la extracción 20 mg de cada tejido. Se calentó la incubadora a 65°C.

Se prepararon 10 ml de buffer de extracción CTAB (NaCl 0.818 ml, EDTA pH 8.0 0.4 ml, Tris HCl 1 ml pH 8.0, CTAB 0.20 Mm). Posteriormente, se colocó el tubo con el buffer a una temperatura de 60°C por 15 minutos a baño maría. Se afora con agua destilada a 10 mililitros y se agregan 200 µL de B-mercaptoetanol al 20% cuando el tubo enfria.

Se agregan 700 µL a cada tubo de muestra y se incuban por 30 minutos. Después de agregan 600 µL de cloroformo: Alcohol isoamílico 24:1 a 20°C. Se centrifuga por 15 minutos a 10,000 rev/min a 4°C.

Se agregan 500 µL de isopropanol para precipitar los ácidos nucleicos. Se incuba a 80°C por una hora o bien, a 4°C por 24 horas. Se vuelve a centrifugar a 13,000 rev/min por 15 minutos a 4°C para que la pastilla de DNA (o pellet) se pegue en la pared. Después de incubarse se vuelve a centrifugar 15 minutos a 10,000 rev/min a 4°C.

Se lava la pastilla con 600 µL de etanol absoluto frío, a 4°C.

B. Preparación de Gel de Agarosa

50 ml-1,2%- Se realiza la relación para utilizar en la mezcla 50 ml de TAE. La mezcla se coloca en el horno para que se solubilizará, se cuida que no se derrame dentro del horno. A la mezcla fría se le agrega 1µL gel red para teñir. Esperar a que solidifique.

C. Cámara de electroforesis

En la cámara se corre el gel a 65 volts durante 1 hora. Se agregan 30 ml de agua miliQ a las muestras y disolver con pipeteo, re suspender con pipeta.

D. En espectrofotómetro

Se coloca el testigo para verificar que no haya nada o que no esté contaminado en el espectrofotómetro 808 ng/ µL. Se colocan todas las muestras.

Se utiliza el programa BioRad (se programa) y se realizan cálculos con los datos obtenidos para tener 100 nanogramos/microlitos. Agregar la cantidad de muestra de DNA al tubo nuevo. Agregar el restante de 50 µL con agua miliQ. Almacenar los tubos a 4°C. A 24°C.

El termociclador corre a 30 ciclos en los siguientes cambios de temperatura:

- 94°C por 30 segundos
- 58°C por 40 segundos
- 72°C por 40 segundos

Al final se hace una extensión de 72°C por 5 minutos.

E. Gel

Hidratar gel con TAE. Para teñir DNA usar buffer de carga. Cuando las muestras son mayores a 3,000 ng/μL se utiliza menos buffer, más DNA o la misma cantidad. (1 μL de DNA y 1 μL de Buffer)

En un parafilm se colocan las gotas de DNA y el buffer, con el correspondiente volumen en la pipeta. Se colocan las muestras en los pozos del gel. El gel se corre a 90 miliamps/volts por 40 minutos aproximadamente.

Se hace otro gel para observar los PCR's. Agregar 2 μL de buffer y 2 μL de PCR a cada tubo. Introducir el gel al transiluminador para observar la calidad del ADN. Observar láminas de DNA.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvo el siguiente gel con las correspondientes muestras para observar la amplificación del ADN.



Figura 1. Gel de agarosa con muestras de hongos fitopatógenos.

En espectrofotómetro se obtuvo el siguiente resultado

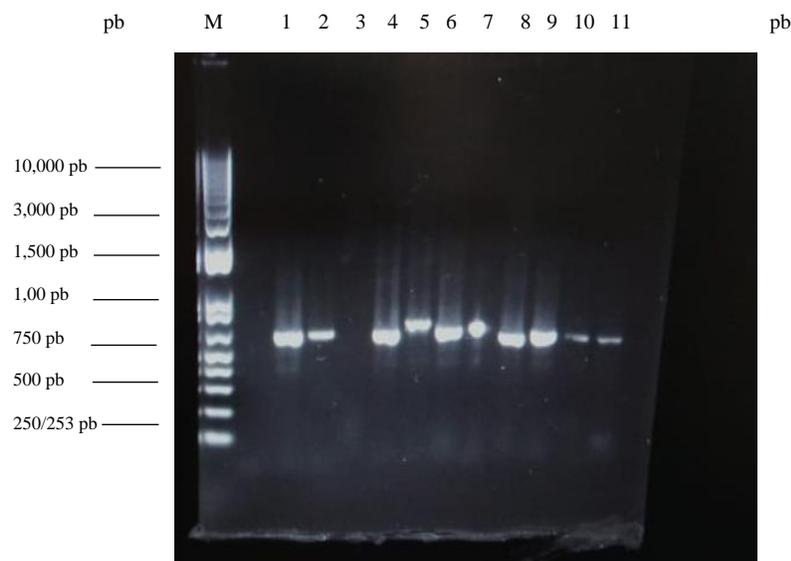


Figura 2. Amplificación de ADN de *Fusarium oxisporum*, *Phytophthora capsici* y *Alternaria solani*. Obtenido de muestras vegetales de *Capsicum Annum*.

Como se puede apreciar, se obtuvo ADN de buena calidad. En el carril 11 se depositó el ADN total de *Fusarium oxisporum*, *Phytophthora capsici* y *Alternaria solani* el cual fue extraído por micelio como todas las demás muestras. Se puede observar en la Figura 2 que no existe un barrido, lo que significa que el ADP no fue degradado, por tal motivo, ésta muestra fue seleccionada para su amplificación.

En el carril 3 no se presenta ninguna banda, probablemente la cantidad de ADN utilizada como templete no fue suficiente.

En el carril 7 se presenta una anomalía en el barrido debido a que hubo mala inyección de muestra en el gel.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La amplificación obtenida del ADN no fue secuenciada debido a que en nuestras instalaciones no se cuenta con el equipo necesario para realizar dicha práctica. Se pretende enviar la amplificación a un laboratorio accesible y continuar con la investigación. Como recomendaciones se exponen las siguientes:

Complementar la identificación de los hongos por medio de otras técnicas como el análisis de ácidos grasos y métodos basados de ADN y ARN.

Realizar estudios evaluando diferentes temperaturas de incubación en el momento para lograr condiciones similares a las de los parámetros.

Utilizar otros métodos de aislamiento que permitan la obtención de la mayor variedad de géneros y especies, incluyendo métodos para recuperación de microorganismos no cultivables como lo son la extracción de ADN directamente en el suelo y la secuenciación de la subunidad pequeña de rADN.

VI. RECONOCIMIENTOS

A Universidad Politécnica del Bicentenario por permitirme realizar la parte experimental de este trabajo en el laboratorio de Agrotecnología.

A mi asesor durante este proyecto M.C. Christian Salvador Mendoza Hernández y a mis profesores M.C. Ma. Eugenia Salas Galván y M.C. Hugo Alberto Velázquez Ruíz que me asesoraron en el proceso de experimentación, y a Luis laboratorista de Agrotecnología.

A mis compañeras de proyecto María Gabriela Huerta Zacarías y Daniela León Ramírez.

REFERENCIAS

- Juárez-Becerra, G. P., Sosa-Morales, M. E., López-Malo, A. (2010). Hongos fitopatógenos de alta importancia económica: descripción y métodos de control. Temas selectos de Ingeniería de Alimentos Vol.4, 14-23.
- Mendoza Z. C. y B. Pinto C. 1985. Principios de fitopatología y enfermedades causadas por hongos. Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Parasitología Agrícola. Chapingo, México. P. 153-159, 248, 286-287.

- Rebollar-Alviter A., Nita M. 2011. Optimizing Fungicide Applications for Plant Disease Management: Case studies on Strawberry and Grape. Fungicides Beneficial and Harmful Aspects. Thajuddin N (Ed), ISBN: 978-953-307-451-1
- Fernández-Ortuño Dolores, Loza-Reyes E, Atkins S, Fraaije B. 2010. The CYP51C gene, a reliable marker to resolve interspecific phylogenetic relationships within the Fusarium speces complex and a novel target for species-specific PCR. International Journal of Food Microbiology. 144:301-309.
- González Ch. M. M., I. Torres P. y H. Guzmán M. 2002. Patógenos involucrados en la marchitez del chile. In: Proceedings of the 16th International Pepper Conference. Tampico, Tam. México. November 10-12.
- Agroproductores. (S/f). El cultivo de pimiento morrón en México. Sitio web:
<http://agroproductores.com/pimiento-morron-en-mexico/>
- Alberto Checa Rojas. (2017). Método: PCR. 2019, Agosto 29, Conogasi.org Sitio web:
<http://conogasi.org/articulos/metodo-pcr/>

Los sarcófágidos (Diptera: Sarcophagidae) del Cañón de Fernández, Lerdo, Durango

Ángel Mauricio Cano Sandoval

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Unidad Laguna
Periférico Raúl López Sánchez s/n. Col. Valle Verde, CP 27059, Torreón, Coahuila.
amcanos@hotmail.com

Asesor: Fabián García-Espinoza

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Unidad Laguna
Periférico Raúl López Sánchez s/n. Col. Valle Verde, CP 27059, Torreón, Coahuila.
garcia-espinoza@hotmail.com

Resumen — Durante las estaciones de primavera, verano y otoño del año 2018 se llevó a cabo el presente trabajo para obtener información sobre la diversidad, distribución y biología de los sarcófágidos que se presentan en el Cañón de Fernández, Lerdo, Durango. Las colectas se realizaron utilizando redes entomológicas y por medio de cebo preparado que fue elaborado con carne de pollo, pescado y estiércol de bovino. Los especímenes colectados fueron preservados en frascos con etanol al 70%, y transportados al laboratorio del departamento de Parasitología de la UAAAN UL para su posterior montaje e identificación. Se colectaron un total de 108 especímenes de la familia Sarcophagidae, todos estos distribuidos en 18 generos.

Palabras clave — diversidad, cebo preparado, especímenes.

Abstract — During the spring, summer and autumn seasons of 2018, this work was carried out to obtain information on the diversity, distribution and biology of the sarcophagi that occur in the Fernández Canyon, Lerdo, Durango. The collections were made using entomological networks and by means of prepared bait that was made with chicken meat, fish and bovine manure. The specimens collected were preserved in bottles with 70% ethanol, and transported to the laboratory of the Department of Parasitology of the UAAAN UL for subsequent assembly and identification. A total of 108 specimens of the Sarcophagidae family were collected, all of them distributed in 18 genera.

Keywords — diversity, prepared bait, specimens.

I. INTRODUCCIÓN

El orden Diptera constituye uno de los órdenes con mayor riqueza de especies, varias de ellas muy abundantes, estando presentes en prácticamente todas las áreas terrestres del planeta. Agrupa a aquellos insectos que se conocen bajo los epítetos comunes de “moscas”, “mosquitos”, “jejenes” y “chaquistes”, entre otros nombres más regionales o bien un poco más específicos aplicados a las familias o categorías superiores (Ibáñez-Bernal y Hernández-Ortiz, 2006).

Los dípteros cumplen diversas funciones en los ecosistemas como polinizadores, depredadores, parasitoides, fitófagos, entre otros, las cuales son de gran importancia para el mantenimiento y equilibrio de los ecosistemas (Hughes et al., 2000; Yeates et al., 2007).

El infraorden Muscomorpha es uno de los grupos más diversos del orden Diptera, se distribuye en todas las regiones biogeográficas del mundo; entre los caliptrados se destacan las familias Calliphoridae, Sarcophagidae y Muscidae, porque poseen especies con estados larvarios implicados en la descomposición de materia orgánica de origen animal, por ello son importantes a nivel médico, veterinario y forense (Blacio, 2018).

Los sarcófagidos, dípteros de hábitos sinantrópicos, son importantes como vectores mecánicos de agentes patógenos y por su capacidad para causar una parasitosis conocida como miasis, que define la infestación producida por larvas de moscas que invaden los tejidos y los órganos del hombre o de otros animales vertebrados (Rey, 1991). Las hembras de Sarcophagidae, todas larvíparas, depositan las larvas de primer estadio sobre carroña o cadáveres frescos, debido a ello muchas especies de esta familia son de interés forense (De Arriba y Sixto, 2006).

Estos son de cuerpo robusto y tamaño variable (de 2 a 23 mm). Coloración predominantemente grisácea, tórax y abdomen cubiertos con abundante pruinosidad, presentando el primero una disposición en fajas longitudinales, mientras que el abdomen presenta habitualmente una disposición de manchas del tipo tablero de ajedrez (Mello-Patiu et al., 2014).

Por lo anterior, el objetivo implícito de este proyecto de investigación es verificar la diversidad de los géneros de moscas de la familia Sarcophagidae que se encuentran establecidas en el Cañón de Fernández, así también conocer más acerca de su comportamiento y con ello contribuir al aumento de conocimiento de estos dípteros.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en el área protegida Cañón de Fernández, municipio de Lerdo, en el noreste del estado de Durango (25° 20' 02" N 103° 44' 07" O). Esta región se caracteriza por su clima seco, con temperaturas medias anuales de 20 °C y una precipitación media anual de 230 mm. Su altitud varía entre los 1165 y 1890 msnm.

Para la colecta de los especímenes, se utilizó la técnica de transecto de longitud aproximada de no menos de dos kilómetros de distancia, para esta actividad se utilizaron cebos con carne de pollo, carne de pescado y estiércol de bovino, también se utilizaron redes entomológicas.

Cinco a 12 cebos se colocaron en cada sitio de muestreo. Los cebos se posicionaron a una distancia de 200 a 300 metros entre sí, se tomaron 10 minutos en cada punto o cebo para colectar la mayor cantidad de especímenes en ese lugar. También se usaron redes entomológicas (ligeras y de golpeo) para colectar moscas en un radio de 20 metros alrededor del sitio donde se colocaron las trampas.

Los especímenes colectados se colocaron en frascos con etanol al 70% con su respectiva etiqueta y se transportaron al Laboratorio del Departamento de Parasitología de la UAAAN UL.

Las colectas se hicieron en tres estaciones del año (primavera, verano y otoño). Las colectas de primavera y verano, abarcaron preferentemente los meses de marzo a septiembre, mientras que las colectas de otoño se hicieron durante el mes de septiembre.

Se hicieron anotaciones durante cada colecta sobre el sitio de estudio en particular, esto con la finalidad de registrar el hábitat de los especímenes colectados.

Los especímenes colectados se montaron con alfileres entomológicos, cada uno de ellos con su respectiva etiqueta y colocados en cajas para colecciones entomológicas y se registraron en la base de datos de insectos de importancia forense de la Comarca Lagunera.

Los especímenes montados en alfileres entomológicos se usaron para la identificación a nivel género en el laboratorio de Parasitología de la UAAAN UL.



Figura 1. Identificación de los especímenes a nivel género en el laboratorio de Parasitología de la UAAAN – UL. Foto de José Alex Jiménez Cruz



Figura 2. Especímenes montados y colocados en una caja entomológica, cada uno de ellos con su respectiva etiqueta. Foto de Fabián García Espinoza

III. RESULTADOS

A continuación se presentan los principales resultados de la estancia dentro del 21 Verano de la Ciencia. Se identificaron principalmente especímenes pertenecientes al orden Diptera. En la tabla 1 se presentan los géneros de la familia Sarcophagidae y en la tabla 2 se presentan los géneros de la familia Calliphoridae y Muscidae.

Tabla 1. Géneros identificados de la familia Sarcophagidae

Géneros	Cantidad
<i>Archimimus</i>	1
<i>Bercaeopsis</i>	1
<i>Brachicoma</i>	1
<i>Comasarcophaga</i>	2
<i>Emblemasoma</i>	1
<i>Euboettcheria</i>	10
<i>Fletcherimya</i>	1
<i>Liosarcophaga</i>	1
<i>Neobellieria</i>	11
<i>Opsophyto</i>	2
<i>Oxysarcodexia</i>	1
<i>Pierretia</i>	1
<i>Ptychoneura</i>	1
<i>Ravinia</i>	2
<i>Robineauella</i>	28
<i>Sarraceniomyia</i>	34
<i>Spirobolomyia</i>	2
<i>Udamopyga</i>	8

Tabla 2. Otras familias, géneros y especies de dípteros colectados identificados

Familias	Géneros	Especie
Calliphoridae	<i>Chrysomya</i>	<i>Ch. rufifacies</i>
		<i>Ch. megacephala</i>
	<i>Lucilia</i>	<i>L. sericata</i>
		<i>L. mexicana</i>
<i>Cochliomyia</i>	<i>Co. hominivorax</i>	
	<i>Co. Macellaria</i>	
Muscidae	<i>Identificación hasta nivel familia</i>	<i>Identificación hasta nivel familia</i>

IV. DISCUSIÓN (O ANÁLISIS DE RESULTADOS)

Durante las colectas realizadas en este estudio se obtuvieron un total de 108 especímenes pertenecientes a la familia Sarcophagidae, los cuales se colectaron en tres estaciones del año, primavera, verano y otoño del año 2018.

García (2011), García-Espinoza y Valdés-Perezgasga (2012) y Valdés (2009) consignan para la Comarca Lagunera los géneros: *Euboettcheria*, *Neobellieria*, *Paraphrissopoda*,

Tytanogrypa, *Aracnidomyia*, *Comasarcophaga*, *Boettcheria*, *Kellymyia*, *Bellieria*, *Bercaea*, *Liopygia*, *Oxysarcodesia*, *Archimimus camatus*, *Eumacronychia*. En este estudio se consignan los géneros: *Archimimus*, *Bercaeopsis*, *Brachicoma*, *Comasarcophaga*, *Emblemasoma*, *Euboettcheria*, *Fletcherimya*, *Liosarcophaga*, *Neobellieria*, *Opsophyto*, *Oxysarcodexia*, *Pierretia*, *Ptychoneura*, *Ravinia*, *Robineauella*, *Sarraceniomyia*, *Spirobolomyia* y *Udamopyga*. Los géneros *Bercaeopsis*, *Brachicoma*, *Emblemasoma*, *Fletcherimya*, *Liosarcophaga*, *Opsophyto*, *Pierretia*, *Ptychoneura*, *Ravinia*, *Robineauella*, *Sarraceniomyia*, *Spirobolomyia* y *Udamopyga* constituyen nuevos registros para la familia Sarcophagidae en el norte de México.

Cabe mencionar que además de moscas de la familia Sarcophagidae, también se colectaron especímenes de otras familias como Muscidae y Calliphoridae, sin embargo se colectaron principalmente sarcófagidos.

Los géneros y especies de califóridos encontrados en este estudio ya han sido mencionado en otras investigaciones previas (Valdés, 2009), siendo, por ejemplo *Ch. rufifacies* y *Co. macellaria* las especies más abundantes durante la época calurosa, mientras que para la época fría predominan las especies de género *Lucilia* (García, 2011).

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En la investigación realizada se lograron identificar 18 generos de moscas pertenecientes a la familia Sarcophagidae, 3 géneros y 6 especies a la familia Calliphoridae y hasta nivel familia ha Muscidae.

De acuerdo a la investigación y a los resultados obtenidos se concluyó que el área del Cañón de Fernández alberga gran diversidad de géneros de moscas de la familia Sarcophagidae, además de otras familias como Calliphoridae y Muscidae.

VI. RECONOCIMIENTOS (O AGRADECIMIENTOS)

Al M.C. Fabián García Espinoza por brindarme la oportunidad de participar en el 21° Verano de la Ciencia de la Región Centro. Junio-agosto 2019 y su apoyo durante el desarrollo de este trabajo.

REFERENCIAS

- Blacio C.,K.V. 2018. Importancia forense en el cantón Pedro Moncayo, Pichincha, Ecuador. Tesis de licenciatura. Universidad Central del Ecuador. 93 p.
- De Arriba, A.V., y S.R. Costamagna. 2006. Desarrollo post-embrionario de *Microcerella acrydiorum* (Diptera: Sarcophagidae) bajo condiciones de laboratorio. Revista Sociedad Entomológica Argentina, 65(1-2):55-61.
- García F. 2011. Estudio del desarrollo y ciclo vital de califóridos y biotipificación de géneros de sarcófagidos de torreón, Coahuila. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro – Unidad Laguna. Torreón, Coahuila. 124 pp
- García-Espinoza F. y M. T. Valdés-Perezgasga. 2012. Listado de géneros de la familia Sarcophagidae (Diptera) asociados a carroña en Torreón, Coahuila. Departamento de Parasitología Agrícola, UAAAN-UL. Torreón Coahuila. 5 Pp.

- Hughes, J., G. Daily & P. Ehrlich. 2000. Conservation of insect diversity: a habitat approach. *The journal of the society for conservation biology*, 14(6):1788-1796.
- Ibáñez-Bernal, S., y V. Hernández-Ortiz. 2006. Catálogo de autoridad taxonómica orden díptera (Insecta) en México. Parte 1. Suborden Nematocera. (En línea). <http://www.conabio.gob.mx/institucion/proyectos/resultados/InfCS004%201.pdf> (Fecha de consulta: 14/vii/2019).
- Mello-Patiu, C.A., J.C. Mariluis, K.P. Silva, L.D. Patitucci. y P.R. Mulieri. 2014. Sarcophagidae. *Biodiversidad de Artrópodos*, 4:475-490.
- Valdés P., .M.T. 2009. Estudio inicial de insectos sobre carroña de cerdo en un área semidesértica de Coahuila. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro – Unidad Laguna. 218 pp.
- Yeates, D.K., B.M. Wiegmann, G.W. Courtney, R. Meier, C. Lambkin & T. Pape. 2007. Phylogeny and systematics of Diptera: Two decades of progress and prospects. *Zootaxa*, 1668:565-590.

Los Sarcófágidos (Diptera: Sarcophagidae) del Puerto de Ventanillas, San Pedro de las Colonias, Coahuila

José Alex Jiménez Cruz

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Unidad Laguna
Periférico y carretera a Santa Fe s/n, Torreón,
Coahuila
josalex15@hotmail.com

Asesor: Fabián García-Espinoza

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Unidad Laguna
Periférico y carretera a Santa Fe s/n, Torreón,
Coahuila
garcia-espinoza@hotmail.com

Resumen — Durante el verano del 2019, se llevó a cabo el presente proyecto, con la finalidad de coleccionar, montar e identificar, moscas de la familia Sarcophagidae, en el Puerto de Ventanillas, San Pedro de las Colonias, Coahuila, se realizaron colectas por medio de cebo preparado, a partir de carne de pescado, pollo, res, estiércol de bovino y agua. Para la colecta de especímenes se utilizó la técnica de transecto, 200 metros de un punto a otro. Se recorrieron 2 kilómetros aproximadamente, en esta distancia se colocaron 5 o 6 puntos de colecta. Los especímenes recolectados fueron preservados en etanol al 70%, y transportados al departamento de Parasitología de la UAAAN UL para posteriormente identificarlos y colocarlos en una base de datos.

Palabras clave — Moscas, Sarcophagidae, puerto, colecta

Abstract — During the summer of 2019, this project was carried out, in order to collect, assemble and identify, flies of the Sarcophagidae family, in the Port of Ventanillas, San Pedro de las Colonias, Coahuila, collections were made through prepared bait, from fish meat, chicken, beef, bovine manure and water. The transect technique, 200 meters from one point to another, was used to collect specimens. Approximately 2 kilometers were traveled, in this distance 5 or 6 collection points were placed. The collected specimens were preserved in 70% ethanol, and transported to the Department of Parasitology of the UAAAN UL to later identify them and place them in a database.

Keywords — Flies, Sarcophagidae, harbor, collection

I. INTRODUCCIÓN

La familia Sarcophagidae es casi cosmopolita con más de 2,000 especies descritas en alrededor de 400 géneros; aproximadamente 327 especies están consignadas para Estados Unidos y Canadá. Representantes de esta familia son encontrados alrededor del mundo, con la mayoría de especies en regiones tropicales o de clima templado (Shewell, 1987 b; Byrd y Castner, 2010).

Los sarcófágidos pueden reconocerse por la presencia de tres bandas negras conspicuas sobre fondo gris en el tórax, así como por la combinación de características como la presencia de dos a cuatro setas notopleurales, la coxa posterior con setas sobre la superficie posterior y arista comúnmente plumosa. Las hembras son vivíparas u ovovivíparas, depositando larvas vivas de primer instar (Shewell 1987).

Sus hábitos son variados, comportándose como necrófagas, coprófagas, depredadoras y parasitoides (Pape 1996). En un importante número de especies las larvas son carroñeras, alimentándose de materia orgánica en descomposición, lo cual las ubica dentro

de los insectos de importancia forense como uno de los primeros organismos que colonizan cadáveres (Smith 1986).

Los sarcófagidos son elementos muy importantes en del componente necrófago, debido a que ciertas especies aparecen frecuentemente en cadáveres humanos (Goff, 1991; Anderson, 1995; Oliva 1997). Los sarcófagidos, dípteros de hábitos sinantrópicos, son importantes como vectores mecánicos de agentes patógenos y por su capacidad para causar una parasitosis conocida como miasis, que define la infestación producida por larvas de moscas que invaden los tejidos y los órganos del hombre o de otros animales vertebrados (Rey, 1991).

II. METODOLOGÍA

Ubicación de la zona de estudio. El presente estudio se llevó a cabo en el Puerto de Ventanillas, San Pedro de Las Colonias, Coahuila. El Puerto de Ventanillas se localiza en el Municipio San Pedro del Estado de Coahuila de Zaragoza México y se encuentra en las coordenadas GPS: Longitud: -102.735000, Latitud: 26.030278. La localidad se encuentra a una mediana altura de 1095 metros sobre el nivel del mar.

Época de estudio. Las colectas realizadas, se llevó a cabo durante el verano del 2019, con el fin de conocer, la diversidad de sarcophagidos en esta época.

Procedimiento experimental y sitios de estudios: Durante el verano del 2019, se realizaron colectas de dípteros sarcófagos en el Puerto de Ventanillas, municipio de San Pedro de Las Colonias, Coahuila. Las moscas se colectaron con una mezcla de estiércol de bovino, carne de res, carne de pollo, carne de pescado y agua

Método de recolección de especímenes: Para la colecta de los especímenes se utilizó la técnica de transecto de 200 metros de un punto a otro. Se recorrieron 2 kilómetros aproximadamente, en esta distancia se colocaron 5 o 6 puntos, en la cual en cada punto, se colocó el cebo preparado, y con la ayuda de una red entomológica, se colectaron las moscas y se preservaron en etanol al 70%, para posteriormente identificarlos.

Preservación e identificación de especímenes: Los especímenes colectados, fueron preservados en etanol al 70%, posteriormente fueron transportados al Laboratorio de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro – Unidad Laguna para su montaje e identificación.

La identificación de los especímenes se realizó a nivel género y/o especie bajo estereoscopio con las claves de Whitworth (2006) y Shewell (1987). Posteriormente se seleccionaron muestras para ser enviadas, con fines de identificación por expertos en los grupos colectados.

Manejo y presentación de datos: Los datos obtenidos, se registró en una base, en la cual se registró, familia, genero, localidad, coordenadas, sexo, etc.



Figura 1. Puerto de Ventanillas, área de estudio. Foto José Alex Jiménez Cruz



Figura 2. Elaboración del cebo. Foto Fabián García Espinoza

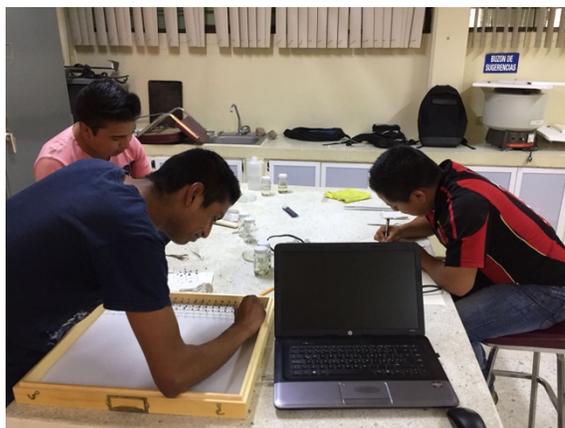


Figura 3. Montaje, identificación y traspaso de resultados a la base de datos. Foto Fabián García Espinoza

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante la época de verano se realizó la recolecta de moscas muscomorfas, especialmente de la familia sarcophagídea, con el fin de conocer su diversidad, se encontraron, moscas sarcophagas, calliforidos y múscidos, todas pertenecientes al orden díptera. De la familia sarcophagidae se encontraron los géneros; *Archimimus*, *Baercaeopsis*, *Brachichoma*, *Comasarcophaga*, *Euboettcheria*, *Liosarcophaga*, *Neobellera*, *Neosarcophaga*, *Paraphrissopoda*, *Ptyconeura*, *Ravinia*, *Robineauella*, y *Sarraceniomya*.

Tabla 1. Géneros identificados de la familia Sarcophagidae

Géneros	Cantidad
<i>Archimimus</i>	1
<i>Bercaeopsis</i>	2
<i>Brachicoma</i>	1
<i>Comasarcophaga</i>	43
<i>Euboettcheria</i>	48
<i>Neobellera</i>	33
<i>Liosarcophaga</i>	9
<i>Neosarcophaga</i>	1
<i>Paraphrissopoda</i>	9
<i>Ptyconeura</i>	5
<i>Ravinia</i>	2
<i>Robineauella</i>	56
<i>Sarraceniomya</i>	28

Tabla 2. Otras familias de dípteros encontrados

Familias	Géneros	Especie
Calliphoridae	<i>Chrysomya</i>	<i>Ch. rufifacies</i>
		<i>Ch. megacephala</i>
	<i>Lucilia</i>	<i>L. sericata</i>
		<i>L. mexicana</i>
<i>L. silvarum</i>		
<i>Cochliomyia</i>	<i>Co. hominivorax</i>	
	<i>Co. Macellaria</i>	
Muscidae	Identificación hasta nivel familia	Identificación hasta nivel familia

La diversidad de los dípteros muscomorfos del estado de Coahuila es amplio, concretamente en la Comarca Lagunera, en este estudio realizado en el Puerto de Ventanillas, San Pedro de las Colonias, Coahuila, se registraron 13 géneros de moscas de la familia sarcophagidae, siendo *Robineauella* la más dominada seguido por *Euboettcheria*, *Comasarcophaga* y *Sarraceniomya*, de los géneros con especímenes menos encontrados fueron, *Archimimus*, *Baercaeopsis*, *Brachihoma* y *Neosarcophaga*.

Perez, 2019, en su estudio realizado en la Comarca lagunera encontró un total de 181 sarcófagos, ubicándolos dentro de 18 géneros, un género coincide con las encontradas en este estudio realizado, que es *Neobellieria*, por lo cual se puede decir que esta familia de dípteros es muy diversa. Mientras que García (2011), Valdés (2009) y García-Espinoza y Valdés-Perezgasga (2012) consignan para la Comarca Lagunera los géneros: *Euboettcheria*, *Neobellieria*, *Paraphrissopoda*, *Tytanogrypa*, *Aracnidomyia*, *Comasarcophaga*, *Boettcheria*, *Kellymyia*, *Bellieria*, *Bercaea*, *Liopygia*, *Oxysarcodesia*, *Archimimus camatus*, *Eumacronychia*.

También se encontraron moscas de la familia Calliphoridae y Muscidae, estas últimas solo se identificaron a nivel familia, mientras que los califoridos se encontraron los géneros *Chrysomya*, *Lucillia* y *Cochliomya*.

IV. CONCLUSIONES

Durante este proyecto se pudo, recolectar e identificar, dípteros muscomorfos, en total se encontraron 13 géneros de moscas de la familia Sarcophagidae, y 3 de la familia Calliphoridae. Se puede concluir que el puerto de Ventanillas alberga una gran diversidad de dípteros muscomorfos.

REFERENCIAS

- Anderson, G.S. 1995. The use of insects in death investigations: an analysis of forensic entomology cases in British Colombia over a five year period. *Can. Soc.J. Forensic Sci*, 28(4):277-292.
- Byrd, H.J. y Castner J.L. 2010. Insects of forensic importance. En: Byrd y Castner (Eds.). *Forensic Entomology. The Utility of Arthropods in Legal Investigations*. Second edition. CRC Press, Boca Raton, FL, USA. 681 pp.
- García E., F. 2011. Estudio del desarrollo y ciclo vital de califóridos y biotipificación de géneros de sarcófagos de torreón, Coahuila. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro – Unidad Laguna. Torreón, Coahuila. 124 pp
- García-Espinoza F. Valdés-Perezgasga M. 2012. Listado de géneros de la familia Sarcophagidae (Diptera) asociados a carroña en Torreón, Coahuila. Departamento de Parasitología Agrícola, UAAAN-UL. Torreón Coahuila. 5 Pp.
- Goff, M.L. 1991. Comparison of insect species associated with decoposing remains recovered inside dwellings and outdoors on the Island Of Oahu, Hawaii. *J. Forensic Sci*, 36(3):748-753.
- Oliva, A. 1997. Insectos de interés forense de Buenos Aires (Argentina). Primera lista ilustrada y datos binomicos. *Revista del museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardo Rivadavia" e Instituto Nacional de Investigaciones de la Ciencia Buenos Aires*, 7(2):13-59.
- Pape, T. 1996. Catalogue of Sarcophagidae of the world (Insecta: Diptera). *Mem. Entomol. Inter*, 8:-558.
- Rey, L. 1991. *Parasitología*. Editorial Guanabara-Koogan, Río de Janeiro.
- Shewell, G.E. 1987. Sarcophagidae, In: *Manual of nearctic Diptera*. J. F McAlpine. Ottawa, Ontario, Canada, Biosystematic Research Center, Research Branch Agriculture Canada, 2:1159-1186.
- Smith, K. 1986. *A manual of forensic entomology*. The Trustees of the British Museum. Naturaly History, Londres, 205 p.

Valdés P., .M.T. 2009. Estudio inicial de insectos sobre carroña de cerdo en un área semidesértica de Coahuila. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro – Unidad Laguna. 218 pp.

Manipulación del metabolismo de poliaminas en hongos entomopatógenos para incrementar la eficiencia del control biológico de insectos plaga que atacan cultivos de importancia económica

Diana Marcela Velazquez Gil
Instituto Tecnológico Superior de Irapuato
Silao-Irapuato km 12.5 El copal,
36821 Irapuato, Gto.
marcela_velazquez22@hotmail.com

Asesora: Laura Valdés Santiago
Instituto Tecnológico Superior de Irapuato
Silao-Irapuato km 12.5 El copal,
36821 Irapuato, Gto.
laura.valdes@itesi.edu.mx

Resumen — La putrescina, espermidina y espermina son moléculas esenciales, sus niveles regulan el crecimiento, desarrollo y diferenciación de hongos. Para conocer el metabolismo de poliaminas en hongos entomopatógenos (HE) y así, eventualmente, manipularlo para incrementar su virulencia y por lo tanto, la eficiencia del control biológico de insectos plaga se realizó un escrutinio de las secuencias de proteínas reportadas para HE de la primera enzima de la vía la ornitina descarboxilasa (ODC) y la antienzima (AZ) proteína reguladora de la ODC. Se realizó un modelado por homología a partir de las secuencias de aminoácidos depositadas en la base de datos GenBank y en NCBI. El modelado por homología se efectuó utilizando el servidor SWISS-MODEL.

Palabras clave — Ornitina descarboxilasa, putrescina, espermidina, espermina, DLI-MA, SWISS-MODEL.

Abstract — Putrescine, spermidine and spermine are essential molecules, their levels regulate growth, development and differentiation fungi. The knowledge of polyamine metabolism in entomopathogenic fungi allows us to manipulate it, and this way, increase virulence and the efficiency of biological control of insect pests. We made and examination of reported proteins of the first polyamine pathway enzyme ornithine decarboxylase (ODC) and antizyme (AZ), the protein that regulated it. The aminoacid sequences found at GeneBank and NBCI database were used to protein homology modeling with SWISSMODEL.

Keywords — Ornithine decarboxylase, putrescine, spermidine, spermine, DLI-MS, SWISSMODEL.

I. INTRODUCCIÓN

Las poliaminas son moléculas de tamaño diminuto alifáticas involucradas en crecimiento y desarrollo celular en una amplia gama de organismos (Tabor, 1985; Ruiz-Herrera, 1994). Las tres poliaminas más comunes son putrescina, espermidina y espermina.

Según Pucheta Díaz et al.(2006), los hongos entomopatógenos tienen un gran potencial como agentes controladores, constituyendo un grupo con más de 750 especies, diseminándose en el medio ambiente y provocando infecciones fungosas a poblaciones de artrópodos; entre los géneros más importantes esta: *Metarhizium*, *Beauveria*, *Aschersonia*, *Entoophthora*, *Zoophthora*, *Erynia*, *Eryniopsis*, *Akanthomyces*, *Fusarium*, *Hirsutella*, *Cordyceps*, *Hymenostilbe*, *Paecilomyces* y *Verticillium* (Monzon, 2001), *Beauveria* genera efectos importantes, uno de ellos es que ayuda disminuir o bien retrasar la madurez de algunos insectos, además de la infertilidad de estos de acuerdo con los experimentos de Wang et al (2018). *Metarhizium* llega a presentar crecimiento radial en condiciones de

laboratorio y varía de acuerdo con los días va de 15 hasta 30 días esto después de la incubación. (Padilla-Melo et al 2000).

La ornitina descarboxisa ODC es la primera enzima de la vía de síntesis de poliaminas. La ODC da lugar a la putrescina, quien es la precursora de la espermidina y la espermina (Figura 1). La ODC es regulada mediante la intervención de una anti enzima (AZ) (ValdésSantiago y Ruiz-Herrera, 2015). Por ser esta enzima la primera en la ruta de biosíntesis de poliaminas y la precursora de la espermidina y la espermina (Bachrach U. et al, 2010), Chattopadhyay et al., 2006) este trabajo tuvo por objetivo el escrutinio de la presencia de la ODC y la AZ en los principales hongos entomopatógenos a nivel proteína, utilizando modelado por homología a partir de las secuencias de aminoácidos depositadas en la base de datos GenBank. El modelado por homología se hizo utilizando el servidor SWISSMODEL (Brunger, A. T et al., 1997).

II. MATERIALES Y METODOS

Se realizó un búsqueda en el Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) [1] de la ODC y las AZ's reportada para los HE: *Bauveria*, *Cordyceps brongniartii*, *Metarhizium*, *Hirsutella* y *Purpureocillium*.

Se obtuvieron datos claves de estas, como es el número de aminoácidos, identificación, acceso, organismo origen. También se tuvo acceso a la secuencia de los genes que dan lugar a la ODC (Figura 2).

Para la modelación de la proteínas presentes en 3D, se utilizaron las secuencias de proteínas de las ODC y se utilizaron en la plataforma swissmodel.expasy.org. [2], Este programa genera una posible estructura proteica en 3D, comparando además con ODC de otros organismos registradas en la plataforma (Figura 3).

Gracias a esta información se logró construir la posible estructura de la proteína tanto en su forma 3D en diferentes tipos de ángulos así como información general de la proteína (Figura 4).

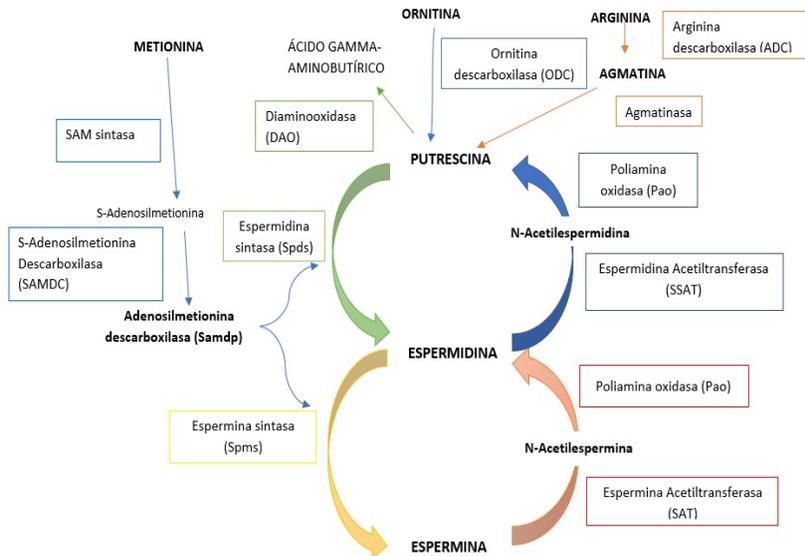


Figura 1 Metabolismo de las poliaminas. Mediante la adición de la ODC se genera la síntesis de la putrescina.

Beauveria brongniartii RCEF 3172 Scf_3, **whole genome shotgun sequence**
 >AZHA01000003.1:c69295-67861 **Beauveria brongniartii** RCEF 3172 Scf_3, **whole genome shotgun sequence**
 ATGTCGCAGATTACTCACCTACCATCAAGGGTATGTTTACTGTTACCAGCTGGAAAATAATGAAGTCG
 TTGCTGCCCGCTGCTGCTGCCCTCCTCGTGGGACGAAAGAGGGGGAGCTTGAAGCCATCGCAATTGC
 TCAAGAAAAGAGAAACGGAAAAACAGCTTTCGCGATTGATTCTCCATCGCTAACGTTGACAGATGGCT
 GGTCCGCGAAATCTCCAACATGTGGCCCGGCCAGGCCATGACCCTCAAGGTGCAAAAAGGTCCTCGACCA
 CGAAAAGTCCAAGTACCAGGACGTGCTCTCAAGTCGACCGACTACGGCCACGTGCTCGCTCGAC
 AACGTATCCAGTGCCTGAGCGGACGAGTTCTCCTACCAGGAAATGATTGCCACCTCGCCTTGAAC
 CGACCCCAACCCCAAGAAGGTGCTCGTCAATGGCGGCGGACGGCGGGCTCCTCCGCGAGGTTGTCAA
 GCACGACTCGTTGAGGAGGCCATTCTCGCGACTTGCAGACTTGCACCGCTTCTGACCCCGAGGGCCCGGAGAGCCTTCC
 AGAAGCCCTACTTCCAGTCTCCATGACGCCCTCCGCGATGGCGGCGTCACTCCACCCAGGTTGTAT
 GTCTACTTTTTTCAACGGAAAAGTCGAGTGGCATGTTGATGATGGACAGGGGGCCAGCAGCGAGC
 CAATCTCGTGTGAGAGAAGTCTGCTCACTTGCCTGCTGCTACAGGGCTTCTCCGCCCCGTTGCTGCGC
 TCCTGCTCTAGAGTAGTCCGCCATGAGCCAGTCTGACTTTTTCCGGACCCCAAGTCCGCGCTCGG
 TAGTCCGCGTGGCAGGGTTCCCTATTTTCTGAAAAGCTGCCATTCTGATTCCGATGCTACTGT
 TTACTTCCGCGCTGCTAACATGCTCTCTCACAGCCGAGAACCAGTGGCTCCACCTCTCCCTCATCA
 CCCAGTCAAGAAGGACTGCAAGGAAATCTTCCCGCTGTCGAGTACGCTACAGCATCCCGCCGCTCA
 CCCCTGGCCAGATTGGCTTCAATGGTCTGACGCAAGGACGCTCGCGGACGCTAAGTCCGCGTCCG
 TCCTGGACCCCGCGAGGAGGAGGAAAAGTCCGCTACTACAATGCCGAAATTCACAAGGCTAGCTTG
 TCCTGCCAACCTTGGCAAGAAGGCCCTTCAATAG

Figura 2 Secuencia de nucleótidos en formato FASTA obtenido de la búsqueda.

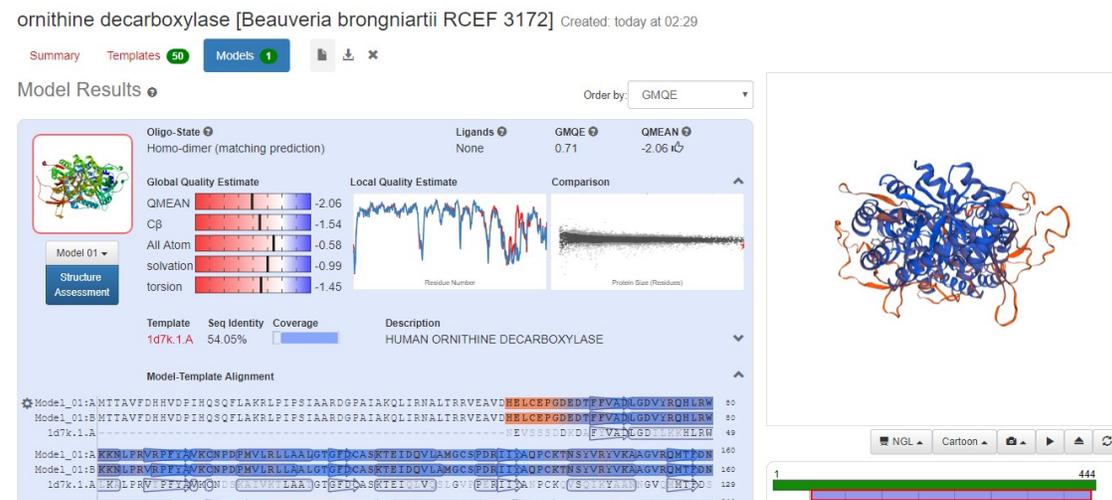


Figura 3 Obtención de modelado en 3D de las proteínas.

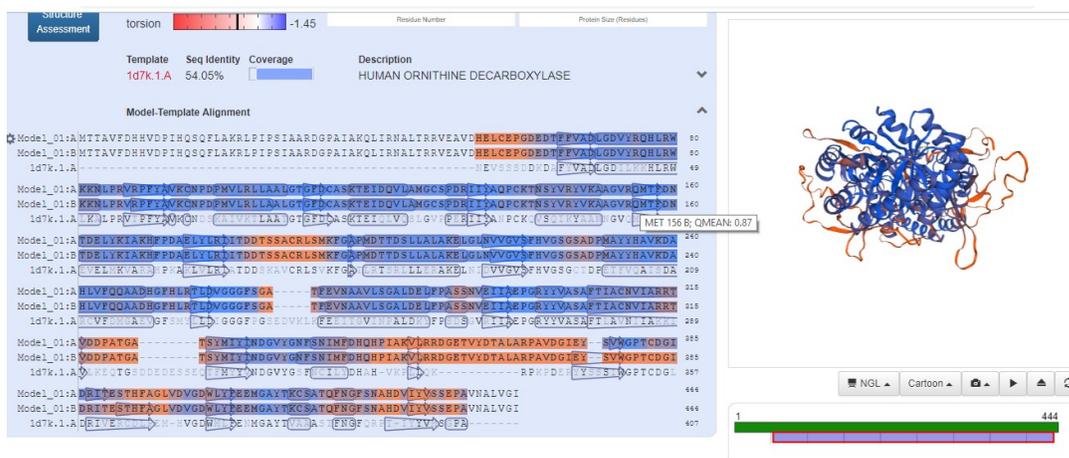


Figura 4 Modelado en 3D de la proteína.

III. RESULTADOS

Se encontraron 21 secuencias de proteínas para la ODC (Tabla 1) y 17 para la AZ (Tabla 2) en diferentes tipos de HE como son: *Purpureocillium*, *Hirsutella*, *Metarhizium* y *Cordyceps brongniartii* (Tabla 1).

Tabla 1 Resultados del modelado de la ODC.

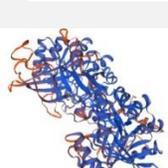
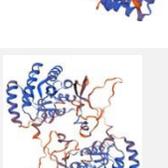
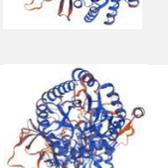
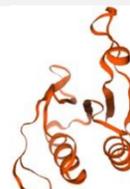
ENZIMA	HONGO ENTOMOPATÓGENO	NOMBRE DE LA PROTEÍNA	CLAVE/GENBANK	NO. DE AMINOÁCIDOS	FIGURA EN 3D
ODC	<i>Cordyceps brongniartii</i>	ornithine decarboxylase [Beauveria brongniartii RCEF 3172]	OAA38432.1	444 aa	
	<i>Metarhizium</i>	Ornithine Decarboxylase, partial [Metarhizium anisopliae]	AAQ91788.1	276 aa	
		ornithine decarboxylase [Metarhizium anisopliae]	KFG81722.1	447 aa	
	<i>Hirsutella</i>	Ornithine decarboxylase [Hirsutella minnesotensis 3608]	KJZ75001.1	449 aa	
		hypothetical protein HIM_04376 [Hirsutella minnesotensis 3608]	KJZ76294.1	269 aa	
	<i>Purpureocillium</i>	ornithine decarboxylase [Purpureocillium lilacinum]	PWI71256.1	449 aa	
		ornithine decarboxylase [Purpureocillium lilacinum]	XP_018176826.1	430 aa	

Tabla 2. Resultados del modelado de la AZ

ENZIMA	HONGO ENTOMOPATÓGENO	NOMBRE DE LA PROTEÍNA	CLAVE/GENBANK AMINOÁCIDOS	NO. DE FIGURA EN 3D E	
	Cordyceps brongniartii	ornithine decarboxylase antizyme [Beauveria brongniartii RCEF 3172]	OAA52346.1	182 aa	
	Metarhizium	ornithine decarboxylase antizyme [Metarhizium acridum CQMa 102]	EFY91432.1	388 aa	
AZ		ornithine decarboxylase antizyme [Metarhizium robertsii ARSEF 23]	EFZ01814.1	295 aa	
	Purpureocillium	ornithine decarboxylase antizyme [Purpureocillium lilacinum]	PWI75424.1	563 aa	
		ornithine decarboxylase antizyme [Pochonia chlamydosporia 170]	OAA61786.1	278 aa	

IV. DISCUSIÓN (O ANÁLISIS DE RESULTADOS)

Hay muy poca información sobre el metabolismo de poliaminas en hongos entomopatógenos y su efecto sobre el desarrollo, diferenciación y virulencia de ellos. En este trabajo se encontró que la ODC reportada varía entre 269 a 647 aminoácidos (Tabla1) y la AZ oscila entre 182-563. Se observó con detalle cada una de las proteínas presentes en la enzima ODC y también su estructura en 3D. Los datos encontrados para la ODC de entomopatógenos, son diferentes a los reportados para otros ascomicetos, cuya secuencia de proteína está entre 444-472 (Valdés-Santiago y Ruiz-Herrera, 2015), lo que indica que tienen regiones que no están presentes en otros hongos, a pesar de su cercanía filogenética. Por otro lado la presencia de la AZ, demuestra que los hongos entomopatógenos tienen este sistema para regular los niveles de poliaminas al igual que hongos pertenecientes a otros phylum.

IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En el trabajo se encontraron 21 secuencias de proteína registradas en hongos entomopatógenos que dan lugar a la ODC y 17 para la AZ variando los hongos y cepas, aunque no se debe descartar la idea de encontrarse más secuencias de otros hongos entomopatógenos que den lugar a estas enzimas.

V. RECONOCIMIENTOS

Expreso mi agradecimiento al Instituto Tecnológico Superior de Irapuato (ITESI) por brindarme la oportunidad de participar en el verano regional, a la Dra. Laura Valdés Santiago y al Dr. José Luis Castro, por el apoyo otorgado.

REFERENCIAS

- [1] Plataforma para la obtención de datos. Disponibles en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- [2] Plataforma para la modelación en 3D de proteínas. Disponibles en: <https://swissmodel.expasy.org/interactive/PT5L7q/models/> Libros:
- Bachrach U. (2010). The early history of polyamine research. *Plant Physiology and Biochemistry*. 48(1), 490-495. Involvement of polyamines in plant response to abiotic stress. *Biotechnol Lett*. 28(23), 1867-1876.
- Brunger, A. T. (1997).
X-ray crystallography and NMR reveal complementary views of structure and dynamics. *Nat.Struct.Biol.*, 4 Suppl:862-825.
- Chattopadhyay M.K., Park M.H. y Tabor H. (2008). Hypusine modification for growth is the major function of spermidine in *Saccharomyces cerevisiae* polyamine auxotrophs grown in limiting spermidine. *PNAS*. 105 (18), 6554-6559.
- Knott J. M., Römer P. y Sumper M. (2007). Putative spermine synthases from *Thalassiosira pseudonana* and *Arabidopsis thaliana* synthesize thermospermine rather than spermine. *FEBS Lett*. 581(16), 3081-3086
- Padilla-Melo G.N., Bernal-Urbe M.G., Vélez-Arango P.E. y Montoya-Restrepo E.C. (2000). Caracterización patógena y morfológica de aislamientos de *Metarhizium anisopliae* obtenidos de diferentes insectiles.
- Pucheta-Díaz M., Flores-Macias A., Rodríguez-Navarro S. y De la Torre M. (2006) Mecanismos de acción de los hongos entomopatógenos. *INCI*, 31(12), 856-860.
- Valdés-Santiago L. and Ruiz-Herrera J. Libro: Polyamines in Fungi: Their distribution, metabolism and their role in cell differentiation and morphogenesis. *Mycology Series, Volume 30*. Boca Raton (Florida): CRC Press (Taylor & Francis Group), ISBN: 978-1-4987-1742-7, 2016.
- Wang Y., Yu N., Chu F., Khan S. y Liu Z. (2018). Sublethal effects of *Beauveria bassiana* sensu lato isolate NJBb2101 on biological fitness and insecticide sensitivity of parental and offspring generations of brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Biological Control*.

Monitoreo de *Delia* spp. (Diptera: Anthomyiidae) en cultivos hortícolas de Coahuila y Durango

Karla Leticia Martínez Ramos

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Periférico Raúl López Sánchez S/N. Torreón,
Coahuila, México. C. P. 27054
Carrita97_kmr@outlook.es

Asesor: Fabián García Espinoza

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Periférico Raúl López Sánchez S/N. Torreón,
Coahuila, México. C. P. 27054
garcia-espinoza@hotmail.com

Resumen — Las larvas del género *Delia* destruyen las semillas y pequeñas plántulas. El daño es más grave cuanto más joven es la planta. Las especies de importancia agrícolas son: *Delia antiqua*, mosca de la cebolla, *Delia platura*, la mosca de los sembrados, *Delia radicum* es la mosca de la col y ataca a exclusivamente a crucíferas. El objetivo del presente trabajo es identificar y coleccionar por primera vez la presencia de moscas del género *Delia* en zonas de la Comarca Lagunera. Se recolectaron 25 individuos de *Delia* spp. Utilizando 10 trampas al azar de 300 a 400 metros de distancia cada uno.

Palabras clave — Mosca, trampas, crucíferas, semilla.

Abstract — the larvae of the genus *Delia* destroy the seeds and small seedlings. The damage is more serious the younger the plant is. Agriculturally important species are: *Delia antiqua*, onion fly, *Delia platura*, the seeded fly, *Delia radicum* is the cabbage fly and attacks crucifers exclusively. The objective of this work is to identify and collect for the first time the presence of flies of the *Delia* genus in areas of the Lagunera Region. 25 individuals of *Delia* spp. Using 10 random traps 300 to 400 meters away each.

Keywords — Fly, traps, cruciferous, seed

I. INTRODUCCIÓN

Los insectos como plaga, representan un problema para la producción agrícola, por sus hábitos alimenticios fitófagos, es decir, se alimentan de plantas o partes de ellas. Órdenes como Orthoptera, Hemiptera, Thysanoptera, Coleoptera, Lepidoptera y Diptera, incluyen especies que son plagas de importancia para algunos cultivos (Triplehorn y Johnson, 2005; Gullan y Cranston, 2010).

Las moscas de importancia como plagas agrícolas, de acuerdo con Malais y Ravensberg (2006), pertenecen al orden Diptera, un orden muy diverso que incluye 100,000 de especies; tiene como característica un solo par de alas adaptadas para el vuelo y el segundo par modificado en un balancín, sin embargo, hay algunas especies ápteras. Sin embargo, esta característica no es exclusiva de ellos, pues existen otras especies de insectos, muy pocas, que también presentan dos alas (por ejemplo, algunas efímeras y unos pocos homópteros). Son de apariencia similar a la mosca común. Algunos de sus miembros son llamados comúnmente moscas de las flores. Las larvas se encuentran normalmente en los tallos que decaen y las raíces de plantas, donde se alimentan de materia vegetal en descomposición. La familia incluye también inquilinos, comensales, y larvas parasitarias.

Las especies que son fitófagas, en estado larvario suelen causar daños a las plantas cultivadas. Las larvas tienen un aparato bucal masticador y viven mayoritariamente de

material en descomposición y hongos, aunque algunas especies pueden consumir materia vegetal viva y tierna (Malais y Ravensberg, 2006), como es el caso de algunos géneros y especies de Anthomyiidae, que incluye a las moscas de la semilla o de la col y la cebolla. Esta familia está integrada por 600 especies que se distribuyen en América del Norte, la mayoría son negruzcas y casi del mismo tamaño que una mosca doméstica o un poco más pequeña.

Gran parte de los antómidos, son fitófagos en estado larval y muchos de ellos se alimentan de las raíces de las plantas huéspedes (Triplehorn y Johnson, 2005). Algunas especies son plagas severas de cultivos agrícolas o plantas de jardín (Triplehorn y Johnson, 2005), particularmente algunas del género *Delia*. Este género contiene aproximadamente 112 especies (ITIS, 2019); incluye la mosca de la cebolla *Delia antiqua* (Meigen), la mosca del bulbo del trigo o de la semilla del maíz *D. coarctata* Weise, la mosca de la raíz del nabo *D. floralis* (Fallén), la mosca de la semilla del frijol *D. platura* (Meigen) y la mosca de la raíz del repollo *D. radicum* (L.) (Metcalf y Flint, 1967; Bermejo, 2011; Savage et al., 2016; Yang, 2018).

Los dípteros son insectos holometábolos con metamorfosis completa que normalmente incluye cuatro fases: huevo, larva, pupa y adulto. Ello significa que el aspecto que presentan como adulto es diametralmente opuesto al del aspecto larvario. Las larvas viven generalmente en hábitats claramente diferentes a los de los adultos. (Miguel Carles-Tolrá Hjorth-Andersen, 2015).

La práctica totalidad de dípteros presentan machos y hembras que copularán cuando corresponda. Excepcionalmente, unas pocas especies son partenogenéticas (reproducción sin machos) o los machos son extremadamente raros (por ejemplo, Lonchopteridae: *Lonchoptera bifurcata*). En unas pocas especies de la familia Cecidomyiidae se da la pedogénesis, es decir, reproducción de fases inmaduras. (Miguel Carles-Tolrá Hjorth-Andersen, 2015).

Los adultos del género *Delia* aparecen en primavera, se reproducen y la hembra realiza la puesta de forma aislada en el suelo, cerca de la planta o en el propio cuello de esta. Tras la eclosión, las larvas penetran en el tejido vegetal, alimentándose del bulbo como *D. antiqua*, de las raíces por parte de *D. radicum*, o de las semillas en germinación como lo hace *D. platura*. Cuando completan su desarrollo larvario pupan en el suelo, a menos de 15 cm de profundidad o en ocasiones en el interior de la galería alimenticia, apareciendo los adultos en verano, los cuales darán lugar a otra generación más. El invierno lo pasan en forma de pupa hasta la próxima primavera, cerrándose así el ciclo (Bermejo, 2011).

Las moscas del género *Delia* presentan generalmente tres generaciones por año. Las larvas destruyen las semillas y pequeñas plántulas. El daño es más grave cuanto más joven es la planta; provocando marcas o fallos en la nacencia con el cultivo y un debilitamiento en estado vegetativo. ((Bermejo, 2011).

El presente trabajo, tiene como objetivo reportar por primera vez la presencia de moscas del género *Delia* en una zona agrícola de la Comarca Lagunera de Durango.

II. MATERIALES Y MÉTODO

El material examinado fue recolectado en la localidad de Ignacio Ramírez está situado en el Municipio de Guadalupe Victoria en el Estado de Durango, el día sábado 20 de Julio.

La localidad se encuentra a una mediana altura de 2020 metros sobre el nivel del mar. La localidad mencionada se encuentra en la región conocida como Comarca Lagunera.

Se recolectaron especímenes adultos del orden Diptera mediante el uso de trampas colocadas al azar, desde un día antes; se hicieron 10 trampas con nailo amarillo con pegatac, colocándolas a una distancia de 300 a 400 m.

El recorrido para el monitoreo de las trampas se basó de acuerdo como estaban distribuidas, obteniendo un promedio de 2 a 3 moscas (*Delia* spp.) por trampa; mismos que fueron transportados en alcohol al 70% al laboratorio del departamento de parasitología, UAAAN-UL para posteriormente identificarlos.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se identificaron 25 especímenes del orden Diptera, de la familia Anthomyiidae, 15 de ellas de la especie *Delia platyura* y 10 de la especie *Delia antiqua*. Savage et al. (2016), separan a los adultos del género *Delia* de *Botanophila*, un género hermano muy similar, mediante la observación de la seta prealar. En el género *Botanophila* está presente y bien desarrollada pero siempre más corta que la seta notopleural. Además, es posible la separación por medio de la observación pelos anepisternales. Darvas y Szappanos (2003) y Savage et al. (2016), coinciden al identificar a *D. platyura* por una fila de más de 18 pelos en la tibia trasera (Fig. 2), mientras que *D. antiqua* presenta de siete a 15 pelos en esta zona.

De las especies mencionadas, tres son las más importantes, *D. antiqua* o mosca de la cebolla, que afecta a cultivos de la familia liliáceas (cebolla, ajo y puerro); *D. platyura*, la mosca de los sembrados, es una especie muy polífaga pudiendo atacar al frijol y maíz y otros cereales, judía, tomate, espárrago, crucíferas; y *D. radicum* es la mosca de la col y ataca a exclusivamente a crucíferas, siendo el colinabo la especie más sensible a la plaga (Dughetti, 2002; Bermejo, 2011; Jaramillo y Sáenz, 2013). Bermejo (2011), consigna que los adultos del género *Delia* aparecen en primavera. En el presente reporte fueron hallados a finales del invierno; además, Bermejo señala que las especies de este género pasan el invierno en forma de pupa, sin embargo, cabe mencionar que se pudieron observar adultos, coriones eclosionados, larvas y pupas en plantas de las crucíferas inspeccionadas.



Fig. 1. Arreglo de trampas.



Fig. 2. Monitoreo de trampas.

IV. CONCLUSIONES

Se reporta a *Delia platura*, conocida como la mosca de la semilla (del maíz en especial), es una especie polífaga y puede afectar numerosos cultivos y *D. antiqua*, conocida como mosca de la cebolla, las larvas de esta especie se alimentan del bulbo y causan grandes pérdidas. Es necesario establecer un programa de monitoreo durante las cuatro épocas del año para especies de este género en la región y determinar así su presencia y distribución, así como conocer los cultivos a los que se asocian, y de esta manera poder establecer estrategias que prevengan daños en cultivos locales, tales como hortalizas y forrajes.

V. AGRADECIMIENTOS

A mi asesor el M.C. Fabián García Espinoza por su apoyo durante el proyecto.

REFERENCIAS

- Bermejo, J. 2011. Información sobre *Delia* spp.; *D. antiqua*, *D. platura* y *D. radicum*. Disponible en: <http://www.agrologica.es/informacion-plaga/mosca-cebolla-mosca-sembrados-y-mosca-col-Deliaspp/>. (Fecha de consulta: 20-JULIO-2019).
- Dughetti, A. C. 2002. Estudio de los gusanos que atacan a la cebolla utilizando diferentes trampas como base del monitoreo. Estación Experimental Agropecuaria INTA Hilario Ascasubi. Buenos Aires, Argentina. 15 pp.
- Gullan, P. J. and P. S. Cranston. 2010. The insects. An outline of entomology. 4th edition. Wiley-Blackwell. A John Wiley & Sons, Ltd., Publication. Malaysia. 565 pp.
- Jaramillo, C. M. y A. Sáenz. 2013. Control de *Delia platura* (Diptera: Anthomyiidae) en un cultivo comercial de espinaca con *Steinernema* sp. Cepa JCL027 (Rhabditida: Steinernematidae). *Nema trópica*, 43(1): 97–104.
- Malais, M. H. y W. J. Ravensberg. 2006. Conocer y reconocer las plagas de los cultivos protegidos y sus enemigos naturales. Koppert B.V. Edición revisada de la 1ª edición de 1992. Países Bajos. 288 pp.
- Savage, J., Fortier, A. M., Fournier, F. and V. Bellavance. 2016. Identification of *Delia* pest species (Diptera: Anthomyiidae) in cultivated crucifers and other vegetable crops in Canadá. *Canadian Journal of Arthropod Identification*, 29: 1–40. DOI:10.3752/cjai.2016.29.

Potencial de uso de cultivos de la microalga *Chlorella vulgaris* AAI-1 como biofertilizante en garbanzo (*Cicer arietinum* L.) var "jumbo" *in vitro*

Ruth Mendoza Escamilla

Instituto Tecnológico Superior de Irapuato
Silao-Irapuato km 12.5 El Copal, 36821
Irapuato, Gto.
ruthme21@hotmail.com

Asesora: Laura Valdés Santiago

Instituto Tecnológico Superior de Irapuato
Silao-Irapuato km 12.5 El Copal, 36821
Irapuato, Gto.
valdes.santiago.laura@gmail.com

Resumen — Se determinó la efectividad de la microalga *Chlorella vulgaris* como un posible biofertilizante en semillas de garbanzo (*Cicer arietinum*) variedad jumbo. Se comparó la efectividad de las microalgas comparado con un fertilizante químico. Las semillas se sumergieron en 40 ml de microalgas durante 5 minutos, el crecimiento de raíz y tallo se midió diariamente con el programa imageJ. Las semillas germinaron más rápido con la aplicación del fertilizante químico, sin embargo cuando se colocaron en tierra los tratamientos de *C. vulgaris* tuvieron mayor velocidad de crecimiento. Esto podría ser utilizado como biofertilizante gracias a los nutrientes que aporta a la planta y a la tierra, reduciendo así la contaminación causada por los fertilizantes químicos.

Palabras clave — garbanzo, biofertilizante, microalgas, *Chlorella vulgaris*.

Abstract — The purpose of this work was to determine the modification of the *Chlorella vulgaris* microalgae as a possible biofertilizer. Currently, jumbo chickpea seeds have undergone treatments with *Chlorella vulgaris* and compared with chemical fertilizer, they were immersed in 40 ml of microalgae for 5 minutes, root and stem growth was measured daily and analyzed the imageJ program. The seeds germinated faster with the application of the chemical fertilizer, however after transferring the plant to the soil treated plants grew up faster than the control. The results showed that *C. vulgaris* could be used as a biofertilizer, thus reducing the pollution caused to chemical fertilizers.

Keywords — chickpea, biofertilizer, microalgae, , *Chlorella vulgaris*.

I. INTRODUCCIÓN

Un fertilizante es cualquier tipo de sustancia orgánica o inorgánica que contenga nutrientes de manera digerible por las plantas, y cuyo objetivo es mantener o incrementar el contenido de elementos presentes en el suelo, mejorar la calidad del sustrato a nivel nutricional y estimular el crecimiento vegetativo de las plantas.

Un biofertilizante es una sustancia que contiene microorganismos como bacterias y hongos o en algunos casos microalgas, estos ayudan a la planta a desarrollarse de forma óptima por diferentes mecanismos, por ejemplo, mejorando la disponibilidad de los micronutrientes y macronutrientes.

Las microalgas se emplean en sistemas agrícolas como biofertilizantes y acondicionadores del suelo, especialmente las cianobacterias fijadoras de nitrógeno (algas azul-verdes) que tienen un papel importante en el mantenimiento y el aumento de la fertilidad del suelo en los campos de arroz, (Youssef, 2015). Las microalgas son consideradas como biofertilizantes potenciales, se ha probado su efectividad en arroz

(Dineshkumar et al 2018), en trigo y cebada (Odgerel y Tserendulam 2016) y en lechuga (Faheed and Fattah 2008). Las microalgas están directamente involucradas en la fijación del nitrógeno y se consideran una fuente barata de nitrógeno no contaminante (Dineshkumar et al 2018).

El garbanzo (*Cicer arietinum L.*) junto con la judía (*Phaseolus vulgaris L.*) y el guisante (*Pisum sativum L.*) constituye uno de los cultivos de leguminosas más importantes del mundo, representando una fuente relevante de alimentación humana y animal (Yanitzza Meriño, 2017).

En la actualidad existen diversos tipos de fertilizantes químicos que, si bien su función en el ciclo biogeoquímico de la planta ayuda a su desarrollo de manera más rápida, pero esto se ha vuelto un problema al ser uno de los contaminantes del suelo por el uso excesivo y por su toxicidad. Se ha probado la efectividad de las microalgas como biofertilizantes en arroz, trigo, cebada y lechuga. En este estudio se evaluó si la microalga *C. vulgaris* AAI- aislada del río Lerma, Salamanca Gto, (Valdés-Santiago Laura, 2018) puede ser utilizada como biofertilizante en garbanzo.

II. MARCO TEÓRICO

A. Biofertilizantes

Un biofertilizante puede ser cualquier sustancia que contenga microorganismos vivos, que pueden colonizar la rizosfera o el interior de las plantas y promover el crecimiento de las plantas al mejorar su estado de nutrientes (Youssef, 2015).

B. Microalgas

Las microalgas son organismos microscópicos presentes no solo en el agua sino también en el ecosistema terrestre, representan una gran variedad de especies, que pueden vivir en una amplia gama de ambientes. Las microalgas necesitan principalmente tres componentes para el crecimiento, fuente de luz solar, agua y carbono. Obtienen nutrientes de los hábitats acuáticos, absorben la luz solar, capturan CO₂ del aire y producen aproximadamente el 50% del oxígeno atmosférico (Singh, 2011).

C. Microalgas como biofertilizantes

Las microalgas se emplean en sistemas agrícolas acondicionadores del suelo, especialmente las cianobacterias fijadoras de nitrógeno (algas azul-verdes) que tienen un papel importante en el mantenimiento y el aumento de la fertilidad del suelo en los campos de arroz (Youssef, 2015).

Chlorella vulgaris contiene altas cantidades de macro y micronutrientes, como constituyentes o metabolitos, así como carbohidratos y proteínas (Youssef, 2015).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Probetas, Hipoclorito de sodio, Pinzas de disección, Cajas transparentes 10L, Agua esterilizada, Cultivos de *Chlorella vulgaris* AAI-1 (*Cicer arietinum L.*) var "jumbo", Garbanzo,

Vaso de precipitado de 250 ml, Fertilizante químico: YaraMila™ ACTYVA en una dosis 300 kg/Ha.



Fig 1. Esterilización química de la semilla de garbanzo

Esterilización química de las semillas. Las semillas se sumergieron por un periodo de 15 min en hipoclorito de sodio y se lavan 5 veces con agua destilada. Después de una semana completa de germinación se pasó a tierra esterilizada, sus composiciones son perlita, vermiculita y sphagnum (1:1:1).

IV. RESULTADOS

A continuación, se muestran los resultados de las semillas tratadas y el control con fertilizante químico, después de 24 h de incubación a temperatura ambiente (Fig 2,3,4 y 5). Se observó mayor germinación en el fertilizante químico comparado con la microalga *C. vulgaris* (Tabla 1).



Fig. 2 Tratamiento 1B tratado con fertilizante químico



Fig. 3. Tratamiento 1B tratado con cultivo de microalgas



Fig. 4 Control A tratado con fertilizante químico

Fig. 5 Control A tratado con cultivo de microalgas

Diariamente se midió la raíz de cada semilla y se analizaron las fotos en imageJ (Fig. 6) el cual nos ayudó a reconocer la variabilidad en cada uno de los tratamientos.

Tabla 1. Porcentaje de germinación de garbanzo

Día(s)	Control A negativo (%) Agua destilada	Control A Microalgas (%) Semillas tratadas con microalgas	Control A Fertilizante químico (%) Semillas con YaraMila™ ACTYVA	Control A Medio BBM (%)
1	73.33	86.66	80	73.33
2	80	93.33	100	93.33
3	80	93.33	100	93.33
4	80	93.33	100	93.33
6	80	93.33	100	93.33

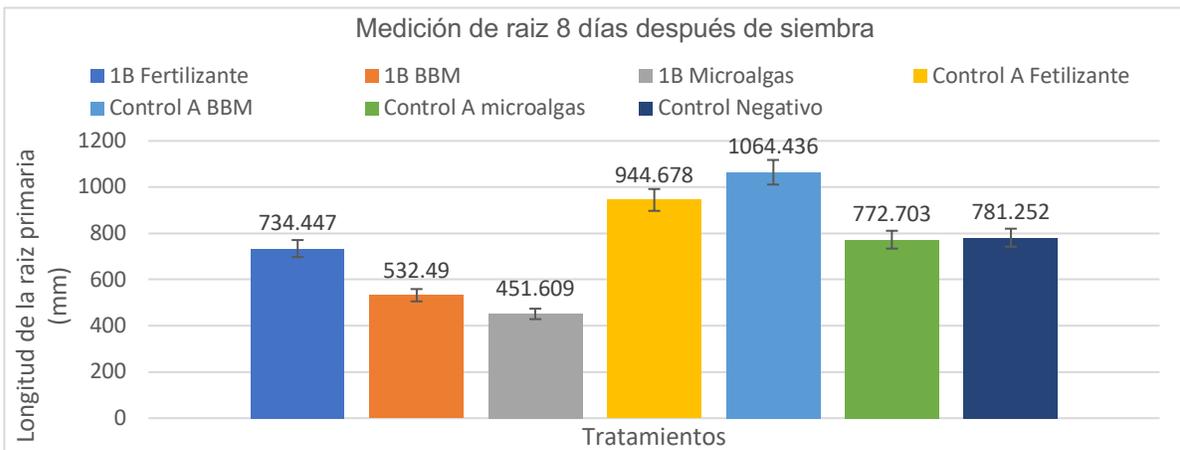


Fig. 6 Medida de la raíz por día por cada semilla (15 en total) transcurridos ocho días de la siembra.

V. DISCUSIÓN

Las microalgas han mostrado efectividad como biofertilizantes en diferentes cultivos, en este estudio se probó *C. vulgaris* AAI-1 en semillas de garbanzo, se observó que las microalgas estimularon la germinación de ellas ya que un 93% germinaron comparado con el fertilizante químico que alcanzó el 100% de efectividad, sin embargo el efecto fue dado por el medio en el que están disueltas las microalgas, el medio BBM, el cual es rico en macro y micronutrientes.

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los resultados no indican que la microalga *C. vulgaris* AAI-1 puede ser utilizada como un biofertilizante, sin embargo es necesario hacer más ensayos para verificar la reproductibilidad y eliminar el medio BBM de los cultivos, lavando las células con agua y así enfocar el efecto en las microalgas.

VII. RECONOCIMIENTOS (O AGRADECIMIENTOS)

Se agradece notablemente el apoyo económico, disposición y por compartir su conocimiento a la Dra. Alejandra Hernández Barrera, a la Dra. Laura Valdés Santiago por su apoyo y por brindar una actitud de fortaleza para mí, la colaboración, apoyo y entrega total de Dulce Jackeline Gutiérrez Flores y a ITESI por el lugar disponible y laboratorios para llevar a cabo los experimentos.

REFERENCIAS

- Youssef, T. M. (2015). Mejora de los parámetros de crecimiento de Zea y propiedades del suelo inoculado con dos especies de *Chlorella*. Report and Opinion
- Yanitza Meriño, T. B. (2017). Respuesta agronómica de dos cultivares de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) bajo diferentes condiciones de humedad del suelo en la provincia de Granma. *Ctro. Agr. [online]*, vol.44, n.2, pp.22-28. ISSN 2072-2001.
- Singh, A. N. (2011). Combustibles renovables de microalgas: una respuesta a los combustibles debatibles basados en tierra. *Bioresource Thechnology*, 102, 10-16.
- FATTAH, F. A. (2008). Efecto de *Chlorella vulgaris* como biofertilizante en parámetros de crecimiento y aspectos metabólicos de la planta de lechuga. *JOURNAL OF AGRICULTURE & SOCIAL SCIENCES*, 165-169.
- Onder Uysal, F. O. (2015). EVALUACIÓN DE MICROALGAS COMO FERTILIZANTE MICROBIANO. *Revista Europea de Desarrollo Sostenible*, Vol. 4, Núm. 2 .
- Dineshkumar, R., Kumaravel, R., Gopalsamy, J. y col, 2018, Microalgas como biofertilizantes para el crecimiento del arroz y la productividad del rendimiento de semillas, *Waste Biomass valor*, Vol 9, Núm. 5, 793-800
- Valdés Santiago Laura, Ayala Islas Alberto, Colli Mull Juan Gualberto. Capítulo de e-Book: Hacia el reemplazo de pesticidas químicos: Explorando las microalgas para su uso en control biológico. Pag. 366-381. En E-book: El impacto de la integración disciplinaria de la ingeniería y las ciencias químicas, en la innovación y el desarrollo sostenible. Instituto de Ciencias Básicas, Universidad Veracruzana ISBN: 978-607-95737-9-9; 2018. Editorial: Fundación para la Educación Superior Internacional, A. C.).

Prevalencia de diabetes mellitus en perros y gatos del municipio de Irapuato Guanajuato

Saraí Sánchez Camacho

Universidad de Guanajuato

Departamento de Medicina Veterinaria y Zootecnia,
Ex Hacienda El Copal k.m. 9; carretera Irapuato-
Silao; A.P. 311; C.P. 36500; Irapuato, Gto

saracams96@gmail.com

Asesor: Mauricio Arredondo Castro

Universidad de Guanajuato

Departamento de Medicina Veterinaria y Zootecnia,
Ex Hacienda El Copal k.m. 9; carretera Irapuato-
Silao; A.P. 311; C.P. 36500; Irapuato, Gto

arredondo.m@ugto.mx

Resumen — Con el objetivo de evaluar la prevalencia de diabetes mellitus en perros y gatos de la ciudad de Irapuato, Guanajuato se recolectaron 100 muestras de sangre obtenidas por punción venosa de 91 perros y 9 gatos, esto fue analizado con un glucómetro marca AccuChek® siguiendo las instrucciones del fabricante, las muestras se tomaron del Centro de Atención Canina y se analizaron en la Universidad de Guanajuato. Un total de 13% resultaron superiores a los rangos normales de glucosa en sangre, según los análisis estadísticos de chi cuadrada se observó que la especie, género, talla y condición corporal se comportaron de manera independiente, con un valor de ($P = \leq 0.05$), concluyendo que se debe de hacer un análisis en mayor tiempo y con mayor número de muestras.

Palabras clave — Hiperglucemia, insulina, glucómetro

Abstract — With the objective of evaluate the prevalence of diabetes mellitus in dogs and cats in the city of Irapuato, Guanajuato 100 blood samples were obtained by venous puncture collected from 91 dogs and 9 cats, analyzed with an AccuChek® brand glucometer following the manufacturer's instructions. The samples were taken from the Canine Care Center and analyzed at the University of Guanajuato. A total of 13% of the samples were higher than the normal blood glucose ranges, according to the statistical analysis of chi-square, it was observed that the variants of species, gender, size and corporal condition behaved independently with a value of ($P = \leq 0.05$), concluding that a future analysis should be done in a longer time and with a larger number of samples.

Keywords — Hyperglycemia, insulin, glucometer

I. INTRODUCCIÓN

Las células necesitan glucosa como combustible, por lo tanto, es importante que el organismo regule la concentración de glucosa [1]. La falta de la regulación de esta forma una afección denominada hiperglucemia (diabetes mellitus) en la que los niveles de glucosa del cuerpo están mal regulados, debido a la falta de producción de la hormona insulina, producida por el páncreas, o al aumento de la resistencia de los tejidos del cuerpo a los efectos de la insulina [2]. La disminución de la utilización de la glucosa, los aminoácidos y los ácidos grasos en el perro tienen numerosas y variadas consecuencias: letargia, pérdida de peso, menor estimulación del centro de la saciedad, mala calidad del pelaje e inmunosupresión [3]. El diagnóstico se basa principalmente en estos y otros signos clínicos importantes como lo son las cataratas (10 a 20% de los casos, afecciones a nivel ocular que en algunos casos llega a provocar ceguera en las mascotas convencionales) [4].

La importancia del patrón estacional en el inicio de la diabetes humana y canina sigue sin estar clara, aunque sugiere que puede haber similitudes subyacentes en los factores ambientales. En la diabetes autoinmune humana, se ha propuesto que existen cinco etapas

de la enfermedad: susceptibilidad genética, un evento desencadenante, autoinmunidad activa, intolerancia progresiva a la glucosa y diabetes manifiesta [5]. Los signos iniciales de la diabetes pueden pasar desapercibidos, con el resultado de que los perros a veces presentan cetoacidosis diabética con anorexia, letargo, vómitos y deshidratación. Esto puede ser potencialmente mortal sin la terapia adecuada [6], el aumento de la proteólisis conduce al desgaste muscular y la cicatrización deficiente de las heridas, y a medida que el catabolismo lipídico acelerado persiste, se desarrolla una lipidosis hepática y la cetoacidosis puede dar lugar a una producción secundaria de cetonas potenciadas, un daño endotelial y una inmunodepresión [2].

La historia clínica, el examen físico y las pruebas de diagnóstico son cruciales para ayudar a diferenciar el tipo de DMC necesaria para proporcionar el tratamiento adecuado y determinar el pronóstico [4]. El uso de medidores de glucosa en sangre portátiles se ha vuelto común en la medicina veterinaria como un medio rápido para controlar la glucosa en sangre de los animales en una variedad de condiciones médicas [7] tienen la ventaja de utilizar pequeñas cantidades de sangre, bajo costo por prueba y resultados rápidos [8].

La pérdida de la funcionalidad de las células β es irreversible en los perros con Diabetes Mellitus Tipo 1, siendo necesario un tratamiento con insulina de por vida para mantener el control de la glucemia [9]. La diabetes mellitus es una de las endocrinopatías más frecuentes en perros y gatos, puede llegar a ser mortal si no se proporciona a tiempo un tratamiento adecuado [10]. Por lo anterior el objetivo de estudio es evaluar la prevalencia de diabetes mellitus en perros y gatos en la ciudad de Irapuato, Guanajuato con la finalidad de diagnosticarlo de manera subclínica y prevenirla desde sus primeras etapas.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se llevó a cabo en la Clínica de Pequeñas Especies ubicada en las instalaciones de la Universidad de Guanajuato, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato Salamanca. En colaboración con el Centro de Atención Canina de Irapuato, se obtuvieron muestras sanguíneas de perros y gatos en condición de calle, por otro lado, se obtuvieron muestras de diferentes clínicas veterinarias de la región.

A. *Animales*

Se muestrearon en total 91 perros y 9 gatos a los cuales se les realizó una punción venosa, para evaluar el nivel de glucosa que presentaban en sangre, el rango de glucosa se tomó de 80 a 120 mg/dl según lo menciona [2], y muestras arriba de los rangos normales se consideraron como positivas. Con una previa recopilación de información: edad, raza, sexo y condición corporal.

B. *Recolección de muestras*

Se tomó una muestra de sangre por venopunción de la vena yugular de cada paciente, con un respectivo periodo de 8 horas de ayuno, colocando una pequeña muestra de la sangre obtenida en la tira reactiva para su posterior lectura mediante glucómetro Accu-Chek

Performa®, todos los procedimientos se realizaron de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

C. Análisis estadístico

Se realizó un registro en el programa Microsoft Excel 2016, posteriormente se realizaron matrices. Para comparar la prevalencia entre género se utilizó la prueba exacta de Fisher.

Para la asociación entre prevalencia de diabetes mellitus y edad, condición corporal (cc), se utilizó la prueba de chi-cuadrado.

Todas las pruebas se realizaron con el software SPSS22.

III. RESULTADOS

De las 100 muestras obtenidas en el periodo junio-julio de ambas especies se observó una prevalencia del 13% (13/100), presentando el 10% (10/100) para los perros y 3% (3/100) para los gatos.

La variable género se observó que el 30.8% (4/13) para los machos, mientras que para las hembras el 69.2% (9/13). La prueba exacta de Fisher mostró un valor de ($P=0.761$).

La talla fue evaluada por talla chica, mediana y grande con los resultados con 53.8% (7/13), 38.5% (5/13) y 7.7% (1/13) respectivamente, de acuerdo con el valor obtenido para el análisis estadístico se obtuvo el siguiente resultado ($P=0.292$).

La cc fue observada con una escala del 1 al 5, considerando que el 1 y 2 era para animales con cc, el 3 cc idónea y con límites superiores al último mencionado, considerados obesos. 46.2% (6/13), 38.5% (5/13) y 15.4% (2/13) consecutivamente, en el análisis estadístico se observó un valor de ($P=0.430$).

IV. DISCUSIÓN

En la actualidad, la práctica dirigida a la clínica de pequeñas especies el diagnóstico preclínico de la diabetes mellitus en perros y gatos es subvalorado [1, 2, 10, 11] mencionan que esta patología es de importancia clínica y preclínica para preservar la salud en las mascotas.

[11] citado por [8] menciona que las hembras caninas reproductivas tienen más probabilidades de presentar diabetes en la edad adulta. En el caso de esta investigación se evaluó el género comportándose en dependiente con la prueba exacta de Fisher ($P=0.761$). [12] mencionan que la edad es un factor predisponente y oscila entre los 4 y 14 años, con un pico de prevalencia entre los 7 y 9 años; la diabetes juvenil en perros menores de 1 año de edad es poco común, en la presente investigación no se tomó como referencia la edad, ya que las muestras fueron recolectadas por un albergue de control poblacional y esto no permite tener una correcta valoración por lo que se resalta la importancia de realizar un buen examen físico del paciente si se sospecha de enfermedad endocrina, elaborar una

lista de problemas y buscar causas para cada uno de los signos para poder llegar a un diagnóstico con ayuda de las pruebas de laboratorio.

En la clínica general de pequeñas especies se presentan a consulta 10 a 1 de perros en comparación con gatos, sin embargo, la enfermedad endocrina se considera en ambas especies, en esta investigación se hizo el análisis en ambas especies y en el análisis estadístico no se observó una diferencia estadística significativa con un valor de $P \leq 0.05$, dejando ver que la especie se comporta como independiente a la diabetes mellitus. Según [13], la incidencia de diabetes mellitus en gatos es del 0.5%.

[6] al hacer un análisis por especie y raza observaron que en perros existen razas con mayor predisposición considerando a las de talla grande, en la presente investigación la talla fue evaluada por pequeño, mediano y grande observando que se comporta de manera independiente ($P=0.292$), en lo particular no se evaluó la raza ya que la mayoría eran mestizos, aunado a lo anterior se evaluó la condición corporal con el objetivo de estimar la obesidad, ya que para [14] el sobrepeso es factor de riesgo para la diabetes mellitus, esto difiere a esta investigación, esto puede ser a causa del poco tiempo de muestreo, número y condiciones de los animales muestreados.

V. CONCLUSIONES

Los perros y los gatos del municipio de Irapuato, Guanajuato, tienen una prevalencia del 13% de diabetes mellitus sin importar la especie, género, edad, talla y condición corporal. Es importante realizar un examen clínico orientado a problemas e incluir el diagnóstico preclínico en este examen.

Se sugiere continuar con esta investigación, considerando el tiempo de muestreo para tener una mejor evaluación.

VI. AGRADECIMIENTOS

Se agradece a la Universidad de Guanajuato y a su Clínica de Pequeñas Especies que facilitó las instalaciones y el equipo para la elaboración de las pruebas, por otra parte al Centro de Atención Canina de Irapuato por las facilidades prestadas para la realización del muestreo y al comité organizador de los Veranos de la Región Centro por permitir ser parte de esta edición.

REFERENCIAS

- [1] Summers, A. (2013). *Common diseases of companion animals*. Elsevier Health Sciences.
- [2] Qadri, K., Ganguly, S., Praveen, P. K., & Wakchaure, R. (2015). Diabetes mellitus in dogs and its associated complications: A review. *Int. J. Rec. Biotech*, 3(4), 18-22.
- [3] Pibot, P., Biourge, V., & Elliott, D. (2006). *Enciclopedia de la nutrición clínica canina* (No. 619: 636.045). Royal Canin,.
- [4] Brito-Casillas, Y., Melián, C., & Wägner, A. M. (2016). Study of the pathogenesis and treatment of diabetes mellitus through animal models. *Endocrinología y Nutrición (English Edition)*, 63(7), 345-353.

- [5] Davison, L. J., Herrtage, M. E., & Catchpole, B. (2005). Study of 253 dogs in the United Kingdom with diabetes mellitus. *Veterinary Record*, 156(15), 467-471.
- [6] Catchpole, B., Ristic, J. M., Fleeman, L. M., & Davison, L. J. (2005). Canine diabetes mellitus: can old dogs teach us new tricks?. *Diabetologia*, 48(10), 1948-1956.
- [7] Stein, J. E., & Greco, D. S. (2002). Portable blood glucose meters as a means of monitoring blood glucose concentrations in dogs and cats with diabetes mellitus. *Clinical techniques in small animal practice*, 17(2), 70-72..
- [8] Santiago, I. 2017. Diabetes mellitus en perros y gatos: abordaje diagnóstico, tratamiento y nuevas alternativas de manejo clínico. México: UNAM.
- [9] Álvarez-Linares, B., Ávila-Ramos, F., & López-Briones, S. (2017). Diagnóstico y tratamiento de la diabetes mellitus en perros. *Abanico veterinario*, 7(1), 53-67.
- [10] Bennett, N. (2002). Monitoring techniques for diabetes mellitus in the dog and the cat. *Clinical techniques in small animal practice*, 17(2), 65-69.
- [11] Ettinger S., Feldman E. Tratado de medicina interna veterinaria. Enfermedades del perro y el gato. 6º edición. España: Elsevier, 2007.
- [12] Nelson, R. W., & Couto, C. G. (2010). Medicina interna de pequeños animales. Elsevier.
- [13] Hoenig, M. (2002). Comparative aspects of diabetes mellitus in dogs and cats. *Molecular and cellular endocrinology*, 197(1-2), 221-229.
- [14] Chandler, M., Cunningham, S., Lund, E. M., Khanna, C., Naramore, R., Patel, A., & Day, M. J. (2017). Obesity and associated comorbidities in people and companion animals: a one health perspective. *Journal of comparative pathology*, 156(4), 296-309.

Protocolo para tratamiento de lesiones cutáneas en *Lithobates catesbeianus* con infusiones de jengibre y equiseto

Carla Elizabeth Jasso Aguilar

Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Facultad de Ciencias
Av. Chapultepec #1570 Priv. del Pedregal
C.P. 78295, San Luis Potosí, S. L. P.
jassocea@gmail.com

Asesor: Efraín Islas Ojeda

Universidad Autónoma de Aguascalientes
Centro de Ciencias Agropecuarias
Carretera a la Posta Km 3,
C.P. 20255, Jesús María, Ags.
eislas69@hotmail.com

Resumen — La producción intensiva de rana toro (*Lithobates catesbeianus*) es una de las prácticas acuícolas del país. Un factor de bajo desempeño productivo son las enfermedades emergentes como la “pata roja”. Granja “El Chaveño” tiene un sistema de recirculación de agua y sistemas acuapónicos como alternativa sustentable, por lo que el uso de antibióticos no es una opción; para evitar la propagación de patógenos se deben emplear alternativas naturales. El proyecto desarrollado consistió en montar un experimento donde se probará la eficacia de varios tratamientos naturales en ranas lastimadas, se utilizó el software ImageJ para procesar las fotografías y medir el área dañada en los individuos. Los datos mostraron que las lesiones respondieron mejor con el tratamiento de jengibre.

Palabras clave — Rana toro, jengibre, equiseto, área dañada, acuaponia

Abstract — The intensive production of bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) is one of the aquaculture practices of the country. One factor of low productive performance are emerging diseases such as the “red leg”. Granja “El Chaveño” have a water recirculation system and aquaponic systems as a sustainable alternative, so the use of antibiotics is not an option; to avoid the spread of pathogens they are due to other natural alternatives. The project developed consists of mounting an experiment where the effectiveness of several natural treatments in injured frogs will be tested, ImageJ software was used to process the photographs and measure the damaged area in the individuals. The data treated that the lesions responded better with ginger treatment.

Keywords — Bullfrog, ginger, equisetum, damaged area, aquaponics.

I. INTRODUCCIÓN

La producción de rana toro es una actividad realizada en varios estados del país, es una práctica que requiere de poca agua y con la suficiente infraestructura puede ser un negocio muy provechoso. En los tiempos modernos, toda la industria ha tenido que implementar nuevas tecnologías que sean favorables para el ambiente. Si bien la ranicultura no tiene requerimientos muy específicos pues la especie se da por sí sola, se puede complementar con prácticas sustentables como la captación de agua de lluvia o acuaponias haciendo un reciclamiento casi total de agua. El sistema debe ser cerrado pues la especie es considerada como invasora y es muy peligrosa a nivel ecológico pues desplaza a otros anfibios y arrasa con sus poblaciones, debido a que es muy voraz. (Casas-Andreu et al., 2001) Del mismo modo, este sistema es propenso a enfermedades pues carece de las condiciones naturales de selección natural; algunas de las enfermedades más comunes y distribuidas mundialmente entre los anfibios es la quitridiomycosis causada por el hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* y la “pata roja” asociada con *Aeromonas*

hydrophila. (Mendoza-Almeralla et al., 2015). Aunado a las enfermedades emergentes es importante destacar la presencia de canibalismo entre anfibios, por lo que es común la presencia de heridas en cabeza en los individuos más débiles o pequeños, por eso es importante mantener separadas a las ranas por tamaños para evitar los intentos de canibalismo, pues las heridas pueden ser la entrada de patógenos; además de buenas prácticas de higiene e inocuidad.

La estancia de investigación se llevó a cabo en el municipio de Jesús María, Aguascalientes, en el Centro de Reproducción, Investigación e Innovación Científica Granja “El Chaveño”. Debido a que el sistema de recirculación de agua incorpora sistemas acuapónicos no debe haber el ingreso de antibióticos al agua; una medida implementada para el tratamiento de heridas en rana toro son tratamientos naturales, como jengibre disuelto en agua o el uso de probióticos que acidifican el agua y ayuda a detener el crecimiento de *Aeromonas*. El objetivo del experimento fue probar distintos tratamientos sobre ranas lastimadas y medir la eficacia disminuyendo el área de herida.

II. METODOLOGÍA

El único criterio para la elección de los individuos fue la presencia de heridas cutáneas, las cuales podían estar presentes en nariz, cabeza, cadera o extremidades; el tipo de lesión podía ser expuesta o cicatrizante; aquellos elegibles fueron separados de los corrales de engorda y puestos temporalmente en otro corral. Después se acondicionó un corral diferente para el experimento y se seleccionó la disposición de los tratamientos en tinas de 300 L con números al azar (Tabla 1). En cada tina se colocaron 10 individuos con tamaños similares, para evitar el canibalismo y las potenciales heridas nuevas. Las tinas se llenaron a cubrir el cuerpo de las ranas (Tabla 1) y como medida de contención se colocó una malla donde podía entrar alimento sin dificultad y hacer los recambios de agua. El experimento constó de 4 tratamientos con 3 repeticiones: jengibre, cola de caballo, probióticos y control. El jengibre (*Zingiber officinale*) se utilizó como polvo y fue disuelto directamente sobre el agua, en una concentración 150g/100L. *Equisetum arvense* también conocido como “cola de caballo”, se aplicó como una infusión en una concentración de 200g/100L. Los probióticos fueron preparados en el centro “Granja El Chaveño” y aplicados directamente en las tinas en una concentración de 6L/100L. Los individuos permanecieron en las tinas durante 16 días de experimento, los recambios de agua se realizaron cada 4 días. Aquellos individuos que escaparon de la tina fueron identificados con fotografía, no hubo escapes más allá del corral de experimento. Se obtuvo la biomasa los mismos días que se realizaron las fotografías.

Las fotografías fueron tomadas con una cámara semiprofesional y se construyó una plataforma para la toma de éstas, con el fin de unificar la distancia a la que sería la captura. Las fotografías se tomaron al día 1, 7 y 16; solo aquellos individuos con 3 imágenes fueron incluidos en el análisis. Cada individuo fue fotografiado asegurándose que la herida fuera visible. Las imágenes fueron procesadas en el programa ImagenJ.

Tabla 1. Especificaciones del experimento.

Tina	TxRx	VT(L)	VTr(L)	VA(L)	n
1	TeR2	7	1.4	5.6	10
2	TpR1	7	0.42	6.58	10
3	TeR3	7	1.4	5.6	10
4	TjR1	10	1.5*	10	10
5	TcR3	7	0	7	10
6	TpR3	7	0.42	6.58	10
7	TcR1	7	0	7	10
8	TeR1	7	1.4	5.6	10
9	TpR2	7	0.42	6.58	10
10	TjR3	7	1.05*	7	10
11	TcR2	7	0	7	10
12	TjR2	10	1.5*	10	10

TxRx: T (c, control; j, jengibre; e, equiseto y p, probiótico),
*peso de jengibre en polvo. VT: vol total, VTr: vol tratamiento,
VA: vol agua.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los análisis fueron realizados con el software STATISTICA ver. 7. De los 120 individuos solo sobrevivieron 57 y únicamente 50, fueron incluidos en el análisis estadístico; para un total de 150 mediciones. Los datos presentan normalidad y homocedasticidad y fueron sometidos a un análisis de varianza; para ver si había diferencia entre el efecto de los tratamientos, se usó como variable dependiente la diferencia entre el área medida el día 1 y 16, no hubo diferencias significativas. Después usando ANOVA de dos factores, se usó el tiempo y el tratamiento para ver el efecto en el área de herida. Se encontró un efecto significativo en el tratamiento y una diferencia significativa en jengibre en comparación con el grupo control y equiseto ($F(2, 141) = 7.4107, p = 0.00087$) (Figura 1). La biomasa también fue analizada con ANOVA de dos factores y se encontró que la variable tratamiento mostraba un efecto. Un análisis de Tukey encontró diferencias entre los datos de tinas con probióticos del día 16 y los días 7 y 16 del tratamiento con jengibre. La mortalidad fue evaluada con una prueba de bondad de ajuste de χ^2 , donde la hipótesis fue que el grupo control tendría el doble de individuos muertos que los tratamientos ($H_0: 2:1:1:1$), pero los datos no siguieron esa distribución. También se realizó un ANOVA para ver si la mortalidad podía ser explicada por los tratamientos, pero tampoco hubo diferencias significativas. Durante el experimento la mayor tasa de mortalidad la presentaron las tinas que tenía probióticos (96%), la posible causa fue el bajo pH, por lo que habría que diseñar un mejor experimento. Los resultados más evidentes fueron una mayor disminución en el área herida de las ranas con tratamiento de jengibre frente a los demás tratamientos (Figura 2) y la alta mortalidad de los individuos con tratamiento de probióticos. Se estableció una nueva hipótesis para ver si la mortalidad seguía una nueva distribución ($H_0: 1:1:1:2$) y efectivamente el tratamiento con probióticos tuvo el doble de mortalidad que los otros tratamientos ($\chi^2(3, \alpha: 0.95) = -1.35, p < 0.05$).

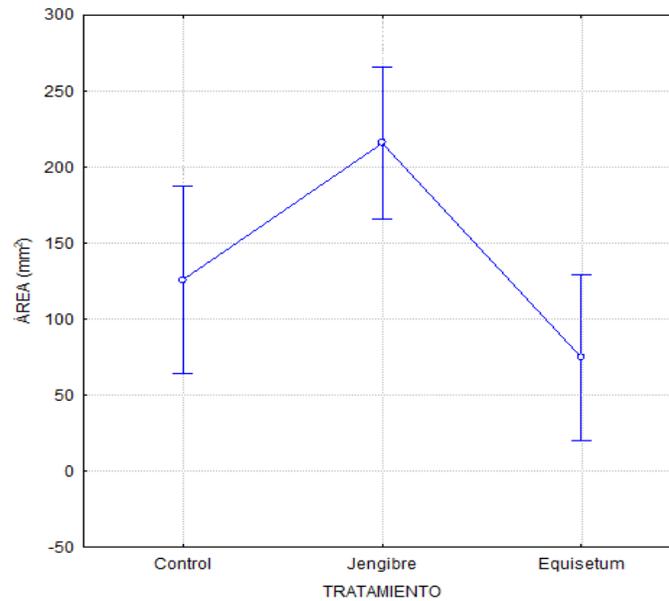


Figura 1. Acción de los tratamientos sobre el área de herida.

IV. CONCLUSIONES

El presente trabajo muestra los efectos de los tratamientos en un tiempo no lo suficientemente adecuado para observar verdaderas diferencias, también hace falta establecer las cantidades adecuadas para el uso de probióticos y tener un control preciso del pH al que se exponen los individuos, pues entra en contacto directo con su piel desprovista de alguna protección; los anfibios utilizan la piel (además de los pulmones) para el intercambio gaseoso y cualquier desbalance en las condiciones del agua como salinidad, pH, etc., pueden ser fatales para los animales.

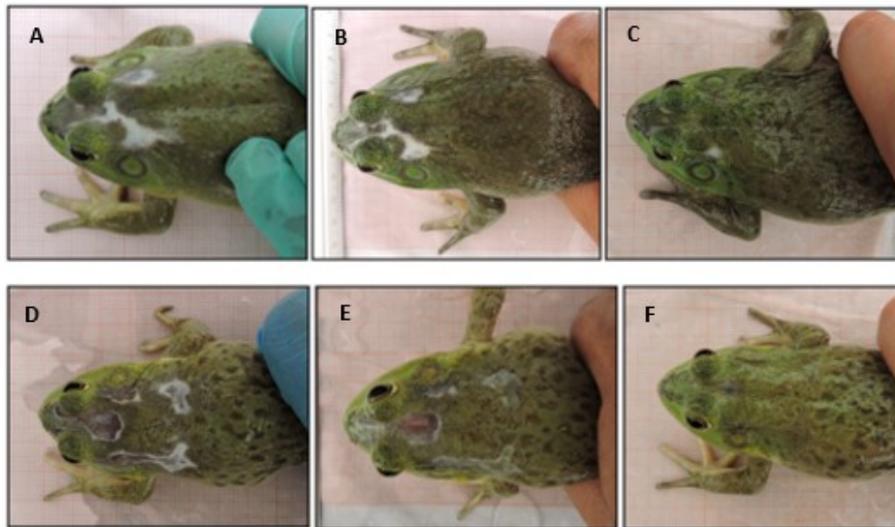


Figura 2. Efecto de los tratamientos jengibre (A, B, C) y equiseto (D, E, F).

Con este estudio se prueba que los remedios naturales pueden ser una alternativa a el tratamiento de heridas en rana toro; se sabe que mientras el animal tenga un buen estado de salud, puede mejorar por sí solo; estos tratamientos pueden mejorar la cicatrización y disminuir el tiempo de recuperación. El efecto medicinal más conocido del equiseto es antidiurético, pero también posee tiene acción antiséptica, además se sabe que acelera la regeneración de tejido conectivo dañado (Villar del Fresno, 2006); pero quizá estos beneficios no pudieron ser observados en el experimento pues hace falta saber la cantidad perfecta de infusión que tenga una mejor acción sobre las heridas y que no sea nociva para el animal. En la Figura 2, se puede ver que tanto jengibre como equiseto ayudan en la cicatrización y la mejoría en menor tiempo se demostró para jengibre. Todos estos tratamientos pueden ser utilizados por sistemas acuapónicos pues no confiere un problema para las especies vegetales.

V. RECONOCIMIENTOS

Agradezco el apoyo al Verano de la Ciencia de la UASLP por el apoyo económico y a el Verano de Ciencia de la Región Centro por la oportunidad de tener esta experiencia y en especial a mi asesor y a Granja “El Chaveño” por las facilidades y la calidez con la que se me recibió durante mi estancia de investigación.

REFERENCIAS

- CASAS ANDREU, G., AGUILAR-MIGUEL, X. & CRUZ AVIÑA, J. R. (2001). La introducción y el cultivo de la rana toro (*Rana catesbeiana*). ¿Un atentado a la biodiversidad de México? *Revista Ciencia Ergo Sum*, Vol. 8, Núm. 1 Marzo- Junio. p- 62-67.
- ISLAS OJEDA, E., LÓPEZ GUTIÉRREZ, M. A., GARCÍA MUNGUÍA, A. M., VASQUEZ MARTÍNEZ, O., GARCÍA MUNGUÍA, C.A. & CASILLAS PEÑUELAS, R. (2018). Caracterización y evaluación de los sistemas de producción y comercialización de rana toro en el Altiplano central de México. *19º Seminario de Investigación UAA*, 29-31 Mayo.
- MENDOZA-ALMERALLA, C., BURROWES, P. & PARRA-OLEA, G. (2015). *Revista Mexicana de Biodiversidad*. Vol. 86, Num. 1, Marzo, p. 238-248.
- TOSO, F., ALVAREZ, H. L., MARRÓN, Y. M. & TOSO, R. E. (2017). Efecto gastroprotector de *Equisetum giganteum* (cola de caballo) y *Cortaderia selloana* (cartadera) en ratones. *Ciencia Veterinaria*, [S.I.], Vol. 18, Num.,.1. p. 29-38.
- VILLAR DEL FRESNO, A. M. & IGLESIAS PEINADO I. (2006). Equiseto. *Revista Farmacia Profesional*, Vol 20. Num. 2, p. 74-7

Redes de interacción planta-abeja en áreas verdes urbanas de Santiago de Querétaro

Luis Enrique Olguín Chávez
 Universidad Autónoma de Querétaro
 Facultad de Ciencias Naturales
 Av. De las Ciencias S/N, Juriquilla,
 CP. 76230, Querétaro, México
luisenriqueoch@gmail.com

Asesora: Fabiola Magallán Hernández
 Universidad Autónoma de Querétaro
 Facultad de Ciencias Naturales
 Av. De las Ciencias S/N, Juriquilla,
 CP. 76230, Querétaro, México
fabiola.magallan@uaq.mx

Resumen — En este trabajo se presenta una red de interacción abeja-planta creada a partir de registros en tres sitios con áreas verdes urbanas en la ciudad de Querétaro. Se detectaron un total de 404 interacciones entre 38 especies de plantas y 23 morfoespecies de abejas. El mayor número de interacciones fue entre *Apis mellifera*, una abeja exótica y dos plantas exóticas: *Aptenia cordifolia* y *Lavandula* sp. y una planta nativa: *Eysenhardtia polystachya*. La red tuvo una conectividad y un número promedio de enlaces por especie bajo, probablemente debido a las condiciones poco favorables del hábitat. A pesar, de que se registró un mayor número de especies vegetales nativas, que exóticas, ambas parecen representar recursos importantes para las abejas.

Palabras clave — ecología urbana, plantas nativas, polinizadores urbanos.

Abstract — In this work we present a bee-plant interaction network created from records of three urban green areas in the city of Querétaro. We detected 404 interactions between 38 plant species and 23 bee morphospecies. The majority of interactions were between *Apis mellifera*, a exotic bee and two exotic planrs: *Aptenia cordifolia* and *Lavandula* sp. and only one native plant: *Eysenhardtia polystachya*. The network had both a low conectance and average number of links per species, probably due to unfavorable habitat conditions. Despite the fact that there were a greater number of native, than exotic plant species, both seem to represent important resources for bees.

Keywords — urban ecology, native plants, urban pollinators.

I. INTRODUCCIÓN

La urbanización es un proceso en aumento a nivel global. Aunque las áreas urbanas sólo ocupan una parte pequeña del área terrestre (alrededor del 4%), tienen consecuencias ecológicas a diferentes escalas e impactos ambientales importantes. Los impactos en la biodiversidad generalmente son negativos, resultando en su reducción debido a pérdida de hábitat, fragmentación, proliferación de especies exóticas y cambios en los regímenes de disturbio y condiciones ambientales. Aunque, en contraste con hábitats rurales, las ciudades bajo ciertas condiciones y para algunos taxa, pueden representar un refugio para la biodiversidad debido a la calidad tan reducida de los hábitats rurales por la intensificación de actividades como la agricultura (Goddard et al., 2009).

La polinización biótica, al ser un mutualismo ampliamente distribuido en casi todos los ecosistemas terrestres puede proveer información del estado de los mismos (Ollerton et al., 2011). Particularmente, en algunas áreas verdes urbanas manejadas se ha observado gran abundancia de algunas especies de insectos polinizadores e incluso se ha propuesto que pueden funcionar como refugio para estas especies (Baldock et al., 2019; Hall et al., 2017). Las abejas están entre los polinizadores más importantes, debido a que son un grupo de

florívoros obligados que dependen durante todo su ciclo de vida de los recursos florales, además tienen una distribución cosmopolita (Winfree et al., 2009)

A nivel de comunidad, las interacciones planta-polinizador pueden ser modeladas como una red compleja de tipo bipartita, es decir, con dos grupos de nodos unidos por aristas representando sus interacciones (Campbell et al., 2011). Las redes ecológicas en general, pueden ayudar a entender las respuestas de las comunidades a gradientes ambientales naturales y antrópicos (Tylianakis, y Morris, 2017). Específicamente para las redes bipartitas, se pueden obtener propiedades generales como asimetría, igualdad, conectividad y anidamiento que describen respectivamente: la relación entre número de especies animales y vegetales, la repartición de las interacciones entre los componentes de un grupo de nodos, la proporción de interacciones observadas sobre todas las posibles y la propiedad de que las interacciones de especies con pocos enlaces diferentes sean parte de un subconjunto de las interacciones de especies más conectadas (Gibson et al., 2011). Entre los factores que se han asociado a promover mayor diversidad de insectos polinizadores en sitios urbanos, está el uso de plantas nativas aunque los resultados son discordantes. Esto adquiere mayor relevancia, porque las comunidades vegetales en las ciudades son en gran parte, producto del criterio y selección humana llegando a ser dominantes especies exóticas (Fukase, y Simons, 2016; Goddard et al., 2009). En este trabajo, se estudia una red de interacción entre abejas y plantas de tres áreas verdes urbanas de la ciudad de Santiago de Querétaro.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Las redes de interacción se estudiaron en tres sitios de la ciudad de Santiago de Querétaro: el Centro Universitario (CU) de la Universidad Autónoma de Querétaro, el Campus Juriquilla de la misma y el Parque Alcanfores. Los sitios fueron elegidos con base en observaciones previas (Oliva Segura com. pers.). En cada área verde se establecieron cinco transectos de 50 metros. Cada transecto fue recorrido por 15 minutos en cada visita, registrando todas las interacciones entre abejas y plantas. CU y el Campus Juriquilla recibieron 3.75 h de esfuerzo de muestreo cada uno y el Parque Alcanfores solo 2.5 h, teniendo un total de de 10 horas de esfuerzo de muestreo. El criterio para considerar la interacción, es que la abeja visitara una flor (o inflorescencia, en el caso de las asteráceas) y tocara el androceo o gineceo. Las abejas se recolectaron siempre que fuera posible, con una red entomológica o directamente con un frasco con alcohol al 70° o con acetona, con excepción de los individuos de *Apis mellifera* que solo fueron contados. Las abejas se montaron y fueron identificadas al menos hasta familia y posteriormente, separadas por morfoespecies. Con los datos obtenidos se construyó una matriz cuantitativa y una red de interacción en conjunto para los tres sitios con R con los paquetes bipartite y vegan.

III. RESULTADOS

En total se registraron 404 interacciones entre 23 morfoespecies de abejas y 38 especies de plantas en los tres sitios (ver figura 1). Las métricas principales se presentan en el cuadro 1. La red obtenida muestra que las interacciones están concentradas entre tres especies de plantas: *Aptenia cordifolia*, *Eysenhardtia polystachya* y *Lavandula* sp., siendo nativa

solamente la segunda y una especie de abeja exótica: *Apis mellifera*. Esto se refleja en el número de interacciones promedio por especie bajo, apenas es de 1.16 y en la conectividad de 0.08 es decir, del total de interacciones posibles (todas las abejas visitaran todas las plantas), sólo se registró el 8%. La especialización de la red (H_2) que puede tomar valores entre 0 y 1, siendo 1 el valor más alto de especialización, está ligeramente más cercana al 1, lo cual indica que hay una tendencia a la especialización de la red. Es destacable también la alta frecuencia de interacciones que fueron registradas una vez: de siete abejas sólo se tuvo un registro de interacción y recíprocamente en 10 plantas solamente se registró una visita a sus flores. Esta abundancia baja de la mayoría de las abejas probablemente está relacionada a las condiciones de la matriz circundante de cada sitio, donde dominan las superficies impermeables propias debido a se ha encontrado que la abundancia de abejas tiene un declive a mayor superficie no impermeable y a menor densidad de flores, este último factor tiene influencia especialmente en abejas grandes. La superficie impermeable tiene efectos negativos sobre la capacidad de anidación de la mayoría de las especies, además de restringir el espacio con recursos florales y aumenta el efecto de isla de calor que tiene influencia negativa sobre la fisiología de los insectos (Folschweiller *et al.*, 2016; Hamblin, Youngsteadt, y Frank, 2018). Del total de 38 especies de plantas al menos 24 son nativas de México, sin embargo, pocas sostuvieron interacciones con múltiples especies de abejas: *Eysenhardtia polysachya*, *Heterotheca inuloides* y *Lantana camara*. Lo cual implica que, en los sitios de estudio, pese a la presencia de plantas nativas, las plantas exóticas son una fuente de alimento importante para las abejas. Todo esto tiene implicaciones en el manejo de las áreas verdes en la ciudad, donde se debería promover una mayor densidad de flores tanto de especies nativas como exóticas, que sean atractivas para las abejas, esto sólo tomando en cuenta la perspectiva de la abeja y no la reproducción y adecuación de las plantas. Por lo que al favorecer a las plantas nativas se aprovecharía el servicio ambiental de la polinización en la ciudad.

Cuadro 1. Métricas generales de la red de interacción.

Métrica	General	
	Abejas	Plantas
Número de especies	23	38
Enlaces promedio por especie		1.16
Conectividad		0.08
Especialización (H_2)		0.68
Superposición de nicho	0.06	0.29

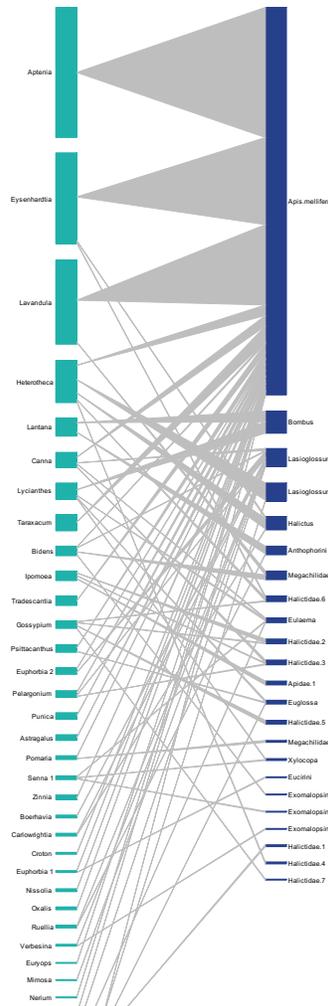


Figura 1. La red de interacción planta-abeja se compone de 38 especies de plantas (izquierda) y 23 morfoespecies de abejas (derecha). Sus interacciones se representan por las aristas que unen a ambos grupos y el grosor de la línea indica la frecuencia de la interacción.

IV. CONCLUSIONES

En este trabajo se construyó una red de interacción entre abejas y plantas en tres áreas verdes urbanas de Santiago de Querétaro. Se registraron 404 interacciones individuales entre 23 morfoespecies de abejas y 38 especies de plantas. Se encontró una mayor densidad de interacciones entre *Apis mellifera* (una abeja exótica) y tres plantas, dos de ellas exóticas. La mayoría de las especies tienen pocas interacciones lo cual puede estar relacionada a baja diversidad de ambos grupos debido a las condiciones poco favorables del hábitat que representan las áreas verdes urbanas manejadas de manera tradicional.

V. AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad Autónoma de Querétaro por el apoyo para llevar a cabo este verano de la ciencia. A la M. en C. Oliva Segura por su apoyo durante el planteamiento y la realización del trabajo y, por inspirarme a conocer más de la polinización. A Erick Veléz y Victor Steinman por la identificación de algunas plantas y a Alejandro Ruiz por su ayuda en el montaje de algunas abejas.

REFERENCIAS

- Baldock, K. C. R., Goddard, M. A., Hicks, D. M., Kunin, W. E., Mitschunas, N., Morse, H., ... Memmott, J. (2019). A systems approach reveals urban pollinator hotspots and conservation opportunities. *Nature Ecology & Evolution*, 3(3).
- Campbell, C., Yang, S., Albert, R., y Shea, K. (2011). A network model for plant-pollinator community assembly. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(1), 197–202.
- Folschweiller, M., Flacher, F., Carmignac, D., Motard, E., Perret, S., y Dajoz, I. (2016). The proportion of impervious surfaces at the landscape scale structures wild bee assemblages in a densely populated region, 6599–6615.
- Fukase, J., y Simons. (2016). Increased Pollinator Activity in Urban Gardens With More Native Flora, 14(1), 297–310.
- Gibson, R. H., Knott, B., Eberlein, T., y Memmott, J. (2011). Sampling method influences the structure of plant-pollinator networks. *Oikos*, 120(6), 822–831.
- Goddard, M. A., Dougill, A. J., y Benton, T. G. (2009). Scaling up from gardens: biodiversity conservation in urban environments, (September).
- Hall, D. M., Camilo, G. R., Tonietto, R. K., Ollerton, J., Ahrné, K., Arduser, M., ... Threlfall, C. G. (2017). The city as a refuge for insect pollinators. *Conservation Biology*, 31(1), 24–29.
- Hamblin, A. L., Youngsteadt, E., y Frank, S. D. (2018). Wild bee abundance declines with urban warming, regardless of floral density.
- Ollerton, J., Winfree, R., y Tarrant, S. (2011). How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos*, 120(3), 321–326.
- Tylianakis, J. M., y Morris, R. J. (2017). Ecological Networks Across Environmental Gradients. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 48(1),
- Winfree, R., Aguilar, R., Vázquez, D. P., LeBuhn, G., y Aizen, M. A. (2009). A meta-analysis of bees' responses to anthropogenic disturbance. *Ecology*, 90(8), 2068–2076.